

MÉTODOS PARA TRATAR INFECCIONES POR EL VIRUS *FILOVIRIDAE*

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se relaciona generalmente con métodos y compuestos para tratar infecciones por el virus *Filoviridae*, particularmente métodos y nucleósidos para tratar el virus del Ébola, el virus de Marburg y el virus Cueva.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Los Filovirus (*p.ejm.*, el virus del Ébola (EBOV, por sus siglas en inglés) y el Virus de Marburg (MARV, por sus siglas en inglés)) están entre los virus más destructivos y letales. Causan fiebres virales hemorrágicas severas, con frecuencia fatales en humanos y primates no humanos (*p.ejm.*, monos, gorilas, y chimpancés). Los Filovirus son de interés particular como posibles armas biológicas ya que tienen el potencial para diseminación en aerosol y armamentización.

[0003] El período de incubación de la Infección por filovirus varía desde 2 hasta 21 días. El inicio de la enfermedad es abrupto y está caracterizado por fiebre alta, dolores de cabeza, Dolores musculares y de las articulaciones, garganta irritada, fatiga, diarrea, vómito, y dolor estomacal. Se puede observar en algunos pacientes sarpullido, ojos rojos, hipo y sangrado interno y externo. En una semana de infección con el virus, la mayoría de los pacientes experimenta dolores en el pecho y falla múltiple de los órganos, entrar en shock y morir. Algunos pacientes también experimentan ceguera y sangrado extenso antes de morir.

[0004] *Filoviridae* son una familia de virus de ARN. Se han identificado dos miembros de la familia *Filoviridae*: EBOV y MARV. Se han identificado dos tipos de patógenos clave de la familia *Filoviridae*: virus Ébola y MARV. Hay una variante identificada de MARV y cinco especies identificadas de ebolavirus: Zaire (es decir, el virus Ébola, EBOV), Sudán, Tai Forest, Bundibugyo, y Reston. El origen exacto, lugares, hábitat natural y de *Filoviridae* son desconocidos. Sin embargo, sobre la base de la evidencia disponible y la naturaleza de los virus similares, se postula que *Filoviridae* son zoonóticas (es decir, transmitidas por los animales) y se mantiene normalmente en un huésped animal que es nativo del continente africano.

[0005] Durante más de 30 años, ebolaviruses se han asociado a episodios periódicos de fiebre hemorrágica en el África central que producen una enfermedad

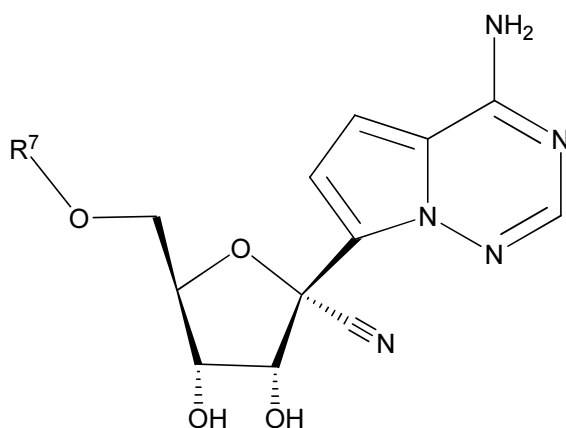
grave en los pacientes infectados. Las tasas de mortalidad en los brotes han oscilado entre el 50% de las especies de Sudán de ebolavirus (SEBOV) a hasta el 90% de las especies de Zaire del virus Ébola (EBOV, ZEBOV) (Sánchez et al, *Filoviridae*:. Marburg Y Ebola virus, en *Fields Virology* (eds. Knipe, DM & Howley, PM) 1.409-1.448 (Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia)). Un brote a finales de 2007 causada por una aparentemente nueva especie de ebolavirus en Uganda dio lugar a una tasa de mortalidad de alrededor del 25% (Towner et al, *PLoS Pathog*, 4:.. E1000212 (2008)). ZEBOV también ha diezmado las poblaciones de monos salvajes en esta misma región de África (Walsh y otros, *Nature*, 422:.. 611-614 (2003)).

[0006] La prevención y tratamiento de Infección por filovirus, incluyendo ebolaviruses (es decir EBOV) presenta muchos desafíos. De hecho, no existen vacunas o modalidades de tratamiento post-exposición para prevenir o controlar las infecciones por EBOV. Los pacientes en cambio reciben terapia de apoyo, es decir, el equilibrio de líquidos y electrolitos, el oxígeno, el mantenimiento de la presión arterial, y el tratamiento de las infecciones secundarias.

[0007] Por lo tanto, hay una necesidad de composiciones y métodos para el tratamiento de infecciones por EBOV. La presente invención aborda éstas y otras necesidades.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0008] Se provee, un método para tratar una infección por *Filoviridae* en un humano necesitado del mismo que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV:



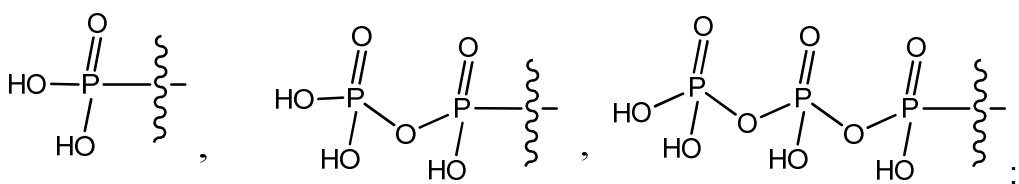
Fórmula IV

o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente estable, del mismo;
en donde,

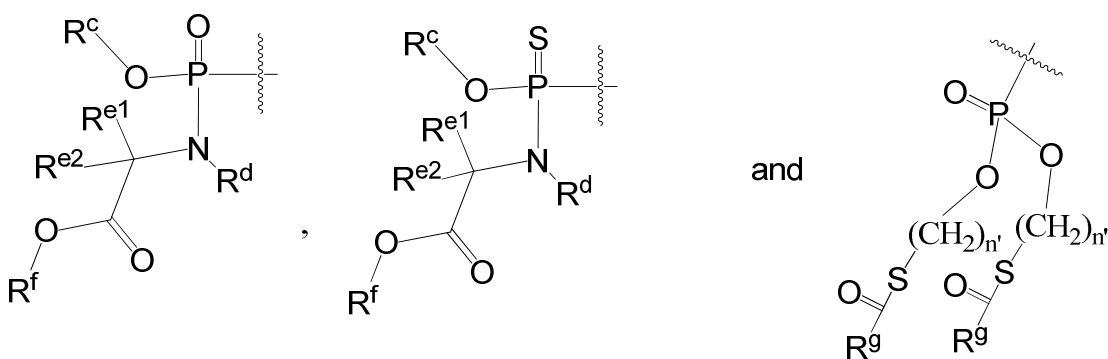
R^7 se selecciona del grupo que consiste en

a) H , $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, o $-SO_2NR^{11}R^{12}$;

b)

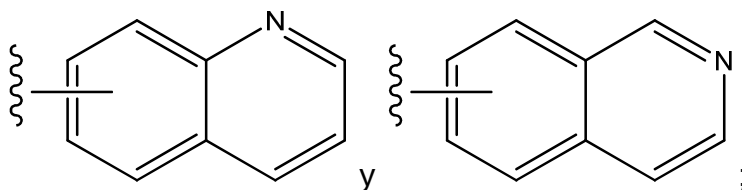


c) un grupo seleccionado de:



en donde:

R^c se selecciona del grupo de fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo,



R^d se selecciona del grupo de H o CH_3 ;

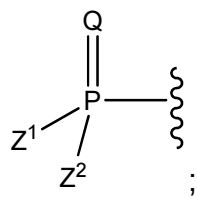
R^{e1} y R^{e2} se seleccionan cada uno independientemente del grupo de H , alquilo (C_1-C_6) o bencilo;

R^f se selecciona del grupo de H , alquilo (C_1-C_8), bencilo, cicloalquilo (C_3-C_6), y $-CH_2-$ cicloalquilo (C_3-C_6);

R^g se selecciona del grupo de alquilo (C_1-C_8), $-O-$ alquilo (C_1-C_8), bencilo, $-O-$ bencilo, $-CH_2-$ cicloalquilo (C_3-C_6), $-O-CH_2-$ cicloalquilo (C_3-C_6), y CF_3 ; y

n' es un entero seleccionado del grupo de 1, 2, 3, y 4; y

d) un grupo de Fórmula:



en donde:

Q se selecciona del grupo de O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(O), ⁺N(O)(O), o N–NR₂;

Z¹ y Z², cuando se toman juntos, son -Q¹(C(R^y)₂)₃Q¹-;

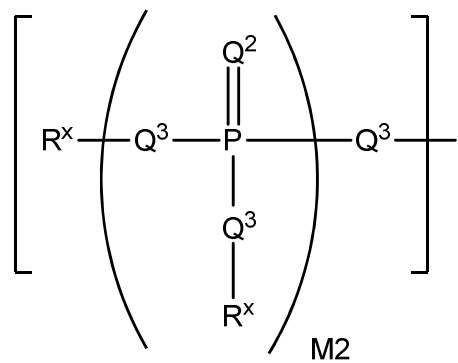
en donde

cada Q¹ se selecciona independientemente del grupo de O, S, o NR; y

cada R^y se selecciona independientemente del grupo de H, F, Cl, Br, I, OH, R, -C(=Q²)R, -C(=Q²)O, -C(=Q²)N(R)₂, -N(R)₂, -⁺N(R)₃, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(O), -S(O)₂(O), -OC(=Q¹)R, -OC(=Q²)O, -OC(=Q²)(N(R)₂), -SC(=Q²)R, -SC(=Q²)O, -SC(=Q²)(N(R)₂), -N(R)C(=Q²)R, -N(R)C(=Q²)O, -N(R)C(=Q²)N(R)₂, -SO₂NR₂, -CN, -N₃, -NO₂, -O, o Z³; o cuando se toman juntos, dos R^y sobre el mismo átomo de carbono forman un anillo carbocíclico de 3 a 7 átomos de carbono;

cada Q² es independientemente, O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(O), ⁺N(O)(O), o N–NR₂; o

Z¹ y Z² son cada, independientemente, un grupo de
Fórmula Ia:



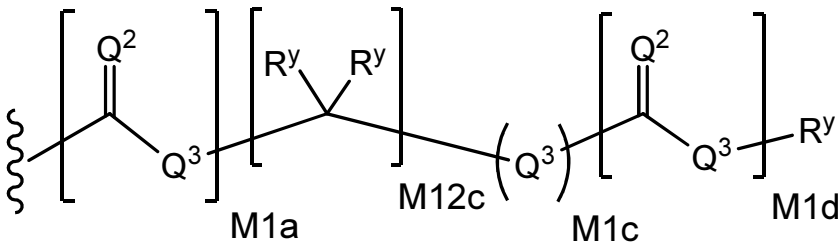
Fórmula Ia

en donde:

cada Q^3 se selecciona independientemente del grupo de un enlace, O, CR_2 , NR, $^+N(O)(R)$, $N(O)$, $^+N(O)(O)$, $N-NR_2$, S, S-S, $S(O)$, o $S(O)_2$;

M2 es un entero seleccionado del grupo de 0, 1 o 2;

cada R^x es independientemente R^y o la Fórmula:



en donde:

cada M1a, M1c, y M1d es un entero independientemente seleccionado del grupo de 0 o 1;

M12c es un entero seleccionado del grupo de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

Z^3 es Z^4 o Z^5 ;

Z^4 es R, $-C(Q^2)R^y$, $-C(Q^2)Z^5$, $-SO_2R^y$, o $-SO_2Z^5$; y

Z^5 es un carbociclo o un heterociclo en donde Z^5 está sustituido independientemente con 0 a 3 grupos R^y ;

cada R^{11} o R^{12} es independientemente H, alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), arilo opcionalmente sustituido (C_6-C_{20}), heteroarilo opcionalmente sustituido, $-C(=O)$ alquilo (C_1-C_8), $-S(O)_n$ alquilo (C_1-C_8) o arilo (C_6-C_{20}) alquilo (C_1-C_8); o R^{11} y R^{12} tomados juntos con un nitrógeno al que están ambos unidos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en donde cualquier

átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico se puede reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a;

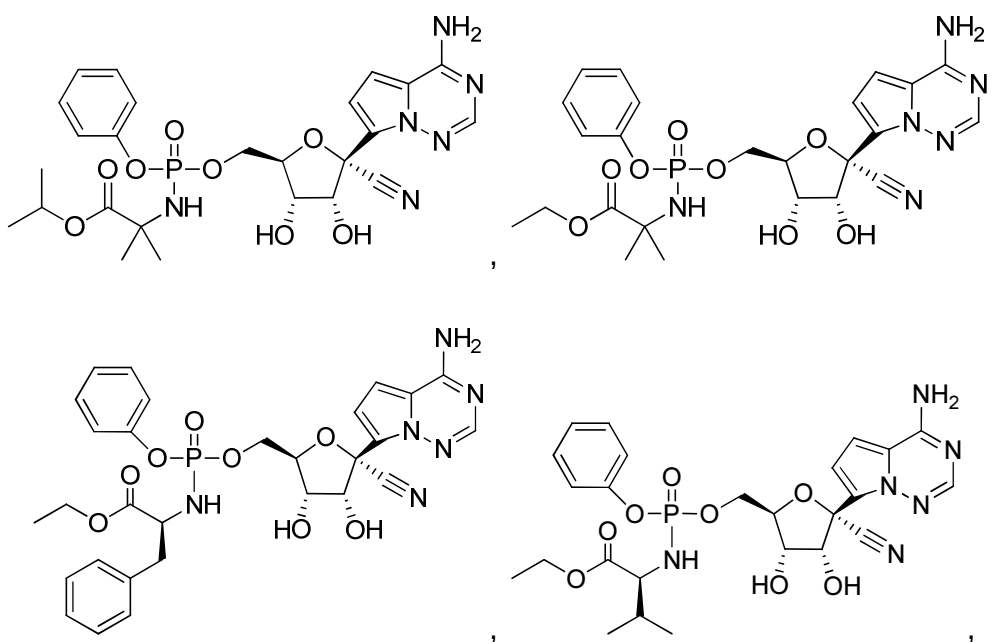
cada R^a se selecciona independientemente del grupo de H, alquilo (C₁-C₈), alquenilo (C₂-C₈), alquinilo (C₂-C₈), arilo (C₆-C₂₀) alquilo (C₁-C₈), carbociclilalquilo (C₄-C₈), -C(=O)R, -C(=O)O, -C(=O)NR₂, -C(=O)SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(O), -S(O)₂(O), o -SO₂NR₂; en donde

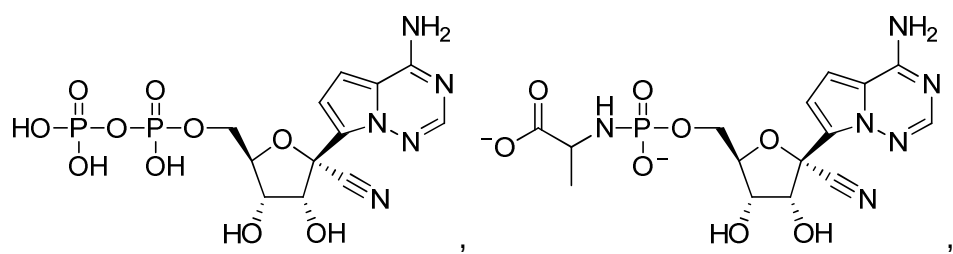
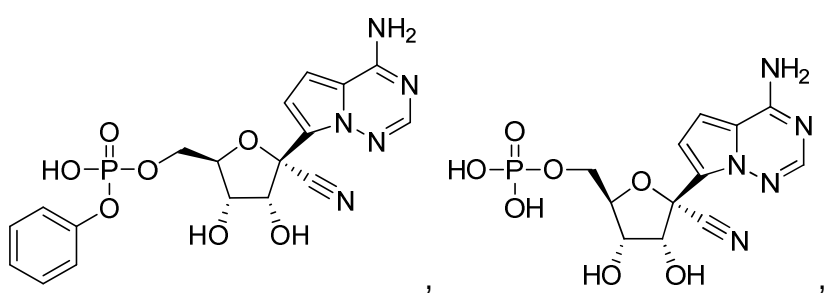
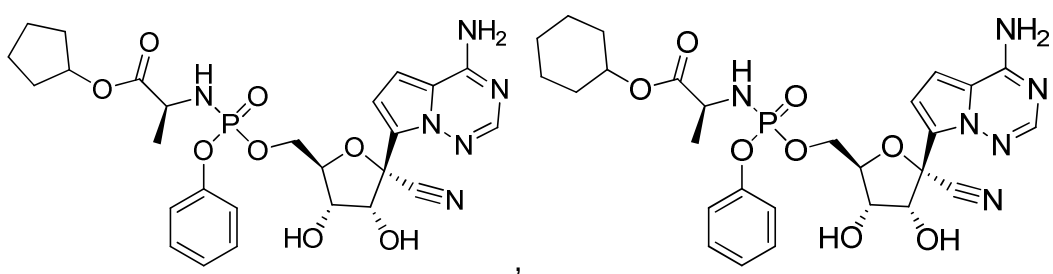
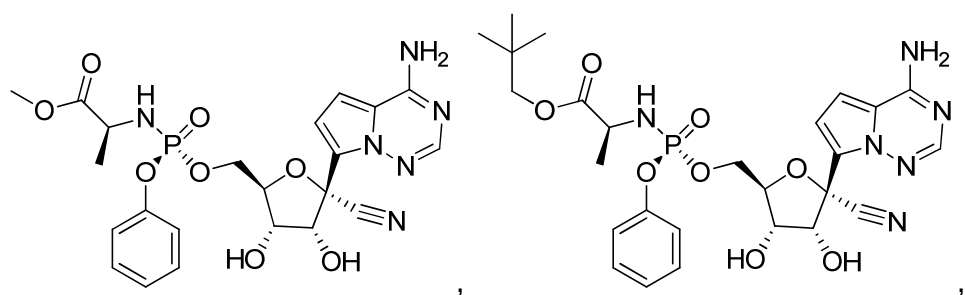
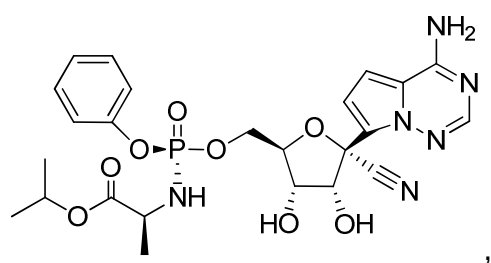
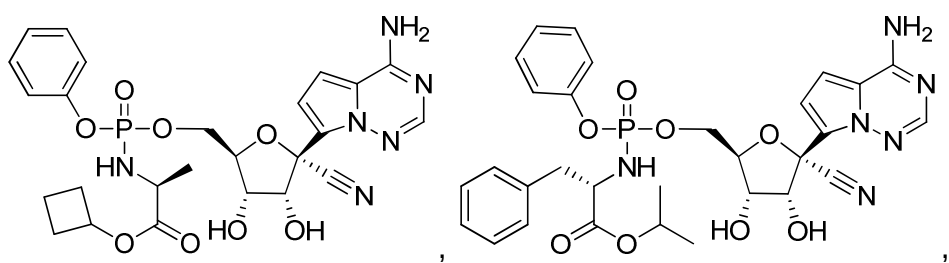
cada R se selecciona independientemente del grupo de H, alquilo (C₁-C₈), alquilo sustituido (C₁-C₈), alquenilo (C₂-C₈), (C₂-C₈) alquenilo sustituido, alquinilo (C₂-C₈), alquinilo sustituido (C₂-C₈), arilo (C₆-C₂₀), arilo sustituido (C₆-C₂₀), heterociclilo (C₂-C₂₀), heterociclilo sustituido (C₂-C₂₀), arilo (C₆-C₂₀) alquilo (C₁-C₈) o arilo (C₆-C₂₀) alquilo (C₁-C₈) sustituido;

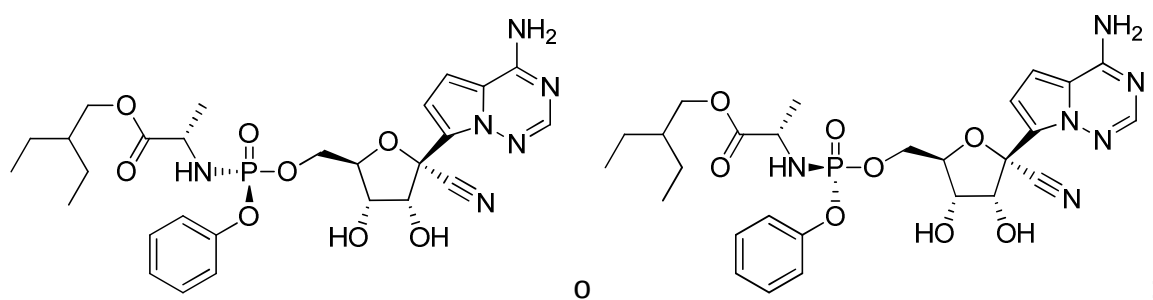
cada n es un entero independientemente seleccionado del grupo de 0, 1, o 2;
y

en donde cada alquilo (C₁-C₈), alquenilo (C₂-C₈), alquinilo (C₂-C₈) o arilo (C₆-C₂₀) alquilo (C₁-C₈) de cada R¹¹ o R¹² está, independientemente, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo de halo, hidroxilo, CN, N₃, N(R^a)₂ o OR^a; y en donde uno o más de los átomos no terminales de carbono de cada dicho alquilo (C₁-C₈) se puede reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a.

[0009] En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto que es







o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

I. DEFINICIONES

[0010] A menos que se indique de otra manera, se pretende que los siguientes términos y frases como se utilizan en el presente documento tengan los siguientes significados:

[0011] Cuando se utilizan nombres de marcas en el presente documento, los solicitantes pretenden incluir independientemente el producto de marca y el(los) ingredientes farmacéuticos activos del producto de marca.

[0012] Como se utilizan en el presente documento, "un compuesto de la invención" o "un compuesto de Fórmula IV" significa un compuesto de Fórmula IV o una sal farmacéuticamente aceptable, del mismo. Similarmente, con respecto a intermediarios aislables, la frase "un compuesto de Fórmula (número)" significa un compuesto de esa Fórmula y sales farmacéuticamente aceptables, del mismo.

[0013] "Alquilo" se refiere a un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios o terciarios. Por ejemplo, un grupo alquilo puede tener 1 a 20 átomos de carbono (es decir, alquilo C₁-C₂₀), 1 a 8 átomos de carbono (es decir, alquilo C₁-C₈), o 1 a 6 átomos de carbono (es decir, C₁-C₆ alquilo). Ejemplos de grupos alquilo apropiados incluyen, pero no están limitados a, metilo (Me, -CH₃), etilo (Et, -CH₂CH₃), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, -CH₂CH₂CH₃), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, -CH(CH₃)₂), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-metilo-1-propilo (i-Bu, i-butilo, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-metilo-2-propilo (t-Bu, t-butilo, -C(CH₃)₃), 1-pentilo (n-pentilo, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 2-metilo-2-butilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-metilo-2-butilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-metilo-1-butilo (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-metilo-1-butilo (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-hexilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-hexilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-hexilo (-

CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-metilo-2-pentilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-metilo-2-pentilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-metilo-2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-metilo-3-pentilo (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-metilo-3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-dimetilo-2-butilo (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-dimetilo-2-butilo (-CH(CH₃)C(CH₃)₃), y octilo (-CH₂)₇CH₃).

[0014] “Alcoxi” significa un grupo que tiene la Fórmula –O-alquilo, en donde un grupo alquilo, como se definió anteriormente, está unido a la molécula padre via un átomo de oxígeno. La porción alquilo de un grupo alcoxi puede tener 1 a 20 átomos de carbono (es decir, alcoxi C₁-C₂₀), 1 a 12 átomos de carbono (es decir, alcoxi C₁-C₁₂), o 1 a 6 átomos de carbono (es decir, alcoxi C₁-C₆). Ejemplos de grupos alcoxi apropiados incluyen, pero no están limitados a, metoxi (-O-CH₃ o –OMe), etoxi (-OCH₂CH₃ o -OEt), t-butoxi (-O-C(CH₃)₃ o –OtBu) y similares.

[0015] “Haloalquilo” es un grupo alquilo, como se definió anteriormente, en donde uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplazan con un átomo de halógeno. La porción alquilo de un grupo haloalquilo puede tener 1 a 20 átomos de carbono (es decir, haloalquilo C₁-C₂₀), 1 a 12 átomos de carbono (es decir, haloalquilo C₁-C₁₂), o 1 a 6 átomos de carbono (es decir, alquilo C₁-C₆). Ejemplos de grupos haloalquilo apropiados incluyen, pero no están limitados a, -CF₃, -CHF₂, -CFH₂, -CH₂CF₃, y similares.

[0016] “Alquenilo” se refiere a un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con al menos un sitio de insaturación, es decir n doble enlace carbono-carbono, sp². Por ejemplo, un grupo alquenilo puede tener 2 a 20 átomos de carbono (es decir, alquenilo C₂-C₂₀), 2 a 8 átomos de carbono (es decir, alquenilo C₂-C₈), o 2 a 6 átomos de carbono (es decir, alquenilo C₂-C₆). Ejemplos de grupos alquenilo apropiados incluyen, pero no están limitados a, etenilo, vinilo (-CH=CH₂), alilo (-CH₂CH=CH₂), y 5-hexenilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH=CH₂).

[0017] “Alquinilo” se refiere a un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con al menos un sitio de insaturación, es decir un enlace triple carbono-carbono, sp. Por ejemplo, un grupo alquinilo puede tener 2 a 20 átomos de carbono (es decir, alquinilo C₂-C₂₀), 2 a 8 átomos de carbono (es decir, alquino C₂-C₈), o 2 a 6 átomos de carbono (es decir, alquinilo C₂-C₆). Ejemplos de grupos alquinilo apropiados incluyen, pero no están limitados a, acetilénico (-C≡CH), propargil (-CH₂C≡CH), y similares.

[0018] “Alquilenno” se refiere a un radical hidrocarburo de cadena saturada, ramificada o lineal o cíclico que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la remoción de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alcano padre . Por ejemplo, un grupo alquilenno puede tener 1 a 20 átomos de carbono, 1 a 10 átomos de carbono, o 1 a 6 átomos de carbono. Radicales alquilenno típicos incluyen, pero no están limitados a, metileno ($-\text{CH}_2-$), 1,1-etilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)-$), 1,2-etilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,1-propilo ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$), 1,2-propilo ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$), 1,3-propilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,4-butilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), y similares.

[0019] “Alquenilenno” se refiere a un radical hidrocarburo de cadena insaturada, ramificada o lineal o cíclico que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la remoción de dos átomos de hidrógeno a partir del mismo o dos átomos diferentes de carbono de un alqueno padre. Por ejemplo, un grupo alquenilenno puede tener 1 a 20 átomos de carbono, 1 a 10 átomos de carbono, o 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos alquenilenno típicos incluyen, pero no están limitados a, 1,2-etileno ($-\text{CH}=\text{CH}-$).

[0020] “Alquinilenno” se refiere a un radical hidrocarburo de cadena insaturada, ramificada o lineal o cíclico que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la remoción de dos átomos de hidrógeno a partir del mismo o dos átomos diferentes de carbono de un alquino padre. Por ejemplo, un grupo alquinilenno puede tener 1 a 20 átomos de carbono, 1 a 10 átomos de carbono, o 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos alquinilenno típicos incluyen, pero no están limitados a, acetileno ($-\text{C}\equiv\text{C}-$), propargileno ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$), y 4-pentinileno ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$).

[0021] “Amino” se refiere generalmente a un radical nitrógeno que se puede considerar un derivado del amoníaco, que tiene la Fórmula $-\text{N}(\text{X})_2$, en donde cada “X” es independientemente H, alquilo sustituido o no sustituido, carbociclilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, etc. La hibridización del nitrógeno es aproximadamente sp^3 . Tipos no limitantes de amino incluyen $-\text{NH}_2$, $-\text{N}(\text{alquilo})_2$, $-\text{NH}(\text{alquilo})$, $-\text{N}(\text{carbociclilo})_2$, $-\text{NH}(\text{carbociclilo})$, $-\text{N}(\text{heterociclilo})_2$, $-\text{NH}(\text{heterociclilo})$, $-\text{N}(\text{arilo})_2$, $-\text{NH}(\text{arilo})$, $-\text{N}(\text{alquilo})(\text{arilo})$, $-\text{N}(\text{alquilo})(\text{heterociclilo})$, $-\text{N}(\text{carbociclilo})(\text{heterociclilo})$, $-\text{N}(\text{arilo})(\text{heteroarilo})$, $-\text{N}(\text{alquilo})(\text{heteroarilo})$, etc. El término “alquiloamino” se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo alquilo. Ejemplos no limitantes de grupos amino incluyen $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{NH}(\text{fenilo})$, $-\text{N}(\text{fenilo})_2$, $-\text{NH}(\text{bencilo})$, $-\text{N}(\text{bencilo})_2$, etc.

Alquilo amino sustituido se refiere generalmente a grupos alquiloamino, como se definió anteriormente, en donde al menos un alquilo sustituido, como se define en el presente documento, está unido al átomo de nitrógeno del amino. Ejemplos no limitantes de alquilo amino sustituido incluyen -NH(alquilen-C(O)-OH), -NH(alquilen-C(O)-O-alquilo), -N(alquilen-C(O)-OH)₂, -N(alquilen-C(O)-O-alquilo)₂, etc.

[0022] “Arilo” significa un radical hidrocarburo aromático derivado de la remoción de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillos aromáticos padre. Por ejemplo, un grupo arilo puede tener 6 a 20 átomos de carbono, 6 a 14 átomos de carbono, o 6 a 10 átomos de carbono. Grupos arilo típicos incluyen, pero no están limitados a, radicales derivados de benceno (p.ejm., fenilo), benceno sustituido, naftaleno, antraceno, bifenilo, y similares.

[0023] “Arilalquilo” se refiere a un radical alquilo acíclico en donde uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , se reemplazan con un radical arilo. Grupos arilalquilo típicos incluyen, pero no están limitados a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares. El grupo arilalquilo puede comprender 7 a 20 átomos de carbono, *p.ejm.*, el fragmento alquilo tiene 1 a 6 átomos de carbono y el fragmento arilo tiene 6 a 14 átomos de carbono.

[0024] “Ariloalquenilo” se refiere a un radical alquenilo acíclico en donde uno de los átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , pero también un átomo de carbono sp^2 , se reemplazan con un radical arilo. La porción arilo del ariloalquenilo puede incluir, por ejemplo, cualquiera de los grupos arilo revelados en el presente documento, y la porción alquenilo del ariloalquenilo puede incluir, por ejemplo, cualquiera de los grupos alquenilo revelados en el presente documento. El grupo ariloalquenilo grupo puede comprender 8 a 20 átomos de carbono, *p.ejm.*, el fragmento alquenilo tiene 2 a 6 átomos de carbono y el fragmento arilo tiene 6 a 14 átomos de carbono.

[0025] “Ariloalquinilo” se refiere a un radical alquinilo acíclico en donde uno de los átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , o también un átomo de carbono sp , se reemplazan con un radical arilo. La porción arilo del ariloalquinilo puede incluir, por ejemplo, cualquiera de los grupos arilo revelados en el presente documento, y la porción alquinilo del ariloalquinilo puede incluir, por ejemplo, cualquiera de los grupos alquinilo revelados

en el presente documento. El grupo ariloalquinilo puede comprender 8 a 20 átomos de carbono, *p.ejm.*, el fragmento alquinilo tiene 2 a 6 átomos de carbono y el fragmento arilo tiene 6 a 14 átomos de carbono.

[0026] El término “sustituido” en referencia a alquilo, alquilenos, arilo, arilalquilo, alcoxi, heterociclilo, heteroarilo, carbociclilo, etc. , por ejemplo, “alquilo sustituido”, “alquilenos sustituido”, “arilo sustituido”, “arilalquilo sustituido”, “heterociclilo sustituido”, y “carbociclilo sustituido” significan alquilo, alquilenos, arilo, arilalquilo, heterociclilo, carbociclilo respectivamente, en donde uno o más átomos de hidrógeno son cada uno independientemente reemplazados con un sustituyente no hidrógeno. Típicos sustituyentes incluyen, pero no están limitados a, $-X$, $-R^b$, $-O^-$, $=O$, $-OR^b$, $-SR^b$, $-S^-$, $-NR^b_2$, $-N^+R^b_3$, $=NR^b$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-NHC(=O)R^b$, $-OC(=O)R^b$, $-NHC(=O)NR^b_2$, $-S(=O)_2-$, $-S(=O)_2OH$, $-S(=O)_2R^b$, $-OS(=O)_2OR^b$, $-S(=O)_2NR^b_2$, $-S(=O)R^b$, $-OP(=O)(OR^b)_2$, $-P(=O)(OR^b)_2$, $-P(=O)(O^-)_2$, $-P(=O)(OH)_2$, $-P(O)(OR^b)(O^-)$, $-C(=O)R^b$, $-C(=O)X$, $-C(S)R^b$, $-C(O)OR^b$, $-C(O)O^-$, $-C(S)OR^b$, $-C(O)SR^b$, $-C(S)SR^b$, $-C(O)NR^b_2$, $-C(S)NR^b_2$, $-C(=NR^b)NR^b_2$, en donde cada X es independientemente un halógeno: F, Cl, Br, o I; y cada R^b es independientemente H, alquilo, arilo, arilalquilo, un heterociclo, o un grupo protector o fragmento profármaco. Los grupos alquilenos, alquilenos, y alquilenos también pueden estar sustituidos similarmente. A menos que se indique de otra manera, cuando el término "sustituido" se usa en conjunto con grupos tales como arilalquilo, que tienen dos o more fragmentos capaces de sustitución, los sustituyentes se pueden unir al fragmento arilo, el fragmento alquilo, o ambos.

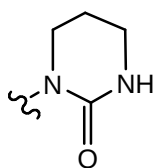
[0027] El término “profármaco” como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier compuesto que cuando se administra a un sistema biológico genera la sustancia activa, es decir, el ingrediente activo, como resultado de reacción(es) química(s) espontánea (s), reacción(es) química(s) catalizada(s) por enzima(s), fotólisis, y/o reacción(es) química(s) metabólica(s). Un profármaco es por consiguiente un análogo modificado de forma covalente o una forma latente de un compuesto terapéuticamente activo.

[0028] Una persona versada en la materia reconocerá que los sustituyentes y otros fragmentos de los compuestos de Fórmula IV se deben seleccionar con el fin de proporcionar un compuesto que es suficientemente estable para proporcionar un compuesto útil farmacéuticamente que se puede formular en una composición

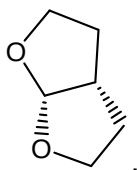
farmacéutica estable. Los compuestos de fórmula IV que tienen dicha estabilidad se consideran como dentro del alcance de la presente invención.

[0029] “Heteroalquilo” se refiere a un grupo alquilo donde uno o más átomos de carbono se han reemplazado con un heteroátomo, tal como, O, N, o S. Por ejemplo, si el átomo de carbono del grupo alquilo que está unido a la molécula padre se reemplaza con un heteroátomo (p.ejm., O, N, o S) los grupos heteroalquilo resultantes son, respectivamente, un grupo alcoxi (p.ejm., -OCH₃, etc.), una amina (p.ejm., -NHCH₃, -N(CH₃)₂, etc.), o un grupo tioalquilo (p.ejm., -SCH₃). Si un átomo no terminal de carbono del grupo alquilo que no está unido a la molécula padre se reemplaza con un heteroátomo (p.ejm., O, N, o S) los grupos heteroalquilo resultantes son, respectivamente, un alquiléter (p.ejm., -CH₂CH₂-O-CH₃, etc.), una alquilamina (p.ejm., -CH₂NHCH₃, -CH₂N(CH₃)₂, etc.), o un tioalquil éter (p.ejm., -CH₂-S-CH₃). Si un átomo de carbono terminal del grupo alquilo se reemplaza con un heteroátomo (p.ejm., O, N, o S), los grupos heteroalquilo resultantes son, respectivamente, un grupo hidroxialquilo (p.ejm., -CH₂CH₂-OH), un grupo aminoalquilo (p.ejm., -CH₂NH₂), o un grupo alquil tiol (p.ejm., -CH₂CH₂-SH). Un grupo heteroalquilo puede tener, por ejemplo, 1 a 20 átomos de carbono, 1 a 10 átomos de carbono, o 1 a 6 átomos de carbono. Un grupo heteroalquilo C₁-C₆ significa un grupo heteroalquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono.

[0030] “Heterociclo” o “heterociclilo” como se utilizan en el presente documento incluye a manera de ejemplo y no limitación aquellos heterociclos descritos in Paquette, Leo A.; Principles of Modern Heterocyclic Chemistry (W.A. Benjamin, New York, 1968), particularmente Capítulos 1, 3, 4, 6, 7, y 9; The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A Series of Monographs” (John Wiley & Sons, New York, 1950 al presente), en particular Volúmenes 13, 14, 16, 19, y 28; y *J. Am. Chem. Soc.* (1960) 82:5566. En una realización específica de la invención “heterociclo” incluye un “carbociclo” como se define en el presente documento, en donde uno o más (p.ejm. 1, 2, 3, o 4) átomos de carbono se han reemplazado con un heteroátomo (p.ejm. O, N, o S). Los términos “heterociclo” o “heterociclilo” incluyen anillos saturados, anillos parcialmente insaturados, y anillos aromáticos (es decir, anillos heteroaromáticos). Heterociclilos sustituidos incluyen, por ejemplo, anillos heterocíclicos sustituidos con cualquiera de los sustituyentes revelados en el presente documento incluyendo grupos carbonilo. Un ejemplo no limitante de un heterociclilo carbonilo sustituido es:



[0031] Ejemplos de heterociclos incluyen a manera de ejemplo y no limitación piridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tiazolilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiofenilo oxidado con azufre, pirimidinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, tianaftalenilo, indolilo, indolenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzimidazolilo, piperidinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, 2-pirrolidonilo, pirrolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, octahidroisoquinolinilo, azocinilo, triazinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, tienilo, tiantrenilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatinilo, 2H-pirrolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, pirazinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3H-indolilo, 1H-indazolilo, purinilo, 4H-quinolizinilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, pteridinilo, 4aH-carbazolilo, carbazolilo, β -carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, pirimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, fenoxazinilo, isocromanilo, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, piperazinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, morfolinilo, oxazolidinilo, benzotriazolilo, benzisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo, isatinoilo, y bis-tetrahidrofuranilo:



[0032] A manera de ejemplo y no limitación, los heterociclos unidos por carbono se enlazan en la posición 2, 3, 4, 5, o 6 de una piridina, posición 3, 4, 5, o 6 de una piridazina, posición 2, 4, 5, o 6 de una pirimidina, posición 2, 3, 5, o 6 de una pirazina, posición 2, 3, 4, o 5 de un furano, tetrahidrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, posición 2, 4, o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, posición 3, 4, o 5 de un isoxazol, pirazol, o isotiazol, posición 2 o 3 de una aziridina, posición 2, 3, o 4 de una azetidina, posición 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 de una quinolina o posición 1, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 de una isoquinolina. Todavía más típicamente, los heterociclos unidos por carbono incluyen 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, 6-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 5-piridazinilo, 6-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 6-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 5-pirazinilo, 6-pirazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, o 5-tiazolilo.

[0033] A manera de ejemplo y no limitación, los heterociclos enlazados por nitrógeno se enlazan en la posición 1 de una aziridina, azetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, 1H-indazol, posición 2 de un isoindol, o isoindolina, posición 4 de una morfolina, y posición 9 de un carbazol, o β -carbolina. Todavía más típicamente, los heterociclos enlazados por nitrógeno incluyen 1-aziridilo, 1-azeteditilo, 1-pirrolilo, 1-imidazolilo, 1-pirazolilo, y 1-piperidinilo.

[0034] “Heterocicliloalquilo” se refiere a un radical alquilo acíclico en donde uno de los átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , se reemplaza con un radical heterociclilo (es decir, un fragmento heterociclilo-alquileno-). grupos alquilo heterociclilo típicos incluyen, pero no están limitados a heterociclilo-CH₂-, 2-(heterociclilo)etan-1-ilo, y similares, en donde la porción “heterociclilo” incluye cualquiera de los grupos heterociclilo descritos anteriormente, incluyendo aquellos descritos en Principles of Modern Heterocyclic Chemistry. Una persona versada en la materia también entenderá que el grupo heterociclilo se puede unir a la porción alquilo del alquilo heterociclilo mediante un enlace carbono-carbono o un enlace carbono-heteroátomo, con la condición de que el grupo resultante sea químicamente estable. El grupo alquilo heterociclilo comprende 3 a 20 átomos de carbono, p.ejm., la porción alquilo del grupo arilalquilo tiene 1 a 6 átomos de carbono y el fragmento heterociclilo tiene 2 a 14 átomos de carbono. Ejemplos de heterociclilalquilos incluyen a manera de ejemplo y no limitación heterociclos de 5-miembros que contienen azufre, oxígeno, y/o nitrógeno tales como tiazolilometilo, 2-tiazoliloetan-1-ilo, imidazolilometilo, oxazolilometilo, tiadiazolilometilo, etc., heterociclos de 5-miembros que contienen azufre, oxígeno, y/o nitrógeno tales como piperidinilometilo, piperazinilometilo, morfolinilometilo, piridinilometilo, piridizilometilo, pirimidilometilo, pirazinilometilo, etc.

[0035] “Heterocicliloalquenilo” se refiere a un radical alquenilo acíclico en donde uno de los átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , pero también un átomo de carbono sp^2 , se reemplazan con un radical heterociclilo (es decir, un fragmento heterociclilo-alquenileno-). La porción heterociclilo del grupo heterociclilo alquenilo incluye cualquiera de los grupos heterociclilo descritos en el presente documento, incluyendo aquellos descritos en Principles of Modern Heterocyclic Chemistry, y la porción alquenilo del grupo heterociclilo alquenilo incluye cualquiera de los grupos

alquenilo revelados en el presente documento. una persona versada en la materia también entenderá que el grupo heterociclilo se puede unir a la porción alquenilo del heterociclilo alquenilo mediante un enlace carbono-carbono o un enlace carbono-heteroátomo, con la condición de que el grupo resultante es químicamente estable. El grupo heterociclilo alquenilo comprende 4 a 20 átomos de carbono, p.ejm., la porción alquenilo del grupo heterociclilo alquenilo tiene 2 a 6 átomos de carbono y el fragmento heterociclilo tiene 2 a 14 átomos de carbono.

[0036] “Heterocicliloalquinilo” se refiere a un radical acíclico alquinilo en donde uno de los átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o sp^3 , o también un átomo de carbono sp , se reemplaza con un radical heterociclilo (es decir, un fragmento heterociclilo-alquinileno-). la porción heterociclilo del grupo heterociclilo alquinilo incluye cualquiera de los grupos heterociclilo descritos en el presente documento, incluyendo aquellos descritos en Principles of Modern Heterocyclic Chemistry, y la porción alquinilo del grupo heterociclilo alquinilo incluye cualquiera de los grupos alquinilo revelados en el presente documento. Una persona versada en la materia también entenderá que el grupo heterociclilo se puede unir a la porción alquinilo del heterociclilo alquinilo mediante un enlace carbono-carbono o un enlace carbono-heteroátomo, con la condición de que el grupo resultante es químicamente estable. El grupo heterociclilo alquinilo comprende 4 a 20 átomos de carbono, p.ejm., la porción alquinilo del grupo heterociclilo alquinilo tiene 2 a 6 átomos de carbono y el fragmento heterociclilo tiene 2 a 14 átomos de carbono.

[0037] “Heteroarilo” se refiere a un heterociclilo aromático que tiene al menos un heteroátomo en el anillo. Ejemplos no limitantes de heteroátomos apropiados que se pueden incluir en el anillo aromático incluyen oxígeno, azufre, y nitrógeno. Ejemplos no limitantes de anillos heteroarilo incluyen todos aquellos anillos aromáticos listados en la definición de “heterociclilo”, incluyendo piridinilo, pirrolilo, oxazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, furanoilo, tienilo, benzofuranoilo, benzotiofenilo, carbazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, piridazilo, pirimidilo, pirazilo, etc.

[0038] “Carbociclo” o “carbociclilo” se refiere a un anillo saturado (es decir, cicloalquilo), parcialmente insaturado (p.ejm., cicloalquenilo, cicloalcadienilo, etc.) o aromático que tiene 3 a 7 átomos de carbono como un monociclo, 7 a 12 átomos de carbono como un biciclo, y hasta alrededor de 20 átomos de carbono como un policiclo. carbociclos monocíclicos tienen 3 a 7 átomos de anillo, todavía más

típicamente 5 o 6 átomos de anillo. Carbociclos bicíclicos tienen 7 a 12 átomos de anillo, p.ejm., arreglados como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], o 9 o 10 átomos de anillo arreglados como un sistema biciclo [5,6] o [6,6], o anillos espiro fusionados. Ejemplos no limitantes de carbociclos monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, y fenilo. Ejemplos no limitantes de biciclo carbociclos incluyen naftilo, tetrahidronaftaleno, y decalina.

[0039] “Carbociclilalquilo” se refiere a un radical alquilo acíclico en donde uno de los átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de carbono se reemplaza con un radical carbociclilo como se describe en el presente documento. Ejemplos Típicos, pero no limitantes, de grupos carbociclilalquilo incluyen ciclopropilometilo, ciclopropiloetilo, ciclobutilometilo, ciclopentilometilo y ciclohexilometilo.

[0040] “Heteroarilo alquilo” se refiere a un heteroalquilo como se define en el presente documento, en donde un átomo de hidrógeno (que puede estar unido ya sea a un átomo de carbono o un heteroátomo) se ha reemplazado con un grupo arilo como se define en el presente documento. los grupos arilo pueden estar enlazados a un átomo de carbono del grupo heteroalquilo, o a un heteroátomo del grupo heteroalquilo, provisto que el grupo arilo heteroalquilo resultante proporcione un fragmento químicamente estable. Por ejemplo, un grupo arilo heteroalquilo puede tener las Fórmulas generales -alquilen-O-arilo, -alquilen-O-alquilen-arilo, -alquilen-NH-arilo, -alquilen-NH-alquilen-arilo, -alquilen-S-arilo, -alquilen-S-alquilen-arilo, etc. adicionalmente, cualquiera de los fragmentos alquilen en las Fórmulas generales anteriores se puede sustituir adicionalmente con cualquiera de los sustituyentes definidos o ejemplificados en el presente documento..

[0041] “Heteroarilalquilo” se refiere a un grupo alquilo, como se define en el presente documento, en donde un átomo de hidrógeno se ha reemplazado con un grupo heteroarilo como se define en el presente documento. Ejemplos no limitantes de heteroarilo alquilo incluyen -CH₂-piridinilo, -CH₂-pirrolilo, -CH₂-oxazolilo, -CH₂-indolilo, -CH₂-isoindolilo, -CH₂-purinilo, -CH₂-furanoilo, -CH₂-tienilo, -CH₂-benzofuranoilo, -CH₂-benzotiofenilo, -CH₂-carbazolilo, -CH₂-imidazolilo, -CH₂-tiazolilo, -CH₂-isoxazolilo, -CH₂-pirazolilo, -CH₂-isotiazolilo, -CH₂-quinolilo, -CH₂-isoquinolilo, -CH₂-piridazilo, -CH₂-pirimidilo, -CH₂-pirazilo, -CH(CH₃)-piridinilo, -CH(CH₃)-pirrolilo, -CH(CH₃)-oxazolilo, -CH(CH₃)-indolilo, -CH(CH₃)-isoindolilo, -

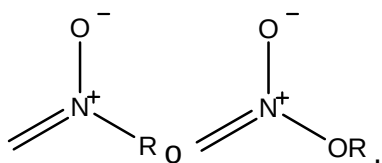
CH(CH₃)-purinilo, -CH(CH₃)-furanoilo, -CH(CH₃)-tienilo, -CH(CH₃)-benzofuranoilo, -CH(CH₃)-benzotiofenilo, -CH(CH₃)-carbazolilo, -CH(CH₃)-imidazolilo, -CH(CH₃)-tiazolilo, -CH(CH₃)-isoxazolilo, -CH(CH₃)-pirazolilo, -CH(CH₃)-isotiazolilo, -CH(CH₃)-quinolilo, -CH(CH₃)-isoquinolilo, -CH(CH₃)-piridazilo, -CH(CH₃)-pirimidilo, -CH(CH₃)-pirazilo, etc.

[0042] El término “opcionalmente sustituido” en referencia a un fragmento particular del compuesto de Fórmula IV (p.ejm., un grupo arilo opcionalmente sustituido) se refiere a un fragmento en donde todos los sustituyentes son hidrógeno o en donde uno o más de los hidrógenos del fragmento se puede reemplazar con sustituyentes tales como aquellos listados bajo la definición de “sustituido”.

[0043] El término “reemplazado opcionalmente” en referencia a un fragmento particular del compuesto de Fórmula IV (p.ejm., los átomos de carbono de dicho alquilo (C1-C8) se pueden reemplazar opcionalmente con -O-, -S-, o -NRa-) significa que uno o más de los grupos metileno del alquilo(C1-C8) se pueden reemplazar con 0, 1, 2, o más de los grupos especificados (p.ejm., -O-, -S-, o -NRa-).

[0044] El término “átomo(s) de carbono no terminal(es)” en referencia a un fragmento alquilo, alqueno, alquino, alquileo, alquenileo, o alquinileo se refiere a los átomos de carbono en el fragmento que interviene entre el primer átomo de carbono del fragmento y el último átomo de carbono en el fragmento. Por lo tanto, a manera de ejemplo y no limitación, en el fragmento alquilo -CH₂(C*)H₂(C*)H₂CH₃ o fragmento alquileo -CH₂(C*)H₂(C*)H₂CH₂- los átomos de C* se considerarían como los átomos de carbono no terminales..

[0045] Ciertas alternativas Q y Q1 son óxidos de nitrógeno tal como +N(O)(R) o +N(O)(O). estos óxidos de nitrógeno, como se muestra aquí unidos a un átomo de carbono, también se pueden representar mediante grupos de carga separada tales como



respectivamente, se pretende que sean equivalentes a las representaciones mencionadas anteriormente para los propósitos de describir esta invención.

[0046] "Enlazante" o "enlace" significa un fragmento químico que comprende un enlace covalente o una cadena de átomos. Enlazantes incluyen unidades repetidas de alquiloxi (p.ejm. polietilenoxi, PEG, polimetilenoxi) y alquilamino (p.ejm. polietilenamino, Jeffamine(TM)); y éster diácido y amidas incluyendo succinato, succinamida, diglicolato, malonato, y caproamida..

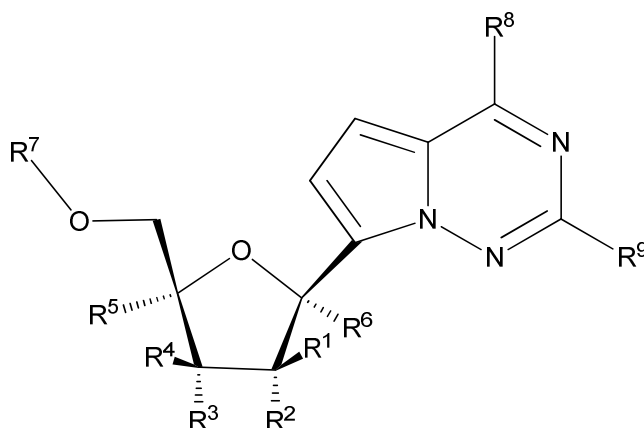
[0047] Los términos tales como "enlazado a oxígeno", "enlazado a nitrógeno", "enlazado a carbono", "enlazado a azufre", o "enlazado a fósforo" significan que si un enlace entre dos fragmentos se puede formar utilizando más de un tipo de átomo en un fragmento, entonces el enlace formado entre los fragmentos se da a través del átomo especificado. Por ejemplo, un aminoácido enlazado a nitrógeno estará enlazado a través de un átomo de nitrógeno del aminoácido en vez de a un átomo de oxígeno o átomo de carbono del aminoácido.

[0048] En algunas realizaciones de los compuestos de fórmula IV, uno o más de Z1 o Z2 son independientemente un radical de un éster de aminoácido enlazado a nitrógeno de ocurrencia natural. Ejemplos de aminoácidos de ocurrencia natural incluyen isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, selenocisteína, serina, tirosina, arginina, histidina, ornitina y taurina. Los ésteres de estos aminoácidos comprenden cualquier de aquellos descritos para el sustituyente R, particularmente aquellos en donde R es alquilo(C1-C8) opcionalmente sustituido.

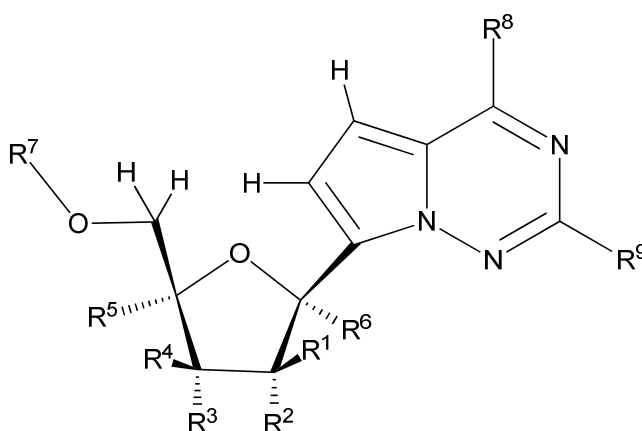
[0049] El término base "purina" o "pirimidina" comprende, pero no está limitado a, adenina, N⁶-alquilpurinas, N⁶-acilpurinas (en donde acil es C(O)(alquilo, arilo, alquiloarilo, o arilalquilo), N⁶-bencilpurina, N⁶-halopurina, N⁶-vinilpurina, purina N⁶-acetilénica, N⁶-acil purina, N⁶-hidroxialquil purina, N⁶-alilaminopurina, N⁶-tioalil purina, N²-alquilpurinas, N²-alquilo-6-tiopurinas, timina, citosina, 5-fluorocitosina, 5-metilcitosina, 6-azapirimidina, incluyendo 6-azacitosina, 2- y/o 4-mercaptopirimidina, uracilo, 5-halouracilo, incluyendo 5-fluorouracilo, C⁵-alquilopirimidinas, C⁵-bencilopirimidinas, C⁵-halopirimidinas, C⁵-vinilopirimidina, pirimidina C⁵-acetilénica, C⁵-acil pirimidina, C⁵-hidroxialquil purina, C⁵-amidopirimidina, C⁵-cianopirimidina, C⁵-5-yodopirimidina, C⁶-yodo-pirimidina, C⁵-Br-vinilo pirimidina, C⁶-Br-vinilo pirimidina, C⁵-nitropirimidina, C⁵-amino-pirimidina, N²-alquilpurinas, N²-alquilo-6-tiopurinas, 5-azacitidinilo, 5-azauracililo, triazolopiridinilo, imidazolopiridinilo, pirrolopirimidinilo, y pirazolopirimidinilo. Bases Purina incluyen, pero no están limitadas a, guanina, adenina, hipoxantina, 2,6-diaminopurina, y 6-cloropurina. Las bases purina y

pirimidina están enlazadas al azúcar ribosa, o un análogo del mismo, a través de un átomo de nitrógeno de la base. Los grupos oxígeno y nitrógeno en la base se pueden proteger según sea necesario o deseado. Grupos protectores apropiados son bien conocidos por aquellos versados en la materia e incluyen trimetilsilil, dimetilhexilsilil, t-butildimetilsilil, y t-butilodifenilsilil, tritil, grupos alquilo, y grupos acilo tales como acetilo y propionilo, metanosulfonilo, y p-toluensulfonilo.

[0050] A menos que se indique de otra manera, se pretende que los átomos de carbono de los compuestos de fórmula IV tengan una valencia de cuatro. En algunas representaciones de estructura química donde los átomos de carbono no tienen un número suficiente de variables unidas para producir una valencia de cuatro, se asume que los sustituyentes de carbono remanentes necesarios para proporcionar una valencia de cuatro son hidrógeno. Por ejemplo,



tiene el mismo significado que



[0051] “Grupo protector” se refiere a un fragmento de un compuesto que enmascara o altera las propiedades de un grupo funcional o las propiedades del compuesto en conjunto. La estructura química de un grupo protector varía ampliamente. Una función de un grupo protector es servir como intermediario en la

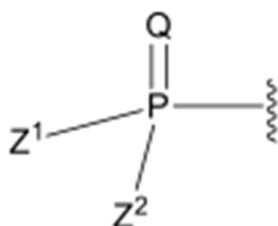
síntesis de la sustancia activa parental. Grupos de protección química y estrategias para la protección / desprotección son bien conocidos en la técnica. Véase: "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora W. Greene (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Véase también *Protective Groups in Organic Chemistry*, Peter G. M. Wuts y Theodora W. Greene, 4th Ed., 2006. Los grupos protectores se utilizan a menudo para enmascarar la reactividad de ciertos grupos funcionales, para ayudar en la eficiencia de las reacciones químicas deseadas, por ejemplo, hacer y romper los enlaces químicos de una manera ordenada y planificada. La protección de los grupos funcionales de un compuesto altera otras propiedades físicas además de la reactividad del grupo funcional protegido,, tales como la polaridad, lipofilicidad (hidrofobicidad), y otras propiedades que se pueden medir con herramientas analíticas comunes. Los intermediarios químicamente protegidos pueden ser ellos mismos biológicamente activos o inactivos. "grupos protectores Hidroxi" se refiere a aquellos grupos protectores útiles para proteger grupos hidroxilo (-OH).

[0052] Los compuestos protegidos también pueden exhibir propiedades alteradas, y en algunos casos, *in vitro* e *in vivo*, tales como el paso a través de las membranas celulares y resistencia a la degradación o el secuestro enzimático. En este papel, los compuestos protegidos con destinados efectos terapéuticos pueden ser referidos como profármacos. Otra función de un protector grupo es convertir el fármaco parental en un profármaco, por lo que el fármaco parental se libera por conversión del profármaco *in vivo*. Debido a que los profármacos activos pueden ser absorbidos más eficazmente que el fármaco parental, los profármacos pueden poseer mayor potencia *in vivo* que el fármaco parental. Los grupos protectores se eliminan ya sea *in vitro*, en el caso de intermediarios químicos, o *in vivo*, en el caso de profármacos. Con intermediarios químicos, no es particularmente importante que los productos resultantes después de la desprotección, por ejemplo, alcoholes, sean fisiológicamente aceptables, aunque en general es más deseable si los productos son farmacológicamente inocuos.

[0053] El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no-superponibilidad de la pareja de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles en su imagen especular.

[0054] El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen constitución química idéntica, pero que difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

[0055] "Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares una de la otra. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales, reactividades y propiedades biológicas. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula IV pueden tener un átomo de fósforo quiral cuando R^7 es



y Z^1 y Z^2 son diferentes. Cuando al menos uno de cualquiera de Z^1 o Z^2 también tiene un centro quiral, por ejemplo, con Z^1 o Z^2 es un a-éster de aminoácido unido por nitrógeno, quiral, que ocurre naturalmente, a continuación, el compuesto de Fórmula IV existirá como diastereómeros, porque hay dos centros de quiralidad en la molécula. Todos los dichos diastereómeros y sus usos descritos en este documento están abarcados por la presente invención. Las mezclas de diastereómeros se pueden separar bajo procedimientos analíticos de alta resolución tales como electroforesis, cristalización y/o cromatografía. Los diastereómeros pueden tener diferentes atributos físicos tales como, pero no limitados a, solubilidad, estabilidades químicas y cristalinidad y también pueden tener diferentes propiedades biológicas tales como, pero no limitadas a, estabilidad enzimática, absorción y estabilidad metabólica.

[0056] "Enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superponibles entre sí.

[0057] El modificador "*alrededor de*" utilizado en relación con una cantidad incluye el valor declarado y tiene el significado dictado por el contexto (por ejemplo, incluye el grado de error asociado con la medición de la cantidad particular).

[0058] El término "tratar", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, significa revertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir el trastorno o afección al que se aplica dicho término, o uno o más síntomas de tal trastorno o afección. El término "tratamiento", como se usa aquí, se refiere al acto de tratar, siendo "tratar" como se define inmediatamente antes.

[0059] El término "cantidad terapéuticamente efectiva", como se usa en el presente documento, es la cantidad de compuesto de Fórmula IV presente en una composición descrita en este documento que se necesita para proporcionar un nivel deseado de fármaco en las secreciones y tejidos de las vías respiratorias y los pulmones, o alternativamente, en el torrente sanguíneo de un sujeto a tratar para dar una respuesta fisiológica anticipada o efecto biológico deseado cuando dicha composición se administra por la vía de administración elegida. La cantidad precisa dependerá de numerosos factores, por ejemplo el compuesto particular de la fórmula IV, la actividad específica de la composición, el dispositivo de administración empleado, las características físicas de la composición, su uso previsto, así como las consideraciones del paciente, tales como la gravedad del estado de enfermedad, la cooperación del paciente, etc., y puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica basándose en la información proporcionada en el presente documento.

[0060] El término "solución salina normal" significa una solución de agua que contiene 0,9% (p/v) de NaCl .

[0061] El término "solución salina hipertónica" significa una solución de agua que contiene más de 0,9% (p/v) de NaCl. Por ejemplo, 3% de solución salina hipertónica contendría 3% (p/v) de NaCl.

[0062] "Formar una mezcla de reacción" se refiere al proceso de poner en contacto al menos dos especies distintas de tal manera que se mezclan juntas y pueden reaccionar. Se debe apreciar, sin embargo, el producto de reacción resultante puede ser producido directamente a partir de una reacción entre los reactivos añadidos o a partir de un intermediario de uno o más de los reactivos añadidos que se pueden producir en la mezcla de reacción.

[0063] "Agente de acoplamiento" se refiere a un agente capaz de acoplar dos compuestos diferentes. Los agentes de acoplamiento pueden ser catalíticos o estequiométricos. Por ejemplo, los agentes de acoplamiento pueden ser un agente de acoplamiento a base de litio o un agente de acoplamiento a base de magnesio tal como un reactivo de Grignard. Agentes de acoplamiento ejemplares incluyen, pero no se limitan a, n-BuLi, MgCl₂, iPrMgCl, tBuMgCl, PhMgCl o combinaciones de los mismos.

[0064] "Silano" se refiere a un silicio que contiene un grupo que tiene la fórmula SiR₄, donde cada grupo R puede ser alquilo, alquenilo, cicloalquilo, fenilo, u otros

grupos que contienen silicio. Cuando el silano está enlazado a otro compuesto, el silano se refiere como "sililo" y tiene la fórmula $-\text{SiR}_3$.

[0065] "Halo-silano" se refiere a un silano que tiene al menos un grupo halógeno unido al átomo de silicio. Halo-silanos representativos tienen la fórmula halo- SiR_3 , donde cada grupo R puede ser alquilo, alquenilo, cicloalquilo, fenilo, u otros grupos que contienen silicio. Halo-silanos específicos incluyen $\text{Cl-Si}(\text{CH}_3)_3$, y $\text{Cl-Si}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{-Cl}$.

[0066] "Baseno nucleofílica" se refiere a un donante de electrones, una base de Lewis, tales como bases nitrogenadas incluyendo trietilamina, diisopropiletilamina, N, N-dietilanilina, piridina, 2,6-lutidina, 2,4,6-colidina, 4-dimetilaminopiridina, y quinuclidina.

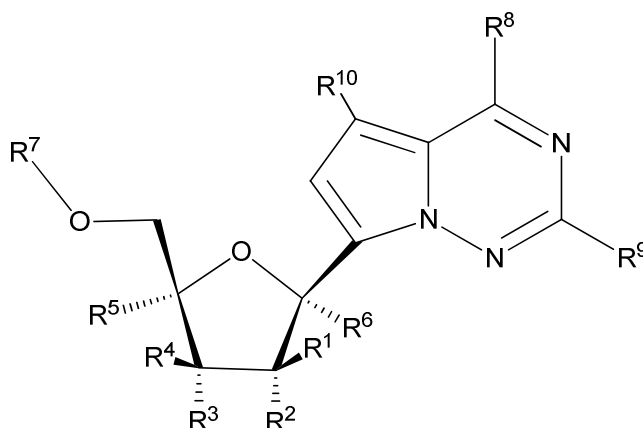
[0067] "Grupo saliente" se refiere a grupos que mantienen el par de electrones de unión durante la escisión del enlace heterolítico. Por ejemplo, un grupo saliente es desplazado fácilmente durante una reacción de desplazamiento nucleófilo. Los grupos salientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, cloruro, bromuro, mesilato, tosilato, triflato, 4-nitrobenzenosulfonato, 4-clorobenzenosulfonato, 4-nitrofenoxi, pentafluorofenoxi, etc. Un experto en la técnica reconocerá otros grupos salientes útiles en la presente invención.

[0068] "Agente de desprotección" se refiere a cualquier agente capaz de remover un grupo protector. El agente de desprotección dependerá del tipo de grupo protector utilizado. Agentes de desprotección representativos se conocen en la técnica y se pueden encontrar en *Protective Groups in Organic Chemistry*, Peter GM Wuts y Theodora W. Greene, 4^a ed., 2006.

II. COMPUESTOS DE LA PRESENTE INVENCION

[0069] Se hará ahora referencia en detalle a ciertas realizaciones de la invención, cuyos ejemplos se ilustran en la descripción, las estructuras y fórmulas adjuntas. Aunque la invención se describirá en conjunto con las realizaciones enumeradas, se entenderá que no se pretende limitar la invención a esas realizaciones. Por el contrario, la invención pretende cubrir todas las alternativas, modificaciones y equivalentes, que pueden incluirse dentro del alcance de la presente invención.

[0070] Se provee un método para tratar una infección por *Filoviridae* en un humano en necesidad del mismo que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente estable, del mismo;

en donde:

cada R^1 es H o halógeno;

cada R^2 , R^3 , R^4 o R^5 es independientemente H, OR^a , $N(R^a)_2$, N_3 , CN, NO_2 , $S(O)_nR^a$, halógeno, alquilo (C_1-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), alquilo (C_1-C_8) sustituido, alquenilo (C_2-C_8), alquenilo (C_2-C_8) sustituido, alquinilo (C_2-C_8) o alquinilo (C_2-C_8) sustituido;

en donde

cada R^a es independientemente H, alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), arilalquilo (C_1-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), $-C(=O)R$, $-C(=O)O$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(O)$, $-S(O)_2(O)$, o $-SO_2NR_2$;

cada R es independientemente H, alquilo (C_1-C_8), alquilo (C_1-C_8) sustituido, alquenilo (C_2-C_8), alquenilo (C_2-C_8) sustituido, alquinilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8) sustituido, arilo C_6-C_{20} , arilo C_6-C_{20} sustituido, heterociclilo C_2-C_{20} , heterociclilo C_2-C_{20} sustituido, arilalquilo o arilalquilo sustituido;

o cualesquiera dos R^2 , R^3 , R^4 o R^5 sobre átomos de carbono adyacentes cuando se toman juntos son $-O(CO)O-$ o cuando se toman juntos con los átomos de carbono del anillo al que están unidos forman un doble enlace;

R^6 es OR^a , $N(R^a)_2$, N_3 , CN, NO_2 , $S(O)_nR^a$, $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, -

$S(O)_2(OR^{11})$, $-SO_2NR^{11}R^{12}$, halógeno, alquilo (C_1-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), alquilo (C_1-C_8) sustituido, alqueno (C_2-C_8), alqueno (C_2-C_8) sustituido, alquino (C_2-C_8), alquino (C_2-C_8) sustituido, o arilo alquilo (C_1-C_8);

en donde

cada R^{11} o R^{12} es independientemente H, alquilo (C_1-C_8), alqueno (C_2-C_8), alquino (C_2-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), opcionalmente sustituido arilo, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-C(=O)$ alquilo (C_1-C_8), $-S(O)_n$ alquilo (C_1-C_8) o arilo alquilo (C_1-C_8); o R^{11} y R^{12} tomados juntos con un nitrógeno al que están ambos unidos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en donde cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico se puede reemplazar opcionalmente con $-O-$, $-S-$ o $-NR^a$;

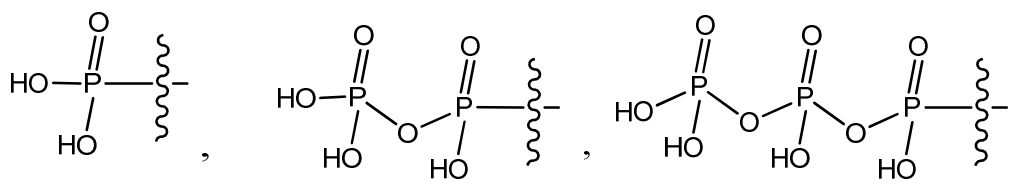
cada n es independientemente 0, 1, o 2;

R^7 se selecciona de un grupo que consiste en

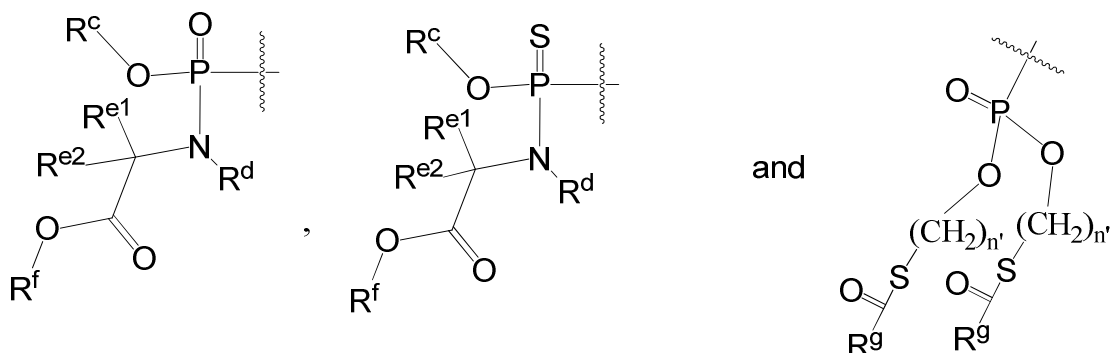
- a) H, $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, o $-SO_2NR^{11}R^{12}$,

en donde cada alquilo (C_1-C_8), alqueno (C_2-C_8), alquino (C_2-C_8) o arilo alquilo (C_1-C_8) de cada R^{11} o R^{12} está, independientemente, opcionalmente sustituido con uno o más halo, hidroxilo, CN, N_3 , $N(R^a)_2$ o OR^a ; y en donde uno o más de los átomos no terminales de carbono de cada dicho alquilo (C_1-C_8) se puede reemplazar opcionalmente con $-O-$, $-S-$ o $-NR^a$, y

b)

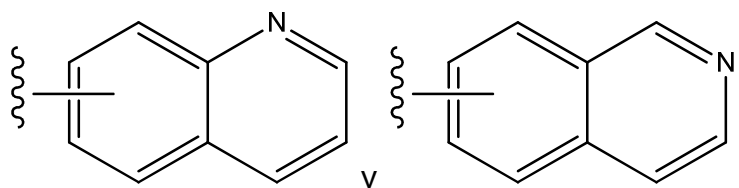


c) un grupo seleccionado de:



en donde:

R^c se selecciona de fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo,



R^d es H o CH_3 ;

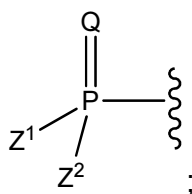
R^{e1} y R^{e2} son cada independientemente H, alquilo C_1-C_6 o bencilo;

R^f se selecciona de H, alquilo C_1-C_8 , bencilo, cicloalquilo C_3-C_6 , y $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 ;

R^g se selecciona de alquilo C_1-C_8 , $-O-$ alquilo C_1-C_8 , bencilo, $-O-$ bencilo, $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 , $-O-CH_2-C_3-C_6$ cicloalquilo, y CF_3 ; y

n' se selecciona de 1, 2, 3, y 4; y

d) un grupo de Fórmula:



en donde

Q es O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(O)$, $^+N(O)(O)$, o $N-NR_2$;

Z^1 y Z^2 , cuando se toman juntos, son $-Q^1(C(R^y)_2)_3Q^1-$;

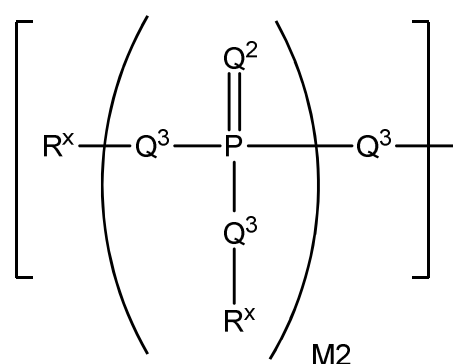
en donde

cada Q^1 es independientemente O, S, o NR; y

cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, OH, R, $-C(=Q^2)R$, $-C(=Q^2)O$, $-C(=Q^2)N(R)_2$, $-N(R)_2$, $^+N(R)_3$, $-SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(O)$, $-S(O)_2(O)$, $-OC(=Q^1)R$, $-OC(=Q^2)O$, $-OC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-SC(=Q^2)R$, $-SC(=Q^2)O$, $-SC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-N(R)C(=Q^2)R$, $-N(R)C(=Q^2)O$, $-N(R)C(=Q^2)N(R)_2$, $-SO_2NR_2$, $-CN$, $-N_3$, $-NO_2$, $-O$, o Z^3 ; o cuando se toman juntos, dos R^y sobre el mismo átomo de carbono forman un anillo carbocíclico de 3 a 7 átomos de carbono;

cada Q^2 es independientemente, O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(O)$, $^+N(O)(O)$, o $N-NR_2$; o

Z^1 y Z^2 son cada, independientemente, un grupo de Fórmula Ia:



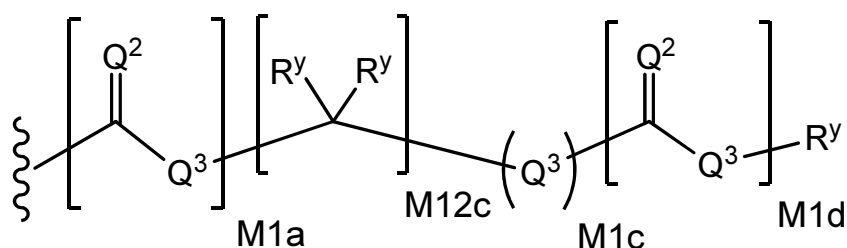
Fórmula Ia

en donde:

cada Q^3 es independientemente un enlace, O, CR_2 , NR, $^+N(O)(R)$, $N(O)$, $^+N(O)(O)$, $N-NR_2$, S, S-S, S(O), o S(O)₂;

M2 es 0, 1 o 2;

cada R^x es independientemente R^y o la Fórmula:



en donde:

cada M1a, M1c, y M1d es independientemente 0 o 1;

M12c es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

Z^3 es Z^4 o Z^5 ;

Z^4 es R, $-C(Q^2)R^y$, $-C(Q^2)Z^5$, $-SO_2R^y$, o $-SO_2Z^5$; y

Z^5 es un carbociclo o un heterociclo en donde Z^5 está sustituido independientemente con 0 a 3 grupos R^y ;

cada R^8 es halógeno, $NR^{11}R^{12}$, $N(R^{11})OR^{11}$, $NR^{11}NR^{11}R^{12}$, N_3 , NO, NO_2 , CHO, CN,

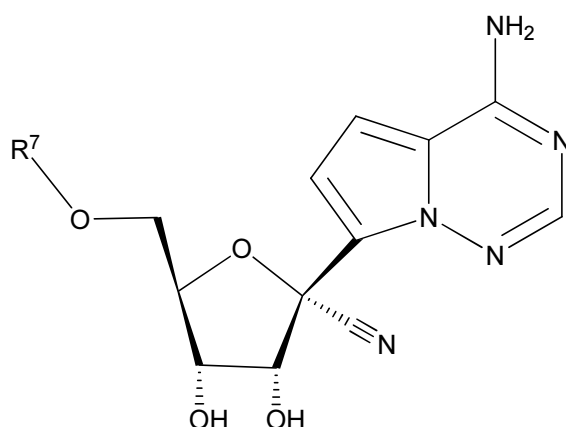
$CH(=NR^{11})$, $-CH=NNHR^{11}$, $-CH=N(OR^{11})$, $-CH(OR^{11})_2$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=S)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)OR^{11}$, alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), opcionalmente sustituido arilo, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-C(=O)$ alquilo (C_1-C_8), $-S(O)_n$ alquilo (C_1-C_8), arilo alquilo (C_1-C_8), OR^{11} o SR^{11} ;

cada R^9 o R^{10} es independientemente H, halógeno, $NR^{11}R^{12}$, $N(R^{11})OR^{11}$, $NR^{11}NR^{11}R^{12}$, N_3 , NO, NO_2 , CHO, CN,

$\text{CH}(\text{=NR}^{11})$, $-\text{CH}=\text{NHN}^{11}$, $-\text{CH}=\text{N}(\text{OR}^{11})$, $-\text{CH}(\text{OR}^{11})_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{11}$, R^{11} , OR^{11} o SR^{11} , y

en donde cada alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$), alqueno ($\text{C}_2\text{-C}_8$), alquino ($\text{C}_2\text{-C}_8$) o arilalquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) de cada R^2 , R^3 , R^5 , o R^6 está, independientemente, opcionalmente sustituido con uno o más halo, hidroxilo, CN , N_3 , $\text{N}(\text{R}^a)_2$ o OR^a ; y en donde uno o más de los átomos no terminales de carbono de cada dicho alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) se puede reemplazar opcionalmente con $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ o $-\text{NR}^a-$.

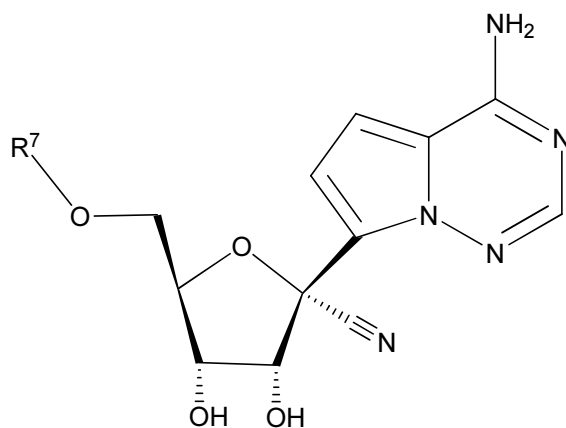
[0071] En otra realización, se proporciona un compuesto de Fórmula IV:



Fórmula IV

o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente aceptable, del mismo;
en donde R^7 es como se definió anteriormente para la Fórmula I.

[0072] Se proporciona un método para tratar una infección por *Filoviridae* en un humano que necesita del mismo que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV:



Fórmula IV

o una sal o éster farmacéuticamente aceptable, del mismo;

en donde:

R^7 se selecciona del grupo de

- a) H , $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, o $-SO_2NR^{11}R^{12}$,

en donde

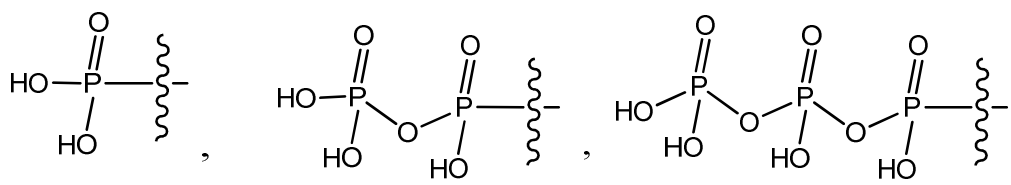
cada R^{11} o R^{12} es independientemente H , alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-C(=O)$ alquilo(C_1-C_8), $-S(O)_n$ alquilo(C_1-C_8) o arilo alquilo (C_1-C_8); o R^{11} y R^{12} tomados juntos con un nitrógeno al que están ambos unidos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en donde cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico se puede reemplazar opcionalmente con $-O-$, $-S-$ o $-NR^a-$;

cada R^a es independientemente H , alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), arilo alquilo(C_1-C_8), carbociclilalquilo(C_4-C_8), $-C(=O)R$, $-C(=O)O$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(O)$, $-S(O)_2(O)$, o $-SO_2NR_2$;

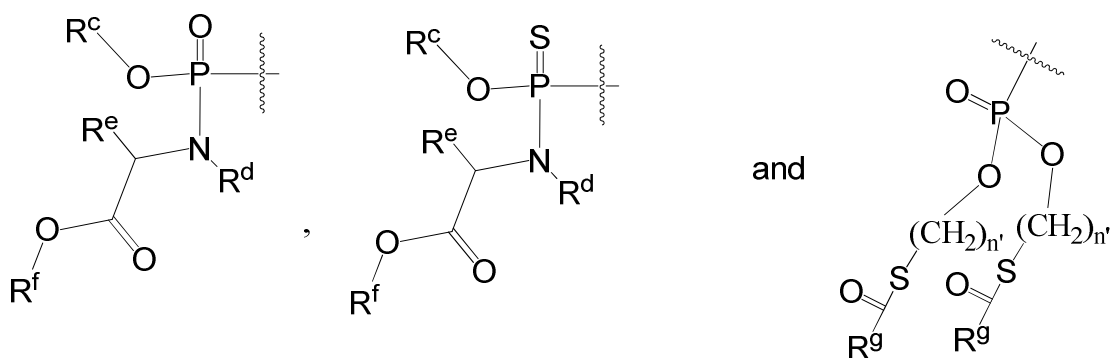
en donde cada R es independientemente H , alquilo (C_1-C_8), alquilo (C_1-C_8) sustituido, alquenilo (C_2-C_8), alquenilo (C_2-C_8) sustituido, alquinilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8) sustituido, arilo C_6-C_{20} , arilo C_6-C_{20} sustituido, heterociclilo C_2-C_{20} , heterociclilo C_2-C_{20} sustituido, arilalquilo o arilalquilo sustituido; y

en donde cada alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8) o arilalquilo(C_1-C_8) de cada R^{11} o R^{12} está, independientemente, opcionalmente sustituido con uno o más halo, hidroxilo, CN , N_3 , $N(R^a)_2$ o OR^a ; y en donde uno o más de los átomos no terminales de carbono de cada dicho alquilo (C_1-C_8) se puede reemplazar opcionalmente con $-O-$, $-S-$ o $-NR^a-$, y

b)

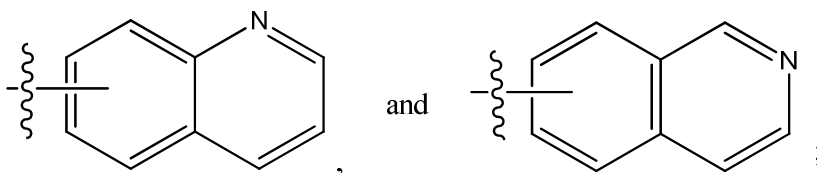


c) un grupo seleccionado de:



en donde:

R^c se selecciona de fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo,



R^d es H o CH₃;

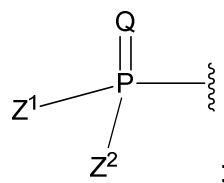
R^e es H o alquilo C₁-C₆;

R^f se selecciona de H, alquilo C₁-C₈, bencilo, cicloalquilo C₃-C₆, y -CH₂-cicloalquilo C₃-C₆;

R^g se selecciona de alquilo C₁-C₈, -O-alquiloC₁-C₈, bencilo, -O-bencilo, -CH₂-cicloalquiloC₃-C₆, -O-CH₂-cicloalquiloC₃-C₆, y CF₃; y

n' se selecciona de 1, 2, 3, y 4; y

d) un grupo de Fórmula:



en donde

Q es O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(O), ⁺N(O)(O), o N-NR₂;

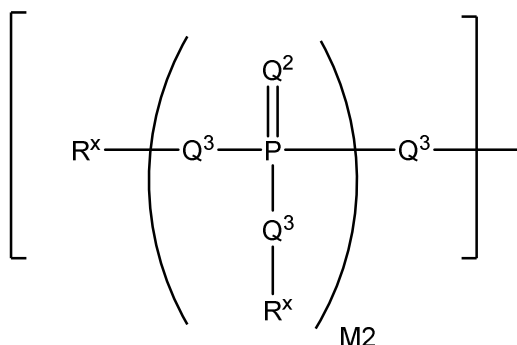
Z¹ y Z², cuando se toman juntos, son -Q¹(C(R^y)₂)₃Q¹-;

en donde

cada Q¹ es independientemente O, S, o NR; y

cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, OH, R, -C(=Q²)R, -C(=Q²)O, -C(=Q²)N(R)₂, -N(R)₂, ⁺N(R)₃, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(O), -S(O)₂(O), -OC(=Q¹)R, -OC(=Q²)O, -OC(=Q²)(N(R)₂), -SC(=Q²)R, -

$\text{SC}(=\text{Q}^2)\text{O}$, $-\text{SC}(=\text{Q}^2)(\text{N}(\text{R})_2)$, $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{Q}^2)\text{R}$, $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{Q}^2)\text{O}$, $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{Q}^2)\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{SO}_2\text{NR}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{O}$, o Z^3 ; o cuando se toman juntos, dos R^y sobre el mismo átomo de carbono forman un anillo carbocíclico de 3 a 7 átomos de carbono; cada Q^2 es independientemente, O , S , NR , $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{O})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{O})$, o $\text{N}-\text{NR}_2$; o Z^1 y Z^2 son cada, independientemente, un grupo de Fórmula Ia:



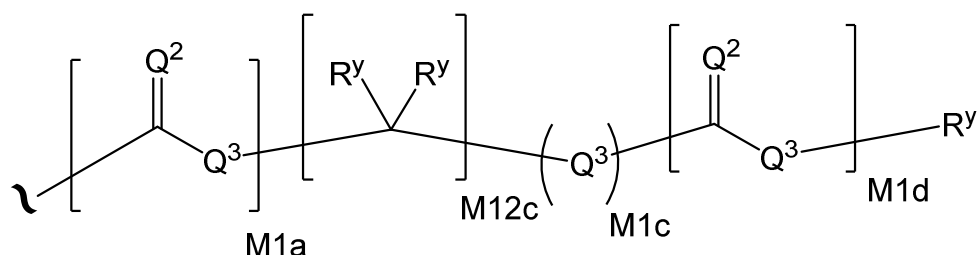
Fórmula Ia

en donde:

cada Q^3 es independientemente un enlace, O , CR_2 , NR , $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{O})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{O})$, $\text{N}-\text{NR}_2$, S , $\text{S}-\text{S}$, $\text{S}(\text{O})$, o $\text{S}(\text{O})_2$;

M2 es 0, 1 o 2;

cada R^x es independientemente R^y o la Fórmula:



en donde:

cada M1a , M1c , y M1d es independientemente 0 o 1;

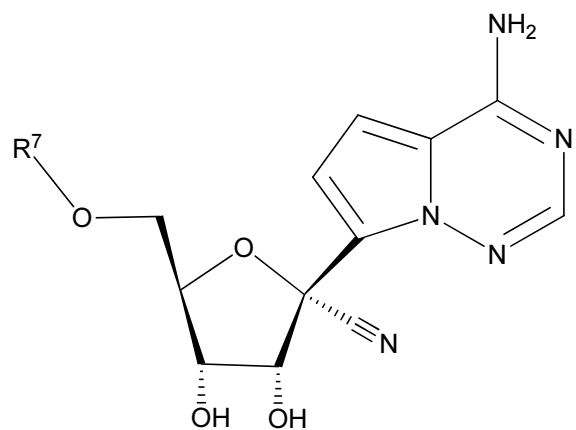
M12c es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

Z^3 es Z^4 o Z^5 ;

Z^4 es R , $-\text{C}(\text{Q}^2)\text{R}^y$, $-\text{C}(\text{Q}^2)\text{Z}^5$, $-\text{SO}_2\text{R}^y$, o $-\text{SO}_2\text{Z}^5$; y

Z^5 es un carbociclo o un heterociclo en donde Z^5 está sustituido independientemente con 0 a 3 grupos R^y .

[0073] Se proporciona un método para tratar una infección por *Filoviridae* en un humano que necesita del mismo que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV:



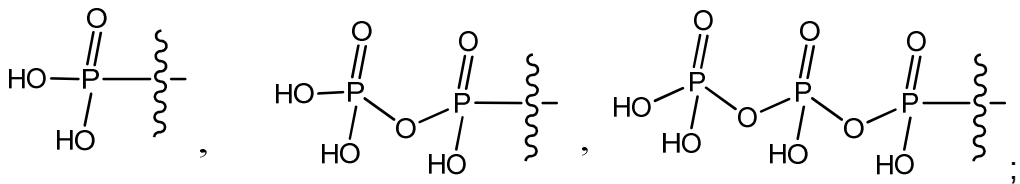
Fórmula IV

o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente estable, del mismo;
en donde,

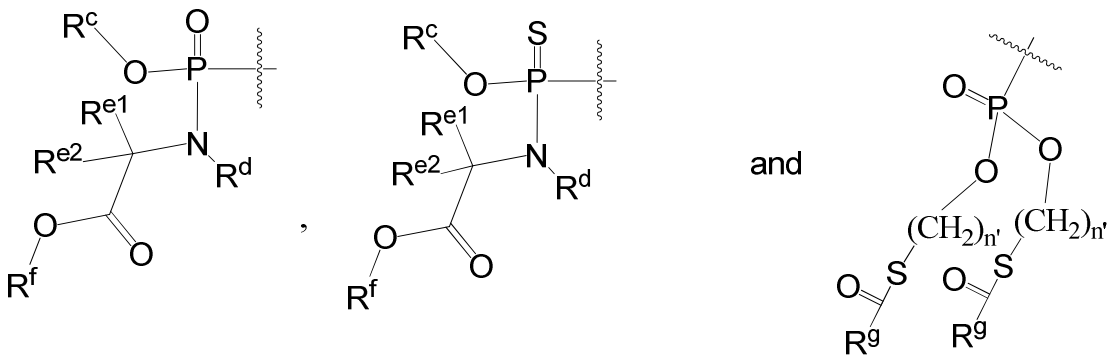
R⁷ se selecciona del grupo que consiste en

a) H, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), o -SO₂NR¹¹R¹²;

b)

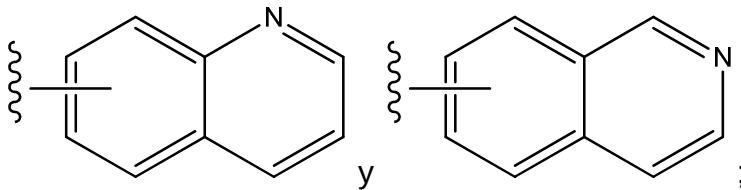


c) un grupo seleccionado de:



en donde:

R^c se selecciona del grupo de fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo,



R^d se selecciona del grupo de H o CH₃;

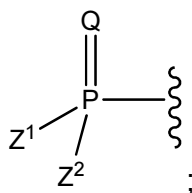
R^{e1} y R^{e2} se seleccionan cada uno independientemente del grupo de H, alquilo (C_1-C_6) o bencilo;

R^f se selecciona del grupo de H, alquilo (C_1-C_8), bencilo, cicloalquilo (C_3-C_6), y $-CH_2-$ cicloalquilo (C_3-C_6);

R^g se selecciona del grupo de alquilo(C_1-C_8), -O-alquilo(C_1-C_8), bencilo, -O-bencilo, - CH_2- cicloalquilo(C_3-C_6), -O- CH_2- cicloalquilo(C_3-C_6), y CF_3 ; y

n' es un entero seleccionado del grupo de 1, 2, 3, y 4; y

d) un grupo de Fórmula:



en donde:

Q se selecciona del grupo de O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(O)$, $^+N(O)(O)$, o $N-NR_2$;

Z^1 y Z^2 , cuando se toman juntos, son $-Q^1(C(R^y)_2)_3Q^1-$;

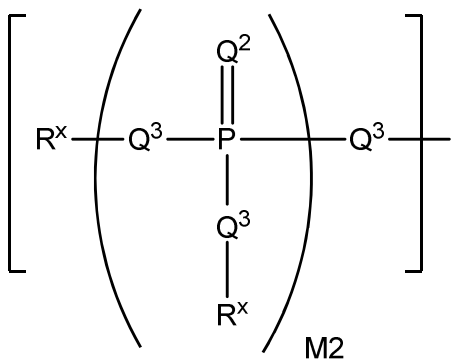
en donde

cada Q^1 se selecciona independientemente del grupo de O, S, o NR; y

cada R^y se selecciona independientemente del grupo de H, F, Cl, Br, I, OH, R, $-C(=Q^2)R$, $-C(=Q^2)O$, $-C(=Q^2)N(R)_2$, $-N(R)_2$, $^+N(R)_3$, $-SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(O)$, $-S(O)_2(O)$, $-OC(=Q^1)R$, $-OC(=Q^2)O$, $-OC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-SC(=Q^2)R$, $-SC(=Q^2)O$, $-SC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-N(R)C(=Q^2)R$, $-N(R)C(=Q^2)O$, $-N(R)C(=Q^2)N(R)_2$, $-SO_2NR_2$, $-CN$, $-N_3$, $-NO_2$, $-O$, o Z^3 ; o cuando se toman juntos, dos R^y sobre el mismo átomo de carbono forman un anillo carbocíclico de 3 a 7 átomos de carbono;

cada Q^2 es independientemente, O, S, NR, $^+N(O)(R)$, N(O), $^+N(O)(O)$, o N–NR₂; o

Z^1 y Z^2 son cada, independientemente, un grupo de
Fórmula Ia:



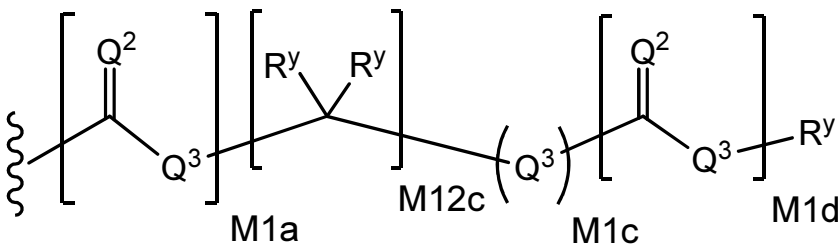
Fórmula Ia

en donde:

cada Q^3 se selecciona independientemente del grupo de un enlace, O, CR₂, NR, $^+N(O)(R)$, N(O), $^+N(O)(O)$, N–NR₂, S, S–S, S(O), o S(O)₂;

M2 es un entero seleccionado del grupo de 0, 1 o 2;

cada R^x es independientemente R^y o la Fórmula:



en donde:

cada M1a, M1c, y M1d es un entero independientemente seleccionado del grupo de 0 o 1;

M12c es un entero seleccionado del grupo de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

Z^3 es Z^4 o Z^5 ;

Z^4 es R, $-C(Q^2)R^y$, $-C(Q^2)Z^5$, $-SO_2R^y$, o $-SO_2Z^5$; y

Z^5 es un carbociclo o un heterociclo en donde Z^5 está sustituido independientemente con 0 a 3 grupos R^y ;

cada R^{11} o R^{12} es independientemente H, alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), arilo (C_6-C_{20}) opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-C(=O)$ alquilo(C_1-C_8), $-S(O)_n$ alquilo(C_1-C_8) o arilo (C_6-C_{20})alquilo (C_1-C_8); o R^{11} y R^{12} tomados juntos con un nitrógeno al que están ambos unidos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en donde cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico se puede reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o $-NR^a$;

cada R^a se selecciona independientemente del grupo de H, alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), arilo (C_6-C_{20})alquilo(C_1-C_8), carbociclilalquilo (C_4-C_8), $-C(=O)R$, $-C(=O)O$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(O)$, $-S(O)_2(O)$, o $-SO_2NR_2$; en donde

cada R se selecciona independientemente del grupo de H, alquilo (C_1-C_8), alquilo(C_1-C_8) sustituido, alquenilo(C_2-C_8), alquenilo(C_2-C_8) sustituido, alquinilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8) sustituido, arilo (C_6-C_{20}), arilo(C_6-C_{20}) sustituido, heterociclilo(C_2-C_{20}), heterociclilo (C_2-C_{20}) sustituido, arilo(C_6-C_{20})alquilo(C_1-C_8) o arilo(C_6-C_{20})alquilo (C_1-C_8) sustituido;

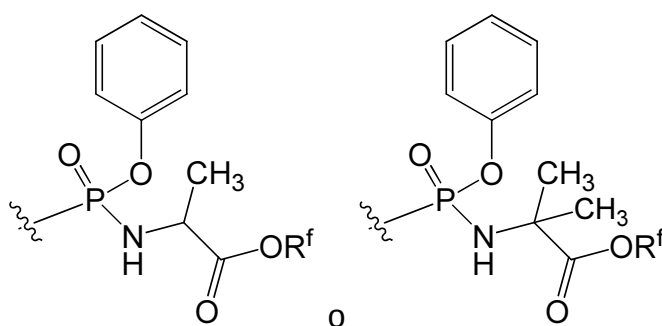
cada n es un entero independientemente seleccionado del grupo de 0, 1, o 2;
y

en donde cada alquilo (C_1-C_8), alquenilo (C_2-C_8), alquinilo (C_2-C_8), arilo (C_6-C_{20})alquilo(C_1-C_8) de cada R^{11} o R^{12} está, independientemente, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo de halo, hidroxí, CN, N_3 , $N(R^a)_2$ o OR^a ; y en donde uno o más de los átomos no terminales de carbono de cada dicho alquilo (C_1-C_8) se puede reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o $-NR^a$.

[0074] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 puede ser H. En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 se selecciona del grupo de a), b), o c) según se define para la Fórmula IV.

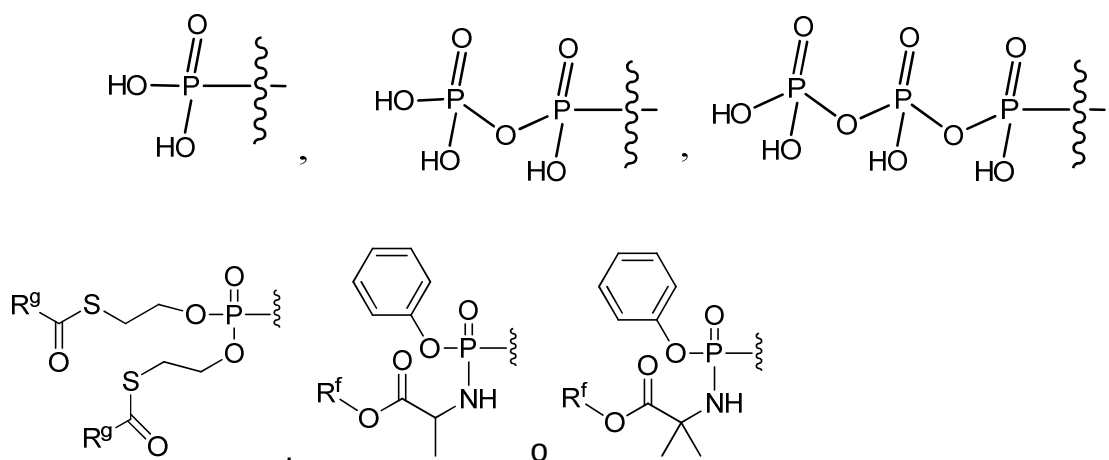
[0075] En algunas realizaciones, R^{e1} y R^{e2} pueden ser cada uno independientemente seleccionados del grupo de H, alquilo C_1-C_6 o bencilo. En algunas realizaciones, R^{e1} puede ser H, alquilo C_1-C_6 o bencilo, y R^{e2} puede ser H o alquilo C_1-C_6 . En algunas realizaciones, R^{e1} y R^{e2} pueden ser cada uno independientemente H o alquilo C_1-C_6 . En algunas realizaciones, R^{e1} y R^{e2} pueden ser cada uno independientemente H o bencilo. En algunas realizaciones, R^{e1} puede ser H, metilo o bencilo, y R^{e2} puede ser H o metilo. En algunas realizaciones, R^{e1} puede ser H o metilo, y R^{e2} puede ser H o metilo. En algunas realizaciones, R^{e1} puede ser metilo, y R^{e2} puede ser H o metilo. En algunas realizaciones, R^{e1} puede ser H o bencilo, y R^{e2} puede ser H o metilo.

[0076] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 es



en donde R^f se selecciona del grupo de H, alquilo C_1-C_8 , bencilo, cicloalquilo C_3-C_6 , y $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 . En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^f es alquilo C_1-C_8 .

[0077] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 es

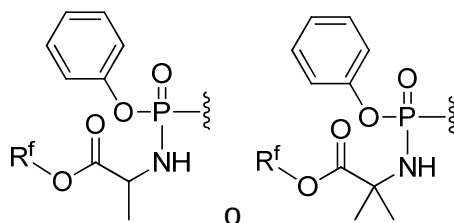


en donde

R^f se selecciona del grupo de H, alquilo C_1-C_8 , bencilo, cicloalquilo C_3-C_6 , y $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 ; y

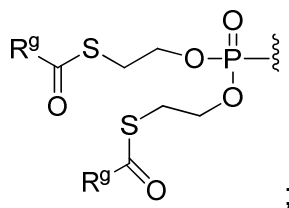
R^g se selecciona del grupo de alquilo C_1-C_8 , -O- alquilo C_1-C_8 , bencilo, -O- bencilo, $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 , -O- CH_2- cicloalquilo C_3-C_6 , y CF_3 .

[0078] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 es



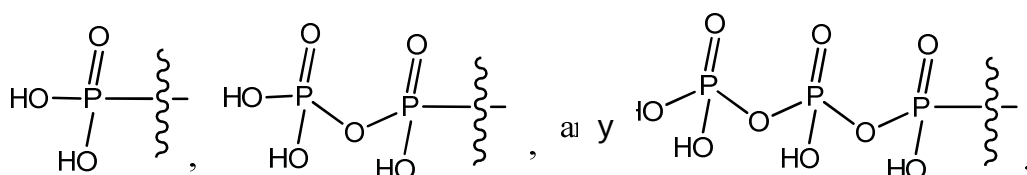
en donde R^f se selecciona del grupo de H, alquilo C_1-C_8 , bencilo, cicloalquilo C_3-C_6 , y $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 . En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^f es alquilo C_1-C_8 . En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^f es alquilo C_1-C_6 .

[0079] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 es:

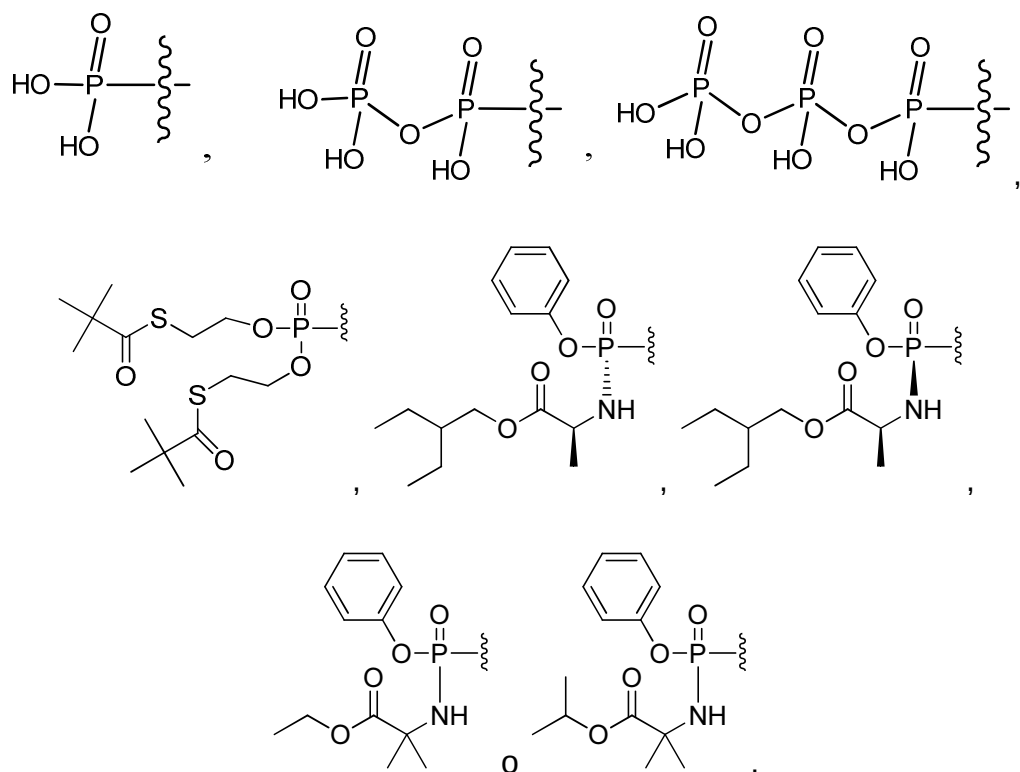


en donde R^g se selecciona del grupo de alquilo C_1-C_8 , -O- alquilo C_1-C_8 , bencilo, -O- bencilo, $-CH_2-$ cicloalquilo C_3-C_6 , -O- CH_2- cicloalquilo C_3-C_6 , y CF_3 . En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^f es alquilo C_1-C_8 . En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^f es alquilo C_1-C_6 .

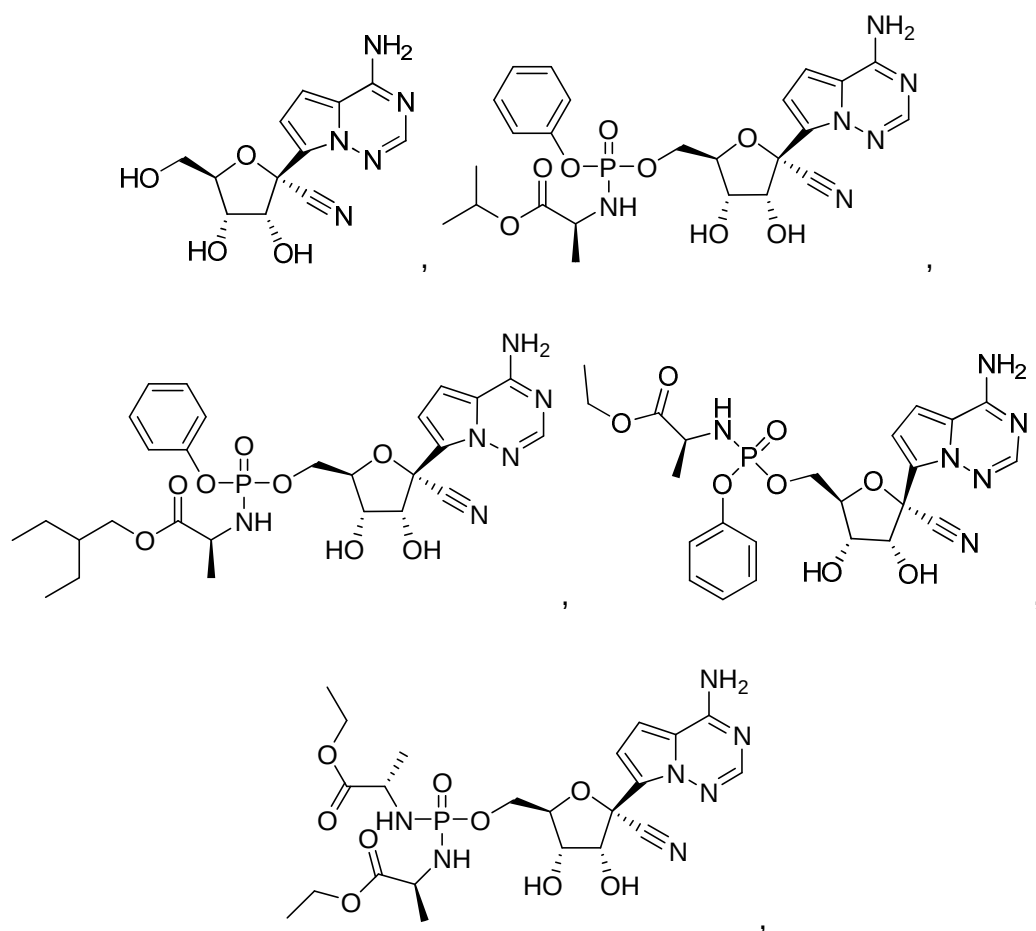
[0080] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R^7 se selecciona del grupo de:

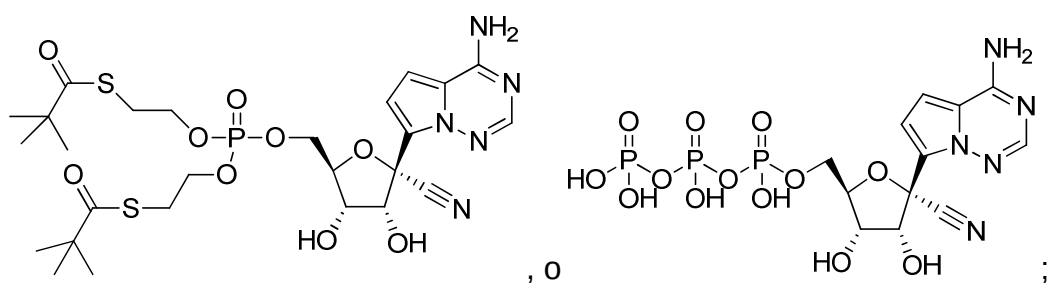


[0081] En otra realización de un compuesto de Fórmula IV, R⁷ es



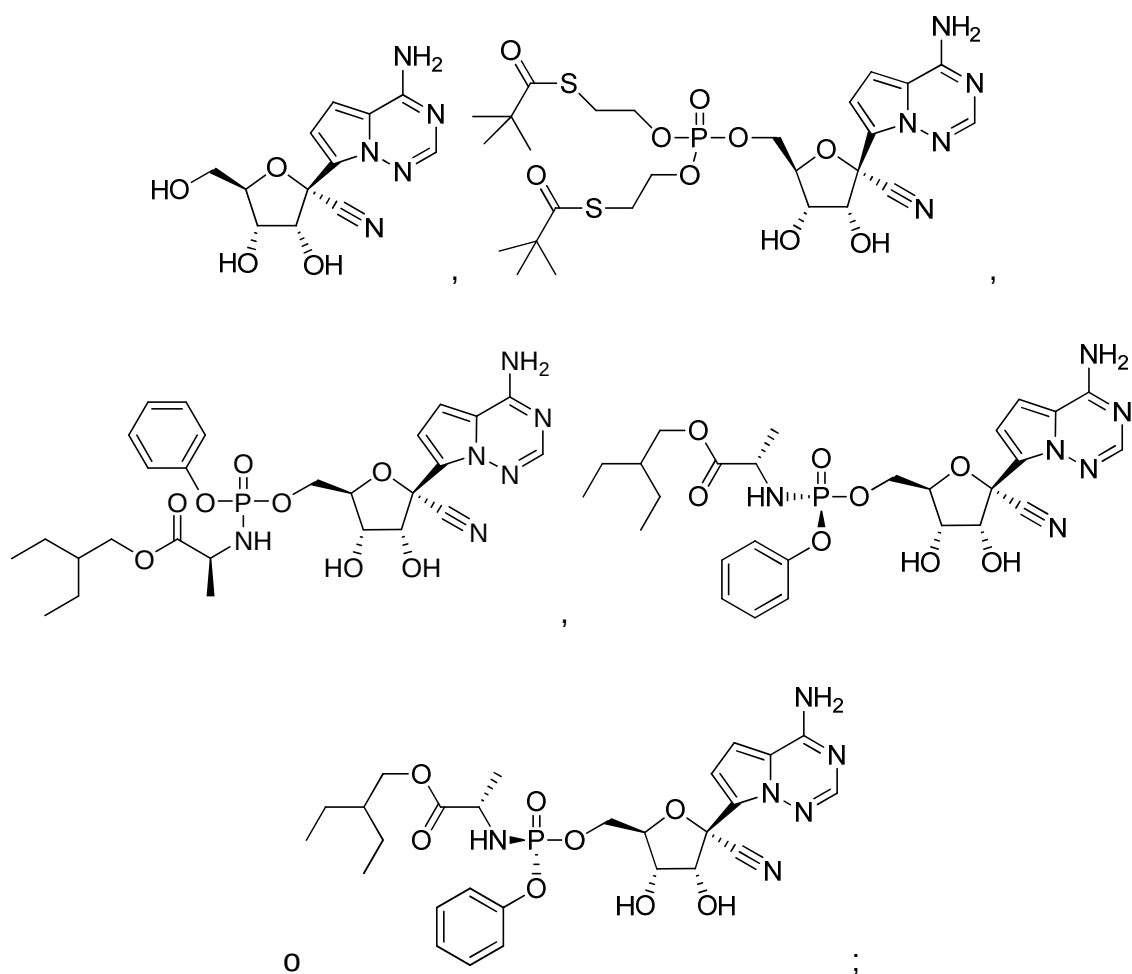
[0082] En otra realización, se proporciona un compuesto de Fórmula IV que es:





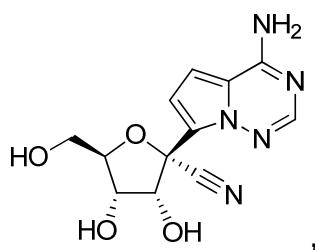
o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

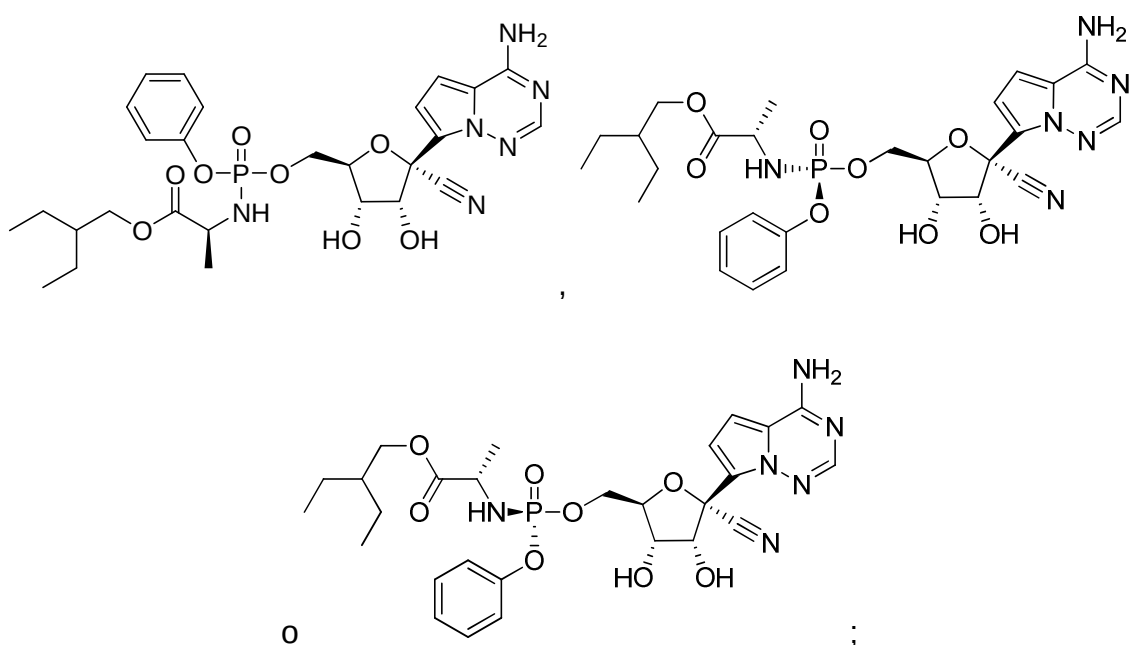
[0083] En otras realizaciones, se proporciona un compuesto de Fórmula IV que es:



o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

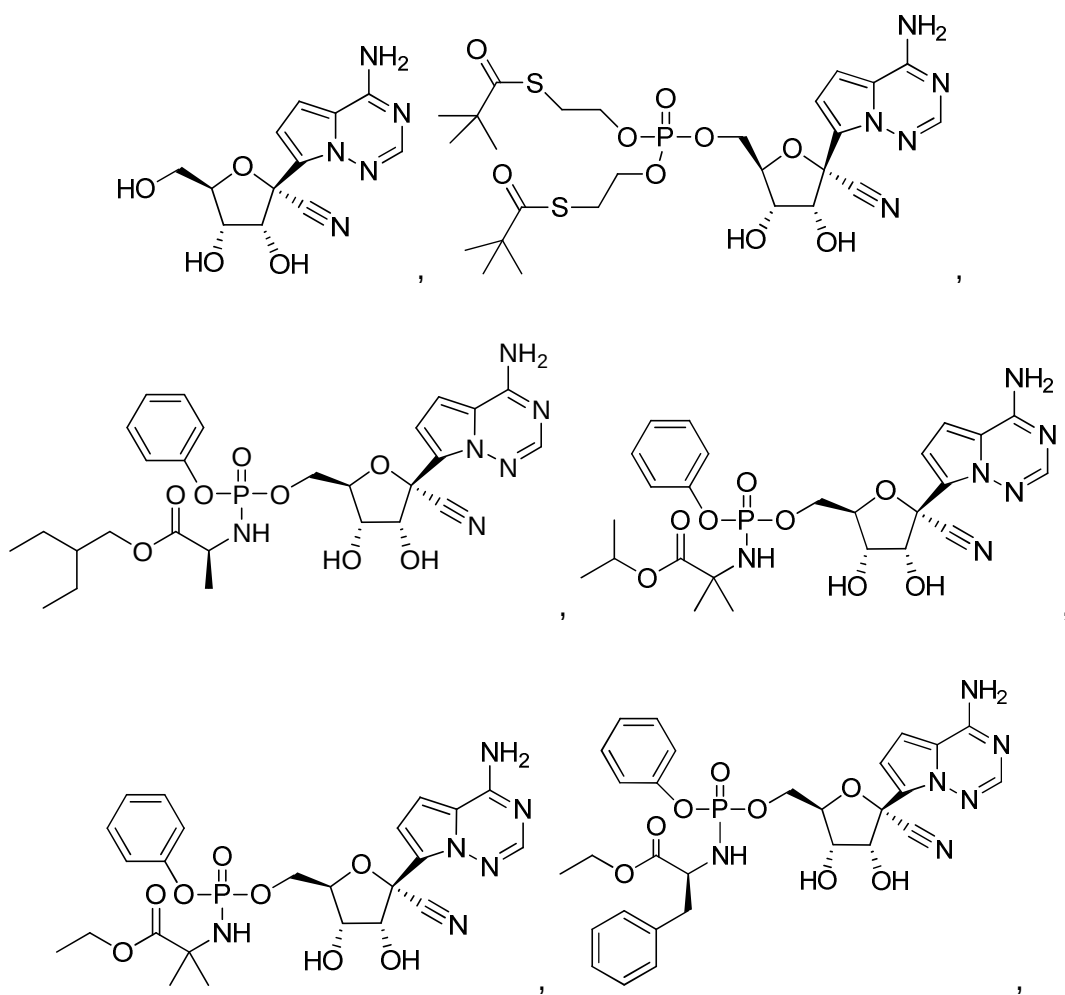
[0084] En otras realizaciones, se proporciona un compuesto de Fórmula IV que es:

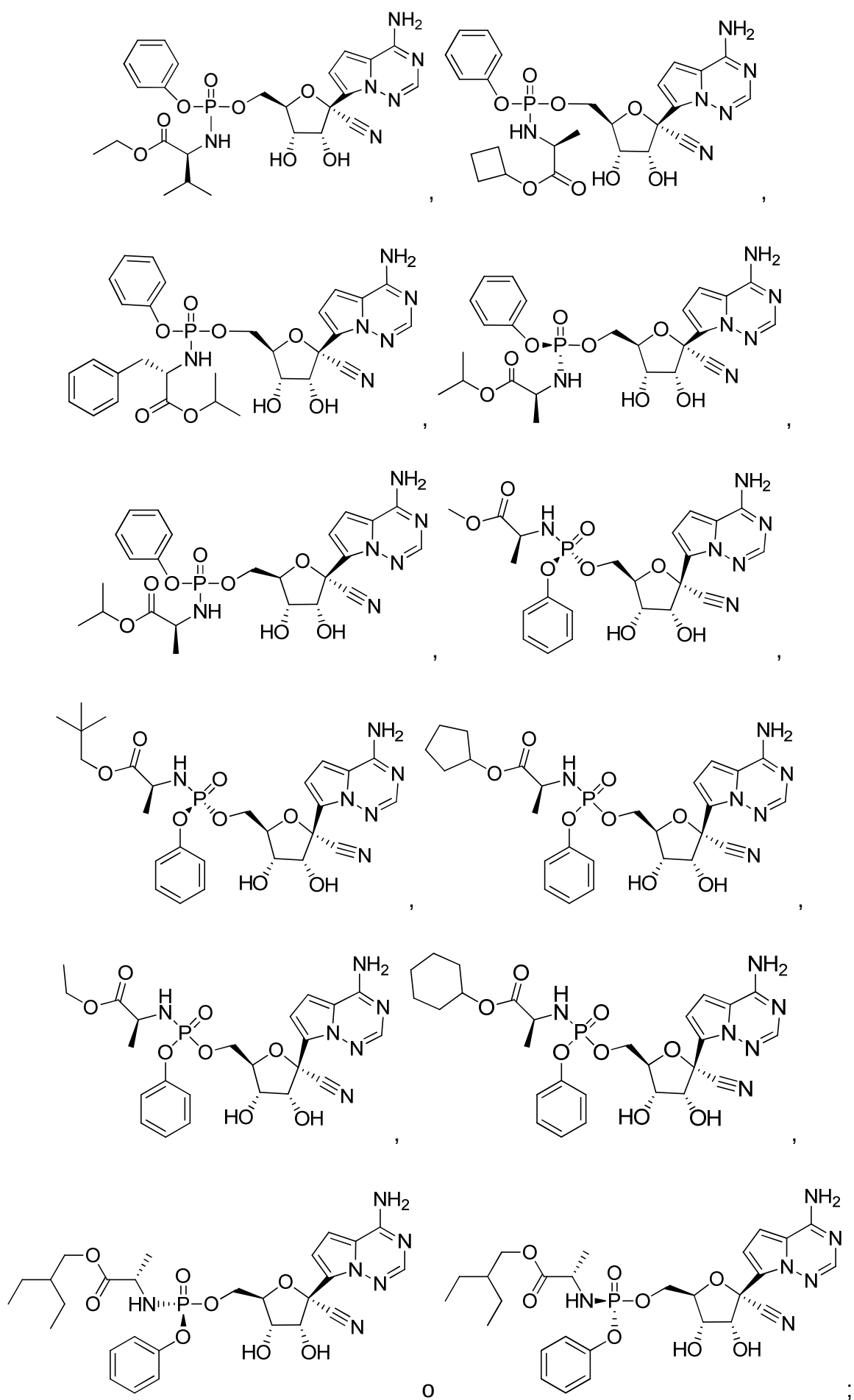




o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

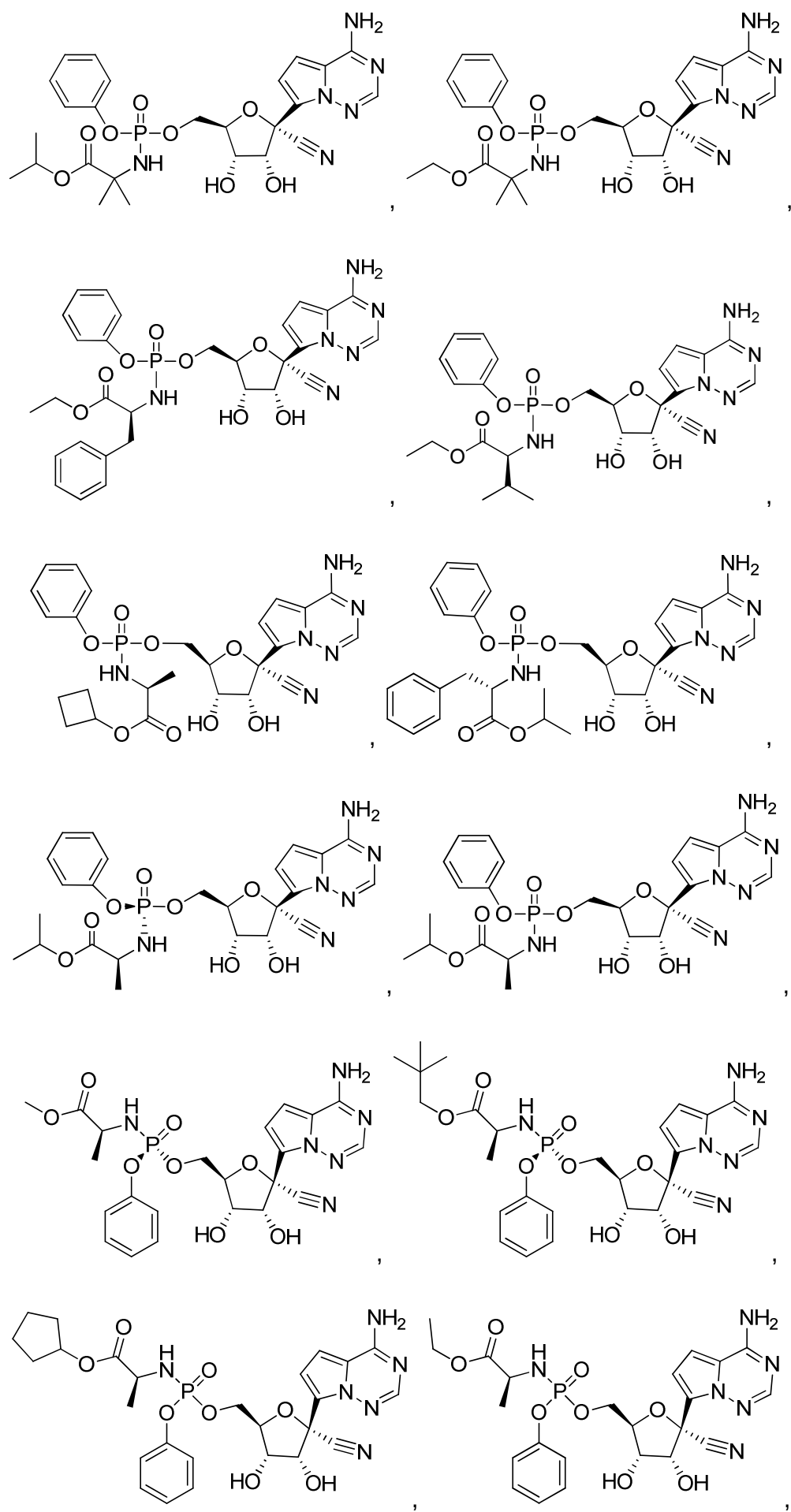
[0085] En otra realización, se proporciona un compuesto de Fórmula IV que es

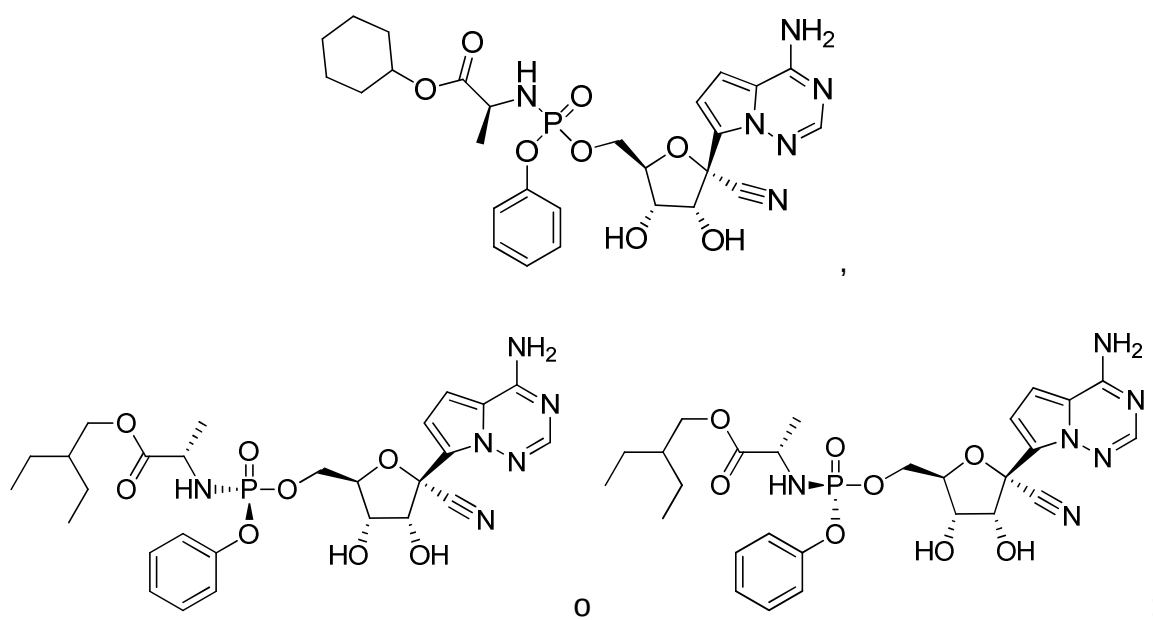




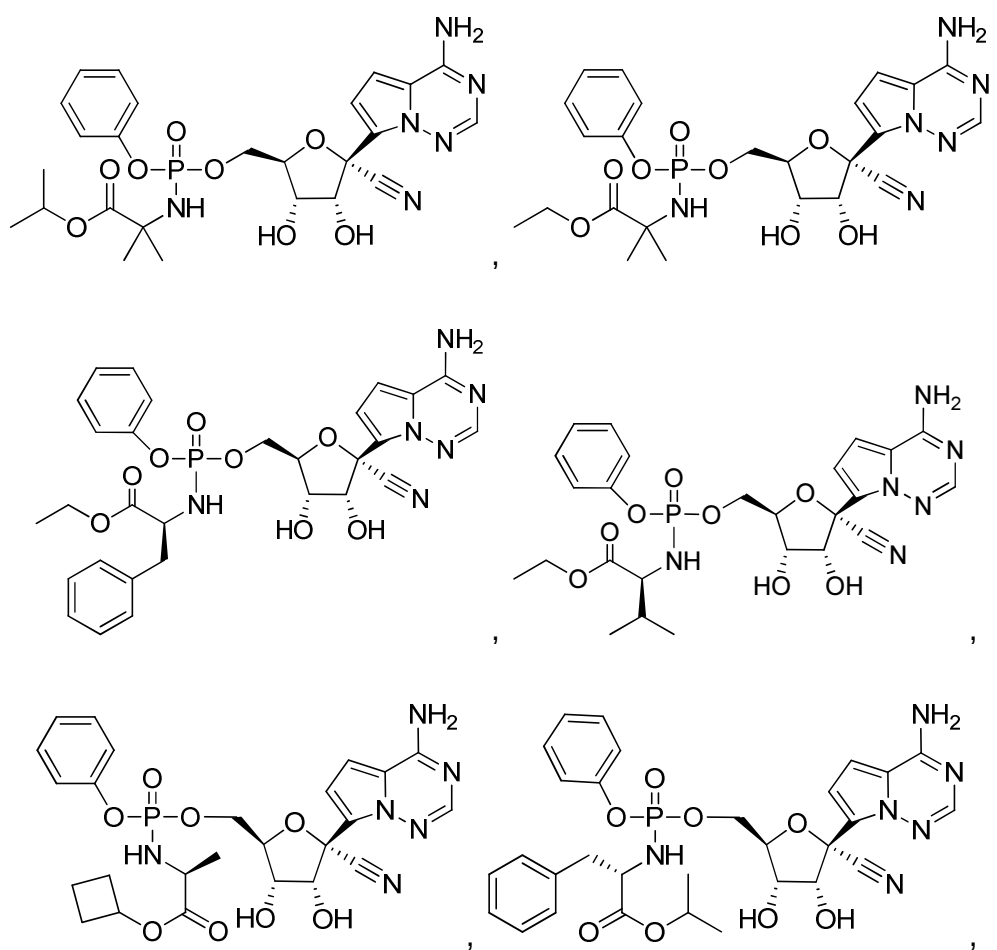
o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

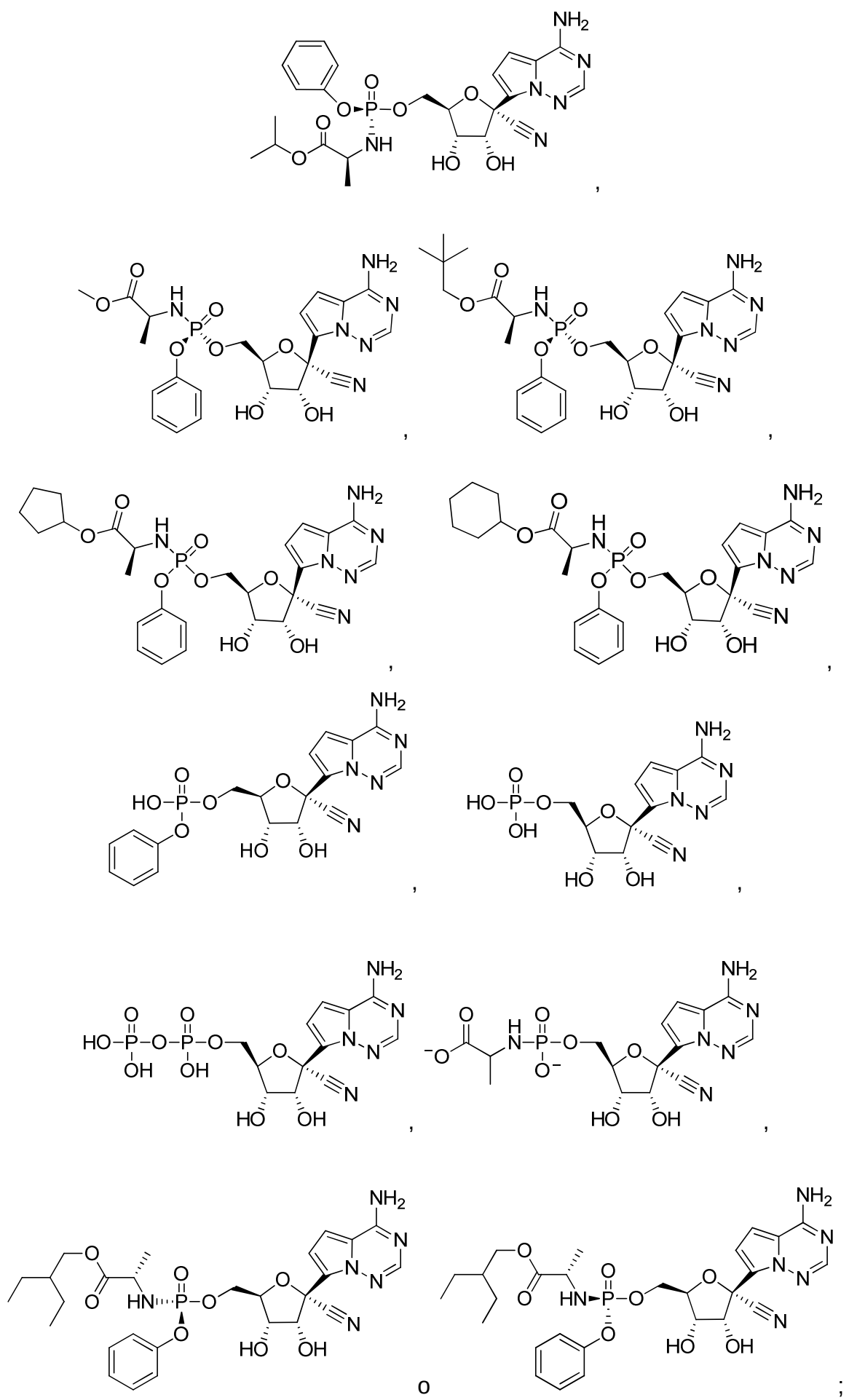
[0086] En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto que es





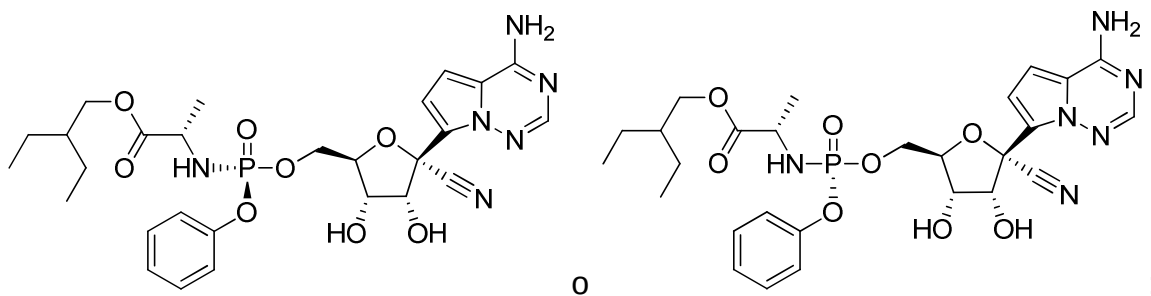
[0087] En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto que es





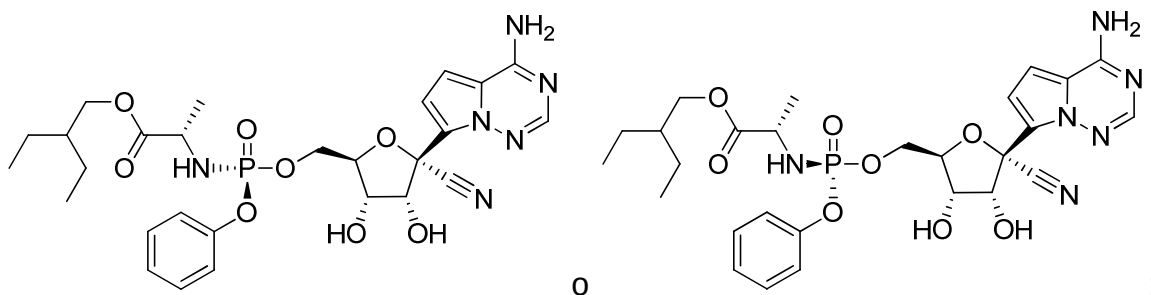
o una sal, hidrato o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0088] En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto que es



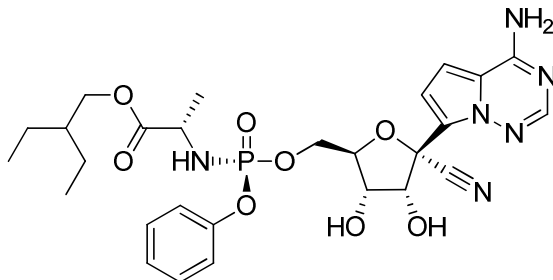
o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0089] En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto que es



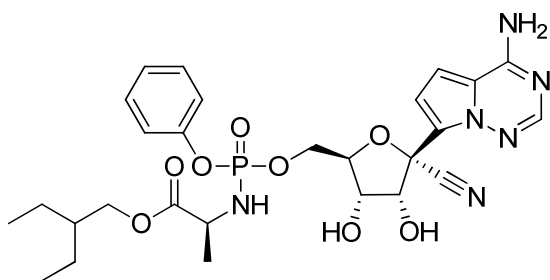
o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0090] En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto que es

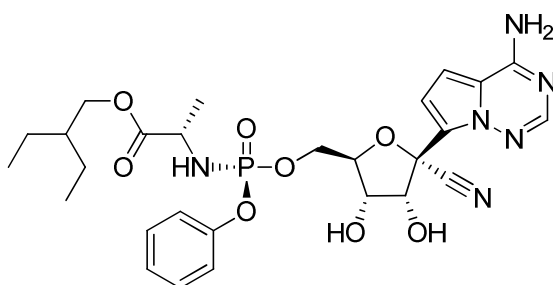


o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

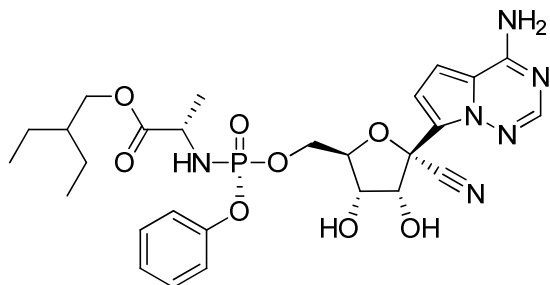
[0091] Los nombres de los compuestos de la presente divulgación se proporcionan usando el software ACD/Name para nombrar compuestos químicos (desarrollo Advanced Chemistry, Inc., Toronto, Canadá). Otros compuestos o radicales se pueden nombrar con nombres comunes o nombres sistemáticos o no sistemáticos. La denominación y numeración de los compuestos de la divulgación, se ilustra con un compuesto representativo de Fórmula IV::



que se nombra (2S)-2-etilbutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforilamino)propanoato. Otros compuestos de la presente invención incluyen:

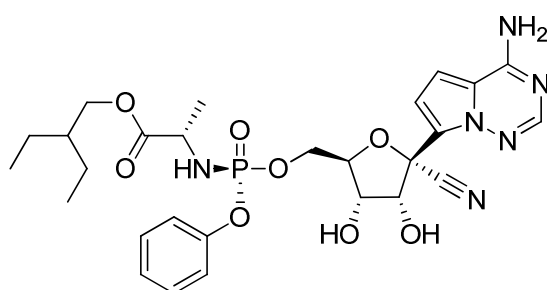


que se nombra (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato, y



que se nombra (S)-2-etilbutilo 2-(((R)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato.

(S)-2-etilbutilo 2-(((R)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato también se puede ilustrar como



[0092] Cualquier referencia a los compuestos de la invención descritos en este documento también incluye una referencia a una sal fisiológicamente aceptable del mismo. Ejemplos de sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen sales derivadas de una base apropiada, tal como un metal alcalino o una alcalino térreo (por ejemplo, Na⁺, Li⁺, K⁺, Ca⁺² y Mg⁺²), amonio y NR₄⁺ (en la que R se define en este documento). Las sales fisiológicamente aceptables de un átomo de nitrógeno o un grupo amino incluyen (a) sales de adición ácida formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácidos sulfámicos, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares; (b) sales formadas con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido isetiónico, ácido lactobiónico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácido naftalenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico, ácido etanosulfónico, lisina, arginina, ácido glutámico, glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina, leucina y similares; y (c) sales formadas a partir de aniones elementales, por ejemplo, cloro, bromo, y yodo. Las sales fisiológicamente aceptables de un compuesto de un grupo hidroxilo incluyen el anión de dicho compuesto en combinación con un catión adecuado tal como Na⁺ y NR₄⁺.

[0093] Un compuesto de fórmula IV y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir como diferentes polimorfos o pseudopolimorfos. Tal como se usa en el presente documento, el polimorfismo cristalino significa la capacidad de un compuesto cristalino de existir en diferentes estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino puede ser el resultado de diferencias en el empaquetamiento cristalino (polimorfismo de empaquetamiento) o diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (polimorfismo conformacional). Como se usa en este documento, el pseudopolimorfismo cristalino significa la capacidad de

un hidrato o solvato de un compuesto para existir en diferentes estructuras cristalinas. Los pseudopolimorfos de la presente invención pueden existir debido a diferencias en el empaquetamiento cristalino (pseudopolimorfismo de empaquetamiento) o debido a las diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (pseudopolimorfismo conformacional). La presente invención comprende todos los polimorfos y pseudopolimorfos de los compuestos de Fórmula IV y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0094] Un compuesto de fórmula IV y sus sales farmacéuticamente aceptables también pueden existir como un sólido amorfo. Tal como se usa en el presente documento, un sólido amorfo es un sólido en el que no hay ninguna orden de largo alcance de las posiciones de los átomos en el sólido. Esta definición se aplica también cuando el tamaño del cristal es de dos nanómetros o menos. Aditivos, incluidos los solventes, se pueden utilizar para crear las formas amorfas de la presente invención. La presente invención comprende todas las formas amorfas de los compuestos de Fórmula IV y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0095] Para uso terapéutico, las sales de los ingredientes activos de los compuestos de la invención serán fisiológicamente aceptables, es decir, serán sales derivadas de un ácido o una base fisiológicamente aceptable. Sin embargo, sales de ácidos o bases que no son fisiológicamente aceptables también pueden encontrar uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto fisiológicamente aceptable. Todas las sales, sean o no derivadas de un ácido o base fisiológicamente aceptable, están dentro del alcance de la presente invención.

[0096] Por último, se debe entender que las composiciones de la presente invención comprenden compuestos de la invención en su forma no ionizada, así como la forma zwitteriónica y combinaciones con cantidades estequiométricas de agua como en hidratos.

[0097] Es de señalar que todos los enantiómeros, diastereómeros, y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos de compuestos dentro del alcance de la Fórmula IV y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son abarcados por la presente invención. Todas las mezclas de tales enantiómeros y diastereómeros están dentro del alcance de la presente invención.

[0098] Los compuestos de la invención, ejemplificados por la Fórmula IV pueden tener centros quirales, por ejemplo, átomos de carbono o de fósforo quirales. Los

compuestos de la invención incluyen por lo tanto las mezclas racémicas de todos los estereoisómeros, incluyendo enantiómeros, diastereómeros, y atropisómeros. Además, los compuestos de la invención incluyen isómeros ópticos enriquecidos o resueltos en cualquiera o todos, los átomos quirales asimétricos. En otras palabras, los centros quirales evidentes a partir de las representaciones se proporcionan como los isómeros quirales o las mezclas racémicas. Ambas mezclas racémicas y diastereoisoméricas, así como los isómeros ópticos individuales aislados o sintetizados, sustancialmente libres de sus parejas enantioméricas o diastereoméricas, están todos dentro del alcance de la invención. Las mezclas racémicas se separan en sus isómeros individuales, sustancialmente ópticamente puros mediante técnicas bien conocidas tales como, por ejemplo, la separación de sales diastereoméricas formadas con auxiliares ópticamente activos, por ejemplo, ácidos o bases seguido de la conversión de nuevo a las sustancias ópticamente activas. En la mayoría de los casos, el isómero óptico deseado se sintetiza mediante reacciones estereoespecíficas, empezando con el estereoisómero apropiado del material de partida deseado.

[0099] Las definiciones y convenciones estereoquímicas utilizadas en este documento siguen generalmente SP Parker, Ed, York.; Diccionario McGraw-Hill de términos químicos (1984) McGraw-Hill Book Company, de Nueva y Eliel, E. y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de luz polarizada en un plano. Al describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S se utilizan para denotar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral (es). Los prefijos D y L, D y L, o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación de la luz polarizada en un plano por el compuesto, con S, (-) o 1 que el compuesto es levógiro mientras que un compuesto con el prefijo R, (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos excepto que son imágenes especulares uno del otro. Un estereoisómero específico también puede ser referido como un enantiómero, y una mezcla de tales isómeros a menudo se llama una mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se refiere como una mezcla racémica o un racemato, lo cual puede ocurrir cuando no ha habido una estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovistas de actividad óptica.

[0100] Los compuestos de la invención también pueden existir como isómeros tautoméricos en ciertos casos. Aunque sólo una estructura de resonancia deslocalizada se puede representar, todas estas formas se contemplan dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, pueden existir tautómeros eno-amina para purina, pirimidina, imidazol, guanidina, amidina, y los sistemas de tetrazol y todas sus posibles formas tautoméricas están dentro del alcance de la invención.

[0101] Cualquier fórmula o estructura dada en el presente documento, incluyendo los compuestos de Fórmula IV, también se destina a representar formas no marcadas así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen las estructuras representadas por las fórmulas dadas en el presente documento excepto que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico seleccionado. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como, pero no limitado a ^2H (deuterio, D), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I . Varios compuestos marcados isotópicamente de la presente divulgación, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H , ^{13}C y ^{14}C . Dichos compuestos marcados isotópicamente pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios cinéticos de reacción, las técnicas de detección o de registro de imágenes, como la tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) incluyendo ensayos de distribución en tejidos de fármacos o sustratos o en el tratamiento radiactivo de pacientes.

[0102] La divulgación también incluye compuestos de Fórmula IV en el que de 1 a n átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono está / están reemplazados por deuterio, en el que n es el número de hidrógenos en la molécula. Dichos compuestos muestran una mayor resistencia al metabolismo y por tanto son útiles para aumentar la vida media de cualquier compuesto de Fórmula IV cuando se administra a un mamífero, particularmente un humano. Véase, por ejemplo, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism", Trends Pharmacol. Sci. 5 (12): 524 a 527 (1984). Tales compuestos se sintetizan por medios bien conocidos en la técnica, por ejemplo mediante el empleo de materiales de partida en los que uno o más hidrógenos han sido reemplazados por deuterio.

[0103] Los compuestos terapéuticos marcados con deuterio o sustituidos de la divulgación pueden haber mejorado propiedades DMPK (metabolismo de fármacos y

farmacocinética, por sus siglas en inglés), relativas a la distribución, metabolismo y excreción (ADME, por sus siglas en inglés). La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo aumento en la semivida in vivo, menores requisitos de dosificación y / o una mejora en el índice terapéutico. Un compuesto marcado con ^{18}F puede ser útil para estudios PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de esta divulgación y profármacos de los mismos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones descritos más abajo sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo marcado no isotópicamente. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente en el compuesto de Fórmula IV.

[0104] La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede ser definido por un factor de enriquecimiento isotópico. En los compuestos de esta descripción cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular, está destinado a representar cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se indique lo contrario, cuando una posición se designa específicamente como "H" o "hidrógeno", se entiende que la posición tiene hidrógeno en su composición isotópica de abundancia natural. Por consiguiente, en los compuestos de esta descripción cualquier átomo designado específicamente como deuterio (D) está destinado a representar deuterio.

[0105] Siempre que un compuesto descrito en este documento está sustituido con más de uno del mismo grupo designado, por ejemplo, "R" o "R¹" entonces se entenderá que los grupos pueden ser iguales o diferentes, es decir, cada grupo se selecciona independientemente. Las líneas onduladas, , indican el sitio de las uniones de enlace covalente con las subestructuras, grupos, restos, o átomos contiguos.

[0106] Los sustituyentes seleccionados que comprenden los compuestos de Fórmula IV están presentes en un grado recursivo. En este contexto, "sustituyente recursivo" significa que un sustituyente puede recitar otro ejemplo de sí mismo. Debido a la naturaleza recursiva de tales sustituyentes, teóricamente, un gran número de compuestos puede estar presente en cualquier realización dada. Por ejemplo, Rx comprende un sustituyente R^y. R^y puede ser R. R puede ser Z³. Z³ puede ser Z⁴ y Z⁴ puede ser R o comprender sustituyentes que comprenden R^y.

Alternativamente, Z^3 puede ser Z^5 que puede comprender sustituyentes que comprenden R_y . Una persona versada en la técnica de la química medicinal entiende que el número total de tales sustituyentes está limitada razonablemente por las propiedades deseadas del compuesto pretendido. Tales propiedades incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, propiedades físicas tales como el peso molecular, solubilidad o log P, propiedades de aplicación tales como la actividad contra el objetivo pretendido, y las propiedades prácticas, tales como la facilidad de síntesis.

[0107] A modo de ejemplo y no de limitación, Z^3 y R^y son sustituyentes recursivos en ciertas realizaciones. Típicamente, cada sustituyente recursivo de forma independiente puede ocurrir 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, o 0, veces en una realización dada. Más típicamente, cada sustituyente recursivo puede ocurrir independientemente 12 o menos veces en una realización dada. Incluso más típicamente, cada sustituyente recursivo puede ocurrir independientemente 3 o menos veces en una realización dada. Por ejemplo, Z^3 se producirá 0 a 8 veces, R^y se producirá 0 a 6 veces en una realización dada. Incluso más típicamente, Z^3 se producirá 0 a 6 veces R^y se producirá 0 a 4 veces en una realización dada.

[0108] Los sustituyentes recursivos son un aspecto pretendido de la invención. Una persona versada en la técnica de la química medicinal entiende la versatilidad de tales sustituyentes. En la medida en que los sustituyentes recursivos están presentes en una forma de realización de la invención, el número total se determina como se ha expuesto anteriormente.

[0109] Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por métodos conocidos para un experto en la técnica. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden prepararse de acuerdo con los métodos descritos en la Patente de E. U. N° 8.008.264 y la Publicación de Solicitud de E. U. N° US 2012/0027752.

A. Metabolitos de los Compuestos de la invención

[0110] También caen dentro del alcance de esta invención los productos metabólicos *in vivo de los* compuestos descritos en el presente documento, al punto en que dichos productos son nuevos y no evidentes respecto a la técnica anterior. Tales productos pueden resultar por ejemplo de la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, esterificación y similares del compuesto administrado, principalmente

debido a procesos enzimáticos. Por consiguiente, la invención incluye compuestos nuevos y no evidentes producidos por un proceso que comprende poner en contacto un compuesto de esta invención con un mamífero durante un periodo de tiempo suficiente para producir un producto metabólico del mismo. Tales productos típicamente se identifican mediante la preparación de un compuesto radiomarcado (por ejemplo, ^{14}C o ^3H) de la invención, administrándolo parenteralmente en una dosis detectable (por ejemplo, mayor que aproximadamente 0,5 mg / kg) a un animal tal como rata, ratón, conejillo de indias, mono u hombre, dando tiempo suficiente para que el metabolismo ocurra (por lo general alrededor de 30 segundos a 30 horas) y el aislamiento de sus productos de conversión de la orina, sangre u otras muestras biológicas. Estos productos se aíslan fácilmente ya que están marcados (otros se aíslan mediante el uso de anticuerpos capaces de epítopos de unión que sobreviven en el metabolito). Las estructuras del metabolito se determinan de manera convencional, por ejemplo, mediante análisis de EM o RMN. En general, el análisis de metabolitos se hace de la misma manera que los estudios de metabolismo de fármacos convencionales bien conocidos por los expertos en la técnica. Los productos de la conversión, siempre que no se encuentren de otra forma *in vivo*, son útiles en ensayos de diagnóstico para la dosificación terapéutica de los compuestos de la invención incluso si no poseen actividad anti *Filoviridae* por sí solos.

[0111] Recetas y métodos para determinar la estabilidad de los compuestos en las secreciones gastrointestinales sustitutas son conocidos. Los compuestos se definen en este documento como estables en el tracto gastrointestinal donde menos de aproximadamente 50 por ciento en moles de los grupos protegidos se desprotegen en el jugo intestinal o gástrico subrogado después de la incubación durante 1 hora a 37 ° C. Simplemente el que los compuestos sean estables para el tracto gastrointestinal no significa que no puedan ser hidrolizados *in vivo*. Los profármacos de la invención típicamente serán estables en el sistema digestivo, pero se puede hidrolizar sustancialmente al fármaco parental en el lumen digestivo, hígado u otro órgano metabólico, o dentro de las células en general.

II. FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

[0112] Los compuestos de esta invención se formulan con vehículos y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica ordinaria. Los comprimidos contendrán excipientes, deslizantes, rellenos, aglutinantes y similares.

Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril, y cuando se destinan a la administración por una vía diferente a la administración oral generalmente serán isotónicas. Todas las formulaciones contendrán opcionalmente excipientes tales como los establecidos en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986). Los excipientes incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA, carbohidratos tales como dextrano, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmetilcelulosa, ácido esteárico y similares. El pH de las formulaciones oscila entre aproximadamente 3 a aproximadamente 11, pero ordinariamente es de aproximadamente 7 a 10. En algunas realizaciones, el pH de las formulaciones varía de aproximadamente 2 a aproximadamente 5, pero es normalmente de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. En algunas realizaciones, el pH de las formulaciones varía de aproximadamente 2 a aproximadamente 10, pero es normalmente aproximadamente 3,5 a aproximadamente 8,5.

[0113] Aunque es posible que los ingredientes activos se administren solos puede ser preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para uso veterinario como para uso humano, de la invención comprenden al menos un ingrediente activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables para el mismo y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos, en particular los ingredientes terapéuticos adicionales como se discute aquí. El (los) vehículo(s) deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuos para el receptor del mismo.

[0114] Las formulaciones incluyen aquellos apropiados para las vías de administración anterior. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Las técnicas y formulaciones generalmente se encuentran en Remington Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniforme e íntimamente en asociación el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, conformando el producto.

[0115] Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o

comprimidos conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite-en-agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El ingrediente activo también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

[0116] Un comprimido se hace mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden hacer moldeando en una máquina adecuada una mezcla del ingrediente activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y opcionalmente se formulan de modo que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo del mismo.

[0117] Para las infecciones del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo boca y piel, las formulaciones se aplican preferiblemente como un ungüento o crema tópica que contiene el(los) ingrediente(s) activo (s) en una cantidad de, por ejemplo, 0,075 a 20% p/p (incluyendo ingrediente(s) activo (s) en un rango entre 0,1% y 20% en incrementos de 0,1% p/p tales como 0,6% p/p, 0.7% p/p, etc.), preferiblemente de 0,2 a 15% p/p y más preferiblemente 0,5 a 10% p/p. Cuando se formulan en un ungüento, los ingredientes activos pueden emplearse ya sea con una base de ungüento parafrínica o una miscible en agua. Alternativamente, los ingredientes activos se pueden formular en una crema con una base de crema de aceite en agua.

[0118] Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos 30% p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que mejore la absorción o penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Ejemplos de potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

[0119] La fase oleosa de las emulsiones de esta invención puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede

comprender meramente un emulsionante (conocido de otra manera como emulgente), deseablemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa y un aceite. Preferiblemente, un emulsionante hidrofílico se incluye junto con un emulsionante lipofílico que actúa como estabilizador. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el(los) emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) constituyen la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de ungüento emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones en crema.

[0120] Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la invención incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato de sodio. Otros emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la invención incluyen Tween® 80.

[0121] La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas. La crema debe ser preferiblemente un producto que sea no grasoso, que no manche y lavable con consistencia adecuada para evitar fugas de los tubos u otros recipientes. Ésteres de alquilo de cadena lineal o ramificada, mono- o dibásicos tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, propilenglicol diéster de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de cadena ramificada ésteres conocidos como Crodamol CAP se pueden utilizar, siendo los tres últimos los ésteres preferidos. Estos se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, se utilizan lípidos de alto punto de fusión tales como parafina blanda blanca y / o parafina líquida u otros aceites minerales.

[0122] Las formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención comprenden una combinación de acuerdo con la invención junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Las formulaciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración pretendido. Cuando se usa para uso oral por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires se pueden preparar. Las composiciones destinadas para uso oral pueden prepararse de acuerdo con

cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes, incluyendo agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación agradable al paladar . Los comprimidos que contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos son aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio o sodio, lactosa, fosfato de calcio o sodio; agentes de granulación y desintegración, como almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas incluyendo microencapsulación para retrasar la disgregación y adsorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

[0123] Las formulaciones para uso oral pueden también presentarse como cápsulas de gelatina dura donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo está mezclado con agua o un medio oleoso, tales como aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

[0124] Las suspensiones acuosas de la invención contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, y agentes dispersantes o humectantes tales como un fosfátido de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, polioxietileno sorbitán monooleato) . Otros ejemplos no limitativos de agentes de suspensión incluyen Captisol® (sulfobutíler beta-ciclodextrina, SBE- β -CD). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes tales como etilo o n-propil p-

hidroxi-benzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

[0125] Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante, tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes se pueden añadir para proporcionar una preparación oral agradable al paladar. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

[0126] Los polvos y gránulos dispersables de la invención adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión, y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión se ejemplifican por aquellos descritos anteriormente. Excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, agentes aromatizantes y colorantes, también pueden estar presentes.

[0127] Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite-en-agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de oliva o aceite de cacahuete, un aceite mineral, tal como parafina líquida, o una mezcla de estos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, tales como goma de acacia y goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, tales como lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos parcial ésteres con óxido de etileno, tales como monooleato de polioxietileno sorbitán. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, tales como glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante, un aromatizante o un agente colorante.

[0128] Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en la forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular según la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión que se

han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como una solución en 1,3-butano-diol o preparada como un polvo liofilizado. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos, estériles, convencionalmente se pueden emplear como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo blando se puede emplear incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico se pueden usar asimismo en la preparación de inyectables. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer, solución de cloruro de sodio isotónica, solución de cloruro de sodio hipertónica, y solución de cloruro de sodio hipotónica.

[0129] La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con el material portador para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Por ejemplo, una formulación de liberación en el tiempo destinado a la administración oral a seres humanos puede contener de aproximadamente 1 a 1.000 mg de material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material portador que puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% de las composiciones totales (peso : peso). La composición farmacéutica se puede preparar para proporcionar cantidades fácilmente medibles para la administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a la infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 mg del ingrediente activo por mililitro de solución con el fin de que se puede producir la infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 mL / hr.

[0130] Las formulaciones apropiadas para la administración tópica en el ojo también incluyen gotas para los ojos en los que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo está presente preferiblemente en tales formulaciones en una concentración de 0,5 a 20%, ventajosamente 0,5 a 10%, y particularmente de aproximadamente 1,5% p/p.

[0131] Las formulaciones apropiadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada,

normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

[0132] Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con una base adecuada que comprende por ejemplo manteca de cacao o un salicilato.

[0133] Las formulaciones apropiadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros, tales como 0,5, 1, 30, 35 etc., que se administra mediante inhalación rápida a través del conducto nasal o por inhalación a través de la boca con el fin de llegar a los sacos alveolares. Las formulaciones apropiadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones apropiadas para administración en aerosol o polvo seco se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos tales como los compuestos utilizados hasta ahora en el tratamiento o profilaxis de infecciones por *Filoviridae* como se describe a continuación.

[0134] Las formulaciones apropiadas para administración vaginal se pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen además del ingrediente activo, vehículos tales como se conocen en la técnica que son apropiados.

[0135] Las formulaciones apropiadas para administración parenteral incluyen soluciones acuosa y no acuosa estéril para inyección que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

[0136] Las formulaciones se presentan en recipientes de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en condición secado por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o sub-

dosificación diaria unitaria, como se ha indicado anteriormente, o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo.

[0137] Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo los adecuados para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

[0138] La invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se ha definido anteriormente junto con un vehículo veterinario para el mismo.

[0139] Los vehículos veterinarios son materiales útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que son de otro modo inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias se pueden administrar por vía oral, parenteral o por cualquier otra vía deseada.

[0140] Los compuestos de la invención se utilizan para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como ingrediente activo uno o más compuestos de la invención ("formulaciones de liberación controlada") en que la liberación del ingrediente activo se controla y regula para permitir menos frecuencia de dosificación o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un ingrediente activo dado.

III. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

[0141] Uno o más compuestos de la invención (en adelante referidos como los ingredientes activos) se administran por cualquier vía apropiada para la condición a tratar. Las vías adecuadas incluyen la oral, rectal, nasal, pulmonar, tópica (incluyendo bucal y sublingual), (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural) vaginal y parenteral, y similares. Se apreciará que la vía preferida puede variar con por ejemplo la condición del receptor. Una ventaja de los compuestos de esta invención es que son biodisponibles oralmente y se pueden dosificar oralmente.

[0142] En los métodos de la presente invención para el tratamiento la infección por *Filoviridae*, de los compuestos de la presente invención se pueden administrar en

cualquier momento para un humano que puedan entrar en contacto con los seres humanos que sufren de infección por *Filoviridae* o que ya sufren de infección por *Filoviridae*. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención se pueden administrar profilácticamente a los seres humanos que entran en contacto con los seres humanos que sufren de infección por *Filoviridae*. En algunas realizaciones, la administración de los compuestos de la presente invención puede ser para los seres humanos que dan positivo a la infección por *Filoviridae* pero que aún no muestran síntomas de infección por *Filoviridae*. En algunas realizaciones, la administración de los compuestos de la presente invención puede ser para los seres humanos al inicio de los síntomas de la infección por *Filoviridae*.

[0143] La dosis efectiva de ingrediente activo depende al menos de la naturaleza de la afección a tratar, la toxicidad, si el compuesto es siendo utilizado profilácticamente (dosis más bajas) o contra una infección viral activa, el método de entrega, y la formulación farmacéutica, y será determinada por el médico usando estudios de aumento de dosis convencionales. Se puede esperar que sea de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg / kg de peso corporal por día; típicamente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg / kg de peso corporal por día; más típicamente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg / kg de peso corporal por día; más típicamente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 mg / kg de peso corporal por día. Por ejemplo, la dosis candidata diaria para un humano adulto de aproximadamente 70 kg de peso corporal oscilará entre 1 mg a 1000 mg, preferiblemente entre 5 mg y 500 mg, y puede tomar la forma de dosis únicas o múltiples.

[0144] La dosis efectiva de un compuesto de la presente invención para el tratamiento de infección por *Filoviridae* puede depender de si la dosis es para ser utilizado profilácticamente o para tratar a un ser humano que ya sufre una infección por *Filoviridae*. Además, la dosis puede depender de si el ser humano que sufre de la infección por *Filoviridae* todavía no muestra síntomas o ya está mostrando síntomas de infección por *Filoviridae*. Pueden ser necesarias dosis más grandes para tratar seres humanos que dan positivo a la infección por *Filoviridae* y para seres humanos que muestran síntomas de infección por *Filoviridae* en comparación con los humanos que reciben tratamiento profiláctico.

[0145] Se contempla cualquier período de tiempo adecuado para la administración de los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, la administración puede ser a partir del día 1 a 100 días, incluyendo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30,

40, 50, 60, 70, 80 , o 90 días. La administración también puede ser desde 1 semana a 15 semanas, incluidas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, ó 14 semanas. Períodos más largos de administración también se contemplan. El tiempo para la administración puede depender de si el compuesto se administra profilácticamente o para tratar a un ser humano que padece infección por *Filoviridae*. Por ejemplo, una administración profiláctica puede ser por un período de tiempo, mientras que el ser humano está en contacto regular con otros seres humanos que sufren de una infección por *Filoviridae*, y por un período de tiempo adecuado después del último contacto con un ser humano que padece una infección por *Filoviridae*. Para los seres humanos que ya sufren de una infección por *Filoviridae*, el período de la administración puede ser por cualquier período de tiempo necesario para tratar al paciente y un periodo de tiempo adecuado después de una prueba negativa de una infección por *Filoviridae* para asegurar que la infección por *Filoviridae* no vuelve.

V. TERAPIA DE COMBINACIÓN

[0146] Las composiciones de la invención también se utilizan en combinación con otros ingredientes activos. Para el tratamiento de infecciones por el virus *Filoviridae*, preferiblemente, el otro agente terapéutico activo es activo contra infecciones de virus *Filoviridae*, particularmente las infecciones por virus de Marburg, virus del Ébola y virus Cueva. Ejemplos de estos otros agentes terapéuticos activos no limitantes son ribavirina, palivizumab, motavizumab, RSV-IGIV (RespiGam®), MEDI-557, A-60444, MDT-637, BMS-433,771, amiodarona, dronedarona, verapamilo, convaleciente Plasma de Ébola (ECP), TKM-100.201, BCX4430 ((2S, 3S, 4R, 5R) - 2- (4-amino-5H-pirrol-3,2-d) pirimidin-7-il) -5- (hidroximetil) pirrolidina 3,4-diol), favipiravir (también conocido como T-705 o Avigan), T-705 monofosfato, T-705 difosfato, trifosfato T-705, FGI-106 (1-N, 7-N-bis [3 - (dimetilamino) propil] -3,9-dimetilquinolino [8,7-h] quinolona-1,7-diamina), JK-05, TKM-Ébola, zmapp, rNAPc2, VRC-EBOADC076-00-VP, OS- 2966, la MVA-BN filo, brincidofovir, vacuna para ébola basada en el vector 5 de adenovirus Vaxart, Ad26-ZEBOV, vacuna FiloVax, GOVX-E301, GOVX-E302, inhibidores de la entrada del virus del Ébola (inhibidores NPC1), y rVSV-EBOV, y sus mezclas . Los compuestos y composiciones de la presente invención también pueden usarse en combinación con oligómeros de morfolino fosforamidato (PMOs), que son análogos de oligonucleótidos antisentido sintéticos diseñados para interferir con los procesos de la traducción mediante la formación de pares de bases dúplex con secuencias de ARN específicas. Los ejemplos de PMOs incluyen AVI-7287, AVI-7288, AVI-7537, AVI-7539, AVI-6002, y

AVI-6003. Los compuestos y composiciones de la presente invención también están destinados para su uso con cuidados generales proporcionados a pacientes con infecciones virales de *Filoviridae*, incluyendo fluidos parenterales (incluyendo solución salina de dextrosa y lactato de Ringer) y profilaxis de nutrición, antibiótica (incluyendo antibióticos metronidazol y cefalosporina , como la ceftriaxona y cefuroxima) y / o antifúngicos, medicamentos para el dolor y fiebre , antiemético (como la metoclopramida) y/o agentes antidiarreicos, suplementos de vitaminas y minerales (incluida la vitamina K y el sulfato de zinc), agentes anti-inflamatorios (tales como ibuprofeno), medicamentos para el dolor, y medicamentos para otras enfermedades comunes en la población de pacientes, tales agentes antipalúdicos (incluyendo arteméter y la terapia de combinación artesunato-lumefantrina), la fiebre tifoidea (incluyendo antibióticos de quinolona, como ciprofloxacina, antibióticos macrólidos, tales como azitromicina, antibióticos de cefalosporina, como ceftriaxona o aminopenicilinas, tales como ampicilina), o shigelosis.

[0147] También es posible combinar cualquier compuesto de la invención con uno o más agentes terapéuticos adicionales activos en una forma de dosificación unitaria para la administración simultánea o secuencial a un paciente. La terapia de combinación se puede administrar como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra secuencialmente, la combinación puede administrarse en dos o más administraciones.

[0148] La co-administración de un compuesto de la invención con uno o más de otros agentes terapéuticos activos generalmente se refiere a la administración simultánea o secuencial de un compuesto de la invención y uno u otros agentes terapéuticos activos más, de modo que las cantidades terapéuticamente eficaces del compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos activos están presentes en el cuerpo del paciente.

[0149] La administración conjunta incluye la administración de dosis unitarias de los compuestos de la invención antes o después de la administración de dosis unitarias de uno o más de otros agentes terapéuticos activos, por ejemplo, la administración de los compuestos de la invención en cuestión de segundos, minutos, horas o de la administración de uno o más de otros agentes terapéuticos activos. Por ejemplo, una dosis unitaria de un compuesto de la invención puede administrarse primero, seguido en cuestión de segundos o minutos mediante la administración de una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos. Alternativamente, una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos se puede administrar

primero, seguido de la administración de una dosis unitaria de un compuesto de la invención en cuestión de segundos o minutos. En algunos casos, puede ser deseable administrar una dosis unitaria de un compuesto de la invención primero, seguido, después de un período de horas (por ejemplo, 1-12 horas), mediante la administración de una dosis unitaria de uno o más agentes terapéuticos activos. En otros casos, puede ser deseable administrar una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos primero, seguido, después de un período de horas (por ejemplo, 1-12 horas), mediante la administración de una dosis unitaria de un compuesto de la invención.

[0150] La terapia de combinación puede proporcionar "sinergia" y "sinérgico", es decir, el efecto logrado cuando los ingredientes activos utilizados juntos es mayor que la suma de los efectos que los resultados del uso de los compuestos por separado. Un efecto sinérgico puede lograrse cuando los ingredientes activos son: (1) co-formulados y administrados o entregados simultáneamente en una formulación combinada; (2) entregados por alternancia o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) por algún otro régimen. Cuando se entrega en la terapia de alternancia, un efecto sinérgico puede alcanzarse cuando se administran o se entregan secuencialmente los compuestos, por ejemplo, en comprimidos separados, píldoras o cápsulas, o por diferentes inyecciones en jeringas separadas. En general, durante la terapia de alternancia, una dosificación eficaz de cada ingrediente activo se administra de forma secuencial, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación, dosis efectivas de dos o más ingredientes activos se administran conjuntamente. Un efecto anti-viral sinérgico denota un efecto antiviral que es mayor que los efectos puramente aditivos predichos de los compuestos individuales de la combinación.

[0151] En aún otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para inhibir la *Filoviridae* polimerasa en una célula, que comprenden: poner en contacto una célula infectada con un Filovirus con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula IV, o una sal, solvato y / o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, con lo cual *Filoviridae* polimerasa se inhibe.

[0152] En aún otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para inhibir *Filoviridae* polimerasa en una célula, que comprenden: poner en contacto una célula infectada con Filovirus con una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula IV, o una sal, solvato, y / o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional, con lo cual *Filoviridae* polimerasa se inhibe.

[0153] En todavía otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para inhibir *Filoviridae* polimerasa en una célula, que comprenden: poner en contacto una célula infectada con un Filovirus con una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula IV, o una sal, solvato, y / o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional, y al menos un agente terapéutico activo adicional seleccionado.

[0154] En todavía otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para tratar la infección por virus *Filoviridae* en un ser humano, que comprenden: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV, o una sal solvato, y / o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0155] En aún otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para el tratamiento de infección por el virus *Filoviridae* en un ser humano, que comprenden: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional, con lo que *Filoviridae* polimerasa es inhibida.

[0156] En aún otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para el tratamiento de infección por el virus *Filoviridae* en un ser humano, que comprende: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV, o una sal solvato, y / o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional.

[0157] También se proporciona un kit que incluye un compuesto de Fórmula IV, o una sal farmacéuticamente aceptable, éster farmacéuticamente aceptable, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros o tautómero de los mismos. En realizaciones separadas kits individuales se proporcionan incluye un compuesto seleccionado de la Fórmula IV en el presente documento, así como cada subgrupo y realización del mismo, incluyendo los compuestos individuales 1, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, y 32 (compuestos 1-32), o una sal farmacéuticamente aceptable, éster farmacéuticamente aceptable, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros o tautómero de los mismos. En un aspecto, el kit comprende un compuesto de Fórmula IV, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cada uno de los kits individuales descritos en el presente documento puede comprender una etiqueta y/o instrucciones para el uso del compuesto en el tratamiento de una enfermedad o afección en un sujeto (por ejemplo, humano) en

necesidad del mismo. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es una infección viral de *Filoviridae* humana, incluyendo una infección viral por Ébola o una infección viral Marburg. En otras realizaciones, cada kit por separado también puede contener instrucciones para el uso de agentes médicos adicionales en combinación con el compuesto de Fórmula IV en el tratamiento de una enfermedad o afección en un sujeto (por ejemplo, humano) en necesidad del mismo. En algunas de estas realizaciones, la enfermedad o afección es una infección viral de *Filoviridae* humana, incluyendo una infección viral por Ébola o una infección viral Marburg. En cada uno de los kits del presente documento hay una realización adicional en el que el kit comprende dosis unitarias individuales de un compuesto como se describe en el presente documento, o una sal, racemato, enantiómero, diastereómero, tautómero, polimorfo, pseudopolimorfo, forma amorfa, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos. Ejemplos de dosis unitarias individuales pueden incluir píldoras, comprimidos, cápsulas, jeringas precargadas o cartuchos de jeringas, bolsas IV, etc., que comprende cada uno una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto en cuestión, o una sal, racemato, enantiómero, diastereómero, tautómero, polimorfo, pseudopolimorfo, forma amorfa, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el kit puede contener una sola dosis unitaria y en otras múltiples unidades de dosificación están presentes, tales como el número de unidades de dosificación necesarios para un régimen o periodo especificado.

[0158] También se proporcionan artículos de fabricación que incluyen un compuesto de Fórmula IV, o una sal farmacéuticamente aceptable, éster farmacéuticamente aceptable, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros o tautómero del mismo; y un recipiente. En un aspecto, el artículo de fabricación comprende un compuesto de Fórmula IV y los compuestos individuales 1, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, y 32 (Compuestos 1-32), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un contenedor. En realizaciones separadas, el contenedor del artículo de fabricación puede ser un vial, frasco, ampolla, jeringa precargada, paquete de ampolla, estaño, lata, botella, caja o una bolsa intravenosa.

V. MÉTODOS DE INHIBICIÓN DE UNA FILOVIRIDAE POLIMERASA

[0159] Otro aspecto de la invención se refiere a métodos para inhibir la actividad de *Filoviridae* polimerasa que comprende la etapa de tratar una muestra sospechosa de contener *Filoviridae* con un compuesto o composición de la invención.

[0160] *Filoviridae* que pueden ser tratados utilizando los métodos de la presente invención son los virus de ARN de sentido negativo de cadena sencilla que normalmente infectan primates. Los Filovirus son capaces de multiplicarse en prácticamente todos los tipos de células. Los antígenos y los viriones filovirus se encuentran principalmente en los fibroblastos y el intersticio de un individuo infectado. Hay tres géneros identificados de filovirus: el virus del Ébola (EBOV, cinco especies); el virus de Marburg (MARV); y la Cuevavirus, también conocido como el virus Lloviu (LLOV). Los viriones (partículas virales) tienen la forma característicamente como partículas filamentosas largas, cilíndricas, que pueden ser lineales, curvadas, en espiral, o que se encuentran en una configuración en forma de "6" o de "U". De vez en cuando son ramificados y las partículas varían mucho en longitud, pero el diámetro (aproximadamente 80 nm) es consistente. El genoma filovirus comprende siete genes que codifican 4 proteínas virión estructurales (VP30, VP35, nucleoproteína (NP), y una proteína polimerasa (L-pol)) y 3 proteínas asociadas a la membrana (VP40, glicoproteína (GP), y VP24).

[0161] El género de virus Ébola incluye cinco especies conocidas: (1) *Bundibugyo ebolavirus*, también conocido como virus de Bundibugyo (BDBV, previamente BEBOV); (2) *Reston ebolavirus*, también conocido como virus Reston o Ebola-Reston (RESTV, previamente REBOV); (3) *Sudán ebolavirus*, también conocido como virus del Ébola-Sudán o Sudán (SUDV, previamente SEBOV); (4) *Tai Forest ebolavirus*, también conocido como virus de Tai-Forest o Ébola-Tai (TAFV, previamente CIEBOV); y (5) *Zaire ebolavirus*, también conocido como virus del Ébola o Ébola-Zaire (EBOV, previamente ZEBOV).

[0162] El género de virus de Marburg incluye las especies *Marburg marburgvirus*, también conocido como el virus de Marburg (MARV) o el virus Ravn (RAVV) . El género Cuevavirus incluye las especies *Lloviu cuevavirus*, también conocido como el virus Lloviu (LLOV).

[0163] Las composiciones de la invención pueden actuar como inhibidores de *Filoviridae* polimerasa, como intermediarios para tales inhibidores o tienen otras utilidades como se describe a continuación. Los inhibidores se unirán a localizaciones sobre la superficie o en una cavidad de *Filoviridae* polimerasa que tiene una geometría única de *Filoviridae* polimerasa. Las composiciones de unión de la *Filoviridae* polimerasa pueden unirse con grados variables de reversibilidad. Aquellos compuestos que se unen sustancialmente irreversiblemente son candidatos

ideales para uso en este método de la invención. Una vez marcadas, las composiciones de unión sustancialmente irreversible son útiles como sondas para la detección de *Filoviridae* polimerasa. Por consiguiente, la invención se refiere a métodos de detección de *Filoviridae* polimerasa en una muestra sospechosa de contener *Filoviridae* polimerasa que comprende las etapas de: tratar una muestra sospechosa de contener *Filoviridae* polimerasa con una composición que comprende un compuesto de la invención unido a un marcador; y observar el efecto de la muestra sobre la actividad de la etiqueta. Los marcadores adecuados son bien conocidos en el campodiagnóstico e incluyen radicales libres estables, fluoróforos, radioisótopos, enzimas, grupos quimioluminiscentes y cromógenos. Los compuestos en el presente documento se marcan de una manera convencional usando grupos funcionales tales como hidroxilo, carboxilo, sulfhidrilo o amino.

[0164] En el contexto de la invención, las muestras sospechosas de contener *Filoviridae* polimerasa incluyen materiales naturales o hechos por el hombre tales como organismos vivos; cultivos de tejidos o células; muestras biológicas tales como muestras biológicas (sangre, suero, orina, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, esputo, saliva, muestras de tejido, y similares); muestras de laboratorio; alimentos, agua, aire o muestras; muestras de bioproductos, tales como extractos de células, particularmente células recombinantes que sintetizan una glicoproteína deseada; y similares. Típicamente la muestra será sospechosa de contener un organismo que produce *Filoviridae* polimerasa, frecuentemente un organismo patógeno tal como un virus *Filoviridae*. Las muestras pueden estar contenidas en cualquier medio, incluyendo agua y mezclas de solvente orgánico\Agua. Las muestras incluyen organismos vivos tales como seres humanos, y materiales hechos por el hombre tales como cultivos de células.

[0165] La etapa de tratamiento de la invención comprende la adición de la composición de la invención a la muestra o comprende la adición de un precursor de la composición a la muestra. La etapa de adición comprende cualquier procedimiento de administración como se describe anteriormente.

[0166] Si se desea, la actividad de *Filoviridae* polimerasa después de la aplicación de la composición se puede observar mediante cualquier método incluyendo métodos directos e indirectos de detección de la actividad de la *Filoviridae* polimerasa. Los métodos cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos para determinar la actividad de *Filoviridae* polimerasa están contemplados. Típicamente uno de los métodos de cribado descritos anteriormente se aplican, sin embargo,

cualquier otro método, como la observación de las propiedades fisiológicas de un organismo vivo son también aplicables.

[0167] Los organismos que contienen *Filoviridae* polimerasa incluyen el virus *Filoviridae*. Los compuestos de esta invención son útiles en el tratamiento o profilaxis de infecciones por *Filoviridae* en animales o en el hombre.

[0168] Sin embargo, en los compuestos de detección capaces de inhibir virus *Filoviridae* humanos, se debe tener en mente que los resultados de los ensayos de enzimas no pueden correlacionar con ensayos de cultivo celular. . Por lo tanto, un ensayo basado en células debe ser la herramienta de cribado primario

[0169] En otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para tratar la infección por virus *Filoviridae* en un ser humano, que comprende: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula IV, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, una infección por *Filoviridae* es causada por un virus *Filoviridae*. En algunas realizaciones, una infección por *Filoviridae* es causada por un virus Ebola. En algunas realizaciones la infección por *Filoviridae* es causada por *Bundibugyo ebolavirus*, *Reston ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus*, or *Zaire ebolavirus*. En algunas realizaciones, una infección por *Filoviridae* es causada por un virus de *Marburg*. En algunas realizaciones, una infección por *Filoviridae* es causada por un virus Lloviu. En algunas realizaciones, una *Filoviridae* polimerasa es inhibida.

[0170] Los compuestos de la presente invención se pueden usar en el tratamiento de un humano que ya sufre de una infección por *Filoviridae*, o se pueden administrar profilácticamente para reducir o prevenir la posibilidad de una infección por *Filoviridae*. Las infecciones por *Filoviridae* se pueden caracterizar por fiebre hemorrágica, hematemesis, diarrea, dolor abdominal retrosternal y postración. El período de incubación es de alrededor de 21 días después del contacto con un ser humano que padece la infección por *Filoviridae*. El resultado de una infección por *Filoviridae* es típicamente la muerte.

[0171] También se proporcionan como realizaciones separadas son un compuesto seleccionado entre cada una de las fórmulas de este documento, así como cada subgrupo y realización de la misma, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula IV, o uno de los compuestos específicos de los ejemplos del presente documento, incluyendo los compuestos 1-32, o una sal, solvato y/o éster

farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para tratar una infección por *Filoviridae* en un ser humano. También se proporcionan como realizaciones separadas son un compuesto seleccionado entre cada una de las fórmulas del presente documento, así como cada subgrupo y realización de la misma, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula IV, o uno de los compuestos específicos de los ejemplos del presente documento, incluyendo los compuestos 1 -32, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método de tratamiento de una infección por el virus de Ébola en un ser humano. También se proporcionan como realizaciones separadas son un compuesto seleccionado entre cada una de las fórmulas del presente documento, así como cada subgrupo y realización de la misma, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula IV, o uno de los compuestos específicos de los ejemplos del presente documento, incluyendo los compuestos 1 - 32, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para tratar una infección por el virus de Marburg en un ser humano. Dentro de cada una de las realizaciones en el presente documento en el que una infección por *Filoviridae* es un virus de Ebola, hay otras formas de realización separadas con ellos en donde una infección por *Filoviridae* es causada, respectivamente, por *Bundibugyo ebolavirus*, *Reston ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus*, or *Zaire ebolavirus*. En algunas realizaciones, una infección por *Filoviridae* es causada por un virus de *Marburg*. En algunas realizaciones, una infección por *Filoviridae* es causada por un virus Lloviu.

[0172] La presente invención también proporciona compuestos de cada una de las Fórmulas del presente documento, así como cada subgrupo y realización de la misma, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula (IV), o uno de los compuestos específicos de los ejemplos del presente documento, incluyendo los compuestos 1-32, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en cualquiera de los métodos de la invención como se define aquí.

[0173] También se proporcionan como realizaciones separadas los usos de un compuesto seleccionado entre cada una de las fórmulas de este documento, así como cada subgrupo y realización de la misma, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula IV, o uno de los compuestos específicos de los ejemplos en el presente documento, incluyendo Los compuestos 1-32, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un

medicamento para tratar una infección por *Filoviridae* en un ser humano. También se proporcionan como realizaciones separadas los usos de un compuesto seleccionado entre cada una de las fórmulas en el presente documento, así como cada subgrupo y realización del mismo, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula IV, o uno de los compuestos específicos de los ejemplos del presente documento, incluyendo compuestos 1-32, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para tratar una infección de virus de Ébola en un ser humano. También se proporcionan como realizaciones separadas los usos de un compuesto seleccionado entre cada una de las fórmulas en el presente documento, así como cada subgrupo y realización de la misma, incluyendo un compuesto seleccionado entre el grupo de fórmula IV, o uno de los compuestos específicos de los ejemplos del presente documento, incluyendo compuestos 1-32, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección por el virus de Marburg en un ser humano.

VII. ANÁLISIS PARA INHIBIDORES DE FILOVIRIDAE POLIMERASA

[0174] Las composiciones de la invención se examinan para detectar la actividad inhibidora frente a *Filoviridae* polimerasa por cualquiera de las técnicas convencionales para evaluar la actividad enzimática. Dentro del contexto de la invención, típicamente se analizan primero las composiciones para la inhibición de *Filoviridae* polimerasa *in vitro* y las composiciones que muestran actividad inhibidora se analizan para actividad *in vivo*. Se prefieren para uso *in vivo* las composiciones que tienen K_i (constantes inhibidoras) *in vitro* de menos de aproximadamente 5×10^{-6} M y preferiblemente menos de aproximadamente 1×10^{-7} M.

[0175] Se han descrito análisis *in vitro* útiles en detalle y no se elaborará aquí. Sin embargo, los ejemplos describen ensayos adecuados *in vitro*.

VIII. PREPARACIÓN DE COMPUESTOS

EJEMPLOS

[0176] Ciertas abreviaturas y siglas se utilizan en la descripción de los detalles experimentales. Aunque la mayoría de estos se entendería por un experto en la técnica, la Tabla 1 contiene una lista de muchas de estas abreviaturas y acrónimos.

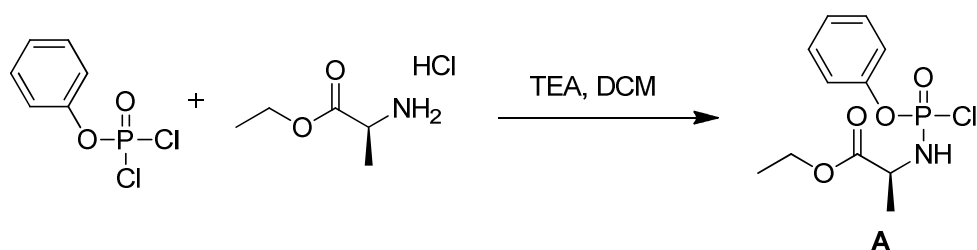
Tabla 1. Lista of abreviaturas y acrónimos.

Abreviatura	Significado
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AIBN	2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo)
Bn	bencilo
BnBr	Bromuro de bencilo
BSA	bis(trimetilsilil)acetamida
BzCl	Cloruro de benzoilo
CDI	carbonilo diimidazol
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
DBN	1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno
DDQ	2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DBU	1,5-diazabicyclo[5.4.0]undec-5-eno
DCA	dicloroacetamida
DCC	diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DMAP	4-dimetiloaminopiridina
DME	1,2-dimetoxietano
DMTCI	Cloruro de dimetoxitritilo
DMSO	Dimetilosulfóxido
DMTr	4, 4'-dimetoxitritilo
DMF	dimetiloformamida
EtOAc	Acetato de etilo
ESI	Ionización por electrospray
EtOAc	Acetato de etilo
HMDS	hexametilodisilazano
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia
LDA	Litio diisopropiloamida
LRMS	Espectro de masas de baja resoluciónn
MCPBA	ácido meta-cloroperbenzoico
MeCN	acetonitrilo

MeOH	metanol
MMTC	Cloruro de mono metoxitritilo
m/z o m/e	Razón masa carga
MH ⁺	Masa más 1
MH ⁻	Masa menos 1
MsOH	Ácido metanosulfónico
MS o ms	Espectro de masas
MTBE	tert-butilmetil éter
NBS	N-bromosuccinimida
Ph	fenilo
rt o r.t.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoruro de tetrabutiloamonio
THF	tetrahidrofurano
TMSCl	clorotrimetilsilano
TMSBr	bromotrimetilsilano
TMSI	yodotrimetilsilano
TMSOTf	(trimetilsilil)trifluorometilsulfonato
TEA	Trietilamina
TBA	tributilamina
TBAP	tributilamonio pirofosfato
TBSCl	Cloruro de t-butildimetilsililo
TEAB	trietiloamonio bicarbonato
TFA	Ácido trifluoroacético
TLC o tlc	Cromatografía de capa delgada
Tr	trifenilmetilo
Tol	4-metilbenzoilo
Turbo Grignard	Mezcla 1:1 de cloruro de isopropilmagnesio chloride y cloruro de litio
δ	Desplazamiento en partes por millón de tetrametilsilano

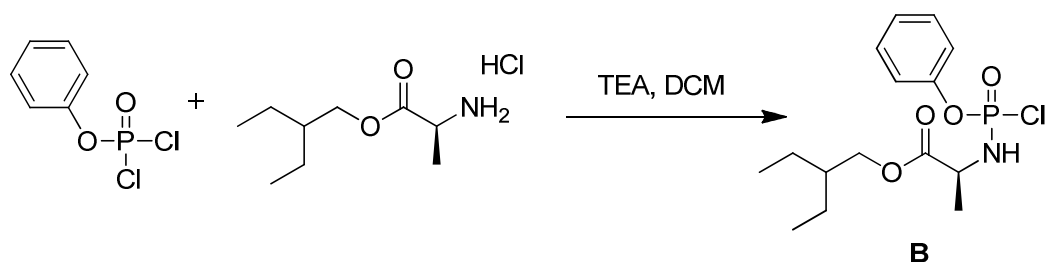
A. Preparación de Compuestos

Ejemplo 1. (2S)-etil 2-(cloro(fenoxi)fosforilamino)propanoato (Cloridato A)



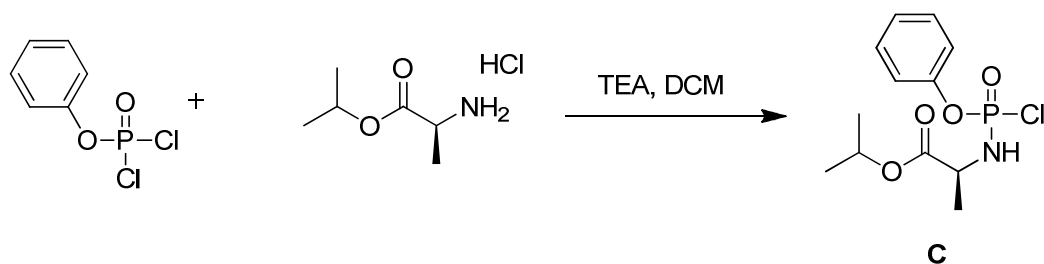
[0177] La sal clorhidrato de del éster de la etil alanina (1.69 g, 11 mmol) se disolvió en diclorometano anhidro CH_2Cl_2 (10 mL), la mezcla se agitó con enfriamiento a 0°C bajo N_2 (g). El fenil diclorofosfato (1.49 mL, 10 mmol) se adicionó seguido por la adición gota a gota de Et_3N durante 10 min aproximadamente. La mezcla de reacción se calentó lentamente a RT y se agitó durante aproximadamente 12 h. Et_2O anhidro (50 mL) se adicionó, y la mezcla se agitó aproximadamente por 30 min. El sólido que se formó se removió por filtración, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0-50% EtOAc en hexano para proporcionar el intermediario **A**. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7.39-7.27 (m, 5H), 4.27 (m, 3H), 1.52 (m, 3H), 1.32 (m, 3H). ^{31}P RMN (121.4 MHz, CDCl_3) δ 8.2, 7.8.

Ejemplo 2. (2S)-2-etilbutilo 2-(cloro(fenoxi)fosforilamino)propanoato (Cloridato B)



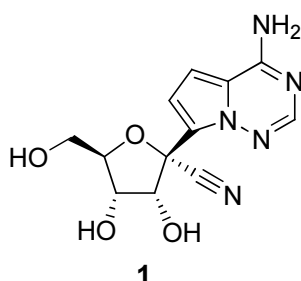
[0178] El 2-etilbutilo alanina clorofosforamidato éster **B** se preparó usando el mismo procedimiento como el cloridato **A** excepto sustituyendo el éster de 2-etilbutil alanina por éster de etil alanina. El material crudo es usado en la siguiente reacción. Tratamientos con metanol o etanol forman el producto desplazado con el requisito de la señal del LCMS.

Ejemplo 3. (2S)-isopropil 2-(cloro(fenoxi)fosforilamino)propanoato (Cloridato C)

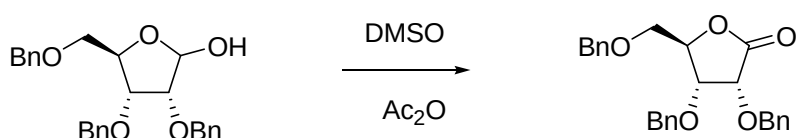


[0179] El isopropil alanina clorofosforamidato éster **C** se preparó usando el mismo procedimiento como el cloridato **A** excepto sustituyendo el éster de isopropil alanina por el éster de etil alanina. El material crudo es usado en la siguiente reacción. Tratamientos con metanol o etanol forman el producto desplazado con el requisito de la señal del LCMS.

Ejemplo 4. (2R, 3R, 4S, 5R)-2-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (compuesto 1)

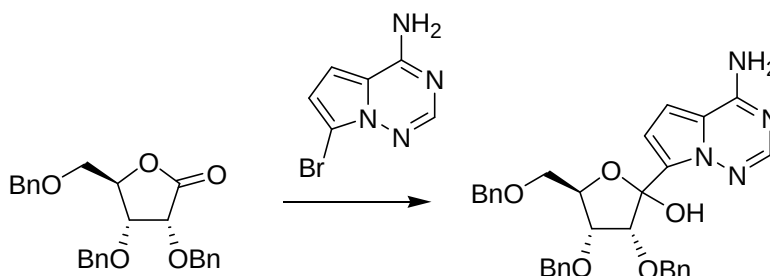


[0180] La preparación de (2R, 3R, 4S, 5R)-2-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo se describe a continuación.

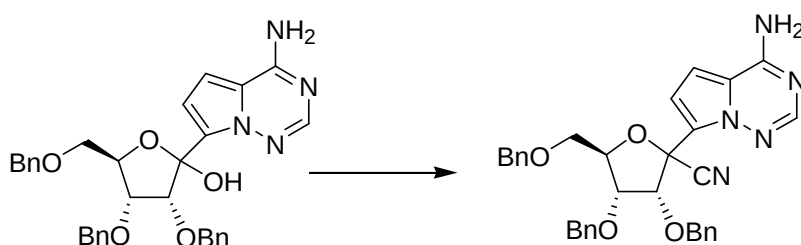


[0181] El lactol (10 g, 23.8 mmol) comercialmente disponible se disolvió en DMSO anhidro (30 mL) bajo N₂ (g). Ac₂O (20 mL) se adicionó y la mezcla de reacción resultante se agitó a RT aproximadamente por 48 h. La mezcla de reacción se vertió sobre H₂O fría (500 mL) y la mezcla se agitó por 20 min. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL) y el combinado de extractos orgánicos se lavó entonces con H₂O (3 x 200 mL). El extracto orgánico se secó sobre MgSO₄ anhidro, filtrado y secado por presión reducida. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ y se sometió a cromatografía de gel de sílice eluyendo con 25% EtOAc en hexanos para

proporcionar la lactona. ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 7.30-7.34 (m, 13H), 7.19-7.21 (m, 2H), 4.55-4.72 (m, 6H), 4.47 (s, 2H), 4.28 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 3.66 (m, 2H). LCMS m/z 436.1 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]$, 435.2 $[\text{M}+\text{OH}]^-$ Tr = 2.82 min. HPLC Tr = 4.59 [2-98% ACN en H₂) por 5 min a 2 mL/min de flujo.

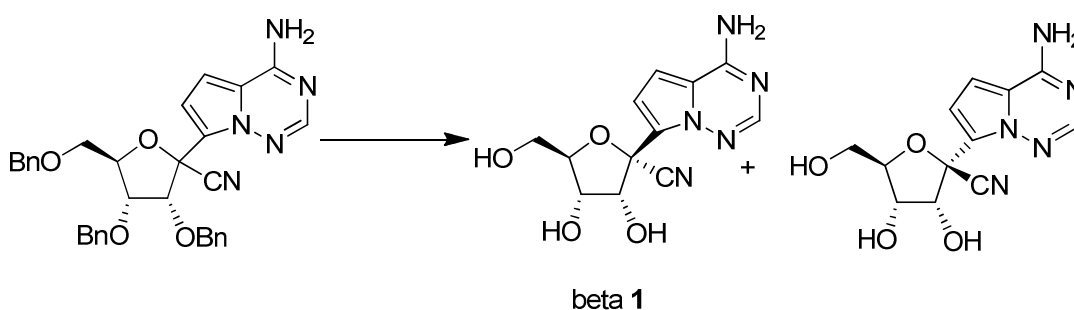


[0182] El bromopirazol (preparado de acuerdo con WO2009/132135) (0.5 g, 2.4 mmol) se suspendió en THF anhidro (10 mL) bajo N_2 (g). La suspensión se agitó y se adicionó TMSCl (0.67 mL, 5.28 mmol). La mezcla se agitó por 20 min. a RT y luego se enfrió aproximadamente a -78°C después de lo cual se adicionó una solución de $n\text{-BuLi}$ (6 mL, 1.6 N en hexanos, 9.6 mmol) lentamente. La mezcla de reacción se agitó por 10 min. aproximadamente a -78°C y luego se adicionó la lactona (1 g, 2.4 mmol) por medio de una jeringa. Cuando la reacción se completó, medido por LCMS, se adicionó AcOH para detener la reacción. La mezcla se concentró bajo presión reducida y el residuo se disolvió en una mezcla de CH_2Cl_2 y H_2O (100 mL, 1:1). La capa orgánica se separó y se lavó con H_2O (50 mL). La capa orgánica se secó con MgSO_4 anhidro, luego se filtró y concentró bajo presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía de gel de sílice eluyendo con 0-50% EtOAc en hexanos para proporcionar el producto como una 1:1 mezcla de anómeros. LCMS m/z 553 $[\text{M}+\text{H}]$.



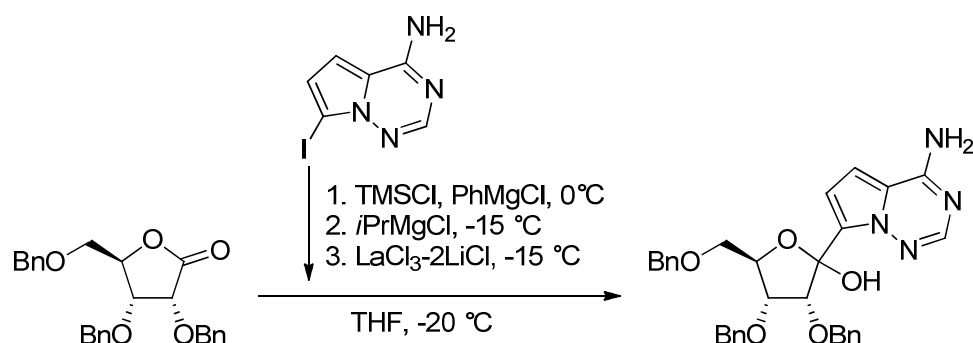
[0183] El hidroxí nucleósido (1.1 g, 2.0 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (40 mL) y la solución se enfrió con agitación aproximadamente a -78°C bajo N_2 (g). TMSCN (0.931 mL, 7 mmol) se adicionó y la mezcla se agitó por 10 min. adicionales. TMSOTf (1.63 mL, 9.0 mmol) se adicionó lentamente a la reacción y la mezcla se agitó por 1 h. La mezcla de reacción luego se diluyó con CH_2Cl_2 (120 mL) y se adicionó NaHCO_3 (120 mL) acuoso para detener la reacción. La mezcla de reacción se agitó por 10 min adicionales y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se

extrajo con CH_2Cl_2 (150 mL) y el combinado de extractos orgánicos se secaron con MgSO_4 anhidro, filtrado y concentrado bajo presión reducida. El residuo se disolvió en una cantidad mínima de CH_2Cl_2 y se sometió a cromatografía de gel de sílice eluyendo con un gradiente de 0-75% EtOAc y hexanos para proporcionar el nucleósido ciano tribencil como una mezcla de anómeros. ^1H RMN (300 MHz, CD_3CN) δ 7.94 (s, 0.5H), 7.88 (s, 0.5H), 7.29-7.43 (m, 13H), 7.11-7.19 (m, 1H), 6.82-6.88 (m, 1H), 6.70-6.76 (m, 1H), 6.41 (bs, 2H), 5.10 (d, $J = 3.9$ Hz, 0.5H), 4.96 (d, $J = 5.1$ Hz, 0.5H), 4.31-4.85 (m, 7H), 4.09-4.18 (m, 2H), 3.61-3.90 (m, 2H). LCMS m/z 562 $[\text{M}+\text{H}]$.



[0184] El nucleósido ciano tribencil (70 mg, 0.124 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (2 mL) y se enfrió aproximadamente a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ bajo N_2 (g). Una solución de BCl_3 (1N en CH_2Cl_2 , 0.506 mL, 0.506 mmol) se adicionó y la mezcla de la reacción se agitó por 1 h. a $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Cuando la reacción se completó por LC/MS, MeOH se adicionó para detener la reacción. La mezcla de la reacción se dejó calentar a RT y el solvente se removi6 bajo presión reducida. El residuo se sometió a C18 HPLC fase reversa, eluyendo por 5 min con H_2O (0.1 % TFA), seguido de un gradiente de 0-70% MeCN en H_2O (0.1 % TFA) por más de 35 min, para eluir el α -an6mero, y β -an6mero **1**. (**α -an6mero**) ^1H RMN (300 MHz, D_2O) δ 7.96 (s, 1H), 7.20 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.56-4.62 (m, 1H), 4.08-4.14 (m, 1H), 3.90 (dd, $J = 12.9, 2.4$ Hz, 1H), 3.70 (dd, $J = 13.2, 4.5$ Hz, 1H). (**β -an6mero**) ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 7.91 (s, 1H), 7.80-8.00 (br s, 2H), 6.85-6.89 (m, 2H), 6.07 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.17 (br s, 1H), 4.90 (br s, 1H), 4.63 (t, $J = 3.9$ Hz, 1H), 4.02-4.06 (m, 1H), 3.94 (br s, 1H), 3.48-3.64 (m, 2H). LCMS m/z 292.2 $[\text{M}+\text{H}]$, 290.0 $[\text{M}-\text{H}]$. Tr= 0.35 min. ^{13}C RMN (400 MHz, DMSO), 156.0, 148.3, 124.3, 117.8, 117.0, 111.2, 101.3, 85.8, 79.0, 74.7, 70.5, 61.4. HPLC Tr = 1.32 min

Preparación de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol usando $\text{LaCl}_3\cdot 2\text{LiCl}$



[0185] Una solución de 7-yodopirrolo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-4-amina (7.5 g, 28.8 mmol, 1.0 equiv) se preparó en THF (67 mL). La solución se enfrió aproximadamente a 0 °C, y TMSCl (3.3 mL, 30.3 mmol, 1.05 equiv) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó por 30 min aproximadamente, y luego PhMgCl (2 M en THF; 28 mL, 56.8 mmol, 1.97 equiv) se adicionó mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de 5 °C. La mezcla de la reacción se agitó a aproximadamente a 0 °C por 35 min aproximadamente, y luego se enfrió a -15 °C. Luego el *i*PrMgCl (2 M en THF, 14 mL, 30.2 mmol, 1.05 equiv) se adicionó mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de -10 °C aproximadamente. Después de aproximadamente 15 minutos a -15 °C, LaCl₃·2LiCl (0.6 M en THF, 50 mL, 14.4 mmol, 0.5 equiv) se adicionó mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de -15 °C aproximadamente. La mezcla de la reacción se agitó por 25 min a -20 °C aproximadamente.

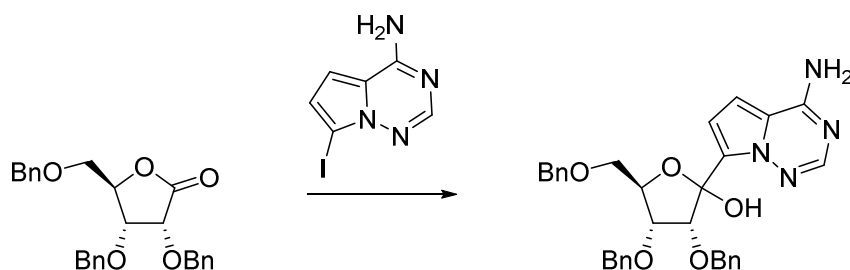
[0186] En un matraz aparte, una solución de (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)dihydrofuran-2(3H)-ona (10.0 g, 23.9 mmol, 0.83 equiv) se preparó en THF (45 mL). La solución se enfrió aproximadamente a -20 °C, y luego se transfirió a una solución de Grignard mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de -15 °C aproximadamente. El resultante de la mezcla de reacción se agitó aproximadamente a -20 °C por 30 min aproximadamente.

La reacción se detuvo con HCl 2M (53 mL), y la mezcla se calentó aproximadamente a 15 °C. *i*PrOAc (38 mL) se adicionó, y las fases orgánica y acuosa se separaron. La capa acuosa inferior se descartó, y la capa orgánica superior se lavó secuencialmente con 2.5 %p NaHCO₃ (53 mL), 2.5 %p NaHCO₃ (53 mL), y 10 %p NaCl (53 mL).

[0187] La fase orgánica se concentró aproximadamente con 45 mL, y luego se diluyó con *i*PrOAc (75 mL). La solución se concentró de nuevo a 45 mL aproximadamente, y luego se diluyó con *i*PrOAc (23 mL). La solución se concentró a 45 mL aproximadamente, y luego se filtró con una almohadilla de celita. La solución filtrada

se concentró a 26 mL aproximadamente, y luego se diluyó con MTBE (75 mL). Después de 2h, heptano (23 mL) se adicionó lentamente y la suspensión se agitó a 25 °C por 2 h aproximadamente, y luego se enfrió a -5 °C por 8 h aproximadamente. Los sólidos fueron aislados por filtración, y la masa de filtrado se lavó con MTBE/heptano (4:1, 23 mL). Los sólidos fueron secados en un horno de vacío con una temperatura no superior de 35 °C aproximadamente para obtener (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol.

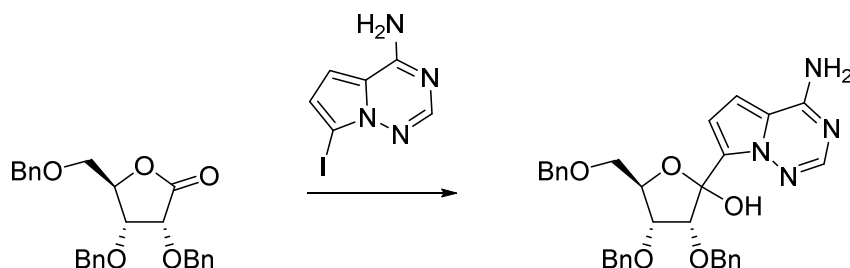
Preparación de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol usando CeCl_3



[0188] El yodopirazol (5.02 g, 19.3 mmol) se disolvió en THF (45 g) y la solución se enfrió aproximadamente a 0 °C con agitación. TMSCl (2.04 g, 18.7 mmol) se adicionó, y después de 1h aproximadamente cloruro de fenil magnesio (2.0 M en THF, 19.9 g, 38.2 mmol) se adicionó. La mezcla de la reacción fue enfriada a -20 °C aproximadamente y *iso*-propil cloruro de magnesio (2.0 M en THF, 9.99 g, 20.5 mmol) se adicionó lentamente. Después de 30 min aproximadamente, la mezcla de la reacción se transfirió a una mezcla de cloruro de cerio anhidro (4.75 g, 19.3 mmol) en THF (22 g) a -20 °C aproximadamente. Después de 1.5 h aproximadamente una solución de lactona (6.73 g, 16.1 mmol) en THF (22 g) se adicionó lentamente, y el resultante de la mezcla de reacción se agitó por 1 h aproximadamente. HCl 2M (41 g) se adicionó, la mezcla se calentó a 15 °C aproximadamente, y acetato de *iso*-propilo (35 g) se adicionó. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 2.5% NaHCO_3 (2 x 40 g), 10% NaCl (1 x 35 g) y se concentró a aproximadamente 30 mL de volumen. Acetato de *iso*-propilo (44 g) se cargó y la solución se concentró a aproximadamente 30 mL de volumen. acetato de *iso*-propilo (43 g) se cargó y la solución se concentró a aproximadamente 30 mL de volumen. La solución se filtró y el filtrado se concentró a aproximadamente 18 mL de volumen. *tert*-Butilmetil éter (37 g) se adicionó seguido de cristales de semilla del producto (10.7 mg). Después de aproximadamente 14 h *n*-heptano (10.5 g) se adicionó y la mezcla se enfrió a aproximadamente -5 °C y se filtró. Los sólidos se llevaron con *tert*-butilmetil éter (9 g)

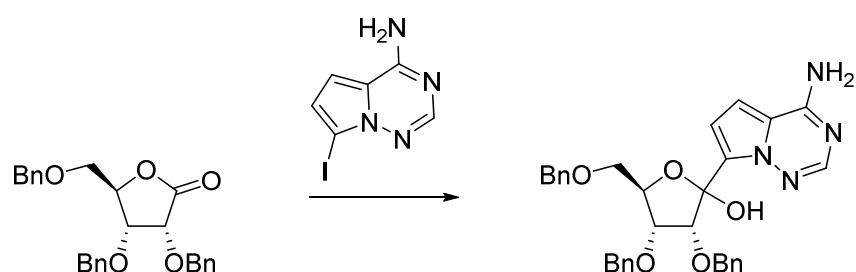
a -5 °C aproximadamente y se secó al vacío a 34 °C por 15 h aproximadamente para proporcionar el producto.

Preparación de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol usando CeCl_3 y $i\text{PrMgCl-LiCl}$



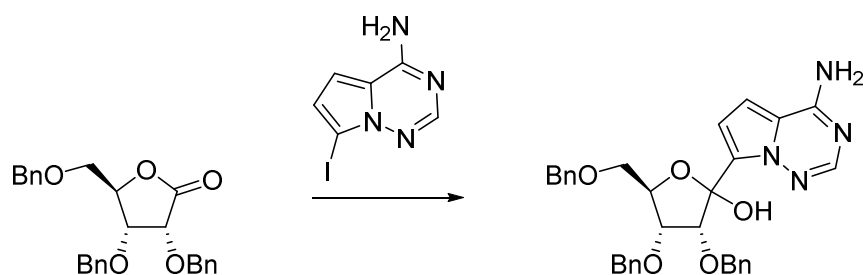
[0189]El yodopirazol (5.03 g, 19.3 mmol) se disolvió en THF (45 g) y la solución se enfrió aproximadamente a 0 °C con agitación bajo $\text{N}_2(\text{g})$. TMSCl (2.06 g, 19.0 mmol) se adicionó, y después de 1 h aproximadamente el cloruro de fenil magnesio (2.0 M en THF, 20.23 g, 38.8 mmol) se adicionó. La mezcla de la reacción se enfrió a -20 °C aproximadamente y el complejo de cloruro de *iso*-propil magnesio- cloruro de litio (2.0 M en THF, 15.37 g, 21.0 mmol) se adicionó lentamente. Después de 1 h aproximadamente, la mezcla de la reacción se transfirió a la mezcla de cloruro de cerio (4.77 g, 19.4 mmol) en THF (22 g) a -20 °C aproximadamente. Después de 1 h aproximadamente una solución de lactona (6.75 g, 16.1 mmol) en THF (23 g) se adicionó lentamente, y el resultante de la mezcla de reacción se agitó por 1.5 h aproximadamente. HCl 2M (40 g) se adicionó, la mezcla se calentó a 15 °C aproximadamente y el acetato de *iso*-propilo (35 g) se adicionó. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 2.5% NaHCO_3 (2 x 40 g), 10% NaCl (1 x 36 g) y se concentró a 30 mL aproximadamente de volumen. acetato de *iso*-propilo (44 g) se adicionó y la solución se concentró a 30 mL aproximadamente de volumen. La solución se filtró y el filtrado se concentró a 18 mL aproximadamente de volumen. *tert*-Butilmetil éter (37 g) se adicionó seguido de cristales semilla del producto (10.5 mg). Después de 14 h aproximadamente *n*-heptano (11 g) se adicionó y la mezcla se enfrió a -5 °C aproximadamente y se filtró. Los sólidos se lavaron con *tert*-butilmetil éter (9 g) a -5 °C aproximadamente y se secó bajo vacío a 34 °C por 15 h aproximadamente para proporcionar el producto.

Preparación de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol usando YCl_3



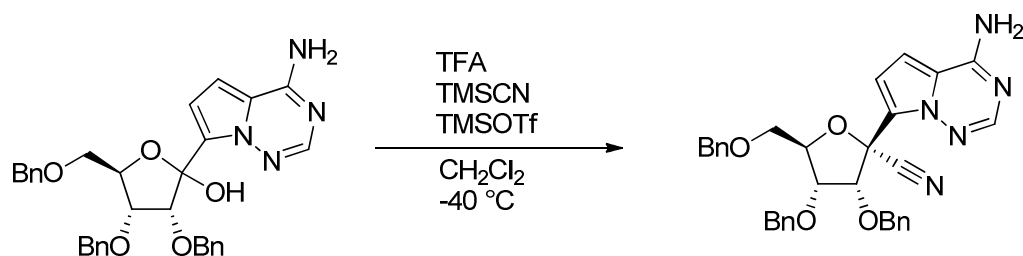
[0190] El yodopirazol (4.99 g, 19.2 mmol) se disolvió en THF (44 g) y la solución se enfrió aproximadamente a 0 °C con agitación. TMSCl (2.45 mL, 19.4 mmol) se adicionó, y después de 30 min aproximadamente el fenil cloruro de magnesio (2.0 M en THF, 20.29 g, 39.0 mmol) se adicionó. La mezcla de la reacción se enfrió a -20 °C aproximadamente y el *iso*-propil cloruro de magnesio (2.0 M en THF, 9.85 g, 20.1 mmol) se adicionó lentamente. Después de 30 min aproximadamente, la mezcla de la reacción se transfirió a una mezcla de cloruro de itrio anhidro (3.76 g, 19.3 mmol) y lactona (6.68 g, 16.0 mmol) en THF (24 g) a -20 °C aproximadamente. Después de 2.5 h aproximadamente HCl 2M (30 g) se adicionó, la mezcla se calentó a 15 °C aproximadamente, y acetato de *iso*-propilo (22 g) se adicionó. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 2.5% NaHCO₃ (2 x 40 g), 10% NaCl (1 x 35 g) y se concentró aproximadamente a 30 mL de volumen. acetato de *iso*-propilo (44 g) se cargó y la solución se concentró aproximadamente a 30 mL de volumen. acetato de *iso*-propilo (45 g) se cargó y la solución se concentró aproximadamente a 30 mL de volumen. La solución se filtró y el filtrado se concentró aproximadamente a 18 mL de volumen. *tert*-Butilmetil éter (37 g) se adicionó seguido de cristales semilla del producto (11.5 mg). Después de 1 h aproximadamente, *n*-heptano (15 mL) se adicionó y la mezcla se enfrió a -5 °C aproximadamente y se agitó por 17 h aproximadamente. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con una *tert*-butilmetil éter (8 g)/*n*-heptano (2 g) mezcla preenfriada a -5 °C aproximadamente. Los sólidos resultantes fueron secados al vacío a 34 °C por 22 h aproximadamente para proporcionar el producto.

Preparación de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol usando NdCl₃



[0191] El yodopirazol (5.02 g, 19.3 mmol) se disolvió en THF (38 g) y la solución se enfrió aproximadamente a 0 °C con agitación bajo N₂(g). TMSCl (2.45 mL, 19.4 mmol) se adicionó, y después de 1 h aproximadamente el cloruro de fenilmagnesio (2.0 M en THF, 19.75 g, 38.0 mmol) se adicionó. La mezcla de la reacción se enfrió aproximadamente a -20 °C y cloruro de *iso*-propilmagnesio (2.0 M en THF, 9.40 g, 19.2 mmol) se adicionó lentamente. Después de 1.5 h aproximadamente, la mezcla de la reacción se transfirió a una mezcla de cloruro de neodimio (III) anhidro (4.03 g, 16.1 mmol) y lactona (6.70 g, 16.0 mmol) en THF (22 g) a -20 °C aproximadamente. Después de 1.5 h aproximadamente la mezcla de la reacción se calentó a -10 °C y, después de 2 h adicionales, HCl 2M (36 g) se adicionó. La mezcla se calentó a 15 °C aproximadamente y acetato de *iso*-propilo (23 g) se adicionó. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 2.5% NaHCO₃ (2 x 44 g), 10% NaCl (1 x 41 g) y se concentró aproximadamente a 30 mL de volumen. acetato de *iso*-propilo (44 g) se cargó y la solución se concentró aproximadamente a 30 mL de volumen. acetato de *iso*-propilo (45 g) se cargó y la solución se concentró aproximadamente a 30 mL de volumen. La solución se filtró y el filtrado se concentró aproximadamente a 18 mL de volumen. *tert*-Butilmetil éter (37 g) se adicionó seguido de cristales semilla del producto (11.9 mg). Después de 1 h aproximadamente, *n*-heptano (15 mL) se adicionó y la mezcla se enfrió a -5 °C y agitando por 15 h aproximadamente. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con una mezcla de *tert*-butilmetil éter (8 g)/*n*-heptano (11 g) pre enfriada aproximadamente a -5 °C. Los sólidos resultantes se secaron bajo vacío a 34 °C por 25 h aproximadamente para proporcionar el producto.

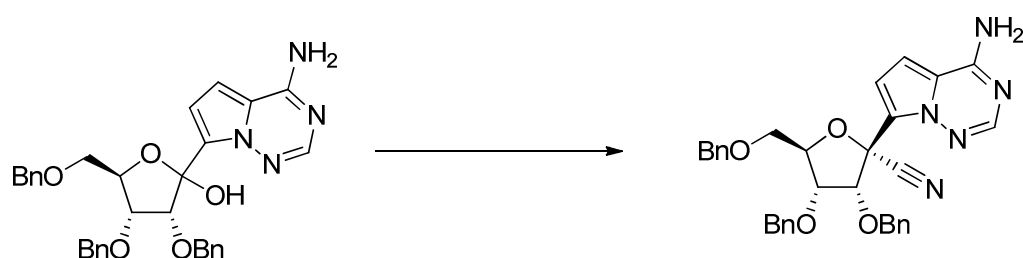
Preparación de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo



[0192] A una solución pre enfriada (-40 °C) de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol (10.0 gramos, 18.1 mmoles, 1.0 equiv.) en DCM (100 mL) se cargó ácido trifluoroacético (6.19 gramos, 54.3 mmoles, 3.0 equiv.), seguido por una solución pre enfriada (-30

°C) de TMSOTf (24.1 gramos, 108.6 mmoles, 6.0 equiv.) y TMSCN (10.8 gramos, 108.6 mmoles, 6.0 equiv.) en DCM (50 mL) mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de -25 °C aproximadamente. La mezcla de la reacción se agitó por debajo de -30 °C aproximadamente por no menos de 10 minutos y se detuvo con una solución pre enfriada (aproximadamente a -10 °C) de 20 % p KOH ac. (120 mL). La mezcla bifásica se calentó a temperatura ambiente. La capa orgánica fue separada y se lavó con 10 % p NaCl ac. (3 X 50 mL). La fase orgánica se filtró, se concentró bajo vacío aproximadamente a 50 mL, re-diluido con tolueno (200 mL) y se concentró bajo vacío a 140 mL a 50°C aproximadamente. La solución se sembró con (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo a 55 °C aproximadamente. Se agitó a 55 °C aproximadamente por una hora y se enfrió a 0 °C aproximadamente por 6 horas. Los sólidos se aislaron por filtración y la masa de filtrado se lavó con tolueno (30 mL). Los sólidos fueron secados bajo vacío a 50 °C aproximadamente.

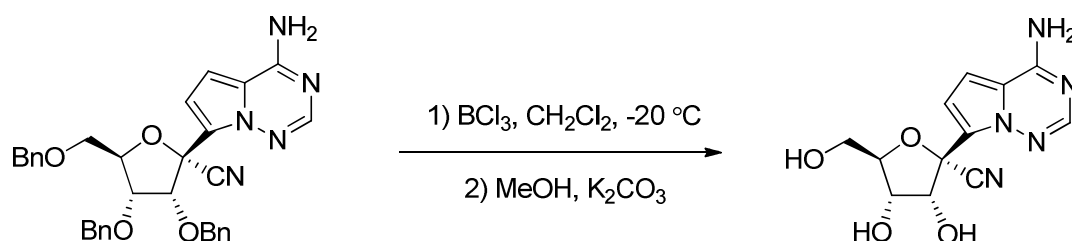
Preparación de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo vía Química de Flujo



[0193] Soluciones de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol (23.0 g en 460.07 g de DCM), TMSOTf (55.81 g en 138.07 g de DCM) y TMSCN (25.03 g en 138.10 g de DCM) fueron secuencialmente bombeado, en un reactor de tubo aproximadamente a -40 °C. La mezcla de la reacción se colectó en un matraz, mantenido en baño de frío, que contiene 20% KOH en una solución acuosa (46.91 g KOH y 210 g de agua). Las capas se separaron y la fase orgánica fue secuencialmente lavada con una solución acuosa de KOH 10% (10 g KOH y 90 mL de agua) y con 10% salmuera (2 x100 g). La fase orgánica se concentró bajo vacío aproximadamente a 4 volúmenes, el alcohol isopropílico se cargó (162.89 g) y la mezcla se concentró bajo vacío aproximadamente a 10 volúmenes. Los contenidos se calentaron a 60 °C aproximadamente, Luego se ajustó aproximadamente a 0 °C durante 6.5 h y se agitó a 0 °C por 15.5 h aproximadamente. La suspensión resultante se filtró, los sólidos se lavaron con alcohol isopropílico (61.79 g) y luego se secó a 50 °C

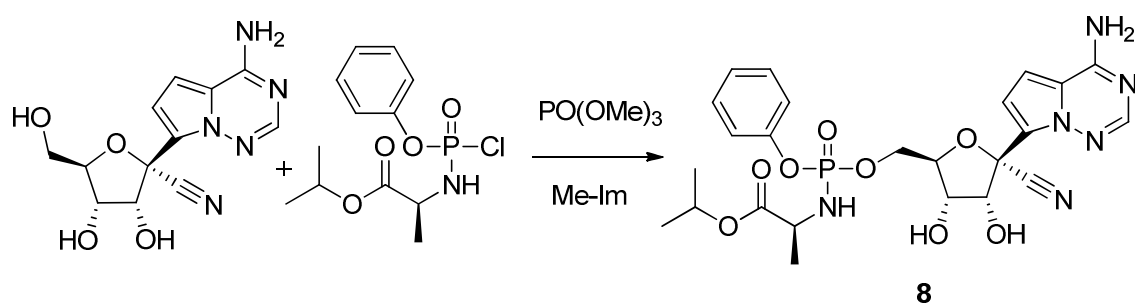
aproximadamente bajo presión reducida durante toda la noche para proporcionar el producto.

Preparación de (2R, 3R, 4S, 5R)-2-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo



[0194] El tribencil ciano nucleósido (48.8 g, 86.9 mmol, 1.0 equiv.) se disolvió en CH₂Cl₂ anhidro (244 mL) y se enfrió a aproximadamente -20 °C. Una solución de BCl₃ (1M en CH₂Cl₂, 295 mL, 295 mmol, 3.4 equiv.) se adicionó gota a gota, manteniendo la temperatura interna bajo aproximadamente -15 °C. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a aproximadamente -20 °C. MeOH (340 ml) se adicionó gota a gota, manteniendo la temperatura interna bajo -15°C. La solución resultante se destiló a aproximadamente 250 ml, luego se rellenó con aproximadamente 250 ml de MeOH. La solución resultante se destiló nuevamente a aproximadamente 250 ml, luego se rellenó con aproximadamente 250 ml MeOH, y finalmente se destiló a aproximadamente 125 ml. Agua (125 ml) se adicionó, seguida por solución de K₂CO₃ (20 %p en agua, 125 ml). Se revisó el pH, y se encontró que era ~3. Solución de K₂CO₃ se adicionó (20 %p en agua, 50 ml), y se encontró que el pH era ~8. La lechada resultante se agitó durante toda la noche, luego se filtró y se lavó con agua (50 ml) y MeOH (50 ml). La masa de producto húmeda se secó durante toda la noche a aproximadamente 40 °C durante toda la noche. ¹H RMN (300 MHz, D₂O) δ 7.96 (s, 1H), 7.20 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.97 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.56-4.62 (m, 1H), 4.08-4.14 (m, 1H), 3.90 (dd, J = 12.9, 2.4 Hz, 1H), 3.70 (dd, J = 13.2, 4.5 Hz, 1H).

Ejemplo 11. (2S)-isopropilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)-fosforilamino)propanoato (compuesto 8)

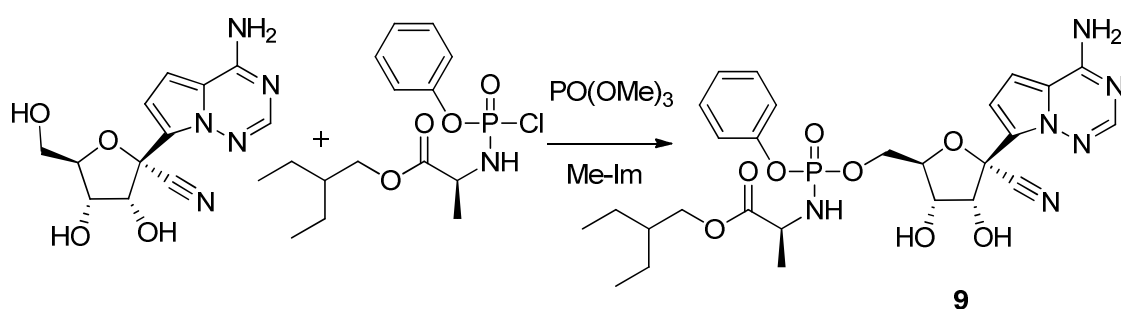


[0195] El nucleósido **1** (45mg, 0.15mmol) se disolvió en trimetil fosfato anhidro (0.5 mL) y la solución se agitó bajo N₂ (g) a aproximadamente 0 °C. Metil imidazol (36 µL, 0.45 mmol) se adicionó a la solución. Clorofosforamidato **C** (69 mg, 0.225 mmol) se disolvió en THF anhidro (0.25 mL) y se adicionó gota a gota a la mezcla del nucleósido. Cuando la reacción fue completa por LCMS, la mezcla de la reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO₃, NaCl saturado, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0-5% MeOH en CH₂Cl₂ seguido por HPLC preparativa para dar el producto. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7.95 (m, 1H), 7.31-6.97 (m, 7H), 4.94 (m, 1H), 4.78 (m, 1H), 4.43 (m, 3H), 4.20 (m, 1H), 3.80 (d, 1H), 1.30-1.18 (m, 9H). ³¹P RMN (121.4 MHz, CD₃OD) δ 3.8. LCMS *m/z* 561.0 [M+H], 559.0 [M-H].

Ejemplo 12. (2S)-2-etilbutilo 2-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforilamino) propanoato (compuesto 9)

[0196] El compuesto **9** se puede preparar por varios métodos descritos más adelante.

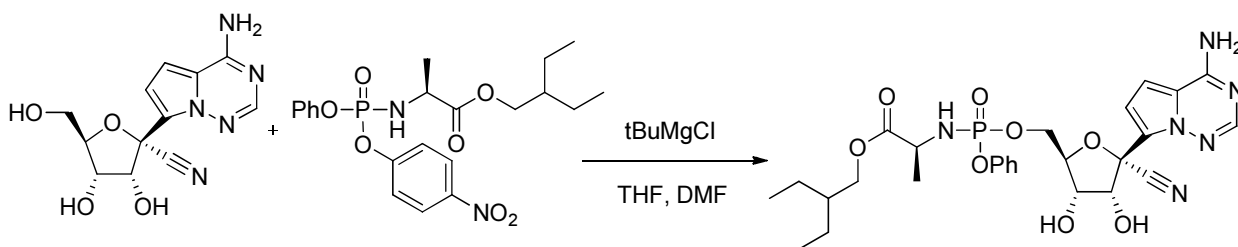
Procedimiento 1



[0197] Preparado del compuesto **1** y cloridato **B** de acuerdo con el mismo método que durante la preparación del compuesto **8**. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7.87 (m, 1H), 7.31-7.16 (m, 5H), 6.92-6.89 (m, 2H), 4.78 (m, 1H), 4.50-3.80 (m, 7H), 1.45-1.24

(m, 8H), 0.95-0.84 (m, 6H). ^{31}P RMN (121.4 MHz, CD_3OD) δ 3.7. LCMS m/z 603.1 [M+H], 601.0 [M-H].

Procedimiento 2



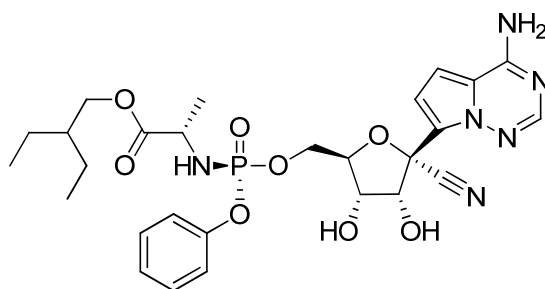
[0198] (2S)-2-etilbutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato.

(2S)-2-etilbutilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (1.08 g, 2.4 mmol) se disolvió en DMF anhidro (9 mL) y se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a RT. (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofurano-2-carbonitrilo (350 mg, 1.2 mmol) se adicionó a la mezcla de la reacción en una porción. Una solución de *t*-butilocloruro de magnesio en THF (1M, 1.8 mL, 1.8 mmol) se adicionó entonces a la reacción gota a gota durante aproximadamente 10 minutos. La reacción se agitó durante aproximadamente 2 h, punto en el que la mezcla de la reacción se diluyó con acetato de etilo (50 mL) y se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (3 x 15 mL) seguido por solución acuosa saturada de cloruro de sodio (15 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El aceite resultante se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice (0-10% MeOH en DCM) para dar (2S)-2-etilbutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (311 mg, 43%, 1:0.4 mezcla diastereomérica en fósforo) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.85 (m, 1H), 7.34 – 7.23 (m, 2H), 7.21 – 7.09 (m, 3H), 6.94 – 6.84 (m, 2H), 4.78 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.46 – 4.33 (m, 2H), 4.33 – 4.24 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.05 – 3.80 (m, 3H), 1.52 – 1.39 (m, 1H), 1.38 – 1.20 (m, 7H), 0.85 (m, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 3.71, 3.65. LCMS m/z 603.1 [M+H], 600.9 [M-H]. HPLC (gradiente MeCN– H_2O 2–98% con modificador TFA 0.1% durante 8.5 min, 1.5mL/min, Columna: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 μm 100 Å, 4.6 x 100 mm) t_R = 5.544 min, 5.601 min

Separación de los diastereómeros (S) y (R)

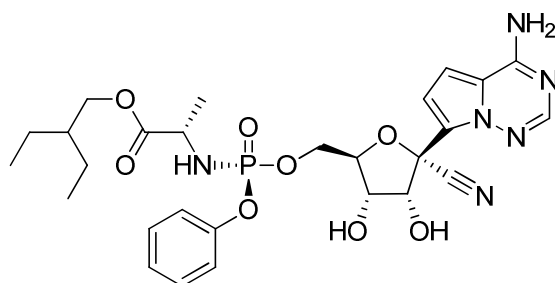
[0199] (2S)-2-etilbutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato se disolvió en acetonitrilo. La solución resultante se cargó en columna quiral Lux Cellulose-2, se equilibró en acetonitrilo, y eluyó con acetonitrilo/ metanol isocrático (95:5 vol/vol). El primer diastereómero que eluyó tenía un tiempo de retención de 17.4 min, el Segundo diastereómero que eluyó tenía un tiempo de retención de 25.0 min.

[0200] El primer diastereómero que eluyó es (S)-2-etilbutilo 2-(((R)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato:



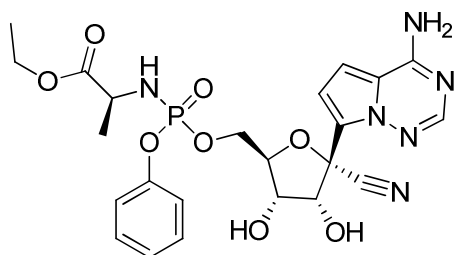
$^1\text{HMRN}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 8.05 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.29 (br t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.19 – 7.13 (m, 3H), 7.11 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.48 – 4.38 (m, 2H), 4.37 – 4.28 (m, 1H), 4.17 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.08 – 3.94 (m, 2H), 3.94 – 3.80 (m, 1H), 1.48 (sep, $J = 12.0, 6.1$ Hz, 1H), 1.34 (p, $J = 7.3$ Hz, 4H), 1.29 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.87 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H). $^{31}\text{PRMN}$ (162 MHz, CD_3OD) δ 3.71 (s). HPLC (2–98% MeCN– H_2O gradiente con modificador TFA 0.1% durante 8.5 min, 1.5mL/min, Columna: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 μm 100 Å, 4.6 x 100 mm) $t_R = 5.585$ min.

[0201] El segundo diastereómero que eluye es (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato:



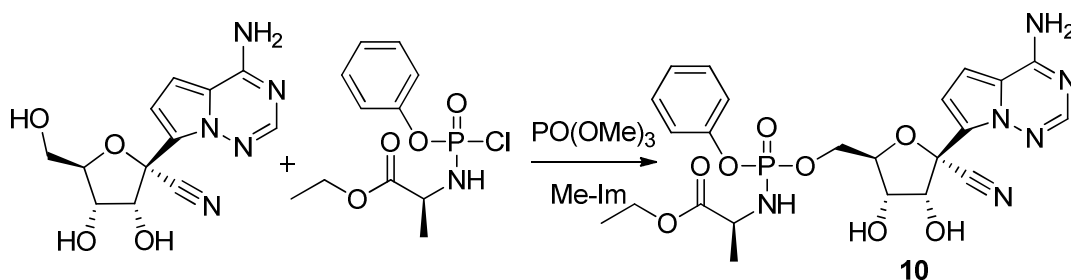
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8.08 (s, 1H), 7.36 – 7.28 (m, 3H), 7.23 – 7.14 (m, 3H), 7.08 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.71 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.45 – 4.34 (m, 2H), 4.32 – 4.24 (m, 1H), 4.14 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.08 – 3.94 (m, 2H), 3.93 – 3.85 (m, 1H), 1.47 (sep, J = 6.2 Hz, 1H), 1.38 – 1.26 (m, 7H), 0.87 (t, J = 7.5 Hz, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 3.73 (s). HPLC (gradiente $\text{MeCN-H}_2\text{O}$ 2–98% con modificador TFA 0.1% durante 8.5 min, 1.5mL/min, Columna: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 μm 100 Å, 4.6 x 100 mm) t_R = 5.629 min.

Ejemplo 13. (2S)-etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforilamino)propanoato (compuesto 10)



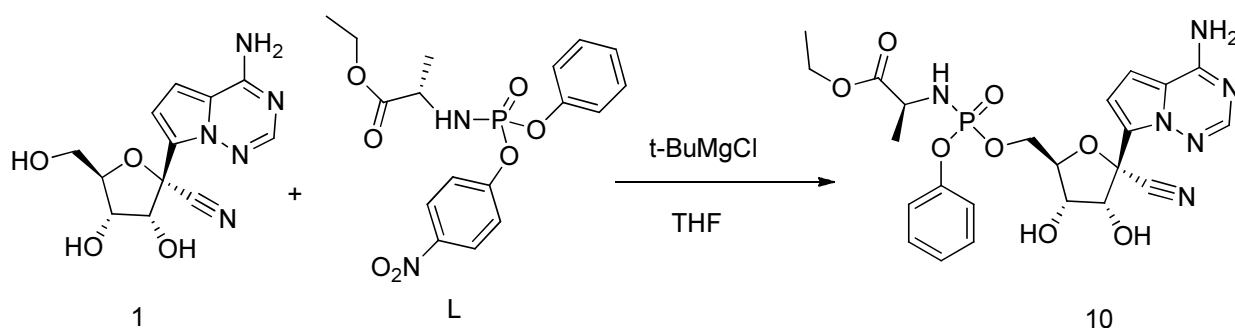
[0202] La preparación de (2S)-etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforilamino)propanoato se describe más adelante.

Procedimiento 1. Preparación via Cloridato A



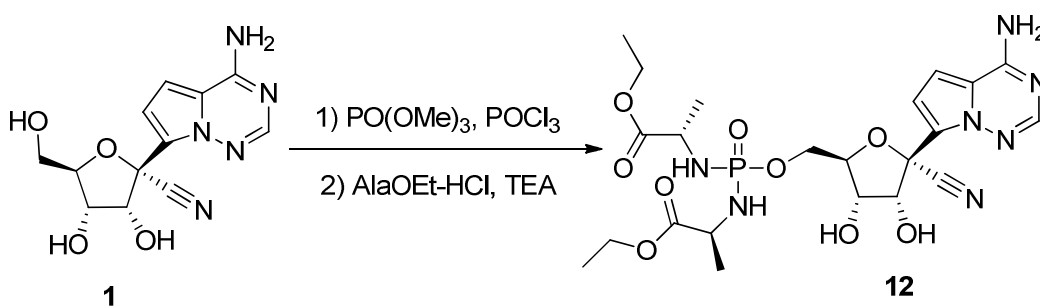
[0203] Preparado del compuesto **1** y cloridato **A** usando el mismo método que durante la preparación del compuesto **8**. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7.95 (m, 1H), 7.32-6.97 (m, 7H), 4.78 (m, 1H), 4.43-4.08 (m, 6H), 3.83 (m, 1H), 1.31-1.18 (m, 6H). ^{31}P RMN (121.4 MHz, CD_3OD) δ 3.7. LCMS m/z 547.0 $[\text{M}+\text{H}]$, 545.0 $[\text{M}-\text{H}]$.

Procedimiento 2. Preparación via Nitro-Benceno compuesto L



[0204] El compuesto **1** (50 mg, 0.17 mmol) se disolvió en NMP-THF (1:1 mL)) y se enfrió con baño de hielo. tBuMgCl (0.257 mL, 0.257 mmol) se adicionó entonces sobre aproximadamente 5 min. Se permitió que la mezcla resultante se calentara a RT y se agitó durante aproximadamente 30 min. Luego una solución del compuesto **L** (Preparado de acuerdo con US20120009147, 74.6 mg, 0.189 mmol) en THF (2 mL) se adicionó. Después de aproximadamente 30 min, la mezcla de la reacción se purificó por HPLC (acetonitrilo 10 a 80% en agua) para dar el compuesto **29** como un sólido amarillo. El sólido se purificó posteriormente con cromatografía en gel de sílice (MeOH 0 a 20% DCM) para dar El compuesto **29**. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.76 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.25 – 7.14 (m, 2H), 7.11 – 6.99 (m, 3H), 6.87 – 6.72 (m, 2H), 4.70 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.39 – 4.24 (m, 2H), 4.20 (dddd, $J = 9.7, 7.9, 5.1, 2.8$ Hz, 1H), 4.10 (dt, $J = 12.8, 5.5$ Hz, 1H), 4.06 – 3.91 (m, 2H), 3.72 (ddq, $J = 14.3, 9.3, 7.1$ Hz, 1H), 1.17 (dd, $J = 7.1, 1.0$ Hz, 1H), 1.14 – 1.06 (m, 5H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 3.73, 3.68. MS $m/z = 547$ ($\text{M}+1$) $^+$.

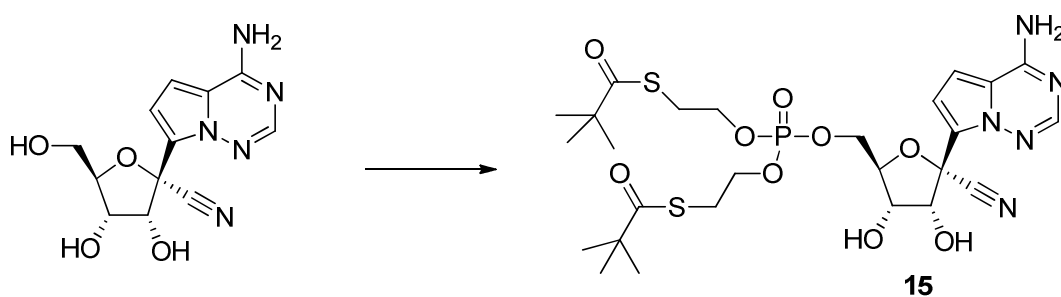
Ejemplo 15. (2S,2'S)-dietil 2,2'-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)fosforil)bis(azandiil) dipropanoato (compuesto 12)



[0205] El nucleósido **1** (14.6 mg, 0.05 mmol) se disolvió en trimetil fosfato anhidro (0.5 mL) y se agitó bajo $\text{N}_2(\text{g})$ a RT. POCl_3 (9.2 μL , 0.1 mmol) se adicionó y la mezcla se agitó durante aproximadamente 60 min. Clorhidrato del éster de etil

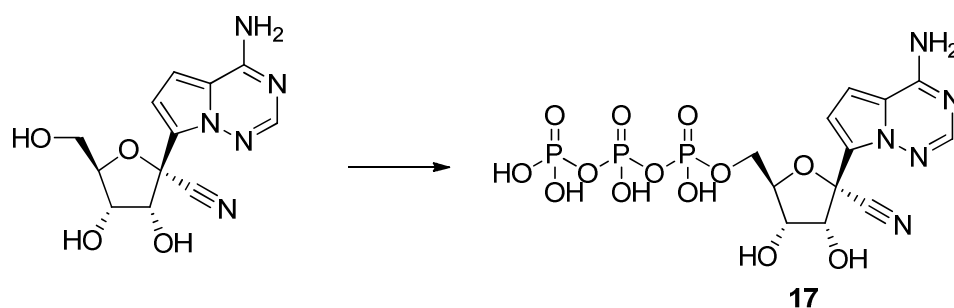
alanina (61 mg, 0.4 mmol) y luego Et₃N (70 µL, 0.5 mmol) se adicionó. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 15 min. y luego Et₃N adicional (70 µL, 0.5 mmol) se adicionó para dar un pH de solución de 9-10. La mezcla se agitó por aproximadamente 2 h. y luego se diluyó con EtOAc, se lavó con solución de NaHCO₃ acuosa saturada seguido por solución de NaCl acuosa saturada. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a HPLC preparativa (C₁₈ columna) para dar el producto **12**. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8.13 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.36 (m, 1H), 4.25-4.08 (m, 7H), 3.83 (m, 2H), 1.33-1.23 (m, 12H). ³¹P RMN (121.4 MHz, CD₃OD) δ 13.8. LCMS *m/z* 570.0 [M+H], 568.0 [M-H].

Ejemplo 18. S,S'-2,2'-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)fosforil)bis(oxi)bis(etan-2,1-diil) bis(2,2-dimetilpropanetioato) (compuesto 15)



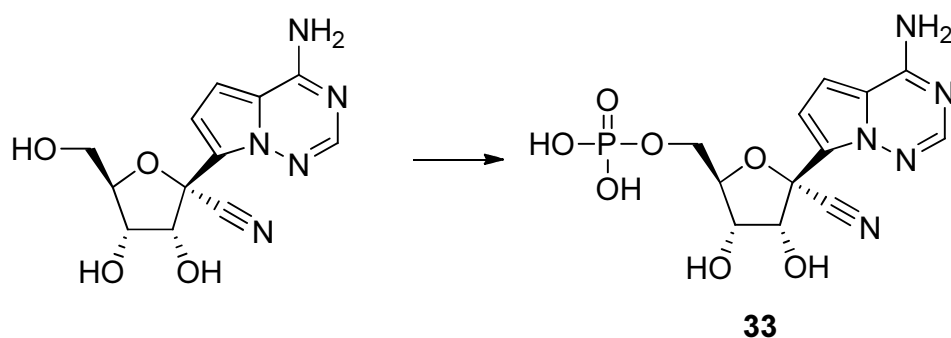
[0206] El nucleósido **1** (0.028 g, 0.096 mmol) se disolvió en trimetilfosfato (1 mL). La reacción se agitó bajo N₂(g) y luego se trató con 1H-tetrazol (0.021 g, 0.29 mmol). La mezcla de la reacción se enfrió a 0 °C y el fosfano (Nucleoside Nucleotides, Nucleic acids; 14; 3-5; 1995; 763 – 766. Lefebvre, Isabelle; Pompon, Alain; Perigaud, Christian; Girardet, Jean-Luc; Gosselin, Gilles; et al.) (87 mg, 0.192 mmol) se adicionó. La reacción se agitó durante 2 h. y luego se detuvo con 30% peróxido de hidrógeno (0.120 mL). La mezcla se agitó por 30 min a RT y luego se trató con tiosulfato de sodio acuoso saturado (1 mL). La mezcla se agitó por 10 min. y luego se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a HPLC preparativa para aislar el producto del título **15**. ¹H RMN (300 MHz, CD₃CN) δ 7.98 (s, 1H), 6.92 (d, 1H), 6.81 (d, 1H), 6.44 (bs, 2H), 4.82 (m, 2H), 4.47 (m, 1H), 4.24 (m, 2H), 4.00 (m, 4H), 3.80 (bs, 1H), 3.11 (m, 4H), 1.24 (s, 9H). ³¹P RMN (121.4 MHz, CD₃CN) δ -1.85 (s). LCMS *m/z* 661 [M+H].

Ejemplo 20. (((2R, 3S, 4R, 5R)-5-(4-aminopirrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metil tetrahidrógeno trifosfato (compuesto 17)



[0207] El compuesto **17** se preparó del compuesto **1** usando un procedimiento similar como se ha descrito anteriormente (documento WO2012012776).. El producto se aisló como sal de sodio. ^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7.76 (s, 1H), 6.88 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.86 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.43 (m, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.94 (m, 1H). ^{31}P RMN (121.4 MHz, D_2O) δ -5.4 (d, 1P), -10.8 (d, 1P), -21.1 (t, 1P). LCMS m/z 530 [M-H], 531.9 [M+H] Tr = 0.22 min. HPLC intercambio iónico Tr=9.95 min.

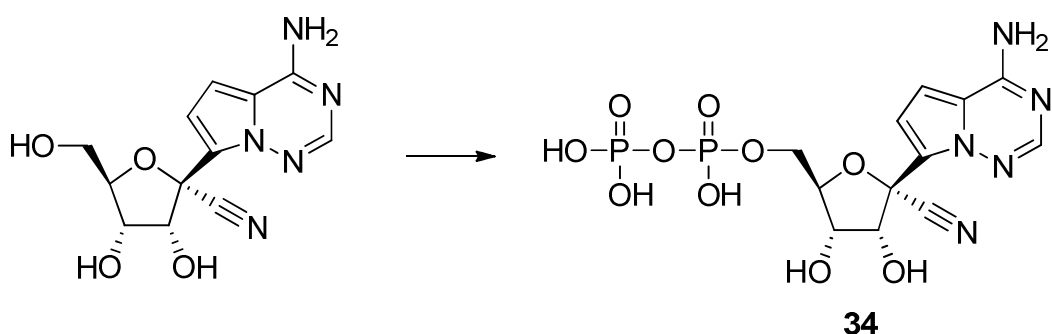
Ejemplo 20-a. Fosfato de ((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil (Compuesto 33)



[0208] Una mezcla de aproximadamente 0,05 mmol del compuesto **1** y aproximadamente 0,5 ml de trimetilfosfato se selló en un recipiente durante aproximadamente una a aproximadamente 48 h. La mezcla se enfrió a aproximadamente -10 a aproximadamente 10 °C y se añadieron aproximadamente 0,075 mmol de oxiclورو de fósforo. Después de aproximadamente una a aproximadamente 24 horas, la reacción se inactivó con aproximadamente 0,5 ml de bicarbonato de tetraetilamonio 1M y las fracciones deseadas se aislaron mediante cromatografía de intercambio aniónico para proporcionar el compuesto del título.

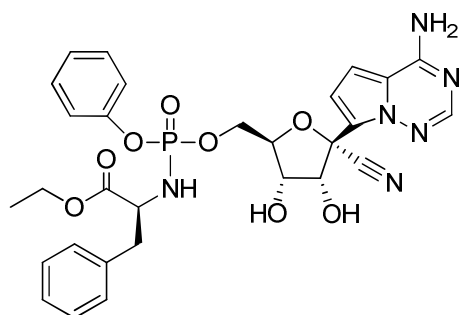
[0209] El compuesto 33 se preparó como la sal de bis-trietilamonio del compuesto 1 como se describió anteriormente (documento WO2011150288). ^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7.82 (s, 1H), 6.91 – 6.88 (m, 1H), 6.81 – 6.78 (m, 1H), 4.87 – 4.84 (m, 1H), 4.40 – 4.30 (m, 2H), 3.95 – 3.77 (m, 2H), 3.10 – 3.00 (m, 6H), 1.20 – 1.10 (m, 9H). ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ 2.33. MS m/z 371.

Ejemplo 20-b. Difosfato de trihidrógeno de ((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil (Compuesto 34)



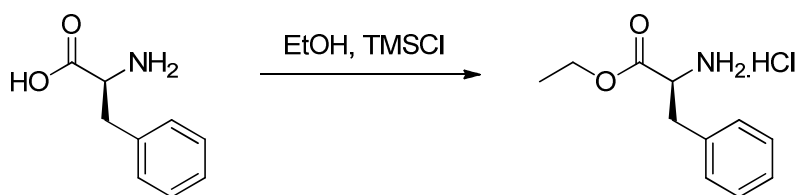
[0210] El compuesto 34 se preparó como la sal de tri-litio del compuesto 1 como se describió anteriormente (documento WO2002057425). ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ - 5.34 (d), -9.75 (d). MS m/z 451.

Ejemplo 24. (2S)-etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (21)



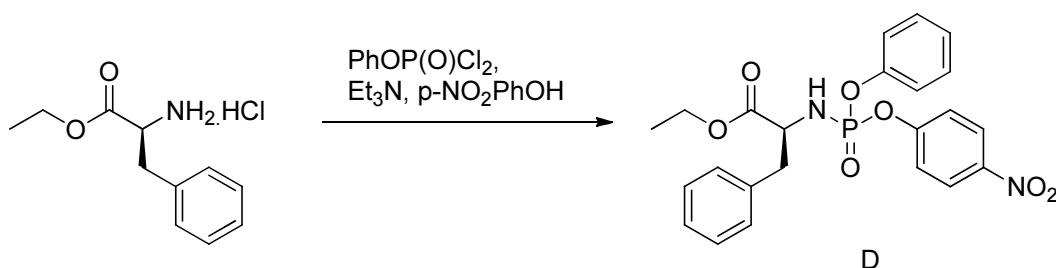
[0211] La preparación de (2S)-etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato se describe más adelante.

Preparación de (S)-etil 2-amino-3-fenilpropanoato clorhidrato.



[0212] L-Fenilalanina (5 g, 30 mmol) se tomó en EtOH (30 mL). TMSCl (6.915 mL, 54 mmol) se adicionó a la reacción a RT. El matraz de reacción se ajustó con un condensador de reflujo y la reacción se ubicó en un baño de 80 °C. La reacción se agitó durante toda la noche. Al día siguiente la reacción se enfrió a RT, se concentró a presión reducida y el residuo resultante se tomó en Et₂O. La lechada resultante se filtró y los sólidos aislados se lavaron posteriormente con Et₂O. Los sólidos lavados se pusieron en alto vacío para producir el ejemplo (S)-etil 2-amino-3-fenilpropanoato clorhidrato. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.52 (s, 3H), 7.30 (m, 5H), 4.24 (ABX, *J*_{AX} = 7.8 Hz, *J*_{BX} = 6.2 Hz, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.17, 3.05 (ABX, *J*_{AB} = -14 Hz, *J*_{BX} = 5.8 Hz, *J*_{AX} = 7.6 Hz, 2H), 1.09 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H).

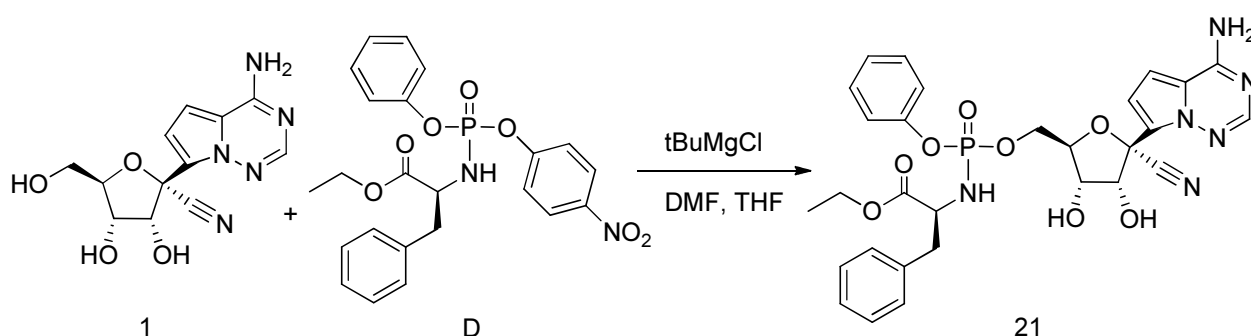
Preparación de (2S)-etil 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (compuesto D)



[0213] (S)-etil 2-amino-3-fenilpropanoato clorhidrato (1.01 g, 4.41 mmol) se disolvió en DCM (50 mL). Esta solución se enfrió a aproximadamente 0 °C y PhOP(O)Cl₂ (0.656 mL, 4.41 mmol) se adicionó, seguido por la adición lenta de Et₃N (1.62 mL, 11.5 mmol) durante 5 min. El baño frío se removió y se permitió que la reacción se calentara a RT y agitara por un período de 80 min. *p*-NO₂PhOH (0.583 g, 4.19 mmol) se adicionó, seguido por más Et₃N (0.3 mL, 2.1 mmol). El progreso de la reacción se monitoreó mediante LC/MS. Al completarse la reacción, se diluyó con Et₂O, y los sólidos resultantes se removieron por filtración. El filtrado se concentró y el compuesto **D** se aisló mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cartucho de carga seca 25 g, 120 g columna; eluyente: 100% hexanos en rampa a 55% EtOAc en hexanos). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8.17 (m, 2H), 7.33 (m, 2H), 7.09-

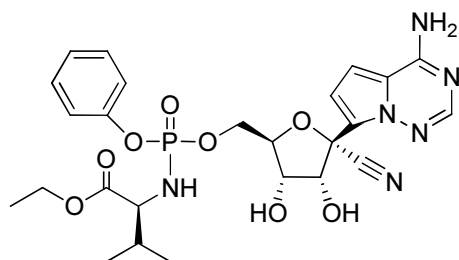
7.25 (m, 10H), 4.17 (m, 1H), 4.07 (m, 2H), 3.08 (m, 1H), 2.84 (m, 1H), 1.14 (m, 3H).
 ^{31}P RMN (162 MHz, DMSO- d_6) δ -1.479 (s), -1.719 (s). MS m/z = 471.01 [M+1].

Preparación de (2S)-etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (compuesto 21)



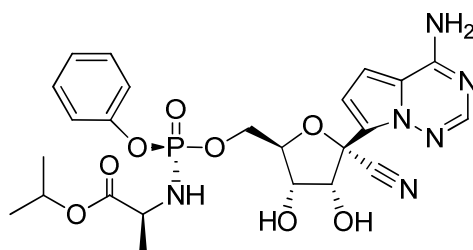
[0214] El compuesto **1** (0.030 g, 0.103 mmol) se disolvió en DMF (1 mL) y luego THF (0.5 mL) se adicionó. *t*-BuMgCl (1M/THF, 154.5 μL , 0.154 μmol) se adicionó a la reacción en forma gota a gota con agitación vigorosa. La lechada blanca resultante se agitó a RT durante aproximadamente 30 min. Una solución del compuesto **D** (0.058 g, 0.124 mmol) en THF (1 mL) se adicionó en forma gota a gota a la reacción a RT. El progreso de la reacción se monitoreó mediante LC/MS. Cuando la reacción progresó a 50% de conversión, la reacción se enfrió en un baño de hielo y se detuvo con ácido acético glacial (70 μL). La reacción se concentró y El compuesto **21** se aisló del residuo mediante HPLC en fase reversa. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.91 (d, J = 4 Hz, 1H), 7.90 (brs, 2H), 7.09-7.30 (m, 8H), 7.01, (t, J = 8.2 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 6.82 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 6.14 (m, 1H), 5.34 (m, 1H), 4.62 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.15 (m, 1H), 3.78-4.01 (m, 6H), 2.92 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 1.04 (m, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, DMSO- d_6) δ 3.69 (s), 3.34 (s). MS m/z = 623.0 [M+H].

Ejemplo 25. (2S)-etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-metilbutanoato (22)

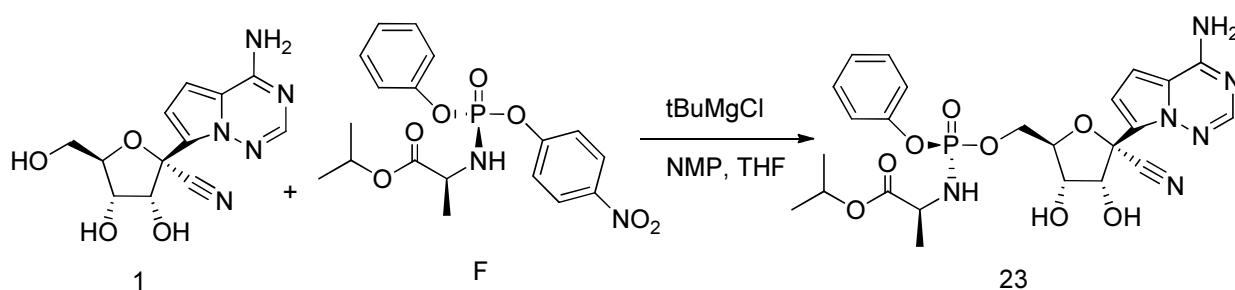


[0217] El compuesto **1** (0.040 g, 0.137 mmol) se disolvió en NMP (1.5 mL) y luego THF (0.25 mL) se adicionó. Esta solución se enfrió en un baño de hielo y *t*-BuMgCl (1M/THF, 425.7 μ L, 0.426 μ mol) se adicionó en forma gota a gota con agitación vigorosa. El baño de hielo se removió y la lechada blanca resultante se agitó a RT durante aproximadamente 15 min. Una solución del compuesto **E** (0.081 g, 0.192 mmol) en THF (0.5 mL) se adicionó en forma gota a gota a la reacción a RT. El progreso de la reacción se monitoreó mediante LC/MS. Cuando la reacción progresó a 50% de conversión, la reacción se enfrió en un baño de hielo y se detuvo con ácido acético glacial (70 μ L). La reacción se concentró y el compuesto **22** se semipurificó del residuo mediante HPLC en fase reversa. El material semi puro se purificó posteriormente mediante cromatografía en columna de gel de sílice (12 g cartucho de carga seca, 40 g columna; eluyente: 100% EtOAc en rampa a 10% MeOH en EtOAc) para dar el compuesto **22**. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.91 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.88 (brs, 2H), 7.32 (m, 2H), 7.15 (m, 3H), 6.90 (t, J = 4.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.26 (dd, J = 13.4, 6.2 Hz, 1H), 5.87 (quart. J = 11.2 Hz, 1H), 5.35 (m, 1H), 4.64 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.93-4.15 (m, 4H), 3.45 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.09-1.16 (m, 3H), 0.70-0.83 (m, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, DMSO- d_6) δ 4.59 (s), 4.47 (s). MS m/z = 575.02 [M+H].

Ejemplo 26. (S)-isopropilo 2-(((R)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (23**)**

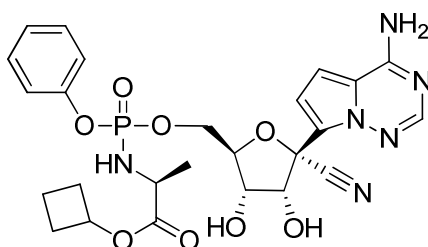


[0218] La preparación de (S)-isopropilo 2-(((R)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se describe más adelante.



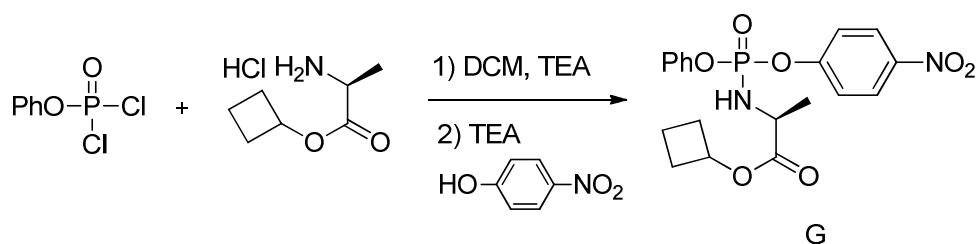
[0219] El compuesto **1** (60.0 mg, 206 μmol) se disolvió en NMP (0.28 mL). THF (0.2 mL) se adicionó seguido por tert-butilo cloruro de magnesio (1.0M solución en tetrahidrofurano, 0.309 mL) a RT bajo una atmósfera de argón. Después de 20 min, una solución del compuesto **F** (Preparado de acuerdo con Cho, A. et al *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1812-1825., 81 mg, 206 μmol) en THF (0.2 mL) se adicionó, y la mezcla resultante se calentó a aproximadamente 50°C. Después de 3 h, se permitió que la mezcla de reacción se enfriara a RT y se purificó directamente mediante HPLC preparatoria (Phenominex Synergi 4u Hidro-RR 80Å 150 x 30 mm columna, gradiente 5-100% acetonitrilo/agua) para dar El compuesto **23**. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.86 (s, 1H), 7.34 – 7.26 (m, 2H), 7.21 – 7.12 (m, 3H), 6.91 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.92 (sept, J = 6.3 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.43 – 4.34 (m, 1H), 4.33 – 4.24 (m, 1H), 4.18 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 3.82 (dq, J = 9.7, 7.1 Hz, 2H), 1.27 (dd, J = 7.1, 1.0 Hz, 3H), 1.18 (dd, J = 6.3, 4.8 Hz, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 3.72 (s). LC/MS: t_R = 1.39 min, MS m/z = 561.11 $[\text{M}+\text{H}]$; sistema LC: Thermo Accela 1250 UHPLC; sistema MS: Thermo LCQ Fleet; Columna: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4.6 mm; Solventes: ACN con 0.1% ácido acético, agua con 0.1% ácido acético; Gradiente: 0 min-2.0 min 2-100% ACN, 2.0 min-3.05 min 100% ACN, 3.05 min-3.2 min 100%-2% ACN, 3.2 min-3.5 min 2% ACN a 2 $\mu\text{l}/\text{min}$. HPLC: t_R = 2.523 min; sistema HPLC: Agilent 1100 series.; Columna: Gemini 5 μ C18 110A, 50 x 4.6 mm; Solventes: ACN con 0.1% TFA, Agua con 0.1% TFA; Gradiente: 0 min-5.0 min 2-98% ACN, 5.0 min-6.0 min 98% ACN a 2 mL/min.

Ejemplo 27. (2S)-ciclobutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (24)



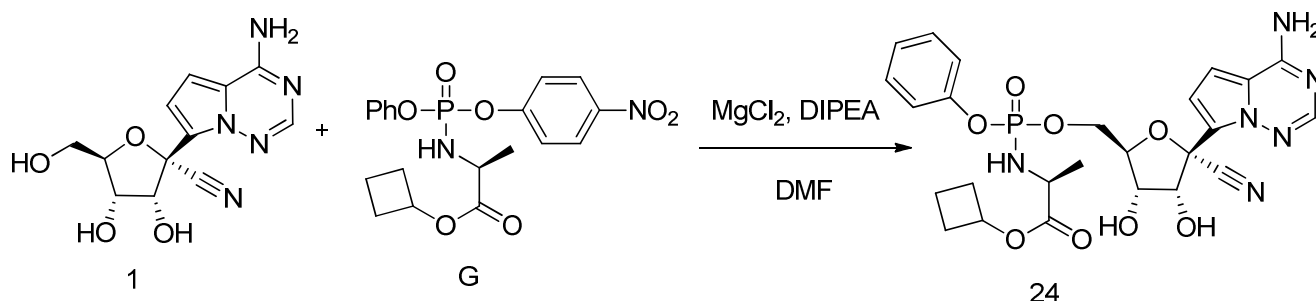
[0220] La preparación de (2S)-ciclobutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se describe más adelante.

Preparación de (2S)-ciclobutilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (compuesto G)



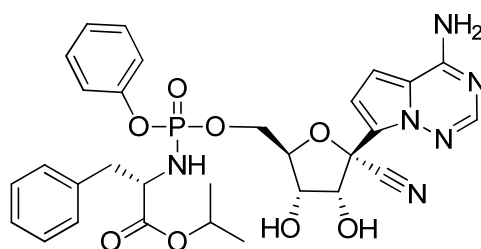
[0221] Fenil diclorofosfato (1.49 mL, 10 mmol) se disolvió en 10 mL de DCM anhidro y se agitó bajo atmósfera de nitrógeno en un baño de hielo. Clorhidrato del éster de L-Alanina isobutilo (0.9 g, 5 mmol) se adicionó en una porción. Trietilamina (765 μ L, 5.5 mmol) se adicionó entonces gota a gota. La reacción se agitó durante aproximadamente 1 h. Más Trietilamina (765 μ L, 5.5 mmol) se adicionó gota a gota y la reacción se agitó durante aproximadamente 45 min. *p*-Nitrofenol (1.25g, 9mmol) se adicionó en una porción y se agitó durante aproximadamente 30 min. Trietilamina (765 μ L, 5.5 mmol) se adicionó y La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 2 h. Adicional *p*-nitrofenol (1.25g, 9 mmol) y trietilamina (765 μ L, 5.5mmol) se adicionaron luego, y la reacción se agitó durante aproximadamente otras 2 h. La mezcla de la reacción se concentró a presión reducida. El crudo resultante se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con solución acuosa de ácido cítrico 5%, seguido con solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó entonces sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo crudo se purificó con columna de gel de sílice (0-20-50% EtOAc en hexanos) para dar el compuesto **G**. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8.33 – 8.23 (m, 2H), 7.52 – 7.33 (m, 4H), 7.33 – 7.17 (m, 3H), 4.96 – 4.85 (m, 1H), 4.07 – 3.96 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 2.07 – 1.91 (m, 2H), 1.83 – 1.70 (m, 1H), 1.70 – 1.55 (m, 1H), 1.32 (m, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ -1.36, -1.59. MS m/z = 420.9 [M+H].

Preparación (2S)-ciclobutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (compuesto 24)



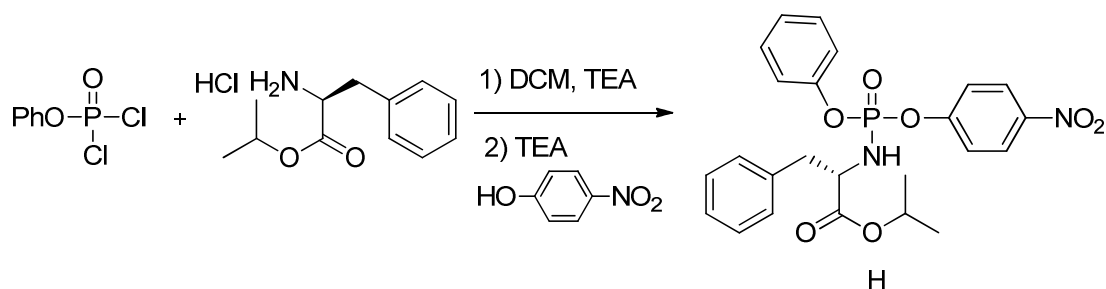
[0222] El compuesto **1** (58 mg, 0.2 mmol) se mezcló con el compuesto **G** (101 mg, 0.24 mmol) en 2 mL de DMF anhidro. Cloruro de magnesio (42 mg, 0.44 mmol) se adicionó en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 50 °C. DIPEA (87 µL, 0.5 mmol) se adicionó, y la reacción se agitó durante aproximadamente 2 h a aproximadamente 50 °C. La mezcla de la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico 5% seguido por solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó entonces sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo crudo se purificó con columna de gel de sílice (0-2-5% MeOH en DCM) para dar El compuesto **24**. ^1H RMN (400 MHz, Metanol- d_4) δ 7.85 (m, 1H), 7.34 – 7.22 (m, 2H), 7.22 – 7.08 (m, 3H), 6.94 – 6.84 (m, 2H), 4.95 – 4.85 (m, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.46 – 4.34 (m, 2H), 4.34 – 4.24 (m, 1H), 4.19 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 2.01 (m, 2H), 1.84 – 1.68 (m, 1H), 1.62 (m, 1H), 1.30 – 1.16 (m, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, cd_3od) δ 3.70, 3.65. MS m/z = 573.0 $[\text{M}+\text{H}]$.

Ejemplo 28. (2S)-isopropilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (25)



[0223] La preparación de (2S)-isopropilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato se describe más adelante.

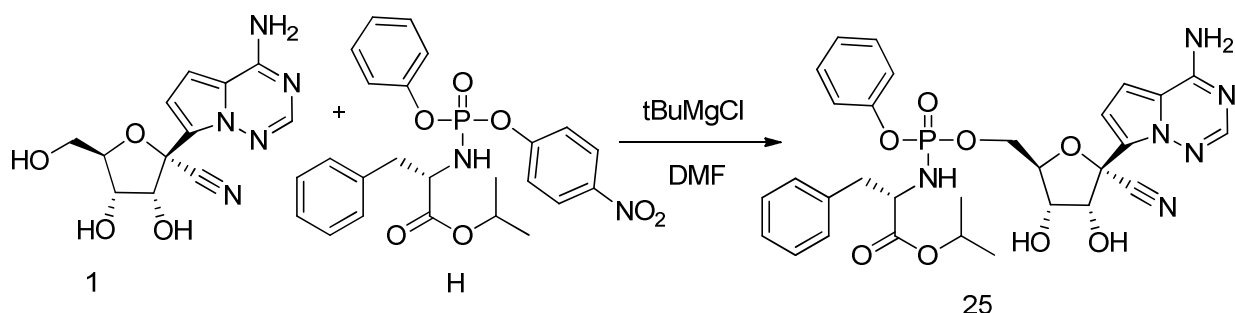
Preparación de (2S)-isopropilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (compuesto H)



[0224] Fenil diclorofosfato (718 μL , 4.8 mmol) se disolvió en 10 mL de DCM anhidro y se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno en un baño de hielo. Clorhidrato del éster de L-Fenilalanina isopropilo (1 g, 4.1 mmol) se adicionó en una porción. Otros 10 mL de DCM anhidro se adicionaron. Trietilamina (736 μL , 5.3 mmol) se adicionó gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 30 min. Más trietilamina (736 μL , 5.3 mmol) se adicionó entonces gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min. trietilamina adicional (736 μL , 5.3 mmol) se adicionó entonces gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 15 min. p-Nitrofenol (600 mg, 4.32 mmol) se adicionó entonces. El baño de hielo se removió entonces y se permitió que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente y se agitó durante aproximadamente 2 h. Más p-nitrofenol (50 mg) y trietilamina (736 μL , 5.3 mmol) se adicionaron y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 1 h.

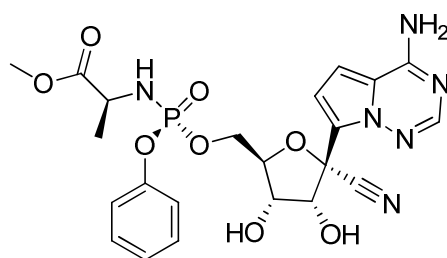
[0225] La mezcla de reacción se concentró entonces a presión reducida, y se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con solución acuosa de ácido cítrico 5%, seguido con solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó con columna de gel de sílice (0-15% EtOAc en hexanos) para dar el compuesto **H**. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8.17 (m, 2H), 7.38 – 7.13 (m, 10H), 7.13 – 7.02 (m, 2H), 4.95 (m, 1H), 4.31 (m, 1H), 3.69 (m, 1H), 3.02 (dd, $J = 6.1, 1.8$ Hz, 2H), 1.21 – 1.08 (m, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, cdcl_3) δ -2.96, -2.98. MS $m/z = 485.0$ $[\text{M}+\text{H}]$.

Preparación de (2S)-isopropilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (compuesto 25)

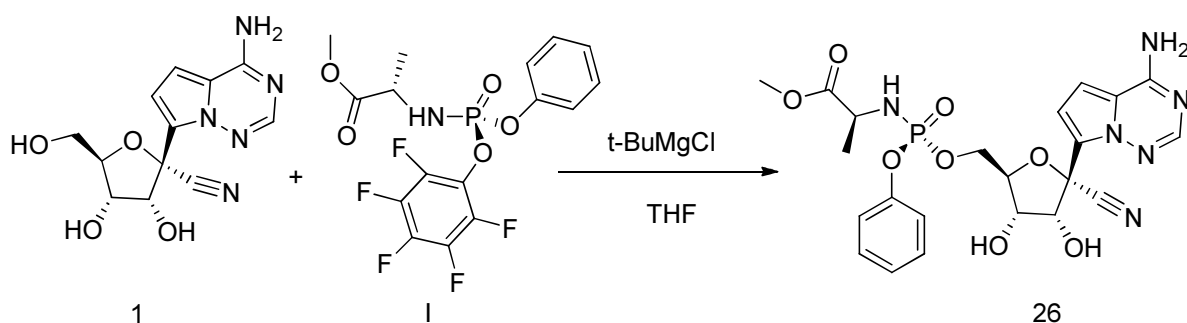


[0226] El compuesto **1** (58 mg, 0.2 mmol) y El compuesto **H** (116 mg, 0.24 mmol) se mezclaron y 2 mL de DMF anhidro se adicionaron. La mezcla de reacción se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. tBuMgCl 1M en THF (300 μ L, 0.3 mmol) se adicionó gota a gota por 3 minutos y la mezcla de la reacción entonces se agitó durante aproximadamente 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico 5%, solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y luego solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo crudo se purificó con columna de gel de sílice (0-5% MeOH en DCM) para dar el compuesto **25**. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.84 (m, 1H), 7.27 – 7.08 (m, 8H), 7.08 – 6.97 (m, 2H), 6.88 (m, 2H), 4.91 – 4.84 (m, 1H), 4.74 (m, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.19 – 4.04 (m, 2H), 4.04 – 3.91 (m, 2H), 2.97 (m, 1H), 2.82 (m, 1H), 1.14 (m, 3H), 1.06 (m, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 3.63, 3.25. MS m/z = 637.0 $[\text{M}+\text{H}]$.

Ejemplo 29. (S)-metil 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (26)

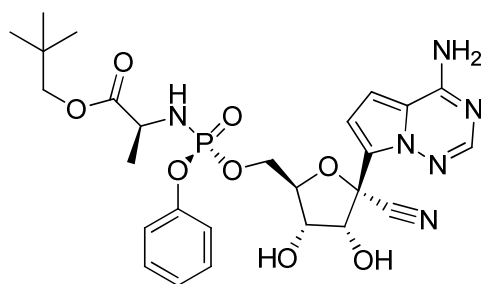


[0227] La preparación de (S)-metil 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se describe más adelante.

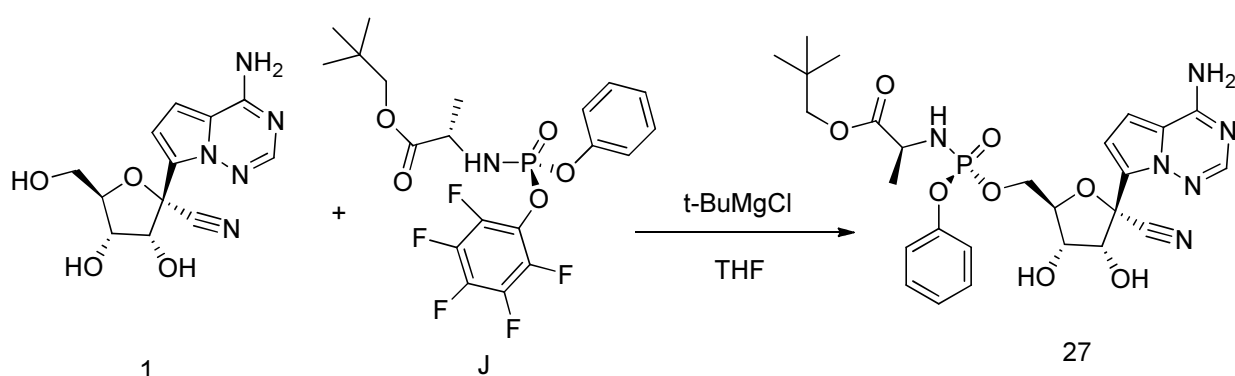


[0228] El compuesto **1** (100 mg, 0.34 mmol) se disolvió en THF (2 mL) y se enfrió con un baño de agua hielo. Luego t-BuMgCl 1M (0.52 mL, 0.77 mmol) se adicionó gota a gota lentamente. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 30 min a temperatura ambiente. Luego El compuesto **I** (Preparado de acuerdo con WO 2012142085, 219 mg, 0.52 mmol) en THF (2 mL) se adicionó durante 5 min y la mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 24 h a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción luego se diluyó con EtOAc, se enfrió bajo baño agua-hielo, se lavó con NaHCO₃ ac (2 mL), se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, y se concentró *en vacuo*. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH 0 a 20% en DCM) y prep-HPLC (acetonitrilo 10 a 80% en agua) para dar el compuesto **26**. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.86 (s, 1H), 7.29 (dd, *J* = 8.6, 7.2 Hz, 2H), 7.21 – 7.09 (m, 3H), 6.94 – 6.81 (m, 2H), 4.79 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.38 (ddq, *J* = 10.8, 5.3, 2.7 Hz, 2H), 4.33 – 4.23 (m, 1H), 4.18 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.86 (dq, *J* = 9.9, 7.1 Hz, 1H), 3.62 (s, 3H), 1.27 (dd, *J* = 7.2, 1.1 Hz, 3H). MS *m/z* = 533 (M+1)⁺.

Ejemplo 30. (S)-neopentil 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (27)

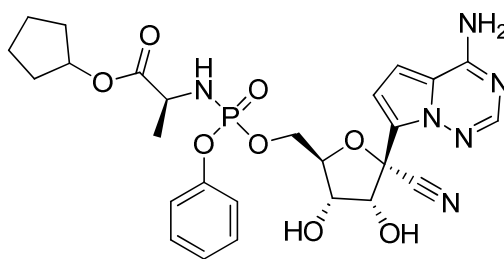


[0229] La preparación de (S)-neopentil 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se describe más adelante.

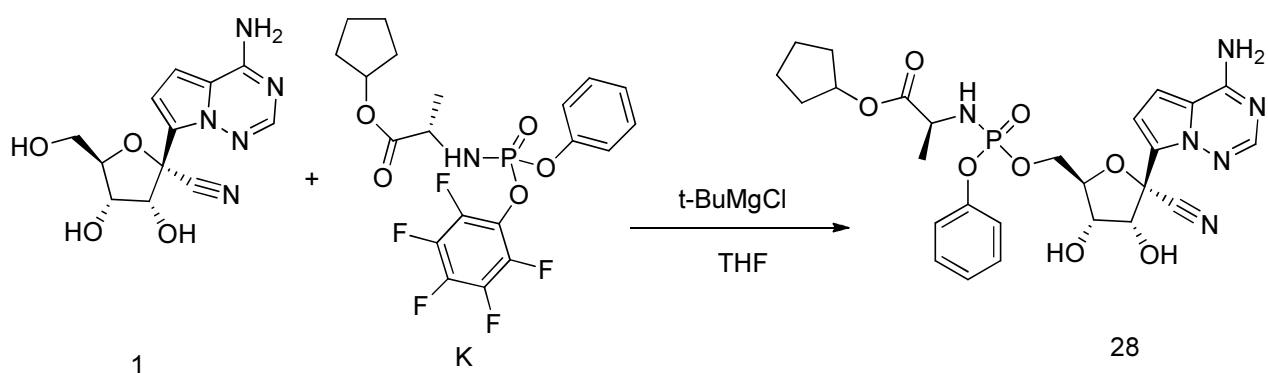


[0230] El compuesto **1** (100 mg, 0.34 mmol) se disolvió en THF (2 mL) y se enfrió bajo baño hielo agua. Luego 1M t-BuMgCl (0.52 mL, 0.77 mmol) se adicionó gota a gota lentamente. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 30 min a temperatura ambiente. Luego El compuesto **J** (Preparado de acuerdo con WO2012075140, 248 mg, 0.52 mmol) se adicionó durante aproximadamente 5 min y la mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 24 h a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se enfrió bajo baño agua-hielo, se trató con ac NaHCO₃ (2 mL), se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, y se concentró *en vacuo*. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH 0 a 20% en DCM) y prep-HPLC (acetonitrilo 10 a 80% en agua) para dar el compuesto **27**. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.86 (s, 1H), 7.36 – 7.24 (m, 2H), 7.23 – 7.10 (m, 3H), 6.96 – 6.85 (m, 2H), 4.78 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.38 (tdd, *J* = 10.0, 4.9, 2.5 Hz, 2H), 4.32 – 4.24 (m, 1H), 4.17 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.91 (dq, *J* = 9.8, 7.1 Hz, 1H), 3.81 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 3.69 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 1.31 (dd, *J* = 7.2, 1.1 Hz, 3H), 0.89 (s, 9H). MS *m/z* = 589 (M+1)⁺.

Ejemplo 31. (2S)-ciclopentil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (28)

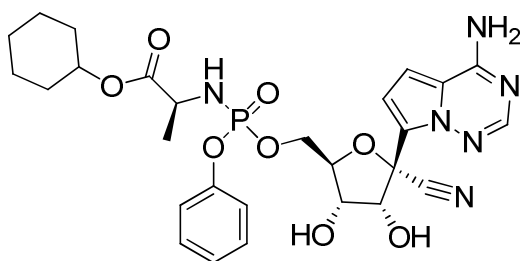


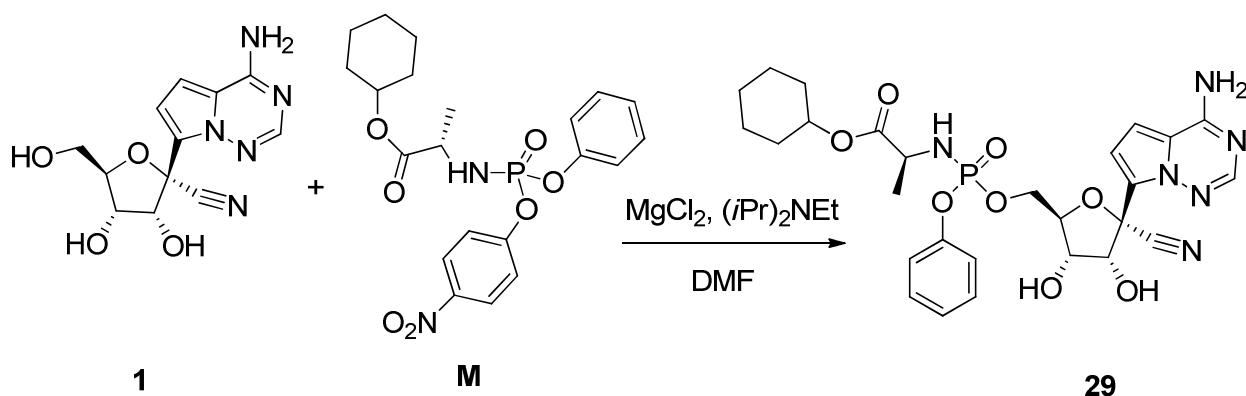
[0231] La preparación de (2S)-ciclopentil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se describe más adelante.



[0232] El compuesto **1** (100 mg, 0.34 mmol) se disolvió en THF (2 mL) y se enfrió bajo baño hielo agua. Luego t-BuMgCl 1M (0.52 mL, 0.77 mmol) se adicionó gota a gota lentamente. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 30 min a temperatura ambiente. Luego el compuesto **K** (Preparado de acuerdo con WO2012075140, 247 mg, 0.52 mmol) en THF (2 mL) se adicionó durante aproximadamente 5 min y la mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 24 h a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se enfrió bajo baño agua-hielo, se trató con NaHCO₃ac (2mL), se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, y se concentró *en vacuo*. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH 0 a 20% en DCM) y prep-HPLC (acetonitrilo 10 a 80% en agua) para dar el Ejemplo **28**. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.85 (s, 1H), 7.33 – 7.22 (m, 2H), 7.14 (tdd, *J* = 7.6, 2.1, 1.1 Hz, 3H), 6.95 – 6.87 (m, 2H), 5.13 – 5.00 (m, 1H), 4.78 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.48 – 4.35 (m, 2H), 4.30 (ddd, *J* = 10.6, 5.7, 3.6 Hz, 1H), 4.19 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.78 (dq, *J* = 9.2, 7.1 Hz, 1H), 1.81 (dtd, *J* = 12.5, 5.9, 2.4 Hz, 2H), 1.74 – 1.49 (m, 6H), 1.21 (dd, *J* = 7.1, 1.2 Hz, 3H). MS *m/z* = 587 (M+1)⁺.

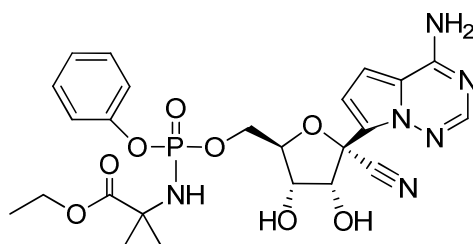
Ejemplo 32. (2S)-ciclohexil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (29)





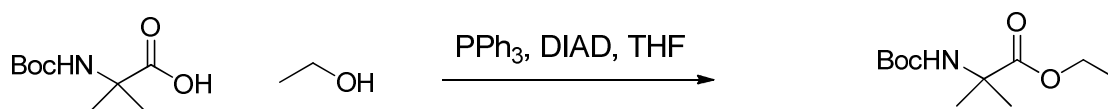
[0233] A una mezcla del compuesto **1** (50 mg, 0.343 mmol), El compuesto **M** (Preparado de acuerdo con US20130143835, 93 mg, 0.209 mmol), y MgCl_2 (24.5 mg, 0.257 mmol) en DMF (1 mL) se adicionó diisopropiletilamina (0.075 mL, 0.43 mmol) gota a gota sobre aproximadamente 5 min a aproximadamente 0 °C. La mezcla resultante se agitó a aproximadamente 50 °C durante aproximadamente 1 h. La mezcla de la reacción luego se enfrió con un baño agua-hielo, se trató con ácido cítrico 1M (0.5 mL), y se purificó directamente mediante prep-HPLC (ACN 0 a 70% en agua) para dar el compuesto **29**. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.84 (s, 1H), 7.32 – 7.23 (m, 2H), 7.18 – 7.10 (m, 3H), 6.93 – 6.87 (m, 2H), 4.78 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.67 (td, J = 8.7, 4.2 Hz, 1H), 4.48 – 4.35 (m, 2H), 4.30 (ddd, J = 10.8, 5.7, 3.7 Hz, 1H), 4.20 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 3.88 – 3.71 (m, 1H), 1.83 – 1.63 (m, 4H), 1.58 – 1.46 (m, 1H), 1.46 – 1.24 (m, 5H), 1.24 (s, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 3.75. MS m/z = 601 ($\text{M}+1$) $^+$.

Ejemplo 33. Etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato (30)



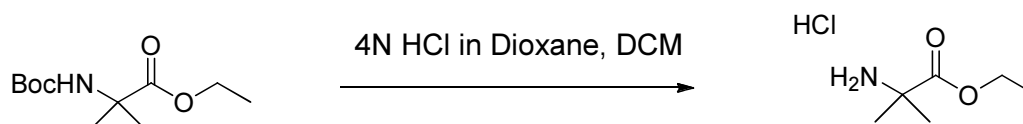
[0234] La preparación de etil 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato se describe más adelante.

Preparación de Etil 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoato



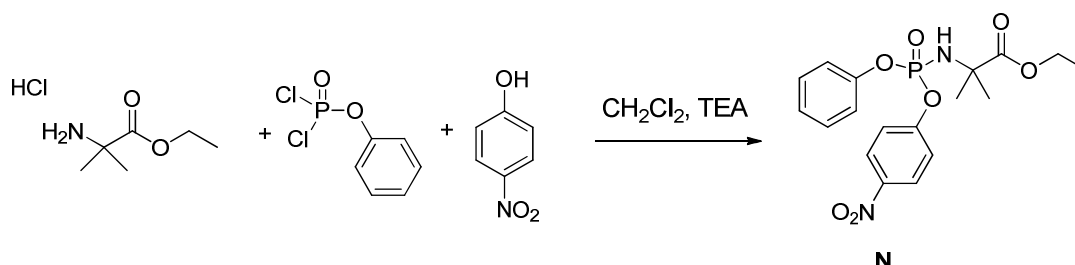
[0235] Tomar trifenilfosfina (6.18 g, 25.00 mmol) en THF (30mL). Luego cargar DIAD (4.92 mL, 25.00 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 10 min. Disolver ácido 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoico (5.08 g, 25.00 mmol) en THF (20 mL) y añadir a la mezcla de la reacción seguido por la adición de etanol (2.19 mL, 37.49 mmol). Permitir que la reacción agite a temperatura ambiente durante aproximadamente 1h. Los solventes se removieron a presión reducida y el crudo se tomó en 1:1 Et₂O:Hexanos (120 mL). El óxido de feniltrifosfina sólido se filtró y el solvente se removió a presión reducida. El crudo se tomó en CH₂Cl₂ mínimo y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice 0-50% EtOAc/Hex para dar etil 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoato. ¹H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.49 (s, 6H), 1.43 (s, 9H), 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

Preparación de Etil 2-amino-2-metilpropanoato clorhidrato



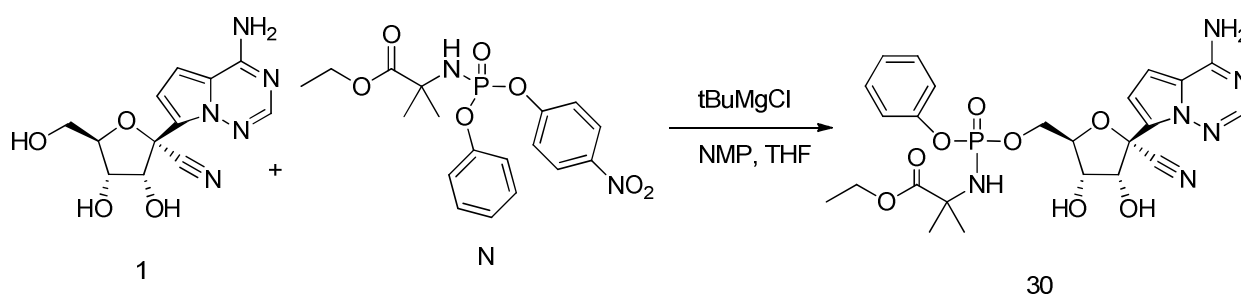
[0236] Tomar etil 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoato (2.71 g, 11.72 mmol) en CH₂Cl₂ (25 mL) y lentamente adicionar 4N HCl en dioxano (25 mmol) y agitar a temperatura ambiente. A 1h, la reacción se determinó como completa mediante TLC. Los solventes se removieron a presión reducida y el crudo se coevaporó con Et₂O dos veces luego se ubicó en alto vacío para dar etil 2-amino-2-metilpropanoato clorhidrato. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.70 (s, 3H), 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.46 (s, 6H), 1.21 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

Preparación de Etil 2-metil-2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (compuesto N)



[0237] Tomar fenil diclorofosfato (0.97mL, 6.50mmol) y etil 2-amino-2-metilpropanoato clorhidrato (1.09 g, 6.50 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL). Enfriar la mezcla de la reacción a aproximadamente 0 °C y lentamente adicionar TEA (1.75 mL, 12.45 mmol). Remover el baño frío y permitir que la mezcla de la reacción se agite a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 2 h, la adición del aminoácido se determinó completa por ³¹P RMN. Cargar p-nitrofenol (0.860 g, 6.17 mmol) seguido por la adición de TEA (0.87 g, 7.69 mmol). Permitir que la reacción se agite a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 2h, la reacción se determinó completa por LCMS. La reacción se diluyó con Et₂O y las sales TEA•HCl se filtraron. El crudo se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-50% EtOAc/Hex) para dar El compuesto **N**. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.37 – 8.21 (m, 2H), 7.55 – 7.44 (m, 2H), 7.43 – 7.33 (m, 2H), 7.30 – 7.09 (m, 3H), 6.57 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 3.99 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.39 (s, 6H), 1.08 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). ³¹P RMN (162 MHz, DMSO-*d*₆) δ -2.87. LC/MS: *t*_R = 1.65 min, MS *m/z* = 408.97 [M+1].; LC sistema: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS sistema: Thermo LCQ Fleet; Columna: Kinetex 2.6μ XB-C18 100A, 50 x 3.00 mm; Solventes: Acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico, Agua con 0.1% ácido fórmico; Gradiente: 0 min-2.4 min 2-100% ACN, 2.4 min-2.80 min 100% ACN, 2.8 min-2.85 min 100%-2% ACN, 2.85 min-3.0 min 2% ACN a 1.8mL/min.

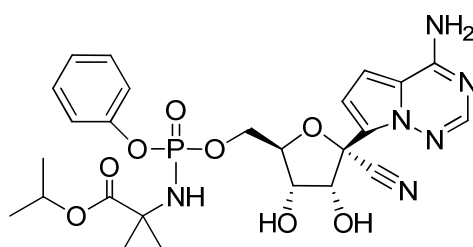
Preparación de etil 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato (compuesto 30)



[0238] Tomar el compuesto **1** (66 mg, 0.23 mmol) en NMP (2.0 mL). Enfriar la mezcla a aproximadamente 0 °C y lentamente adicionar tBuMgCl (1.0M en THF, 0.34 mL, 0.34 mmol). Permitir que la reacción se agite a aproximadamente 0 °C durante aproximadamente 30 min, luego adicionar una solución del compuesto **N** (139mg, 0.34mmol) disuelto en THF (1.0 mL). Remover el baño frío y poner la reacción en aproximadamente 50°C en un baño de aceite precalentado. Después aproximadamente 2 h, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se detuvo con

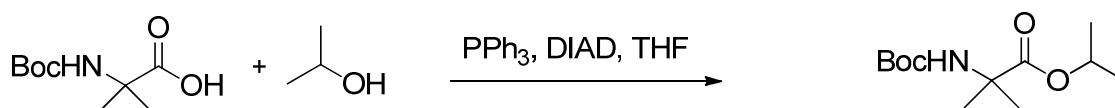
ácido acético y metanol. El crudo se concentró y se purificó mediante HPLC en fase reversa sin modificador para dar El compuesto **30**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.89 (m, 3H), 7.31 (q, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.22 – 7.05 (m, 3H), 6.87 (d, $J = 4.5$, 1H), 6.80 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.27 (d, $J = 11.7$, 1H), 5.81 (d, $J = 9.7$, 1H), 5.35 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.64 (dt, $J = 9.0$, 5.6 Hz, 1H), 4.24 (m, 2H), 4.11 (m, 1H), 4.04 – 3.90 (m, 3H), 1.39 – 1.23 (m, 6H), 1.10 (t, $J = 7.1$, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 2.45, 2.41. LC/MS: $t_R = 1.03$ min, MS $m/z = 561.03$ [M+1]; LC sistema: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS sistema: Thermo LCQ Fleet; Columna: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 3.00 mm; Solventes: Acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico, Agua con 0.1% ácido fórmico; Gradiente: 0 min-2.4 min 2-100% ACN, 2.4 min-2.80 min 100% ACN, 2.8 min-2.85 min 100%-2% ACN, 2.85 min-3.0 min 2% ACN a 1.8mL/min.

Ejemplo 34. Isopropilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato (31)



[0239] La preparación de Isopropilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato se describe más adelante.

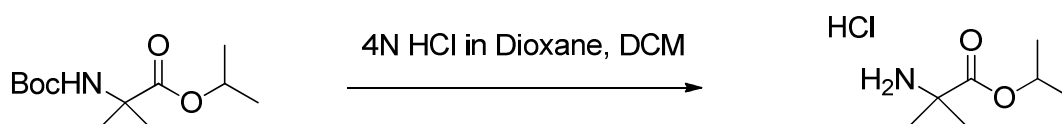
Preparación de Isopropilo 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoato



[0240] Tomar trifenilfosfina (6.17 g, 25.00 mmol) en THF (30 mL). Luego cargar DIAD (4.92 mL, 25.00 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 min. Disolver ácido 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoico (5.07 g, 25.00 mmol) disuelto en THF (20mL) y añadir a la mezcla de la reacción seguido por la adición de isopropanol (1.91 mL, 25.00 mmol). Permitir que la reacción se agite a temperatura ambiente durante aproximadamente 1h. Los solventes se removieron a presión reducida y el crudo se tomó en 1:1 Et₂O:Hexanos (120 mL). El óxido de feniltrifosfina sólido se filtró y el solvente se removió a presión

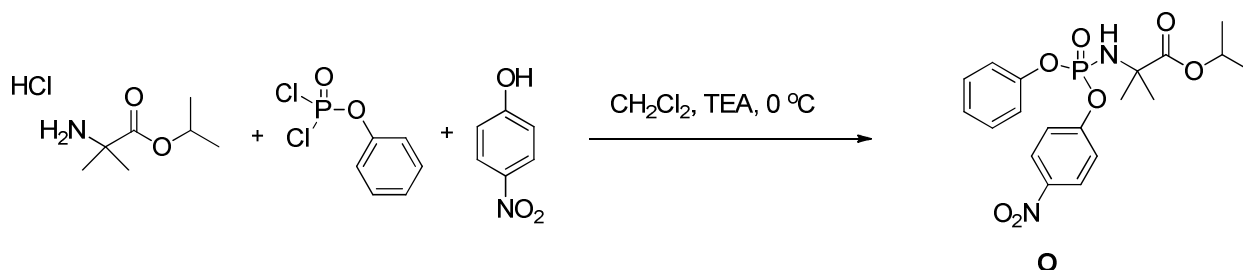
reducida. El crudo se tomó en CH_2Cl_2 mínimo y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-50% EtOAc/Hex) para dar isopropilo 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoato. ^1H RMN (400 MHz, Cloroformo- d) δ 5.03 (p, J = 6.2 Hz, 1H), 1.48 (s, 6H), 1.40 (d, J = 6.2 Hz, 9H), 1.24 (d, J = 6.3 Hz, 6H).

Preparación de Isopropilo 2-amino-2-metilpropanoato clorhidrato



[0241] Tomar isopropilo 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-metilpropanoato (4.09 g, 16.67 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL) y lentamente adicionar HCl 4N en dioxano (50 mmol) y agitar a temperatura ambiente. A aproximadamente 1 h, la reacción se determinó como completa mediante TLC. Los solventes se removieron a presión reducida y el crudo se coevaporó con Et_2O dos veces luego se ubicó en alto vacío para dar isopropilo 2-amino-2-metilpropanoato clorhidrato. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.61 (s, 3H), 4.96 (p, J = 6.2 Hz, 1H), 1.44 (s, 6H), 1.22 (d, J = 6.2 Hz, 6H).

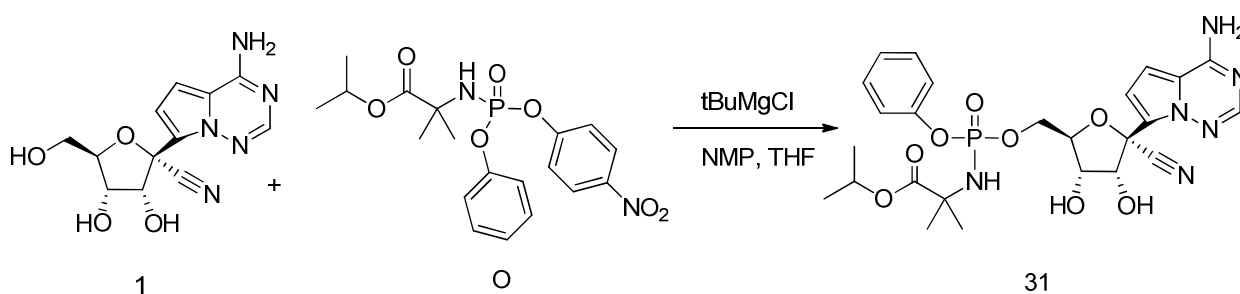
Preparación de Isopropilo 2-metil-2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato (compuesto O)



[0242] Tomar fenil diclorofosfato (0.83 mL, 5.58 mmol) y isopropilo 2-amino-2-metilpropanoato clorhidrato (1.01 g, 5.58 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL). Enfriar la mezcla de la reacción a 0 °C y lentamente adicionar TEA (1.61 mL, 11.45 mmol). Remover el baño frío y permitir que la mezcla de la reacción se agite a temperatura ambiente. Después aproximadamente 2 h, la adición del aminoácido se determinó completa por ^{31}P RMN. Cargar p-nitrofenol (0.74 g, 5.30 mmol) seguido por la adición de TEA (0.81, 5.84 mmol). Permitir que la reacción se agite a temperatura ambiente. Después aproximadamente 2h, la reacción se determinó completa por LCMS. La reacción se diluyó con Et_2O y las sales $\text{TEA}\cdot\text{HCl}$ se filtraron. El crudo se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-50% EtOAc/Hex)

para dar el compuesto **O**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.42 – 8.19 (m, 2H), 7.55 – 7.43 (m, 2H), 7.39 (dd, J = 8.6, 7.2 Hz, 2H), 7.30 – 7.12 (m, 3H), 6.53 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 4.82 (hept, J = 6.3 Hz, 1H), 1.38 (s, 6H), 1.09 (d, J = 6.3, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -2.84. LC/MS: t_R = 1.73 min, MS m/z = 422.92 [M+1]; LC sistema: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS sistema: Thermo LCQ Fleet; Columna: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 3.00 mm; Solventes: Acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico, Agua con 0.1% ácido fórmico; Gradiente: 0 min-2.4 min 2-100% ACN, 2.4 min-2.80 min 100% ACN, 2.8 min-2.85 min 100%-2% ACN, 2.85 min-3.0 min 2% ACN a 1.8mL/min.

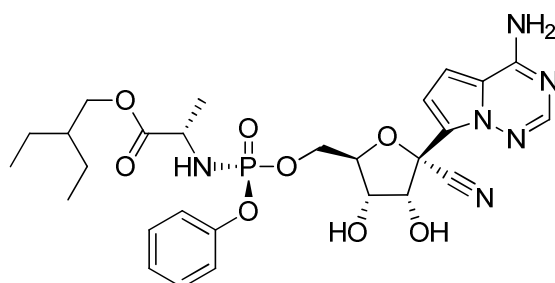
Preparación de Isopropilo 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato (compuesto 31)



[0243] Tomar el compuesto **1** (66 mg, 0.23 mmol) en NMP (2.0 mL). Enfriar la mezcla a aproximadamente 0 °C y lentamente adicionar tBuMgCl (1.0M en THF, 0.57mL, 0.57mmol). Permitir que la reacción se agite a aproximadamente 0 °C durante aproximadamente 30 min, luego adicionar una solución del compuesto **O** (143 mg, 0.34 mmol) disuelto en THF (1.0 mL). Remover el baño frío y ubicar la reacción en un baño de aceite precalentado a aproximadamente 50 °C. Después de aproximadamente 2 h, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se detuvo con ácido acético y metanol. El crudo se concentró y se purificó mediante HPLC en fase reversa sin modificador para dar el compuesto **31**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.88 (m, 3H), 7.30 (td, J = 8.5, 7.0 Hz, 2H), 7.20 – 7.04 (m, 3H), 6.87 (d, J = 4.5, 1H), 6.80 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 6.27 (d, 6.1 Hz, 1H), 5.75 (t, J = 9.1 Hz, 1H), 5.34 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.81 (p, J = 6.3 Hz, 1H), 4.71 – 4.50 (m, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.11 (m, 1H), 4.03 – 3.83 (m, 1H), 1.37 – 1.23 (m, 6H), 1.18 – 1.04 (m, 6H). ^{31}P RMN (162 MHz, DMSO) δ 2.47, 2.43. LC/MS: t_R = 1.08 min, MS m/z = 575.06 [M+1]; LC sistema: Thermo Accela 1250 UHPLC; MS sistema: Thermo LCQ Fleet; Columna: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 3.00 mm; Solventes: Acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico, Agua con 0.1% ácido fórmico; Gradiente: 0 min-2.4 min 2-100% ACN, 2.4 min-2.80

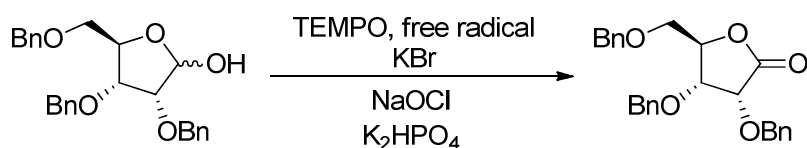
min 100% ACN, 2.8 min-2.85 min 100%-2% ACN, 2.85 min-3.0 min 2% ACN a 1.8mL/min.

Ejemplo 35. (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (32)



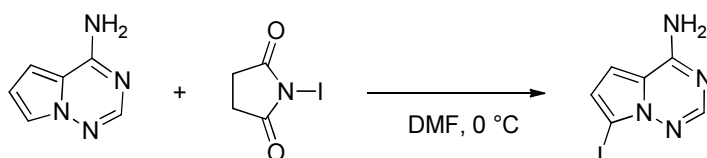
[0244] La preparación de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se describe más adelante.

Preparación de (3R,4R,5R)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)dihidrofuran-2(3H)-ona.



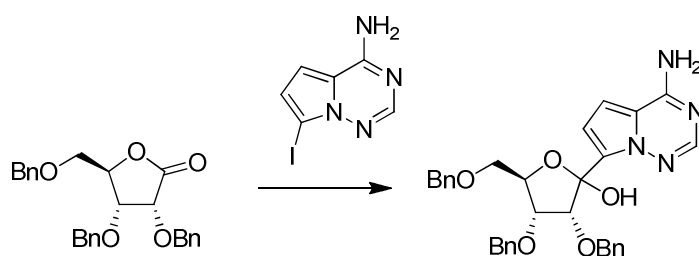
[0245] (3R,4R,5R)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol (15.0 g) se combinó con MTBE (60.0 mL), KBr (424.5 mg), la solución acuosa de K_2HPO_4 (2.5M, 14.3 mL), y TEMPO (56 mg). Esta mezcla se enfrió a aproximadamente 1 °C. Solución acuosa de decolorante (7.9%wt.) se cargó lentamente en porciones hasta el consumo completo de material de partida como se indica a través de una prueba almidón/yoduro. Las capas se separaron, y La capa acuosa se extrajo con MTBE. La fase orgánica combinada se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a presión reducida para dar el producto como un sólido.

Preparación (4-amino-7-yodopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazina)



[0246] A una solución fría de 4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazina (10.03 g; 74.8 mmol) en N,N-dimetilformamida (70.27 g), N-yodosuccinimida (17.01g; 75.6 mmol) se cargó en porciones, manteniendo los contenidos a aproximadamente 0 °C. Al completar la reacción (aproximadamente 3 h a aproximadamente 0 °C), la mezcla de la reacción se transfirió a una solución acuosa de hidróxido de sodio 1M (11 g NaOH y 276 mL agua) manteniendo los contenidos a aproximadamente 20-30 °C. La lechada resultante se agitó a aproximadamente 22 °C durante 1.5 h y luego se filtró. Los sólidos se enjuagan con agua (50 mL) y se secaron a aproximadamente 50 °C al vacío para producir 4-amino-7-yodopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazina como un sólido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.90 (s, 1H), 7.78 (br s, 2H), 6.98 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 4.4 Hz, 1H). ¹³C RMN (101 MHz, DMSO-d₆) δ 155.7, 149.1, 118.8, 118.1, 104.4, 71.9. MS m/z = 260.97 [M+H].

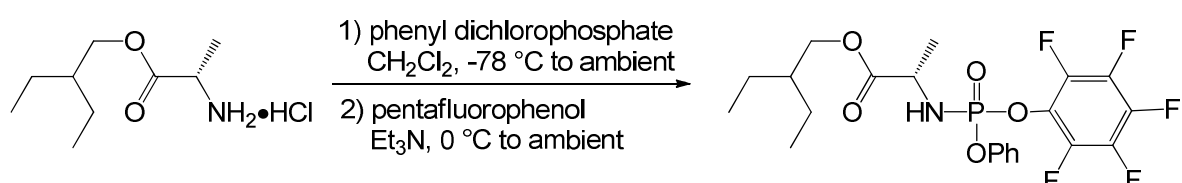
Preparación (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benciloxi)-5-((benciloxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol via (4-amino-7-yodopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazina)



[0247] Para un reactor bajo una atmósfera de nitrógeno se cargó yodobase **2** (81 g) y THF (1.6 L). La solución resultante se enfrió a aproximadamente 5 °C, y TMSCl (68 g) se cargó. PhMgCl (345mL, 1.8 M en THF) se cargó luego lentamente mientras se mantenía una temperatura interna a aproximadamente ≤ 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a aproximadamente 0 °C durante 30 min, y luego se enfrió a aproximadamente -15 °C. *i*PrMgCl- LiCl (311 mL, 1.1 M en THF) se cargó lentamente mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de aproximadamente -12 °C. Después aproximadamente 10 minutos de agitación a aproximadamente -15 °C, la mezcla de la reacción se enfrió a aproximadamente -20 °C, y una solución de lactona **1** (130 g) en THF (400 mL) se cargó. La mezcla de la reacción se agitó luego a aproximadamente -20 °C durante aproximadamente 1 h y se detuvo con AcOH (57 mL). La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 0 °C y se ajustó el pH 7-8 con NaHCO₃ (5 %p, 1300 mL) acuoso. La mezcla de la reacción luego se diluyó con EtOAc (1300 mL), y lo orgánico y las capas acuosas se separaron. La capa orgánica se lavó con 1N HCl (1300 mL), NaHCO₃ (5 %p, 1300 mL) acuoso, y salmuera (1300 mL), y luego se secó sobre

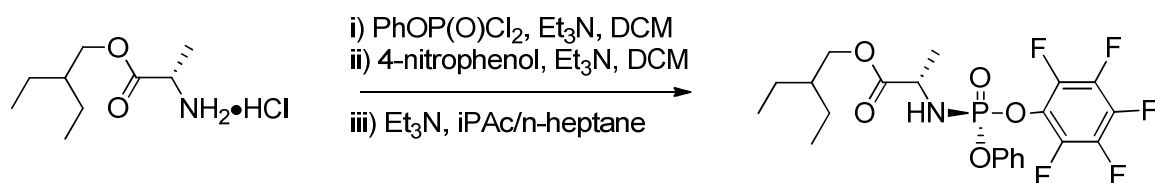
anhidro Na_2SO_4 y se concentró hasta sequedad. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente consistente de una mezcla de MeOH y EtOAc que proporcionó el producto.

Preparación ((2S)-2-etilbutilo 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato) (mezcla de *Sp* y *Rp*):



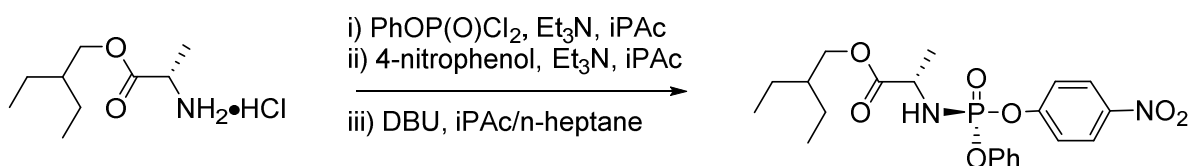
[0248] *L*-Alanina 2-etilbutilo éster clorhidrato (5.0 g, 23.84 mmol) se combinó con cloruro de metileno (40 mL), se enfrió a aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, y fenil diclorofosfato (3.65 mL, 23.84 mmol) se adicionó. Trietilamina (6.6 mL, 47.68 mmol) se adicionó durante aproximadamente 60 min a aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3h. La mezcla de la reacción se enfrió a aproximadamente $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y pentafluorofenol (4.4 g, 23.84 mmol) se adicionó. Trietilamina (3.3 mL, 23.84 mmol) se adicionó durante aproximadamente 60 min. La mezcla se agitó por aproximadamente 3h a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con una solución acuosa de carbonato de sodio varias veces, y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando a gradiente de EtOAc y hexanos (0 a 30%). El producto contiene fracciones que se concentraron a presión reducida para dar (2S)-2-etilbutilo 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato como un sólido. ^1H RMN (400 MHz, Cloroformo- d) δ 7.41 – 7.32 (m, 4H), 7.30 – 7.17 (m, 6H), 4.24 – 4.16 (m, 1H), 4.13 – 4.03 (m, 4H), 4.01 – 3.89 (m, 1H), 1.59 – 1.42 (m, 8H), 1.40 – 1.31 (m, 8H), 0.88 (t, $J = 7.5\text{ Hz}$, 12H). ^{31}P RMN (162 MHz, Cloroformo- d) δ -1.52. ^{19}F RMN (377 MHz, Cloroformo- d) δ -153.63, -153.93 (m), -160.05 (td, $J = 21.9, 3.6\text{ Hz}$), -162.65 (qd, $J = 22.4, 20.5, 4.5\text{ Hz}$). MS $m/z = 496\text{ [M+H]}$.

Preparación ((2S)-2-etilbutilo 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato):



L-alanina-2-etilbutiloéster clorhidrato (40.10 g, 0.191 mmol) se disolvió en diclorometano (533 g) y La solución se enfrió con agitación a aproximadamente -15 °C bajo N₂(g). Fenil diclorofosfato (40.32 g, 0.191 mol) se adicionó seguido por una suave adición de trietilamina (41.58 g, 0.411 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a aproximadamente -15 °C durante aproximadamente 1.5 h. Pentafluorofenol (35.14 g, 0.191 mol) se adicionó, seguido por trietilamina (19.23 g, 0.190 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 2 h. La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 0 °C y 0.5 M HCl (279.19 g) se adicionó. La mezcla se calentó a aproximadamente 22 °C y la capa orgánica se separó se separó y se lavó con una solución acuosa de 5% KHCO₃ (281 g), luego agua (281 g). Una alícuota de la capa orgánica (453.10 g de la 604.30 g solución) se concentró a aproximadamente 120 mL de volumen, acetato de isopropilo (157 g) se adicionó y La solución se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en acetato de isopropilo (158 g). La solución resultante se concentró a aproximadamente 120 mL de volumen y la temperatura se ajustó a aproximadamente 45 °C. n-Heptano (165 g) se adicionó y la mezcla se enfrió a 22 °C durante a proximadamente 1 h. n-Heptano (167 g) se adicionó y la mezcla se enfrió a aproximadamente 0 °C. Trietilamina (2.90 g, 0.0287 mol) se adicionó y la mezcla se agitó a 0 °C durante aproximadamente 17 h. La mezcla se filtró, los sólidos se lavaron con n-heptano (145 g) y los sólidos se secaron bajo vacío a aproximadamente 40 °C durante aproximadamente 15h para proporcionar 2-etilbutilo ((S)-(pentafluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)-L-alaninato.

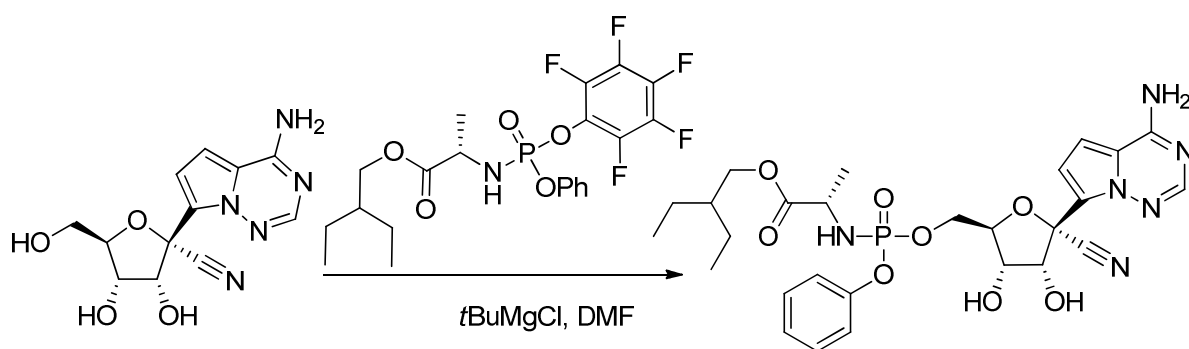
Preparación 2-etilbutilo ((S)-(4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)-L-alaninate:



Una suspensión de L-alanina-2-etilbutiloéster clorhidrato (20.08 g, 95.8 mmol) y acetato de isopropilo (174 g) se enfrió con agitación a aproximadamente -20 °C. Fenil diclorofosfato (20.37 g, 96.5 mmol) se adicionó, seguido por adición lenta de trietil amino (20.97 g, 207.2 mmol) y la mezcla se agitó a aproximadamente -20 °C durante aproximadamente 1 h. 4-Nitrofenol (13.23 g, 95.1 mmol) se adicionó, seguido por una lenta adición de trietilamina (10.01 g, 98.8 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 1.5 h. La mezcla de la reacción se calentó a aproximadamente 0 °C y 0.5 M HCl (140 g) se adicionó. La capa orgánica

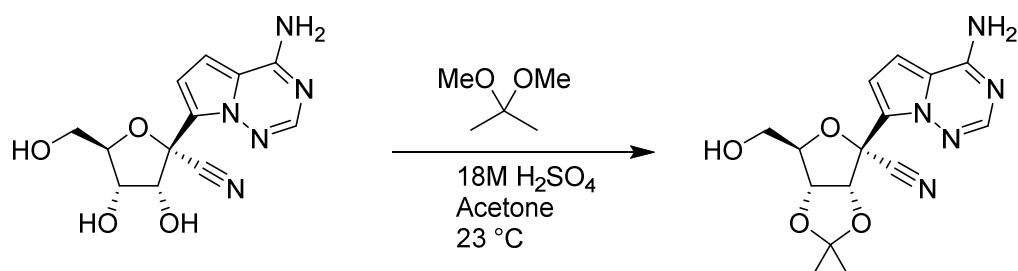
se separó y se lavó con 5% Na_2CO_3 (2 x 100 g) y 10% NaCl (2 x 100 g). La capa orgánica se concentró entonces a aproximadamente 80 mL de volumen y isopropiloacetato (4 g) se adicionó, seguido por n-heptano (110 g). Cristales semillas del producto (0.100 g) se adicionaron seguido por una segunda porción de n-heptano (110 g) y la mezcla se enfrió a aproximadamente 0 °C. 1,8-Diazabicycloundec-7-eno (1.49 g, 9.79 mmol) se adicionó y la mezcla se agitó a aproximadamente 0 °C durante aproximadamente 21 h. Los sólidos resultantes se filtraron y se lavó primero con n-heptano (61 g) y luego con H_2O (2 x 100 g). Los sólidos se agitaron con H_2O (200 g) durante aproximadamente 1.5 h, se filtró, y se lavó con H_2O (3 x 100 g), luego con n-heptano (61 g). Los sólidos obtenidos se secaron bajo vacío a aproximadamente 40 °C durante aproximadamente 19 h para proporcionar 2-etilbutilo ((S)-(4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)-L-alaninato.

Preparación de Title El compuesto (mezcla de *Sp* y *Rp*):



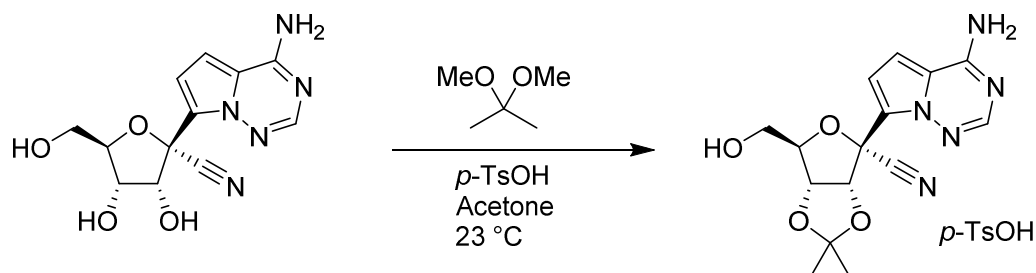
[0249] El nucleósido (29 mg, 0.1 mmol) y la fosfonamida (60 mg, 0.12 mmol) y N,N-dimetilformamida (2 mL) se combinaron a temperatura ambiente. *Tert*-Butilo cloruro de magnesio (1M en THF, 0.15 mL) se adicionó lentamente. Después de aproximadamente 1h, la reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico (5%wt.), una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y una solución de salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de metanol y CH_2Cl_2 (0 a 5%). El producto contiene fracciones que se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto.

Preparación de (3aR,4R,6R,6aR)-4-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-carbonitrilo:



[0250] A una mezcla de (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (5.8g, 0.02 mol), 2,2-dimetoxipropano (11.59 mL, 0.09 mol) y acetona (145 mL) a temperatura ambiente se adicionó ácido sulfúrico (18M, 1.44 mL). La mezcla se calentó a aproximadamente a 45 °C. Después aproximadamente a 30 min, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y bicarbonato de sodio (5.8 g) y agua (5.8 mL) se agregaron. Después de 15 min, la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se tomó en acetato de etilo (150 mL) y agua (50 mL). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para dar un crudo (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.84 (s, 1H), 6.93 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 5.40 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.00 (dd, $J = 6.7$, 3.3 Hz, 1H), 4.48 – 4.40 (m, 1H), 3.81 – 3.72 (m, 2H), 1.71 (s, 3H), 1.40 (s, 3H). MS $m/z = 332.23$ [M+1].

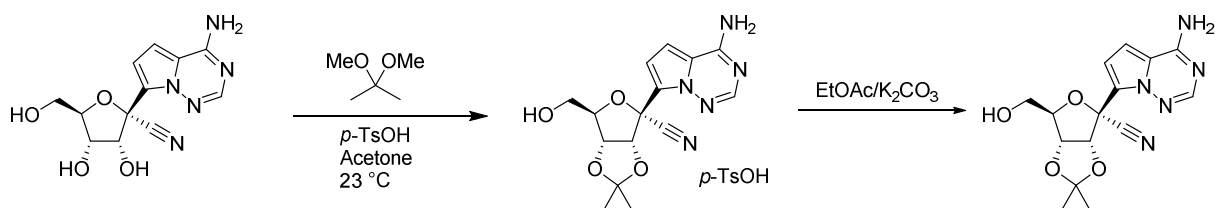
Preparación de (3aR,4R,6R,6aR)-4-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-carbonitrilo TsOH salt:



[0251] Para una mezcla de (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (5.0 g, 17.2 mmol, 1.0 equiv.), 2,2-dimetoxipropano (10.5 mL, 86 mmol, 5.0 equiv.) y acetona (25 mL) a temperatura ambiente se adicionó ácido *p*-tolilsulfónico (3.59 g, 1.1 equiv.). La

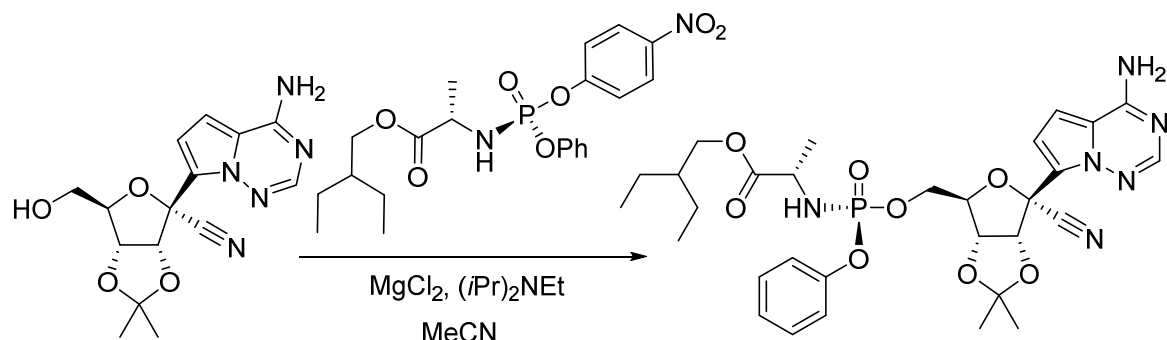
mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 30 min, acetato de isopropilo (25 mL) se adicionó durante una hora aproximadamente. La suspensión resultante se filtró y se lavó con 2:1 heptano:acetato de isopropilo (25 ml). El producto se secó bajo vacío a aproximadamente 40 °C.

Preparación de (3aR,4R,6R,6aR)-4-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-carbonitrilo:



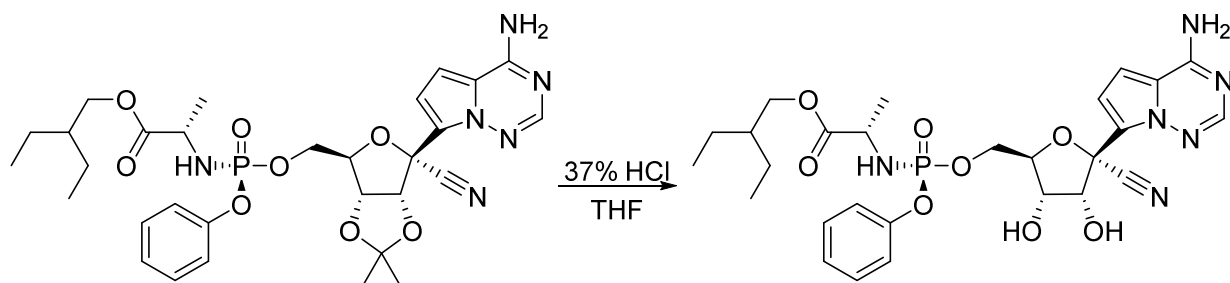
[0252] A una mezcla de (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (5 g, 17.2 mmol, 1.0 equiv.), 2,2-dimetoxipropane (10.5 mL, 86 mmol, 5.0 equiv.) y acetona (25 mL) a temperatura ambiente se adicionó ácido *p*-tolilsulfónico (3.59 g, 1.1 equiv.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 30 min, acetato de isopropilo (25 mL) se adicionó durante una hora. La suspensión resultante se filtró y se lavó con 2:1 heptano:acetato de isopropilo (25 ml). El producto se secó bajo vacío a 40 °C. El sólido aislado se adicionó al reactor y se agregaron soluciones de 5% K₂CO₃ (50 ml) y acetato de etilo (50 mL). Las capas se separaron, la capa acuosa se lavó con acetato de etilo (25 ml). El combinado de capas orgánicas se lavó con agua (25 ml), luego se concentró a ca 25 ml. El reactor se rellenó con acetato de isopropilo (25 ml) y se concentró a ca. 25 ml. El reactor nuevamente se rellenó con acetato de isopropilo (25 ml) y se concentró a 25 ml. La solución resultante se sembró, produciendo una suspensión espesa. Para esto se adicionó heptano (25 ml) más de una hora. La suspensión resultante se filtró y se lavó con 2:1 heptano:acetato de isopropilo (25 ml). El producto se secó bajo vacío a 40 °C.) (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.84 (s, 1H), 6.93 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.40 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 5.00 (dd, *J* = 6.7, 3.3 Hz, 1H), 4.48 – 4.40 (m, 1H), 3.81 – 3.72 (m, 2H), 1.71 (s, 3H), 1.40 (s, 3H). MS *m/z* = 332.23 [*M*+1].

Preparación de (2S)-2-etilbutilo 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato:



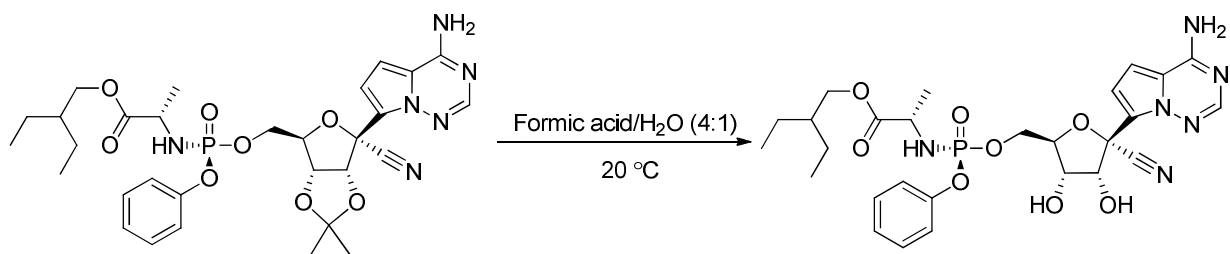
[0253] Acetonitrilo (100 mL) se combinó con (2S)-2-etilbutilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)-amino),propanoato (9.6 g, 21.31 mmol), el sustrato alcohol (6.6 g, 0.02 mol), , cloruro de magnesio (1.9 g, 19.91 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante aproximadamente 15 min y *N,N*-diisopropiletilamina (8.67 mL, 49.78 mmol) se adicionó. Después aproximadamente 4h, la reacción se diluyó con acetato de etilo (100 mL), se enfrió a aproximadamente 0 °C y se combinó con una solución acuosa de ácido cítrico (5%wt., 100 mL). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico (5%wt., 100 mL), solución acuosa saturada de cloruro de amonio (40 mL), solución acuosa de carbonato de potasio (10%wt., 2 x 100 mL), solución acuosa saturada de salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para proporcionar un producto crudo. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.86 (s, 1H), 7.31 – 7.22 (m, 2H), 7.17 – 7.09 (m, 3H), 6.93 – 6.84 (m, 2H), 5.34 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 4.98 (dd, J = 6.6, 3.5 Hz, 1H), 4.59 – 4.50 (m, 1H), 4.36 – 4.22 (m, 2H), 4.02 (dd, J = 10.9, 5.7 Hz, 1H), 3.91 (dd, J = 10.9, 5.7 Hz, 1H), 3.83 (dq, J = 9.7, 7.1 Hz, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.50 – 1.41 (m, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.36 – 1.21 (m, 7H), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 6H). MS m/z = 643.21 $[\text{M}+1]$.

Preparación de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (compuesto 32)



[0254] La acetónida cruda (12.85 g) se combinó con tetrahidrofurano (50 mL) y se concentró a presión reducida. El residuo se tomó en tetrahidrofurano (100 mL), se enfrió a aproximadamente 0 °C y HCl concentrado (20 mL) se adicionó lentamente. Se permitió que la mezcla se calentara a temperatura ambiente. Después del consumo de la acetónida de partida como se indica por análisis de HPLC, agua (100 mL) se adicionó seguido por solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (200 mL). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL), la fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de salmuera (50 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de metanol y acetato de etilo (0 a 20%). Las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto.

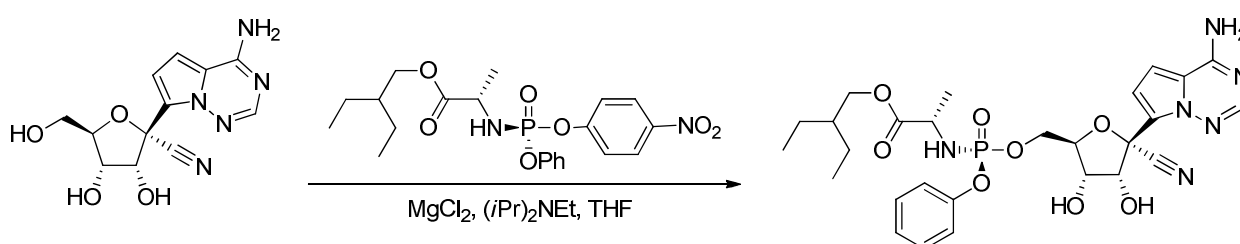
Preparación de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (compuesto 32)



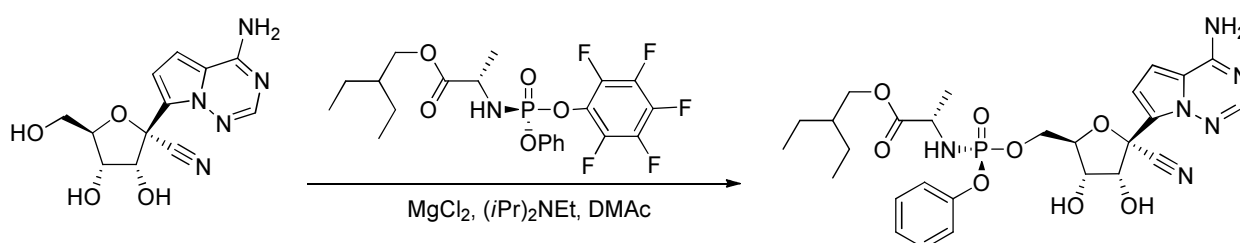
A un vial que contiene (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((3aR,4R,6R,6aR)-6-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-6-ciano-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (30 mg, 0.05 mmol) se adicionó una solución acuosa de ácido fórmico 80% (1.5 mL). Después de 18 h a

aproximadamente 20 °C la conversión completa se confirmó por HPLC y LC-MS. MS (m/z) = 603($M+1$)⁺.

Preparación de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (compuesto 32) via acoplamiento directo

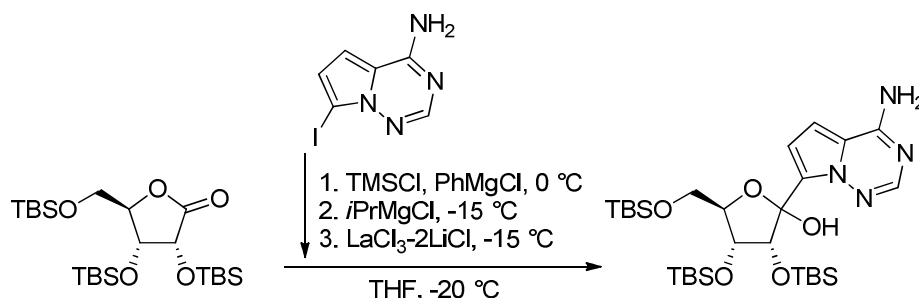


[0255] A una mezcla de (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofurano-2-carbonitrilo (0.5 g, 2 mmol), (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (0.9 g, 2 mmol), y MgCl₂ (0.2 g, 2 mmol), se cargó N,N-dimetilacetamida (10 mL). La mezcla resultante se calentó a aproximadamente 30 °C con agitación constante. N,N-Diisopropiletilamina (0.7 mL, 4 mmol) se adicionó entonces lentamente, y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 6 h. Agua (10 mL) se cargó H₂O, seguido por 2-MeTHF (10 mL), y las fases orgánica y acuosa se separaron. La capa acuosa luego se extrajo de nuevo con 2-MeTHF (10 mL). Las capas orgánicas se combinaron, y se lavó con solución 10 %p de ácido cítrico (10 mL), seguido por solución de K₂CO₃ 10 %p (10 mL), y H₂O (10 mL). Una pequeña cantidad de salmuera se adicionó para resolver las emulsiones en el lavado con agua antes de separar las capas. La capa orgánica se evaporó a sequedad para dar 0.65 g de una espuma. *i*PrOAc (2.6 mL) se adicionó luego, y la mezcla se calentó a aproximadamente 40 °C para lograr disolución. La solución se enfrió aproximadamente a 20 °C, y la mezcla se agitó por aproximadamente 3 días. Los sólidos se aislaron por filtración, y la masa del filtro se lavó con una pequeña cantidad de *i*PrOAc. Los sólidos se secaron para dar (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahydrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato.



[0256] A una mezcla de (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (0.2 g, 0.7 mmol), (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (0.3 g, 0.7 mmol), y MgCl_2 (0.1 g, 1 mmol), se cargó N,N-dimetilacetamida (4 mL). La mezcla resultante se calentó a aproximadamente 30 °C con agitación constante. N,N-Diisopropiletilamina (0.3 mL, 2 mmol) se adicionó entonces lentamente, y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h. La conversión al producto se confirmó a través de Análisis UPLC.

Preparación de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(((tert-butilodimetilsilil)oxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol



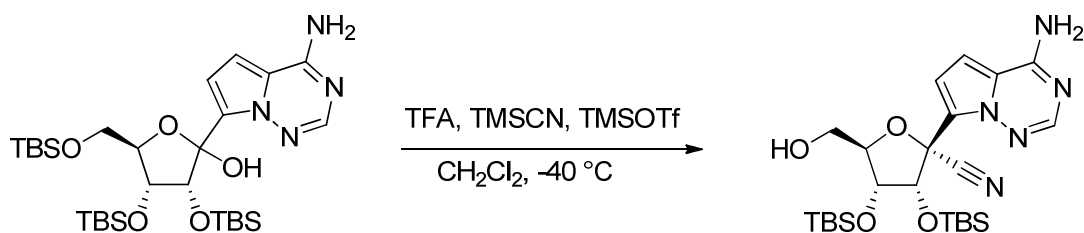
[0257] Una solución de 7-yodopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amine (13.9 g, 53.5 mmol) se preparó en THF (280 mL). La solución se enfrió aproximadamente a 0 °C, y TMSCl (13.6 mL, 107 mmol) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 20 min, y luego PhMgCl (2 M en THF; 53.5 mL, 56.8 mmol) se adicionó mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de aproximadamente 5 °C. La mezcla de la reacción se agitó a aproximadamente 0 °C durante aproximadamente 30 min, y luego se enfrió a aproximadamente -20 °C. *i*PrMgCl-LiCl (1.3 M en THF, 43.1 mL, 56 mmol) se adicionó entonces mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de aproximadamente -15 °C. La mezcla de la reacción se agitó durante aproximadamente 30 min a aproximadamente -20 °C.

[0258] En un matraz aparte, una solución de (3R,4R,5R)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(((tert-butilodimetilsilil)oxi)metil)dihidrofuran-2(3H)-ona (25.0 g,

50.9 mmol, 0.83 equiv) se preparó en $\text{LaCl}_3\cdot 2\text{LiCl}$ (0.6 M en THF, 85 mL, 50.9 mmol). La solución luego se transfirió a la solución de Grignard mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de -20°C . La mezcla de reacción resultante se agitó a aproximadamente -20°C durante aproximadamente 4 h.

[0259] La reacción se detuvo con HCl 1 M (140 mL), y la mezcla se calentó a temperatura ambiente. EtOAc (140 mL) se adicionó, y las fases orgánica y acuosa se separaron. La capa de agua se extrajo con EtOAc (200 mL). Las capas de EtOAc combinadas se extrajeron secuencialmente con NaHCO_3 acuoso saturado (2 x 200 mL), agua (200 mL), y salmuera (200 mL). La capa orgánica se concentró, y luego se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (30% EtOAc/hexano) para dar (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(((tert-butilodimetilsilil)oxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8.15 – 7.88 (m, 1H), 7.51 (d, $J = 4.8$ Hz, 0.5H), 7.02 – 6.92 (m, 0.5H), 6.65 – 6.57 (m, 1H), 5.66 – 5.24 (m, 3H), 4.49 – 3.50 (m, 4H), 0.97 – 0.78 (26H), 0.65 (s, 1.5H), 0.19 – 0.00 (m, 15.5H), -0.22 (s, 1H), -0.55 (s, 1H). . MS $m/z = 626$ (M+H).

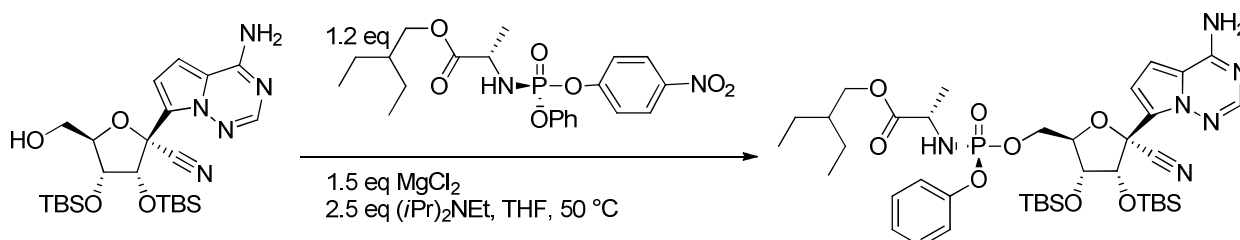
Preparación de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo



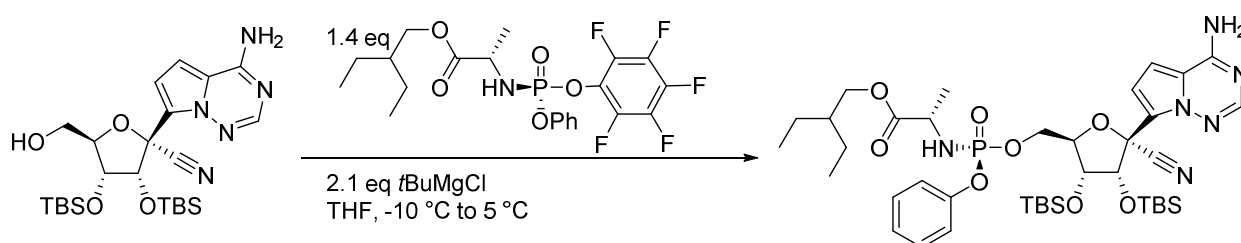
[0260] Una solución de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(((tert-butilodimetilsilil)oxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol (1.50 g, 2.40 mmol) en CH_2Cl_2 (15 mL) se enfrió a aproximadamente -40°C . Ácido trifluoroacético (0.555 mL, 7.20 mmol) se adicionó manteniendo la temperatura bajo -20°C . En un matraz aparte, trimetilsilil trifluorometanosulfonato (2.60 mL, 14.4 mmol) se adicionó a 5 mL de CH_2Cl_2 (5 mL) a aproximadamente 15°C , seguido por trimetilsilil cianuro (1.92 mL, 14.4 mmol), y la solución se enfrió aproximadamente a -30°C . La solución fría se adicionó a la solución de (3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(((tert-butilodimetilsilil)oxi)metil)tetrahidrofurano-2-ol manteniendo la temperatura bajo -25°C . La mezcla de reacción se agitó durante 15 min a aproximadamente -30°C . La

reacción se detuvo con trietilamina (3.34 mL, 24.0 mmol) y la mezcla se calentó a aproximadamente 0 °C. Agua (50 mL) se adicionó manteniendo la temperatura bajo aproximadamente 20 °C. Cuando la adición fue completa la mezcla se agitó por 15 min a temperatura ambiente. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó secuencialmente con KOH (20 mL), agua (20 mL), y salmuera (20 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró, y luego se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (30% EtOAc / hexano) para dar el producto como una mezcla 3.8:1 de diastereómeros). La mezcla se purificó adicionalmente por prep-HPLC (ACN 0 a 95% en agua) para dar el producto como un solo diastereómero. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.14-7.92 (m, 2H), 7.89 (s, 1H), 6.95 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 5.10 (dd, J = 7.7, 4.6 Hz, 1H), 4.31 (dd, J = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 4.12 (ddd, J = 5.9, 4.1, 1.4 Hz, 1H), 3.80 – 3.69 (m, 1H), 3.56 (td, J = 7.8, 3.9 Hz, 1H), 0.93 (s, 9H), 0.75 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.09 (s, 3H), -0.15 (s, 3H), -0.62 (s, 3H). MS m/z = 520 (M+H).

Preparación de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-cianotetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

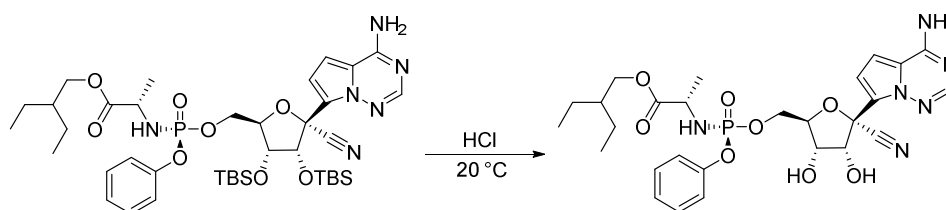


A una mezcla de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (16 mg, 0.03 mmol), (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (17 mg, 0.04 mmol), y MgCl₂ (4 mg, 0.05 mmol), se cargó THF (0.3 mL). La mezcla resultante se calentó a aproximadamente 50 °C con agitación constante. N,N-Diisopropiletilamina (0.013 mL, 0.08 mmol) se adicionó entonces, y la mezcla de reacción se agitó durante 21 h. La conversión al producto se confirmó a través de análisis UPLC y LC-MS. MS m/z = 831 (M+H).

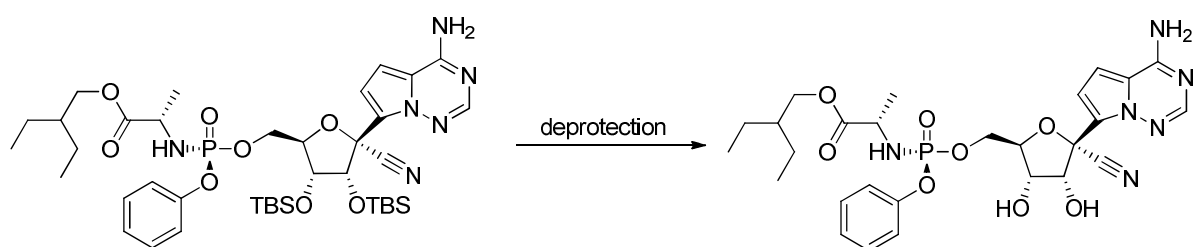


Una solución de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-carbonitrilo (16 mg, 0.03 mmol) en THF (0.3 mL) se enfrió a -10 °C. *t*BuMgCl se adicionó gota a gota (0.07 mL, 0.07 mmol), seguido por una solución de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (22 mg, 0.04 mmol) en THF (0.15 mL). La mezcla de la reacción se calentó a 5 °C, y se agitó durante 16 h. La reacción se detuvo con MeOH, se concentró, y luego se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc /hexanos) para dar el producto. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (s, 1H), 7.38 – 7.29 (m, 2H), 7.25 – 7.21 (m, 2H), 7.21 – 7.13 (m, 1H), 7.11 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 6.65 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 5.88 (br s, 2H), 5.35 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.49 – 4.41 (m, 1H), 4.41 – 4.35 (m, 1H), 4.32 – 4.26 (m, 1H), 4.24 (dd, J = 4.5, 1.7 Hz, 1H), 4.10 – 3.99 (m, 2H), 3.96 (dd, J = 10.9, 5.7 Hz, 1H), 3.80 – 3.72 (m, 1H), 1.48 (h, J = 6.2 Hz, 1H), 1.39 – 1.28 (m, 7H), 0.96 (s, 9H), 0.85 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 0.80 (s, 9H), 0.08 (s, 3H), 0.07 (s, 3H), -0.13 (s, 3H), -0.56 (s, 3H). ³¹P RMN (162 MHz, CDCl₃) δ 2.74 (s). MS *m/z* = 831 (M+H).

Preparación de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



Una solución de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis((tert-butilodimetilsilil)oxi)-5-cianotetrahidrofurano-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato se enfrió a aproximadamente 0 °C y HCl conc (0.05 mL, 0.62 mmol) se adicionó lentamente. La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 72 horas a aproximadamente 20 °C. La conversión al producto se confirmó a través de análisis UPLC y LC-MS. MS *m/z* = 603 (M+H).



Una solución de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butildimetilsilil)oxi)-5-cianotetrahidrofuran-2-yl)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato en un fluoruro o ácido se puede desproteger a una solución de (S)-2-etilbutilo 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-yl)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato. Fluoruros representativos incluyen, pero no están limitados a TBAF, KF, fluorhidrato de piridinio, fluorhidrato de trietilamonio, fluoruro de hidrógeno, ácido clorhídrico, ácido toluensulfónico, o cualquier otra fuente apropiada de fluoruro. Ácidos representativos incluyen, pero no están limitados a aquellos encontrados en Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, **2006**.

Ejemplo 35-a. (((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-yl)metoxi)oxidofosforil)alaninato (Compuesto 35)

[0261] Se disolvió ((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-ciano-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-yl)metoxi)(fenoxi)fosforil)-L-alaninato de 2-etilbutilo (130 mg, 0,216 mmol) en una mezcla de acetonitrilo (6 ml) y agua (2 ml). Se añadió gota a gota solución acuosa de hidróxido de sodio (2 N, 0,5 ml) durante 5 min a ta y la mezcla de reacción se agitó. Después de 2 h, la mezcla resultante se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC en una columna C18 eluyendo con agua para producir el producto deseado como la sal bis-sódica. ^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7.79 (s, 1H), 6.86 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 4.86 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.40 – 4.34 (m, 1H), 4.30 (dd, $J = 5.3, 3.0$ Hz, 1H), 3.75 (qdd, $J = 11.6, 4.5, 3.1$ Hz, 2H), 3.20 (dq, $J = 8.6, 7.1$ Hz, 1H), 0.86 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H). ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) δ 7.30. LCMS m/z 442.95 $[\text{M}+\text{H}]$. HPLC (2-98% de gradiente de $\text{MeCN}-\text{H}_2\text{O}$ con un 0,1% de modificador de TFA durante 8,5 min, 1,5 ml/min, Columna: Phenomenex Kinetex C18, 2,6 μm 100 Å, 4,6 x 100 mm) $t_R = 2,694$ min.

B. Actividad Antiviral

[0262]Otro aspecto de la invención se refiere a métodos para inhibir infecciones virales, que comprende la etapa de tratar una muestra o sujeto sospechoso de necesitar dicha inhibición con una composición de la invención.

[0263] En el contexto de las muestras de la invención de las que se sospecha que contienen un virus incluye materiales naturales o artificiales tales como los organismos vivos; cultivos de tejidos o células; muestras biológicas tales como muestras biológicas (sangre materiales, suero, orina, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, esputo, saliva, muestras de tejido, y similares); muestras de laboratorio; alimentos, agua, aire o muestras; muestras de bioproductos, tales como extractos de células, particularmente células recombinantes que sintetizan una glicoproteína deseada; y similares. Típicamente la muestra será sospechosa de contener un organismo que induce una infección viral, frecuentemente un organismo patógeno tal como un virus tumor. Las muestras pueden estar contenidas en cualquier medio, incluyendo agua y mezclas de disolvente orgánico\Agua. Las muestras incluyen organismos vivos tales como seres humanos, y materiales hechos por el hombre tales como cultivos de células.

[0264] Si se desea, la actividad anti-virus de un compuesto de la invención después de la aplicación de la composición se puede observar mediante cualquier método incluyendo métodos directos e indirectos de detectar dicha actividad. Los métodos cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos de determinar dicha actividad están contemplados. Típicamente uno de los métodos de análisis descritos anteriormente se aplica, sin embargo, cualquier otro método, tal como la observación de las propiedades fisiológicas de un organismo vivo es también aplicable.

[0265] La actividad antiviral de un compuesto de la invención se puede medir usando protocolos de análisis estándar que se conocen. Por ejemplo, la actividad antiviral de un compuesto se puede medir con los siguientes protocolos generales.

Virus	Línea celular	Formato de placa	Número de células	MOI (pfu / célula)	Incubación (días)	Lectura de salida	Valores
EBOV (Zaire)	Hela	384	4.000	0,5	2	HCS	CE50
EBOV (Zaire)	HFF-1			2		HCS	

EBOV-GFP	Huh-7	96	10000	0.1	4	GFP	
EBOV-GFP	HMVEC-TERT					GFP	
EBOV-LUC	Huh-7					LUC	
MARV-GFP	Huh-7					GFP	
NiV	Hela					CPE	
NiV-GFP	HMVEC-TERT					GFP	
NiV-LUC	HMVEC-TERT					LUC	

- EBOV: cepa Zaire del virus Ebola
- EBOV-GFP: virus reportero Ébola que expresa la proteína verde fluorescente
- EBOV-LUC: virus reportero Ébola que expresa luciferasa
- MARV-GFP: virus de Marburg que expresa la proteína verde fluorescente
- NiV: virus Nipah
- Niv-GFP: virus reportero Nipah que expresa proteína verde fluorescente
- Niv-LUC: virus reportero Nipah que expresa luciferasa
- HCS: Registro de imágenes de alto contenido (inmuno-tinción de la proteína GP-ebolavirus)
- GFP: Proteína verde fluorescente
- LUC: luciferasa
- CPE efectos citopáticos medidos por el reactivo Cell Titer Glo (CTG)
- Hela: células epitelialesHela (carcinoma cervical)
- HFF-1: fibroblastos de prepucio humano
- Huh-7: hepatocitos
- HVMEC-TERT: células endoteliales microvasculares Humanas inmortalizadas con la proteína catalítica de la telomerasa

Ejemplo 36. Actividad antiviral del virus Ébola y ensayos de citotoxicidad

[0266]La actividad antiviral del Compuesto 1 y el Compuesto 9 se midió contra Ebola virus (EBOV), el virus de Marburg (MARV) (Tabla 2), y el virus Nipah (NIV) (Tabla 3), utilizando totalmente la replicación de los virus reporteros que expresan luciferasa o la proteína verde fluorescente (GFP) (Uebelhoer, LS, 2014. AVR; Hoenen, T., 2013. AVR). Además la actividad antiviral del Compuesto 1 y el

Compuesto 9 se midió contra Ebola virus (EBOV), el virus de Marburg (MARV) (Tabla 2-a), utilizando virus reporteros de replicación completa que expresan luciferasa o la proteína verde fluorescente (GFP) (Uebelhoer, LS, 2014 . AVR; Hoenen, T., 2013. AVR). Todos los estudios se llevaron a cabo en nivel 4 de contención de bioseguridad (BSL-4, por sus siglas en inglés) en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés). Los ensayos antivirales del virus Ebola se llevaron a cabo en las células endoteliales microvasculares primarias humanas inmortalizadas con la proteína catalítica de la telomerasa (HMVEC-de TERT) y en células Huh-7 (Shao, R., 2004, BBRC). Actividad antiviral del Virus Nipah se midió en las células HMVEC-TERT y Hela.

[0267] Los ensayos antivirales se realizaron en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie de 3 veces en los medios y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas que contienen monocapas de células preconfiguradas. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada del stock de virus, previamente determinado por titulación y preparado en medios de cultivo celular, se añadió a placas de prueba que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa en busca de virus reporteros GFP o después de la adición posterior de sustrato de luciferasa en busca de virus reporteros de luciferasa. Para los ensayos de rendimiento de virus, se retiró el medio de células infectadas y una parte se utilizó para cuantificar el ARN viral por reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa (RT-qPCR). El medio restante se diluyó en serie y la cantidad de virus infeccioso se midió mediante el uso de los medios diluidos para infectar monocapas de células frescas para determinar la dosis infecciosa de cultivo de tejidos que causó 50% de efectos citopáticos (TCID₅₀) usando el reactivo Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI). Para ensayos de efecto citopático de virus (CPE), la viabilidad de las células infectadas fue medida usando el reactivo Cell TiterGlo.

[0268] El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC₅₀ para cada

compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 37. Células EBOV-GFP HMVEC-TERT

[0269] HMVEC-TERT fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas HMVEC-TERT. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de virus de stock EBOV-GFP, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se añadió para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC_{50} para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 38. Células EBOV-GFP Huh-7

[0270] Células Huh-7 fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus EBOV-GFP, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se añadió para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de

inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC_{50} para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 39. Células EBOV-Luc Huh-7

[0271] Células Huh-7 fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus EBOV-Luc, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se añadió para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC_{50} para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 40. Células MARV-GFP Huh-7

[0272] Células Huh-7 fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus MARV-GFP, previamente determinado por titulación y preparados en medios de cultivo celular, se añadió a probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como el control de inhibición virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron

durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los 0% y 100% de los controles de inhibición y valor EC_{50} el para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración eficaz de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 41. Ebola Huh-7 (ARN)

[0273] Células Huh-7 fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus EBOV, previamente determinado por titulación y preparados en medios de cultivo celular, se añadió a probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como el control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los 0% y 100% de los controles de inhibición y valor EC_{50} el para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración eficaz de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 42. Ebola Huh-7 (Rendimiento)

[0274] Células Huh-7 fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus EBOV, previamente determinado por titulación y preparados en medios de cultivo celular, se añadió a probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie.

Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como el control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, el medio de las células infectadas se removió y se diluyeron en diluciones seriadas 10 veces. La cantidad de virus infeccioso se midió mediante el uso de los medios diluidos para infectar monocapas de células frescas para determinar la dosis infecciosa de cultivo de tejidos que causó 50% efectos citopáticos (TCID₅₀) utilizando reactivo Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI). El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los 0% y 100% de los controles de inhibición y el valor EC₅₀ para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 43. Células Ébola HeLa

[0275] La actividad antiviral de los compuestos seleccionados se midió contra ebolavirus (EBOV) cepa Zaire realizado en contención de bioseguridad nivel 4 (BSL-4) en el Instituto de Investigación Médica del Ejército de EE.UU. para Enfermedades Infecciosas (USAMRIID). Las células HeLa se sembraron en placas de 384 pozos a 5000 células/pozo. La actividad antiviral de cada compuesto se midió por cuadruplicado. De ocho a diez concentraciones de compuesto se añadieron directamente a los cultivos celulares usando el dispensador digital HP300 en incrementos de 3 veces de dilución en serie 2h antes de la infección. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada del stock de virus, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se adicionó para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como el control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 2 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, las células se fijaron en solución de formalina y la replicación del virus se midió mediante la cuantificación de los niveles de glicoproteína de Ébola después de inmunotinción y registro de imágenes de alto contenido usando el instrumento microscopía confocal Perkin Elmer Opera. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC₅₀ para

cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración eficaz de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 44. Cultivos de macrófagos Ébola

[0276] La actividad antiviral de los compuestos seleccionados se midió contra ebolavirus (EBOV) cepa Zaire realizado en contención de bioseguridad nivel 4 (BSL-4) en el Instituto de Investigación Médica del Ejército de EE.UU. para Enfermedades Infecciosas (USAMRIID). Cultivos de macrófagos se aislaron de las PBMC humanas frescas y se diferenciaron en presencia de 5 ng/ml de GM-CSF y B-mercaptoetanol 50µm. El medio se cambió cada 2 días y las células que se adhirieron a la placa de cultivo de tejidos después de 7 días se eliminaron con EDTA 0,5 M en PBS 1x, se concentraron por centrifugación a 200 xg durante 10 minutos y se sembraron en placas de ensayo de 384 pozos a 40.000 células/pozo . La actividad antiviral de cada compuesto se midió por cuadruplicado. De ocho a diez concentraciones de compuesto se añadieron directamente a los cultivos celulares usando el dispensador digital HP300 en incrementos de 3 veces de dilución en serie 2h antes de la infección. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada del stock de virus, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se adicionó para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como el control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 2 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, las células se fijaron en solución de formalina y la replicación del virus se midió mediante la cuantificación de los niveles de glicoproteína de Ébola después de inmunotinción y registro de imágenes de alto contenido usando el instrumento microscopía confocal Perkin Elmer Opera. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC_{50} para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración eficaz de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 45. Células Nipah-GFP HMVEC-TERT

[0277]HMVEC-TERT fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 µL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas

de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas HMVEC-terc. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus Niv-GFP, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se añadió para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC_{50} para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 46. Niv-Luc HMVEC-TERT

[0278] HMVEC-TERT fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas HMVEC-terc. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus Niv-Luc, previamente determinada por titulación y preparada en medios de cultivo celular, se añadió para probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición de virus 0% y 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los controles de inhibición 0% y 100% y el valor EC_{50} para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 47. Células NiV Hela (Rendimiento)

[0279] Células Hela fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus Niv, previamente determinado por titulación y preparados en medios de cultivo celular, se añadió a probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como 0% y el control de inhibición virus 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, el medio de las células infectadas se removió y se diluyeron en diluciones seriadas 10 veces. La cantidad de virus infeccioso se midió mediante el uso de los medios diluidos para infectar monocapas de células frescas para determinar la dosis infecciosa de cultivo de tejidos que causó 50% efectos citopáticos (TCID₅₀) utilizando reactivo Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI). El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los 0% y 100% de los controles de inhibición y el valor EC₅₀ para cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración efectiva de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Ejemplo 48. Niv Hela (RNA)

[0280] Células Huh-7 fueron sembradas en placas de 96 pozos. De ocho a diez concentraciones de compuesto se diluyeron en incrementos de dilución en serie 3 veces en medio y 100 uL/pozo de cada dilución se transfirió por triplicado en placas de 96 pozos que contienen monocapas preconfiguradas Huh-7. Las placas se transfirieron a contención BSL-4 y la dilución apropiada de stock de virus Niv, previamente determinado por titulación y preparados en medios de cultivo celular, se añadió a probar placas que contienen las células y los compuestos diluidos en serie. Cada placa incluía tres pozos de células infectadas sin tratar y tres pozos de células no infectadas que sirvieron como 0% y el control de inhibición virus 100%, respectivamente. Después de la infección, placas de ensayo se incubaron durante 3 a 4 días en un incubador de cultivo de tejidos. Después de la incubación, la replicación del virus se midió en un lector de placas Envision por fluorescencia directa para medir la expresión de GFP a partir del virus reportero. El porcentaje de

inhibición se calculó para cada concentración ensayada con respecto a los 0% y 100% de los controles de inhibición y valor EC₅₀ elpara cada compuesto se determinó por regresión no lineal como la concentración eficaz de compuesto que inhibió la replicación del virus en un 50%.

Tabla 2: Ensayos antivirales de Virus Ebola y de Marburg

	EC ₅₀ (nM)							
Ensayo	Virus Reportero				ARN	Rendimiento		Antígeno expresión (altade imágenes de contenido)
Virus	EBOV-GFP		EVOV-Luc	MARV-GFP	Ébola			
Línea celular	HMVEC-terc	Huh-7	Huh-7	Huh-7	Huh-7		Hela	macrófagos
Compuesto 1	771	3126 1726		1492	ND	ND>		20000>20000
Compuesto 9	121	90	ND	ND	1	1 029	290	501
(R) diastereómero del compuesto 9	62	70	ND	ND	ND	ND		
(S) diastereómero del Compuesto 9 (Compuesto 32)	40	81	ND	ND	ND	ND		
Compuesto 10								
Compuesto 15	630	271	ND	ND	ND	ND		
Compuesto 21	905							270
Compuesto 22	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
Compuesto 23	458						1,650	243,350
Compuesto 24								
Compuesto 25								
Compuesto 26	283						970, 1180	1180
Compuesto 27	82						182	
Compuesto 28	102						975	120
Compuesto 29								
Compuesto 30								
Compuesto 11061	31						> 20 000	1230

EBOV-GFP: virus del Ébola que expresa el gen reportero GFP
EBOV-Luc: virus del Ébola que expresa el gen reportero luciferasa
MARV-GFP: virus de Marburg que expresa el gen reportero GFP
Ébola: cepa virus Ébola 2014

Tabla 2-a: ensayos antivirales virus Ebola y de Marburg

	EC ₅₀ (nM)							
Ensayo	Reportero Virus				ARN	Rendimiento		expresión de Antígeno (registro de imágenes de alto contenido)
Virus	EBOV-GFP		EVOV-Luc	MARV-GFP	Ébola			
Línea celular	HMVEC-terc	Huh-7	Huh-7	Huh-7	Huh-7		Hela	macrófagos
Compuesto 1	771	3126 1726		1492	ND	ND>		20000>20000
Compuesto 9	121	90	ND	ND	1	1 029	290, 270	501, 70
(R) diastereómero del compuesto 9	62	70	ND	ND	ND	ND	210	112
(S) diastereómero del compuesto 9 (Compuesto 32)	40	81	ND	ND	ND	ND	100	87
Compuesto 10							3200	
Compuesto 15	630	271	ND	ND	ND	ND	520	501
Compuesto 21	905, 473							270
Compuesto 22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	11570	
Compuesto 23	458						1650, 1845	243, 350, 297
Compuesto 24							785	
Compuesto 25							6720	
Compuesto 26	283						970, 1180, 1103	1180, 1290
Compuesto 27	82						182	
Compuesto 28	102						975, 682	120
Compuesto 29							275	
Compuesto 30	11061						> 20 000	1.230
Compuesto 31							> 20000, > 10000	

EBOV-GFP: virus del Ébola que expresa el gen reportero GFP
EBOV-Luc: virus del Ébola que expresa el gen reportero luciferasa

MARV-GFP: virus de Marburg que expresa el gen reportero GFP
Ébola: cepa virus Ébola 2014

Table 3: Ensayos antivirales virus Nipah y Hendra

	EC ₅₀ (nM)			
Ensayo	Virus reportero		CPE	Rendimiento
Virus	NiV GFP	NiV Luc	NiV	
Línea celular	HMVEC-TERT		Hela	
Compuesto 1	13420	3500	1484	1000
Compuesto 9	60	30	ND	ND

NiV GFP: virus Nipah que expresa el gen reportero GFP
Niv-Luc: virus Nipah que expresa el gen reportero luciferasa
NiV: virus Nipah

[0281]Todas las publicaciones, patentes y documentos de patente citados anteriormente en este documento se incorporan por referencia en el presente documento, como si se hubieran incorporado individualmente como referencia.

[0282]La invención se ha descrito con referencia a diversas realizaciones y técnicas específicas y preferidas. Sin embargo, un experto en la técnica entenderá que muchas variaciones y modificaciones pueden hacerse sin salirse del espíritu y alcance de la invención.