

DERIVADOS DE LOS NUCLEÓSIDOS SUSTITUIDOS EN 4'-AZIDO, 3'-FLUORO COMO INHIBIDORES DE LA REPLICACIÓN DEL RNA DEL VHC

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención hace referencia a derivados de nucleósidos como inhibidores de la replicación del replicón del RNA del VHC. En particular, la
5 presente invención hace referencia a la utilización de los derivados de nucleósidos de purina y pirimidina como inhibidores de la replicación del RNA del virus de la hepatitis C (VHC) subgenómico, y a las composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos.

El virus de la hepatitis C es la principal causa de la enfermedad hepática
10 crónica en todo el mundo. Los paciente infectados con el VHC están en riesgo de desarrollar cirrosis hepática y subsiguientemente un carcinoma hepatocelular y, por tanto, el VHC es la indicación principal de trasplante de hígado. Actualmente, sólo existen dos terapias aprobadas disponibles para el tratamiento del la infección del VHC (R. G. Gish, Sem. Liver. Dis., 1999, 19, 35). Éstas son la monoterapia con el
15 interferón- α y, más recientemente la terapia en combinación del análogo del nucleósido, ribavirina (Virazole), con interferón- α .

Muchos de los fármacos aprobados para el tratamiento de las infecciones virales son nucleósidos o análogos de los nucleósidos y muchos de estos fármacos análogos de nucleósidos inhiben la replicación viral, seguido de la conversión de los
20 trifosfatos correspondientes, mediante la inhibición de las enzimas de la polimerasa viral. Habitualmente, esta conversión al trifosfato está mediada por quinasas celulares y, por consiguiente, la evaluación directa de los nucleósidos como inhibidores de la replicación del VHC sólo se lleva a cabo convenientemente mediante la utilización de ensayos basados en células. Para el VHC existe una falta
25 en la disponibilidad de un ensayo de la replicación viral basado en células verdadero o un o modelo animal de la infección.

El virus de la hepatitis C pertenece a la familia Flaviridae. Se trata de un virus de RNA y el genoma de RNA codifica por una poliproteína grande que, tras el procesamiento, produce la maquinaria de replicación necesaria para asegurar la
30 síntesis de la progenie de RNA. Se cree que la mayoría de las proteínas no

estructurales codificadas por el genoma de RNA del VHC están involucradas en la replicación del RNA. Lohmann et al. [V. Lohmann et al., Science, 1999, 285, 110-113] han descrito la construcción de una línea celular de hepatoma humano (Huh7) en la que se han introducido moléculas del RNA del VHC subgenómico y demostraron una replicación con una eficiencia alta. Se cree que el mecanismo de la replicación del RNA en estas líneas celulares es idéntica a la replicación del genoma del RNA del VHC de longitud completa en hepatocitos infectados. Los clones de cDNA del VHC subgenómico utilizados para el aislamiento de estas líneas celulares han formado las bases para el desarrollo de un ensayo basado en células para la identificación de los análogos de nucleósidos inhibidores de la replicación del VHC.

La solicitud proporciona un compuesto seleccionado a partir de un grupo que incluye:

(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2*H*-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino}-propionato de isopropilo;

(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2*H*-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino}-propionato de etilo;

(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2*H*-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de etilo;

(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2*H*-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo;

(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2*H*-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de bencilo;

(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2*H*-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de etilo;

(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino]-propionato de isopropilo;

(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2*H*-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-hidroxi-fosforilamino]-propionato de isopropilo; y

(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2*H*-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-propioniloxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo.

La solicitud proporciona un método de tratamiento para la infección del virus de la hepatitis C (VHC) que incluye la administración terapéuticamente efectiva de un compuesto con la fórmula I.

La solicitud proporciona el método mencionado con anterioridad, que además incluye la administración de un modulador del sistema inmunitario o un agente antiviral que inhibe la replicación del VHC, o una combinación de los mismos.

La solicitud proporciona el método mencionado con anterioridad, en el que el modulador del sistema inmunitario es un interferón o un interferón químicamente derivado.

La solicitud proporciona el método mencionado con anterioridad, en el que el agente antiviral se selecciona a partir del grupo que incluye el inhibidor de la proteasa del VHC, el inhibidor del VHC, el inhibidor de la helicasa del VHC, el inhibidor de la primasa del VHC, el inhibidor de la fusión del VHC y una combinación de los mismos.

La solicitud proporciona un método para inhibir la replicación del VHC en una célula que incluye la administración de un compuesto con la fórmula I.

La solicitud proporciona una composición que incluye un compuesto con la fórmula I y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La solicitud proporciona el uso de un compuesto con la fórmula I en la manufacturación del medicamento para el tratamiento del VHC.

La solicitud proporciona un compuesto, una composición, o un método tal y como se describe aquí.

Compuestos

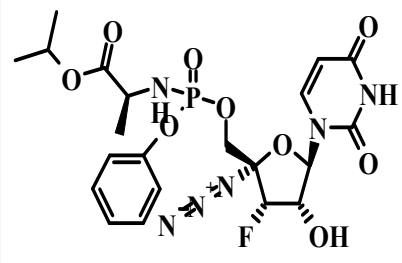
En la siguiente tabla se proporcionan algunos ejemplos de compuestos representativos abarcados por la presente invención y en el ámbito de la invención.

5 Estos ejemplos y preparaciones siguientes se proporcionan para permitir que los expertos en la materia entiendan más claramente y practiquen la presente invención. Estos no deben considerarse limitantes del ámbito de la invención sino como meras ilustraciones y representaciones de la misma.

En general, la nomenclatura utilizada en esta solicitud se basa en
10 AUTONOMTM v.4.0, un sistema computerizado de Beilstein Institute para la generación de la nomenclatura sistemática de la IUPAC. Si existe discrepancia alguna entre una estructura ilustrada y un nombre proporcionado se debe dar más peso a la estructura. Además, si no se indica la estereoquímica de una estructura o una parte de una estructura con, por ejemplo, líneas en negrita o discontinuas, debe interpretarse que la estructura o parte de la estructura abarca todos los
15 estereoisómeros de la misma.

La tabla I describe algunos ejemplos de compuestos de acuerdo con la fórmula I genérica.

20

Compuesto nº	Estructura	Nombre
I-1		(S)-2-([(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino}-propionato de isopropilo

Compuesto nº	Estructura	Nombre
I-2		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2 <i>H</i> -pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino}-propionato de etilo
I-3		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2 <i>H</i> -pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de etilo
I-4		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2 <i>H</i> -pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo
I-5		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2 <i>H</i> -pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de bencilo
I-6		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2 <i>H</i> -pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de etilo

Compuesto nº	Estructura	Nombre
I-7		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino}-propionato de isopropilo
I-8		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-hidroxi-fosforilamino}-propionato de isopropilo
I-9		(S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-propioniloxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo

Síntesis

Esta solicitud está relacionada con la publicación de Smith, David B.; Kalayanov, Genadiy; Sund, Christian; Winqvist, Anna; Maltseva, Tatiana; Leveque, Vincent J.-P.; Rajyaguru, Sonal; Le Pogam, Sophie; Najera, Isabel; Benkestock, Kurt; et al Journal of Medicinal Chemistry (2009), 52(9), 2971-2978.

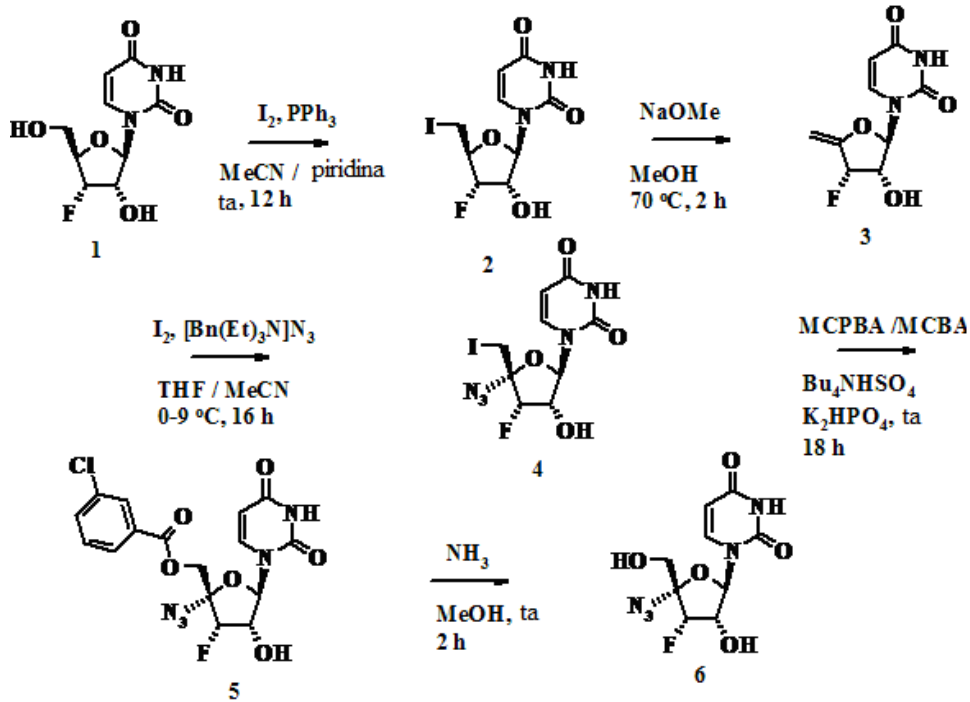
Esquemas generales

Los métodos descritos con anterioridad se describen con más detalle a continuación:

El nucleósido comercialmente disponible 3'-fluoro-3'-deoxiuridina (1) también puede prepararse de acuerdo con los procedimientos descritos por Gosselin, G. et al, Collect. Czech. Chem. Commun. (2006), Vol. 71, Nº 7, 991–1010. La yodación seguida de la eliminación del yoduro bajo condiciones básicas puede llevar al intermediario 3. La introducción del grupo acido en la posición 4' en el

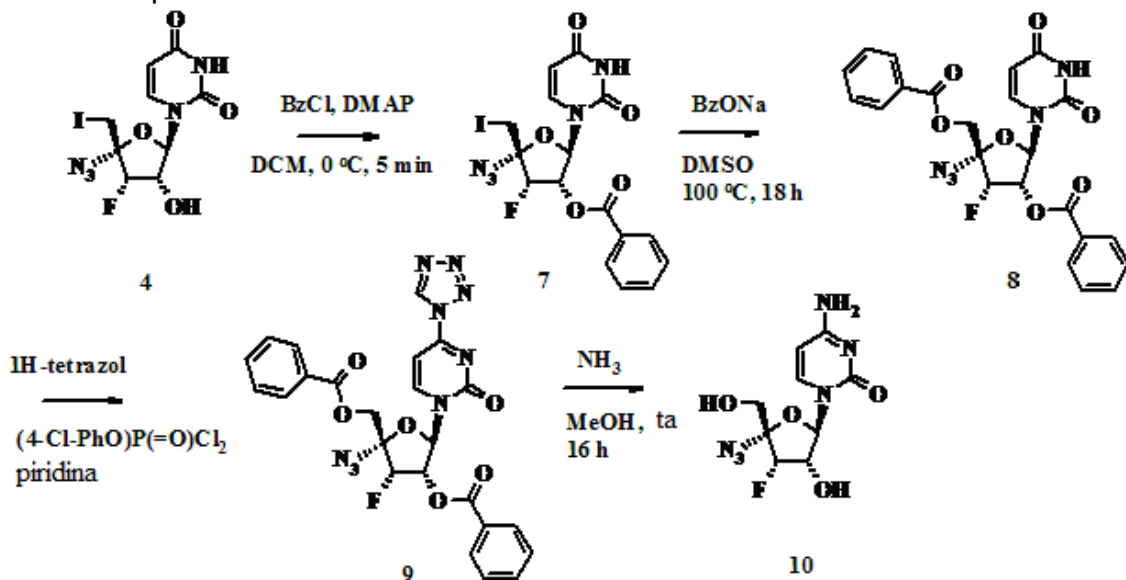
intermediario 3, seguido del desplazamiento oxidativo del 5'-yoduro con ácido *m*-cloroperbenzoico en el intermediario 4 para lograr el 5, puede lograrse de acuerdo con los métodos descritos por Smith, D. B. et al, *J. Med. Chem.* (2009), 52(9), 2971-2978. La desprotección de los grupos 5' *m*-clorobenzoilo en el intermediario 5 proporciona el intermediario de uridina 6 (Esquema 1).

Esquema 1.

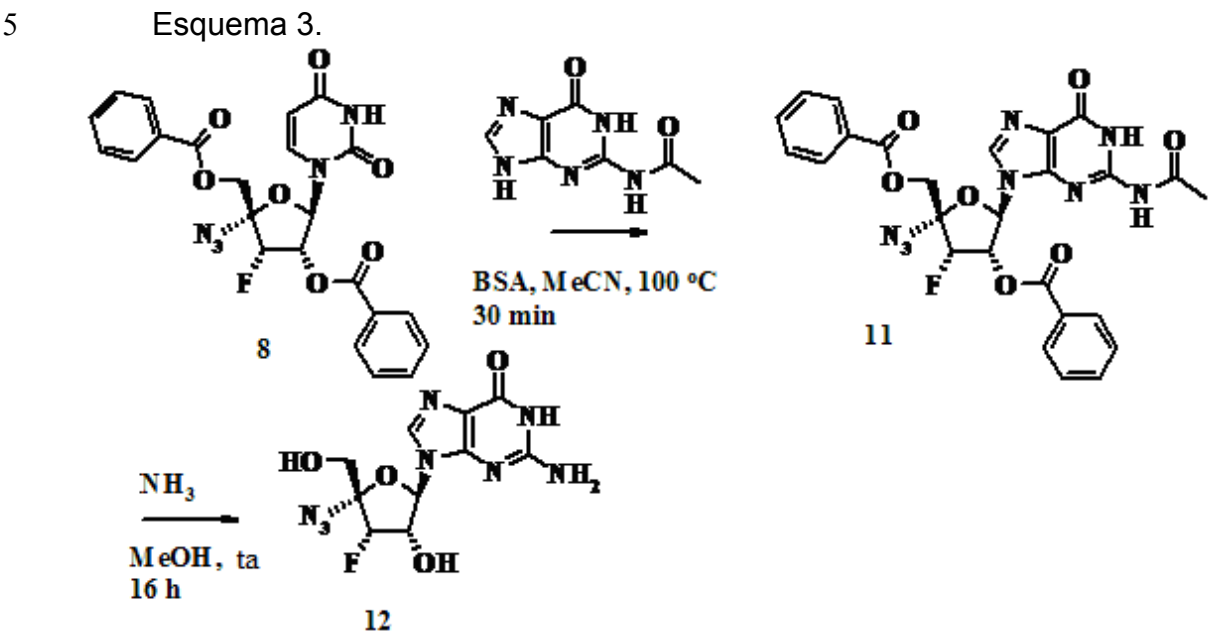


El intermediario de citidina 10 se ha descrito por Smith, D. B. et al en *J. Med. Chem.* (2009), 52(9), 2971-2978. De forma alternativa, el 10 también puede prepararse eficientemente mediante la vía sintética descrita en el esquema 2.

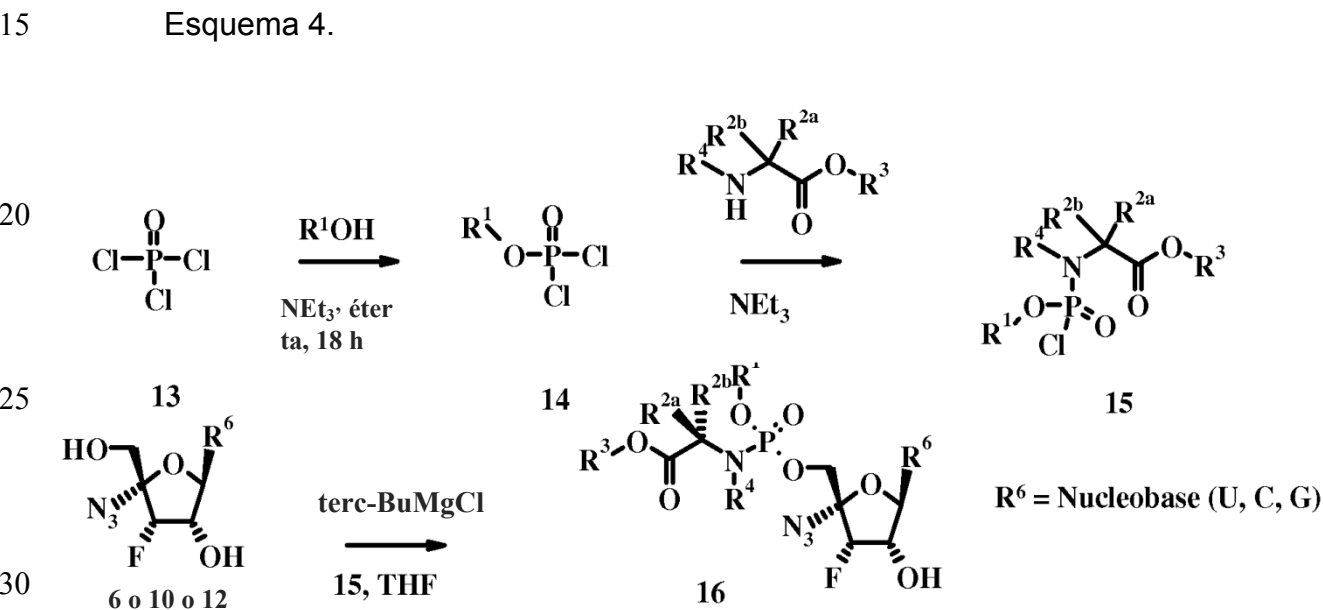
Esquema 2.



El intermediario de guanosina12 puede prepararse mediante la reacción de transaminación a partir del intermediario 8 con guanina protegida seguido de la reacción de desprotección (esquema 3).

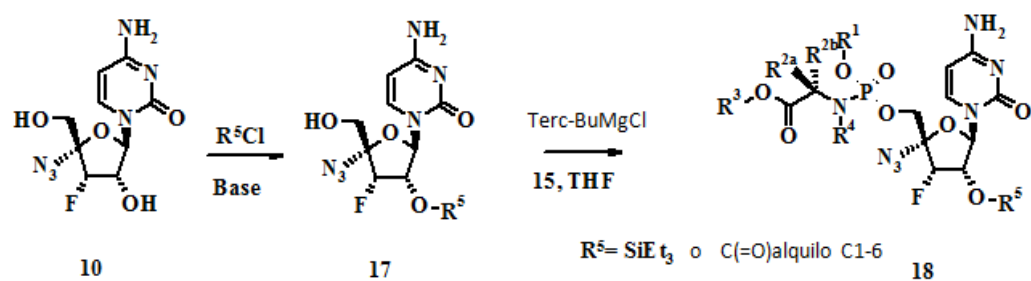


Los compuestos de fosforamidato de la presente invención pueden prepararse mediante la condensación del nucleósido 6 o 10 o 12 con un compuesto de fosfocloridato 11 adecuadamente sustituido en presencia de una base fuerte (esquema 4). La condensación puede llevarse a cabo en el nucleósido no protegido 6 o 10 o 12. El producto acoplado 16 en la fórmula I se obtiene inicialmente en forma de una mezcla de dos diastereómeros bajo la reacción de acoplamiento y se pueden separar en sus enantiómeros quirales correspondientes mediante una columna quiral, una HPLC quiral o una cromatografía SFC quiral.



La reacción de condensación también puede llevarse a cabo en una nucleósido protegido 6 o 10 o 12. Por ejemplo, el nucleósido 6 puede protegerse en la posición 2' para proporcionar el intermediario 17. La reacción de condensación con el 17 puede llevar al compuesto 18 en la fórmula I con un rendimiento mejorado. En el caso de que R⁵ sea un grupo trietilsililo, el 18 puede desprotegerse selectivamente para sustraer el 2'-trietilsililo mediante el tratamiento con ácido acético o ácido fórmico a temperatura ambiente para generar el compuesto 16, en el que R⁶ es citidina (Esquema 5).

Esquema 5.



Dosificación y administración:

Tal y como se muestra con anterioridad en la tabla, los compuestos con la fórmula I tienen el potencial de ser eficaces como fármacos antivirales para el tratamiento de las infecciones por el VHC en humanos, o se metabolizan en compuestos que muestran tal actividad.

En otra realización de la invención, el compuesto activo o su derivado o sal pueden administrarse en combinación con otro agente antiviral, tal como un agente anti-hepatitis, que incluye los compuestos con la fórmula I. Cuando el compuesto activo o su derivado o sal se administran en combinación con otro agente antiviral, la actividad puede aumentarse por encima del compuesto parental. Esto puede evaluarse fácilmente mediante la preparación del derivado y la evaluación de su actividad anti-VHC de acuerdo con el método descrito aquí.

La administración del compuesto activo puede variar desde la administración continua (goteo intravenoso) hasta la administración oral varias veces al día (por ejemplo, cuatro veces al día) y puede incluir la administración oral, tópica, parenteral, intramuscular, intravenosa, subcutánea, transdérmica (lo cual puede incluir un agente de potenciación de la penetración), bucal y mediante supositorio,

entre otra vías de administración.

Los derivados de nucleósidos sustituidos en 4', así como sus sales farmacéuticamente utilizables, se pueden utilizar como medicamentos en la forma de cualquier formulación farmacéutica. La formulación farmacéutica se puede
5 administrar íntegramente, o bien oralmente, por ejemplo en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina duras o blandas, soluciones, emulsiones, jarabes, o suspensiones; o rectalmente, por ejemplo en forma de supositorios. También pueden administrarse por vía parenteral (intramuscularmente, por vía intravenosa, subcutáneamente o con una inyección
10 intraesternal o mediante técnicas de infusión), por ejemplo en forma de inyección de soluciones, nasalmente, por ejemplo en forma de pulverizadores nasales, o inhalación de pulverizadores, y por vía tópica y así sucesivamente.

Para la manufacturación de preparaciones farmacéuticas, los derivados de nucleósidos sustituidos en 4', al igual que las sales que pueden utilizarse
15 farmacéuticamente, se pueden formular con un excipiente orgánico, inorgánico o inerte terapéuticamente para la producción de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina blandas y duras, soluciones, emulsiones o suspensiones.

Los compuestos con la fórmula I se pueden formular en una mezcla con un
20 transportador farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención se pueden administrar oralmente en forma de sal farmacológicamente aceptable. Ya que los compuestos de la presente invención son mayoritariamente solubles en agua, se pueden administrar de manera intravenosa en una solución salina fisiológica (por ejemplo, tamponada con un pH
25 entre aproximadamente 7,2 a 7,5). Los tampones convencionales como los fosfatos, bicarbonatos o citratos se pueden utilizar para este fin. Por supuesto, un experto en la materia puede modificar las formulaciones respecto a lo establecido en la especificación para proporcionar numerosas formulaciones para una vía de administración en particular, sin que esto vuelva a las composiciones de la presente
30 invención inestables o comprometa su actividad terapéutica. En particular, la modificación de los presentes compuestos para hacerlos más solubles en agua o en otro medio, por ejemplo, puede conseguirse fácilmente mediante modificaciones

menores (formulación de la sal, esterificación, etc.), las cuales conocen los expertos en la materia. Los expertos en la materia también saben cómo modificar el modo de administración y el régimen de dosificación de un compuesto en particular con el fin de controlar la farmacocinética de los presentes compuestos para obtener un
5 máximo efecto beneficioso en los pacientes.

Para las formulaciones parenterales, el transportador normalmente incluirá agua estéril o una solución acuosa de cloruro sódico, aunque se pueden incluir otros ingredientes, tal como aquellos que facilitan la dispersión. Por supuesto, allá donde se utilice agua estéril y se mantenga estéril, las composiciones y los
10 transportadores también deben esterilizarse. También se pueden preparar suspensiones inyectables y, en ese caso, se pueden utilizar transportadores líquidos adecuados, agentes de suspensión y similares.

Los excipientes adecuados para los comprimidos, los comprimidos recubiertos, las grageas y las cápsulas de gelatina dura son, por ejemplo, la
15 lactosa, el almidón de maíz y los derivados del mismo, el talco y el ácido esteárico o sus sales.

Si se desea, los comprimidos o las cápsulas pueden presentar recubrimiento entérico o liberación sostenida mediante técnicas estándar.

Los excipientes adecuados para las cápsulas de gelatina blandas son, por
20 ejemplo, los aceites vegetales, las ceras, las grasas, los polioles líquidos y semisólidos.

Los excipientes adecuados para la inyección de soluciones son, por ejemplo, el agua, el suero salino, los alcoholes, los polioles, la glicerina o los aceites vegetales.

25 Los excipientes adecuados para los supositorios son, por ejemplo, los aceites naturales y endurecidos, las ceras, las grasas, los polioles semilíquidos o líquidos.

Los excipientes adecuados para las soluciones y jarabes para su utilización enteral son, por ejemplo, el agua, los polioles, la sacarosa, el azúcar invertido y la
30 glucosa.

Las preparaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden proporcionarse en forma de formulaciones de liberación sostenida u otras formulaciones adecuadas.

Las preparaciones farmacéuticas también pueden contener conservantes, solubilizantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsificadores, edulcorantes, colorantes, aromatizadores, sales para el ajuste de la presión osmótica, tampones, agentes enmascarantes o antioxidantes.

Las preparaciones farmacéuticas también pueden contener otros agentes terapéuticamente activos conocidos en la materia.

La dosificación puede variar dentro de unos límites amplios y, por supuesto, se ajustará a los requerimientos individuales en cada caso particular. Para la administración oral, debería ser apropiado una dosificación diaria de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día en monoterapia y/o en terapia combinada. Una dosis diaria preferible se encuentra entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, más preferible entre 0,1 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal y lo más preferible entre 1,0 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. Una preparación típica contendrá entre aproximadamente un 5% y aproximadamente un 95% del compuesto activo (peso/peso). La dosificación diaria puede administrarse como una dosificación única o en dosificaciones divididas, habitualmente entre 1 y 5 dosificaciones por día.

En ciertas formas de dosificación farmacológicas, se prefiere la forma de profármaco de los compuestos, especialmente los derivados acilados (acetilados u otros), los ésteres de piridina y varias formas en sal de los presentes compuestos. Los expertos en la materia reconocerán el modo de modificar fácilmente los presentes compuestos hacia formas de profármaco para facilitar la liberación de los compuestos activos en el lugar diana del organismo huésped o paciente. Los expertos en la materia también utilizarán a su favor los parámetros farmacocinéticos favorables de las formas de profármaco, siempre que se pueda, para la liberación de los presentes compuestos en el lugar diana del organismo huésped o paciente para maximizar el efecto buscado del compuesto.

Indicaciones y método de tratamiento

Los compuestos de la invención y sus formas isoméricas y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son útiles en el tratamiento y la prevención de la infección por el VHC.

- 5 La solicitud proporciona un método para tratar una infección por el virus de la hepatitis C (VHC) que incluye la administración a un paciente que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como cualquiera de los que presentan la fórmula I.

- 10 La solicitud proporciona un método para inhibir la replicación del VHC en una célula que incluye la administración de un compuesto como cualquiera de los que presentan la fórmula I.

Terapia combinada

- 15 Los compuestos de la invención, sus formas isoméricas y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son útiles en el tratamiento y la prevención de la infección por el VHC, solos o cuando se utilizan en combinación con otros compuestos que se dirigen a elementos o funciones virales o celulares involucrados en el ciclo vital del VHC. Las clases de compuestos útiles en la invención incluyen, sin limitación, todos los tipos de antivirales contra el VHC.

- 20 Para las terapia combinadas, las clases mecanísticas de agentes que pueden ser útiles cuando se combinan con los compuestos de la invención incluyen, por ejemplo, los inhibidores nucleósidos y no-nucleósidos de la polimerasa del VHC, los inhibidores de la proteasa, los inhibidores de la helicasa, los inhibidores de NS4B y los agentes medicinales que inhiben funcionalmente el
- 25 lugar de entrada ribosómica interna (IRES) y otros médicamente que inhiben la adherencia celular del VHC o la entrada del virus, la traducción del RNA del VHC, la transcripción del RNA del VHC, la replicación o la maduración del VHC, el ensamblaje o la liberación del virus. Los compuestos específicos en estas clases y que son útiles en la invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la
- 30 proteasa del VHC macrocíclicos, heterocíclicos y lineales como el telaprevir (VX-950), el boceprevir (SCH-503034), el narlaprevir (SCH-9005 18), ITMN-191 (R-7227), TMC-435350 (también conocido como TMC-435), MK- 7009, BI-201335, BI-

2061 (ciluprevir), BMS-650032, ACH-1625, ACH-1095 (inhibidor del cofactor de la proteasa NS4A del VHC), VX-500, VX-8 13, PHX-1766, PHX2054, IDX- 136, IDX-3 16, ABT-450 EP-0 13420 (y congéneres) y VBY-376; los inhibidores nucleosídicos de la polimerasa del VHC (replicasa) útiles en la invención incluyen, pero no se limitan a, R7128, PSI-785 1, IDX-184, IDX-102, R1479, UNX-08 189, PSI-6130, PSI-938 y PSI-879 y otros análogos de nucleósido y nucleótido, e inhibidores del VHC que incluyen (pero no se limitan a) los derivados de los nucleós(t)idos modificados en 2'-C-metilo, los nucleós(t)idos modificados en 4'-aza, los nucleós(t)idos modificados en 7'-deaza. Los inhibidores de la polimerasa (replicasa) del VHC no nucleósidos útiles en la invención, incluyen, pero no se limitan a, VHC-796, VHC-371, VCH-759, VCH-916, VCH- 222, ANA-598, MK-3281, ABT-333, ABT-072, PF-00868554, BI-207127, GS-9190, A- 837093, JKT-109, GL-59728 y GL-60667.

Además, los compuestos de la invención se pueden utilizar en combinación con antagonistas de la ciclofilina e inmunofilina (por ejemplo, sin limitación, los compuestos DEBIO, NM-811 así como la ciclosporina y sus derivados), los inhibidores de la quinasa, los inhibidores de las proteínas del choque térmico (por ejemplo, HSP90 y HSP70), otros agentes inmunomoduladores que pueden incluir, sin limitación, interferones (-alfa, -beta, -omega, -gamma, -lambda o sintéticos) tales como intrón A, roferón-A, canferón-A300, advaferón, infergén, humoferón, sumiferón MP, alfaferona, IFN- β , ferón y similares; compuestos de interferón derivatizados con polietilenglicol (pegilados), tales como el interferón- α -2a PEG (Pegasys), el interferón- α -2b PEG (PEGIntron), IFN- α -con1 pegilado y similares; formulaciones y derivaciones de acción prolongada de los compuestos de interferón tales como el interferón unido a albúmina, albuferón, locterón, y similares; interferones con varios tipos de sistemas de liberación controlada (por ejemplo, ITCA-638, omega-interferón liberado mediante el sistema de liberación subcutáneo DUROS); compuestos que estimulan la síntesis de interferón en las células, tales como resiquimod y similares; interleucinas; compuestos que potencian el desarrollo de la respuesta celular de linfocitos T cooperadores de tipo , tales como SCV-07 y similares; agonistas del receptor de tipo TOLL, tales como CpG-10101 (actilon), isotorabina, ANA773 y similares;

timosina α -1; ANA-245 y ANA-246; diclorhidrato de histamina; propagermanio; tetraclorodecaóxido; ampligén; IMP-321; KRN-7000; anticuerpos, tales como civacir, XTL-6865 y similares, y vacunas profilácticas y terapéuticas tales como InnoVac C, VHC E1E2/MF59 y similares. Además, cualquiera de los métodos
5 descritos con anterioridad que incluyen la administración de un inhibidor de NS5A, un agonista del receptor del interferón de tipo I (por ejemplo, un IFN- α) y un agonista del receptor del interferón de tipo II (por ejemplo, un IFN- γ) puede aumentarse mediante la administración de una cantidad efectiva de un antagonista del TNF- α . A modo de ejemplo, los antagonistas del TNF- α no limitantes adecuados
10 para la utilización en tales terapias combinadas incluyen ENBREL, REMICADE y HUMIRA.

Además, los compuestos de la invención se pueden utilizar en combinación con antiprotosozos y otros antivirales que se cree que son efectivos en el tratamiento de la infección por el VHC tales como, sin limitación, el profármaco nitazoxanida. La
15 nitazoxanida se puede utilizar como agente en combinación con los compuestos descritos en esta invención así como en combinación con otros agentes útiles en el tratamiento de la infección por el VHC, tales como el peginterferón α -2a y la ribavirina.

Los compuestos de la invención también pueden utilizarse con formas
20 alternativas de interferones e interferones pegilados, ribavirina o sus análogos (por ejemplo, tarabavarina, levovirón), microRNA, compuestos de RNA pequeños de interferencia (por ejemplo, SIRPLEX-140-N y similares), análogos de nucleótido o nucleósido, inmunoglobulinas, hepatoprotectores, agentes antiinflamatorios y otros inhibidores de NS5A. Los inhibidores de otras dianas en el ciclo vital del VHC
25 incluyen los inhibidores de la helicasa NS3; los inhibidores del cofactor de NS4A; los inhibidores de oligonucleótidos antisentido, tales como ISIS-14803, AVI-4065 y similares; horquilla de RNA corta codificada por un vector (shRNA); ribozimas específicas del VHC tales como heptazime, RPI, 13919 y similares; inhibidores de la entrada tales como HepeX-C, HuMax-HepC y similares; inhibidores de la
30 alfa-glucosidasa tales como celgosivir, UT-231B y similares; inhibidores de KPE-02003002, BIVN 401 y IMPDH. Otros compuestos inhibidores del VHC ilustrativos incluyen aquellos descritos en las siguientes publicaciones: N° de patentes de

EE.UU. 5.807.876; 6.498.178; 6.344.465; y 6.054.472; N° de solicitud de publicación de patente PCT WO97/40028; WO98/40381; WO00/56331, WO02/04425; WO03/007945; WO03/010141; WO03/000254; WO01/32153; WO00/06529; WO00/18231; WO00/10573; WO00/13708; WO01/85172; 5 WO03/037893; WO03/037894; WO03/037895; WO02/100851; WO02/100846; WO99/01582; WO00/09543; WO02/18369; WO98/17679, WO00/056331; WO98/22496; WO99/07734; WO05/073216, WO05/073195 y WO08/021927.

Además, las combinaciones de, por ejemplo, ribavirina e interferón pueden administrarse en forma de terapia combinada múltiple con, al menos, uno de los 10 compuestos de la invención. La presente invención no se limita por los compuestos y clases mencionados con anterioridad y contempla los compuestos conocidos y nuevos, así como combinaciones de agentes biológicamente activos. Se pretende que las terapias combinadas de la presente invención incluyan cualquier combinación químicamente compatible de un compuesto de este grupo inventivo 15 con otros compuestos del grupo inventivo u otros compuestos fuera del grupo inventivo, siempre que la combinación no elimine la actividad antivírica del compuesto de este grupo inventivo o la actividad antivírica de la composición farmacológica, en sí misma.

La terapia combinada puede ser secuencial, lo cual consiste en tratar 20 primero con un agente y luego con un segundo agente (por ejemplo, en la que cada tratamiento incluye un compuesto diferente de la invención o en la que un tratamiento incluye un compuesto de la invención y el otro incluye uno o más agentes biológicamente activos) o puede ser un tratamiento con ambos agentes a la misma vez (concurrentemente). La terapia secuencial puede incluir un tiempo 25 razonable después de la finalización de la primera terapia y previamente al inicio de la segunda terapia. El tratamiento con ambos agentes al mismo tiempo puede realizarse en la misma dosis diaria o en dosis separadas. La terapia combinada no se limita a dos agentes y puede incluir tres o más agentes. Las dosificaciones tanto para la terapia combinada concurrente como para la secuencial dependerán de las 30 tasa de absorción, distribución, metabolismo y excreción de los componentes de la terapia combinada, así como otros factores que los expertos en la materia conocen. Los valores de dosificación también variarán junto a la gravedad de la condición

que deba aliviarse. Debe entenderse que, para cualquier sujeto particular, se pueden ajustar los regímenes y esquemas de dosificación específicos a lo largo del tiempo, de acuerdo con la necesidad del individuo y el juicio de los expertos en la materia de la administración o la supervisión de la administración de la terapia combinada.

La solicitud proporciona un método para tratar una infección por el virus de la hepatitis C (VHC) que comprende la administración a un paciente que lo necesita de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como cualquiera de los que presentan la fórmula I.

La solicitud proporciona el método descrito con anterioridad que, además, incluye la administración de un modulador del sistema inmunitario o un agente antiviral que inhiba la replicación del VHC, o una combinación de los mismos.

La solicitud proporciona el método descrito con anterioridad, en el que el modulador del sistema inmunitario es un interferón o un interferón derivado químicamente.

La solicitud proporciona el método mencionado con anterioridad, en el que el agente antiviral se selecciona a partir del grupo que incluye el inhibidor de la proteasa del VHC, el inhibidor de la polimerasa del VHC, el inhibidor de la helicasa del VHC, el inhibidor de la primasa del VHC, el inhibidor de la fusión del VHC, y una combinación de los mismos.

EJEMPLOS

Condiciones generales

Los compuestos de la invención pueden ser creados mediante una variedad de métodos representados en las reacciones sintéticas ilustrativas descritas más adelante, en la sección de los Ejemplos.

Los materiales iniciales y los reactivos utilizados para preparar estos compuestos generalmente están disponibles a partir de proveedores comerciales, como Aldrich Chemical Co., o se preparan mediante los métodos conocidos por los expertos en la materia, siguiendo los procedimientos establecidos en referencias tales como Fieser y Fieser, Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: Nueva York, 1991, Volúmenes 1-15; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, Volúmenes 1-5 y Suplementos; y Organic Reactions,

Wiley & Sons: Nueva York, 1991, Volúmenes 1-40. Se debería apreciar que la reacción sintética esquemática tal y como se muestra en la sección de los ejemplos es meramente ilustrativa de algunos métodos mediante los cuales se pueden sintetizar los compuestos de la invención, y los expertos en la materia sugerirán y pueden hacer varias modificaciones en estos esquemas de reacción sintética, haciendo referencia a la descripción que contiene esta solicitud.

Los materiales iniciales y los intermediarios de los esquemas de la reacción sintética se pueden aislar y se pueden purificar, si se desea, utilizando técnicas convencionales, incluyendo pero sin limitarse a, la filtración, destilación, la cristalización, la cromatografía, y similares. Dichos materiales pueden caracterizarse para utilizarse de manera convencional, incluyendo las constantes físicas y los datos espectrales.

A menos que se especifique lo contrario, las reacciones que aquí se describen se conducen habitualmente bajo una atmósfera inerte, a presión atmosférica, un rango de temperatura de reacción de entre -78 °C y aproximadamente 150 °C, normalmente desde alrededor de los 0 °C y alrededor de los 125 °C, y más comúnmente y convenientemente en una sala a temperatura ambiente, por ejemplo, alrededor de los 20 °C.

Varios sustituyentes de los compuestos de la invención pueden estar presentes en los compuestos iniciales, añadidos en cualquiera de los intermediarios o añadidos después de la formación de los productos finales mediante métodos conocidos de sustitución o reacciones de conversión. Si los sustituyentes por sí mismos son reactivos, entonces los sustituyentes se pueden proteger por sí mismos de acuerdo con las técnicas conocidas en la materia. En la materia se conocen varios grupos protectores y estos pueden aplicarse. Algunos ejemplos de muchos de los posibles grupos pueden encontrarse en "Protective Groups in Organic Synthesis" de Green et al., John Wiley and Sons, 1999. Por ejemplo, los grupos nitro se pueden añadir mediante la nitración y el grupo nitro se puede convertir en otros grupos, tal como en amino mediante la reducción, y en halógeno mediante la diazotización del grupo amino y la sustitución del grupo diazo por un halógeno. Los grupos acilo se pueden añadir mediante la acilación de Friedel-Crafts. Los grupos acilo se pueden transformar en el grupo alquilo correspondiente

mediante varios métodos, incluyendo la reducción de Wolff-Kishner y la reducción de Clemmenson. Los grupos amino pueden alquilarse para formar los grupos mono- y dialquilamino; y los grupos mercapto e hidroxilo se pueden alquilar para formar los éteres correspondientes. Los alcoholes primarios se pueden oxidar mediante agentes oxidantes conocidos en la materia para formar ácidos carboxílicos o aldehídos, y los alcoholes secundarios se pueden utilizar para formar cetonas. Por tanto, se pueden utilizar las reacciones de sustitución o alteración para proporcionar una variedad de sustituyentes a lo largo de la molécula del material inicial, intermediarios, o del producto final, incluyendo los productos aislados.

10 Abreviaciones

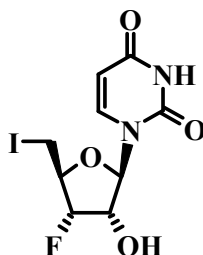
Las abreviaciones utilizadas en esta solicitud incluyen: acetilo (Ac), ácido acético (HOAc), azo-*bis*-isobutirilnitrilo (AIBN), 1-N-hidroxibenzotriazol (HOBt), atmósferas (Atm), cromatografía líquida de alta presión (HPLC), 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN o BBN), metilo (Me), *tert*-butoxicarbonilo (Boc), acetronitrilo (MeCN), pirocarbonato de di-*tert*-butilo o anhídrido de boc (BOC₂O), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropilo)-3-etilcarbodiimida (EDCI), benzoilo (Bz), bencilo (Bn), ácido *m*-cloroperbenzoico (MCPBA), ácido *m*-clorobenzoico (MCBA), butilo (Bu), metanol (MeOH), benciloxicarbonilo (cbz o Z), punto de fusión (pf), carbonildiidimidazol (CDI), MeSO₂- (mesilo o Ms), 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO), espectro de masas (ms), trifluoruro de dietilaminosulfuro (DAST), metil-*t*-butiléter (MTBE), dibencilidenacetona (Dbp), N-carboxianhídrido (NCA), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), N-bromosuccinimida (NBS), 1,8-diazabicyclo[5.4.0] undec-7-eno (DBU), N-metilmorfolina (NMM), N-metilpirrolidona (NMP), 1,2-dicloroetano (DCE), clorocromato piridinio (PCC), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), dicromato de piridinio (PDC), diclorometano (DCM), propilo (Pr), azodicarboxilato de dietilo (DEAD), fenilo (Ph), di-*iso*-propilazodicarboxilato DIAD, libras por pulgada cuadrada (psi), di-*iso*-propiletilamina (DIPEA), piridina (pir), hidruro de di-*iso*-butilaluminio, DIBAL-H, temperatura ambiente (ta o TA), N,N-dimetilacetamida (DMA), *tert*-butildimetilsililo o *t*-BuMe₂Si (TBDMS), 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), trietilamina (Et₃N o TEA), N,N-dimetilformamida (DMF), triflato o CF₃SO₂- (Tf), dimetilsulfóxido (DMSO), ácido trifluoroacético (TFA), 1,1'-*bis*-(difenilofosfino)etano (dppe), 2,2,6,6-

tetrametilheptan-2,6-diona (TMHD), 1,1'-bis-(difenilofosfino)ferroceno (dppf), cromatografía de capa fina (TLC), acetato de etilo (EtOAc), tetrahidrofurano (THF), dietiléter (Et₂O), trimetilsililo o Me₃Si (TMS), etilo (Et), ácido *p*-toluenosulfónico (TsOH o pTsOH), hexametildisilazano de litio (LiHMDS), 4-Me-C₆H₄SO₂- o tosilo (Ts), *iso*-propilo (*i*-Pr), N-uretan-N-carboxianhidruro (UNCA), etanol (EtOH). La nomenclatura convencional, que incluye los prefijos *normal* (*n*), *iso* (*i*-), *secundario* (*sec*-), *terciario* (*terc*-) y *neo* presentan su significado habitual cuando se utilizan con una porción alquilo. (J. Rigaudy y D. P. Klesney, *Nomenclature in Organic Chemistry*, IUPAC 1979 Pergamon Press, Oxford.).

10 Ejemplos preparativos

Preparación 1

Preparación del intermediario quiral 1-((2R,3S,4S,5S)-4-fluoro-3-hidroxi-5-yodometil-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona



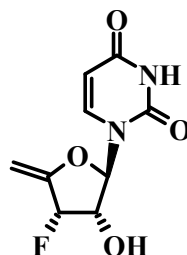
15 P.M. 356.09 C₉H₁₀FIN₂O₄

Se disolvieron 3'-deoxi-3'-□-fluoro-uridina quiral (Green ChemPharma) (52 g, 21 mmol) y PPh₃ (7,7 g, 29 mmol) en CH₃CN/piridina (95:5, 250 ml). Se añadió yoduro (7,0 g, 27,5 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente bajo N₂ durante 12 h. Se añadió agua (80 ml) y el disolvente se evaporó hasta secarse bajo presión reducida. Se llevó a cabo una destilación aceotrópica con CH₃CN y luego con CHCl₃ para sustraer el agua restante. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (2-4% EtOH en CH₂Cl₂) para proporcionar el producto del título (5 g).

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,45 (s, 1H), 7,72-7,69 (d, J=8,1Hz, 1H), 5,87-5,84 (d, J=8,1Hz, 1H), 5,74-5,71 (m, 2H), 5,00-4,80 (dd, J = 54,3Hz, 4,2Hz, 1H), 4,53-4,41 (m, 1H), 4,32-4,19 (m, 1H), 3,56-3,40 (m, 2H).

Preparación 2

Preparación del intermediario quiral 1-((2R,3S,4S)-4-fluoro-3-hidroxi-5-metilen-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona



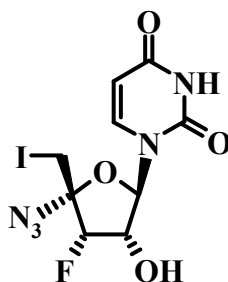
P.M. 228,18 C₉H₉FN₂O₄

Se añadió NaOMe (16,2 g, 30 mmol) a la 1-((2R,3S,4S,5S)-4-fluoro-3-hidroxi-5-yodometil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona quiral (10,7 g) en metanol (650 ml). La mezcla de reacción se calentó con reflujo durante 2 h. La mezcla se refrigeró a temperatura ambiente, se añadió resina (H⁺, lavada con agua) por partes a 0 °C hasta que el pH alcanza el nivel de 6~7. La resina se sustrajo mediante filtración y se lavó con metanol, y el filtrado se evaporó hasta secarse bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo como eluyente) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (2,3 g)

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,53 (s, 1H), 7,79-7,76 (d, J=8,1Hz, 1H), 6,14-6,12 (d, J=6,3Hz, 1H), 6,08-6,06 (d, J=7,5Hz, 1H), 5,74-5,71 (d, J=8,1Hz, 1H), 5,40-5,19 (dd, J = 55,8Hz, 4,5Hz, 1H), 4,71-4,54 (m, 3H). MS [M+H]⁺ = 229,2

15 Preparación 3

Preparación del intermediario quiral 1-((2R,3S,4S,5S)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-yodometil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona



P.M. 397,11 C₉H₉FIN₅O₄

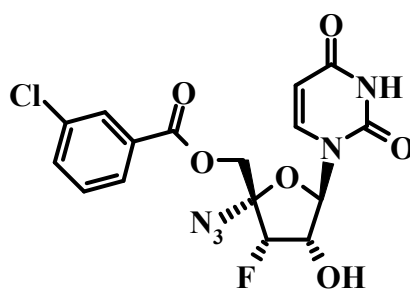
Se suspendieron [Bn(Et)₃N]Cl (17 g, 75 mmol) y NaN₃ (4,5 g, 69 mmol) en CH₃CN anhidro (200 ml) y se agitaron a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión fina resultante se filtró en una solución de THF seca (30 ml) de 1-((2R,3S,4S)-4-fluoro-3-hidroxi-5-metilen-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona quiral (2 g, 8,8 mmol). Se añadió 4-metilmorfolina (0,3 ml, 2,6 mmol), la solución resultante se refrigeró en un baño de agua helada, y se añadió gota a gota

una solución de yoduro (8 g, 31 mmol) en THF anhidro (30 ml) durante un periodo de 60 min. La mezcla de la reacción se agitó a 0-9 °C durante 16 h. Se añadió *N*-acetil-L-cisteína, y la solución se agitó hasta que disminuyó el burbujeo. El disolvente se concentró bajo presión reducida a la mitad del volumen, entonces se
 5 añadieron una solución de 0,1M de Na₂S₂O₃ y una solución saturada acuosa de NaHCO₃. La mezcla se extrajo con EtOH al 10% en CH₂Cl₂ y se lavó con solución salina. Las capas orgánicas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta secarse bajo presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice [acetato de etilo:CH₂Cl₂:EtOH; 200:100:3] para producir
 10 el producto deseado crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOH al 0~3% en CH₂Cl₂) dos veces para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (0,73 g, 21%)

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9,09 (s, 1H), 7,38-7,35 (d, J=8,1Hz, 1H), 5,83-5,80 (d, J=8,1Hz, 1H), 5,76-5,75 (d, J=4,2Hz, 1H), 5,45-5,26 (dd, J = 52,2Hz, 5,7Hz, 15 1H), 4,84-4,77 (m, 1H), 3,60-3,48 (m, 1H).

Preparación 4

Preparación del intermediario quiral 3-cloro-benzoato de (2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahydro-furan-2-ilmetilo



20

P.M. 425,76 C₁₆H₁₃ClFN₅O₆

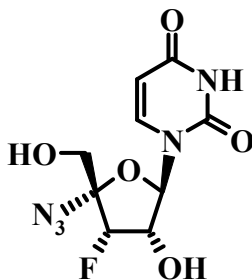
Se combinó una solución de 1-((2R,3S,4S,5S)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-yodometil-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona quiral (0,76 g, 1,9 mmol) en CH₂Cl₂ (120 ml) con una mezcla de (Bu)₄NHSO₄ (796 mg, 2,35 mmol) y ácido *m*-clorobenzoico (500 mg, 3,2mmol) en K₂HPO₄ (1,75 M, 40 ml). El sistema de dos
 25 fases se agitó enérgicamente a temperatura ambiente y se añadió una parte de ácido *m*-cloroperbenzoico (3,6 g) [al 55% en equilibrio con ácido 3-clorobenzoico (10%) y agua (35%)]. Después de 1 h., se añadió 3x1,2 g de esta mezcla de

reactivo a intervalos de 1 hora. Tras la última adición, la mezcla se agitó
 enérgicamente a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadieron una solución
 saturada acuosa de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,1 M) y NaHCO_3 (pH 7~8). La mezcla se agitó
 enérgicamente a temperatura ambiente durante 15 min. La capa orgánica se
 5 separó, y la capa de agua se extrajo con CH_2Cl_2 . El extracto orgánico combinado
 se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado. La capa orgánica se separó y se concentró
 bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de
 gel de sílice (EtOH al 0~3% en CH_2Cl_2) para proporcionar el compuesto del título en
 forma de un sólido blanco (0,35 g, 43%)

10 ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 9,00 (s, 1H), 8,09-7,91 (m, 2H), 7,59-7,56 (m,
 1H), 7,44-7,39 (m, 1H), 7,32-7,29 (d, $J=8,1\text{Hz}$, 1H), 5,79-5,73 (m, 2H), 5,61-5,42
 (dd, $J = 51,9\text{Hz}$, 5,7Hz, 1H), 4,81-4,78 (m, 1H).

Preparación 5

Preparación del intermediario quiral 1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-
 15 hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona



P.M. 287,21 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FN}_5\text{O}_5$

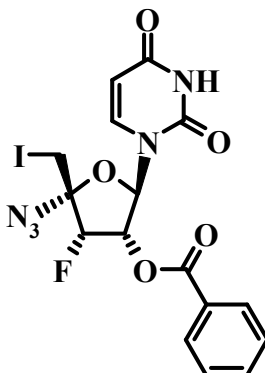
Se añadió una solución de NH_3 en MeOH (7N, 10 ml) al 3-cloro-benzoato
 de (2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-
 20 hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetilo quiral (100 mg, 0,24 mmol). La mezcla de la
 reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se evaporó y el
 residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el compuesto del título
 en forma de un sólido blanco (34,5 mg, 51%)

MS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 288,0$; ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,52 (s, 1H), 7,84-
 25 7,82 (d, $J=8,1\text{Hz}$, 1H), 6,18-6,15 (m, 2H), 5,88-5,77 (m, 2H), 5,23-5,03 (dd, $J =$
 53,7Hz, 4,5Hz, 1H), 4,60-4,40 (m, 1H), 3,54-3,53 (d, $J = 5,1\text{ Hz}$, 2H).

Preparación 6

Preparación del intermediario quiral benzoato de (2R,3S,4S,5S)-5-azido-2-

(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-4-fluoro-5-yodometil-tetrahidro-furan-3-il-
esterin-2,4-diona



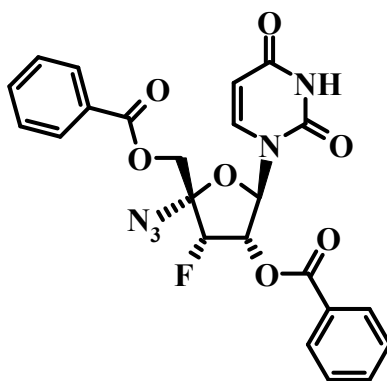
P.M. 501,22 C₁₆H₁₃FIN₅O₅

5 Se añadió gota a gota BzCl (0,67 ml, 5,67 mmol) a una solución de 1-
((2R,3S,4S,5S)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-yodometil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-
pirimidin-2,4-diona quiral preparada en la preparación 3 (1,5 g, 3,78 mmol) y DMAP
(0,87 g, 7,56 mmol) en THF seco (20 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0 °C.
La mezcla de la reacción se agitó a 0 °C durante 5 min. Entonces, la mezcla se
10 diluyó con EA, se lavó con solución salina y HCl acuoso (0,1 M). La capa orgánica
se separó, se secó con Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante
cromatografía en columna de gel de sílice (PE : EA = 5:1 a 2:1) para proporcionar el
compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,78 g, 94 %).

MS [M+H]⁺ = 502

15 Preparación 7

Preparación del intermediario quiral benzoato de (2R,3S,4S,5S)-5-azido-2-
(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-4-fluoro-5-benzoilmetil-tetrahidro-furan-3-il-
esterin-2,4-diona



20 P.M. 495,43 C₂₃H₁₈FN₅O₇

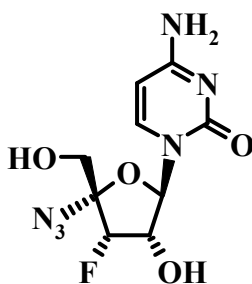
Se añadieron benzoato sódico (2,56 g, 17,76 mmol) y 18-corona-6 (0,187 g,

0,71 mmol) a una mezcla de benzoato de (2R,3S,4S,5S)-5-azido-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-4-fluoro-5-yodometil-tetrahidro-furan-3-il-esterin-2,4-diona quiral (1,78 g, 3,55 mmol) en DMSO. La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno a 100 °C durante 18 h. La mezcla se refrigeró a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo, entonces se lavó con solución salina y agua. La capa orgánica se separó y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE : EA = 5 : 1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,30 g, 74 %).

MS $[M+H]^+ = 496$

10 Preparación 8

Preparación del intermediario quiral 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona



P.M. 286,22 $C_9H_{11}FN_6O_4$

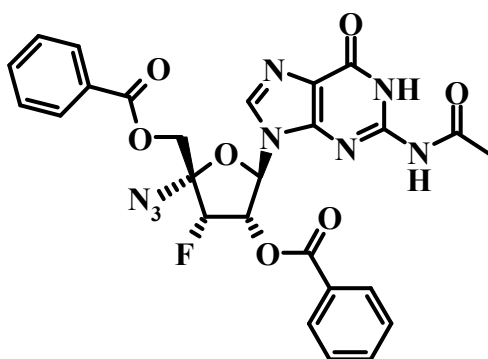
15 Se añadió 4-clorofenilfosforodichloridato (0,297 g, 7,9 mmol) a una solución de benzoato de (2R,3S,4S,5S)-5-azido-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-4-fluoro-5-benzoilmetil-tetrahidro-furan-3-il-esterin-2,4-diona quiral (0,2 g, 2,6 mmol) y 1H-tetrazol (0,283 g, 26 mmol) en piridina seca (5 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0 °C. La mezcla de la reacción se agitó a 0-5 °C durante 5 min.,
20 entonces se dejó que se calentase a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. La mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se repartió entre DCM y $NaHCO_3$ saturado. La capa orgánica se separó, se lavó con solución salina, se secó con Na_2SO_4 y se concentró para proporcionar el intermediario 9 de 1H-tetrazol crudo en el esquema 2, y se utilizó directamente sin purificación adicional para el
25 paso siguiente. El producto de 1H-tetrazol 9 (0,2 g) se disolvió en dioxano (70 ml) a temperatura ambiente y se añadió $NH_3 \cdot H_2O$ (10 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. El análisis TLC indicó que el material inicial se consumió completamente. El disolvente se sustrajo bajo presión reducida

y el residuo se disolvió en una solución metanólica (7 N, 10 ml) de NH_3 . La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante pre-HPLC para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (50 mg, 50 %).

5 MS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 287,2$; ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,752-7,727 (d, 1 H, $J = 7,5$), 7,352 (br, 2 H), 6,220-6,195 (d, 1 H, $J = 7,5$), 6,018-5,997 (d, 1 H, $J = 6,3$), 5,816-5,791 (d, 1 H, $J = 7,5$), 5,758-5,719 (t, 1 H), 5,195-5,001 (dd, 1 H, $J = 4,5$, $J = 53,4$), 4,548-4,436 (m, 1 H), 3,539-3,462 (m, 2 H)

Preparación 9

10 Preparación del intermediario quiral benzoato (2R,3S,4S,5R)-2-(2-acetilamino-6-oxo-1,6-dihidro-purin-9-ilo)-5-azido-4-fluoro-5-benzoilmetil-tetrahidro-furan-3-ilo



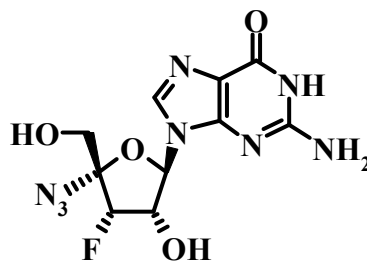
P.M. 576,51 $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{FN}_8\text{O}_7$

15 Se añadió BSA (325 mg, 0,8 mmol) a una mezcla de N-(6-oxo-6,9-dihidro-1H-purin-2-ilo)-acetamida (154 mg, 0,8 mmol) en MeCN (20 ml). La mezcla se calentó a 60 °C hasta que se volvió una solución clara. Se añadió una solución de benzoato de (2R,3S,4S,5S)-5-azido-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-4-fluoro-5-benzoilmetil-tetrahidro-furan-3-il-esterin-2,4-diona quiral en la preparación 7
20 (200 mg, 0,4 mmol) en MeCN, seguido de la adición de TMSOTf (357 mg, 1,6 mmol). La mezcla de reacción resultante se calentó bajo irradiación de microondas a 100 °C durante 1 h. La mezcla se refrigeró a temperatura ambiente, entonces templó con una solución de NaHCO_3 saturado (10 ml). La mezcla se extrajo con EA (10 ml×3). La capa orgánica se separó, se lavó con solución salina (10 ml), se secó
25 con Na_2SO_4 , y se concentró. El residuo se purificó mediante una cromatografía en columna (DCM:MeOH = 50:1) para proporcionar el compuesto del título crudo (120 mg, 51%)

LC-MS (M+H)⁺ = 577,2; LC-MS (M+Na)⁺ = 599,1

Preparación 10

Preparación del intermediario quiral 2-amino-9-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1,9-dihidro-purin-6-ona



5

P.M. 326,25 C₁₀H₁₁FN₈O₄

Se añadió una solución metanólica (2 ml, 7 N) de amoníaco a una solución de benzoato de (2R,3S,4S,5R)-2-(2-acetilamino-6-oxo-1,6-dihidro-purin-9-ilo)-5-azido-4-fluoro-5-benzoilmetil-tetrahidro-furan-3-ilo quiral crudo (120 mg, 0,26 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla de la reacción se agitó a 25°C durante 18 h. El análisis TLC indicó que la reacción se completó. La mezcla se concentró al vacío, se purificó mediante Pre-HPLC para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (15 mg, 22%).

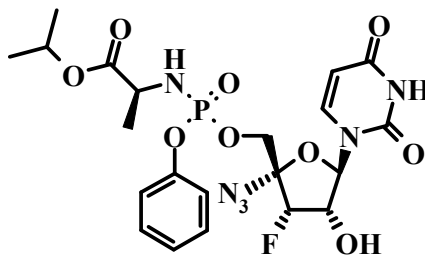
10

LC-MS (M+H)⁺ = 327,0

15

Ejemplo 1

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino]-propionato de isopropilo



20

I-1

P.M. 556,45 C₂₁H₂₆FN₆O₉P

Paso A.

Se suspendieron clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-isopropilo (Oakwood, 300 mg, 1,95 mmol) y fosforodichloridato de fenilo (Aldrich, 397 mg, 280 µl, 1,79 mmol) en DCM anhidro (10 ml). La reacción se refrigeró a -78 °C. Se

25

añadió gota a gota trietilamina (362 mg, 498 μ l, 3,58 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a -78 °C durante 1 h., entonces se dejó que se calentase a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. El disolvente se sustrajo, el residuo se lavó con éter seco. El filtrado se concentró para proporcionar 2-(cloro(fenoxi) fosforilamino) propanoato de (2S)-isopropilo crudo en forma de un aceite amarillo claro (0,5 g, 91%) y se utilizó sin purificación adicional.

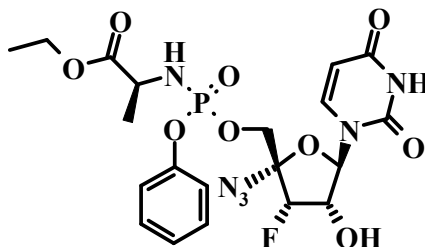
Paso B.

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (470 μ l, 470 μ mol) a una solución de 1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona quiral preparada en la preparación 5 (54 mg, 188 μ mol) en THF anhidro (3,75 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(fenoxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-isopropilo crudo (940 μ l, 470 μ mol) se añadió gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Entonces se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 g, MeOH al 0-15% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanquecino (22 mg, 21%)

LC-MS (M+H)⁺ = 557,0

Ejemplo 2

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino]-propionato de etilo



I-2

P.M. 542,42 C₂₀H₂₄FN₆O₉P

Paso A.

Se suspendieron clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-etilo (Aldrich, 300 mg, 1,95 mmol) y fosforodichloridato de fenilo (Aldrich, 434 mg, 306 μ l, 1,95 mmol)

en DCM anhidro (20 ml). La reacción se refrigeró a -78°C . Se añadió gota a gota trietilamina (362 mg, 498 μl , 3,58 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a -78°C durante 1 h., entonces se dejó que se calentase a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. El disolvente se sustrajo, el residuo se lavó con éter seco. El filtrado se concentró para proporcionar 2-(cloro(fenoxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-etilo crudo en forma de un aceite amarillo claro (0,5 g, 88%) y se utilizó sin purificación adicional.

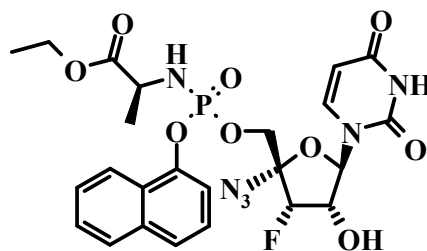
Paso B.

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *tert*-butilmagnesio (435 μl , 435 μmol) a una solución de 1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona quiral preparada en la preparación 5 (50 mg, 174 μmol) en THF anhidro (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(fenoxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-etilo crudo (870 μl , 435 μmol) se añadió gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Entonces se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 g, MeOH al 0-15% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanquecino (7 mg, 7,4%).

LC-MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 543,0$

Ejemplo 3

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-ilo)-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de etilo



I-3

P.M. 592,48 $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{FN}_6\text{O}_9\text{P}$

Paso A.

Se suspendieron naftalen-1-ol (Aldrich, 0,72 g, 4,99 mmol) y oxiclورو de

fósforo (V) (Aldrich, 767 mg, 466 μ l, 5,00 mmol) en éter anhidro (20 ml), y la temperatura se refrigeró hasta los -78 °C. Se añadió gota a gota trietilamina (505 mg, 695 μ l, 4,99 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó a -78 °C durante 0,5 h. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la
 5 noche. La mezcla se filtró, y el filtrado se concentró para proporcionar fosforodichloridato de naftalen-1-ilo crudo en forma de un aceite amarillo claro (1,3 g, 100%) y se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso B.

Se suspendió clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-etilo (Aldrich, 300
 10 mg, 1,95 mmol) y fosforodichloridato de naftalen-1-ilo (510 mg, 1,95 mmol) en DCM anhidro (30 ml). La reacción se refrigeró hasta los -78 °C. Se añadió gota a gota trietilamina (395 mg, 544 μ l, 3,91 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a -78 °C durante 1 h, entonces se dejó que se calentara a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. El disolvente se sustrajo, y el residuo se lavó con éter seco. El filtrado
 15 se concentró para proporcionar 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-etilo en forma de un aceite amarillo claro (0,6 g, 90%) y se utilizó sin purificación adicional.

Paso C.

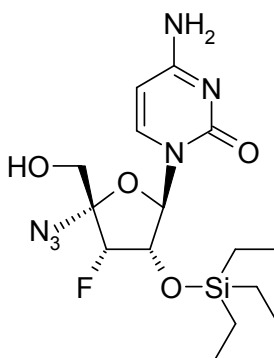
Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-
 20 butilmagnesio (783 μ l, 783 μ mol) a una solución de 1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2,4-diona quiral preparada en la preparación 5 (90 mg, 313 μ mol) en THF anhidro (6,25 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-etilo crudo
 25 (1,57 ml, 783 μ mol) se añadió gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Entonces se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 g, MeOH al 0-15% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido marrón claro (70 mg, 38%).

30 LC-MS (M+H)⁺ = 593,0

Preparación 11

Preparación del intermediario quiral 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-

fluoro-5-hidroximetil-3-trietilsilaniloxi-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona

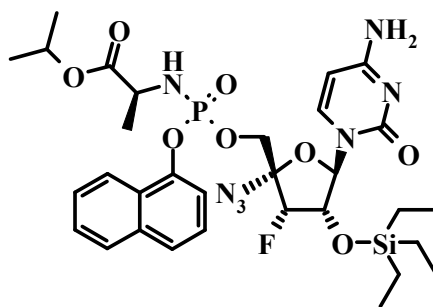


P.M. 400,49 C₁₅H₂₅FN₆O₄Si

Se añadió gota a gota clorotrietilsilano (Fluka, 440 mg, 2,92 mmol) a una
 5 solución de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-
 tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona quiral preparada en la preparación 8 (300
 mg, 1,05 mmol) en piridina (24,5 ml) a -5 °C, durante un periodo de 15 min. La
 mezcla de la reacción se agitó a 0 °C durante 2 h, entonces se templó mediante la
 adición de metanol (5 ml). La mezcla se purificó directamente mediante
 10 cromatografía rápida (MeOH al 5-15% en DCM) para proporcionar el compuesto del
 título en forma de un sólido blanco (0,29 g, 69%)

Preparación 12

Preparación de intermediario (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-
 pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-trietilsilaniloxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-
 15 (naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo



P.M. 719,79 C₃₁H₄₃FN₇O₈PSi

Paso A.

Se suspendieron clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-isopropilo
 20 (Oakwood, 0,706 g, 4,21 mmol) y fosforodichloridato de naftalen-1-ilo preparado en
 el ejemplo 3, paso A (1,1 g, 4,21 mmol) en DCM anhidro (25 ml). La reacción se
 refrigeró hasta los -78 °C. Se añadió gota a gota trietilamina (852 mg, 1,17 ml, 8,42
 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a -78 °C durante 1 h, entonces se calentó

a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. El disolvente se sustrajo, y el residuo se lavó con etiléter seco y se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino) propanoato de (2S)-isopropilo crudo en forma de un aceite amarillo claro (1,3 g, 87%) y se utilizó sin purificación
5 adicional.

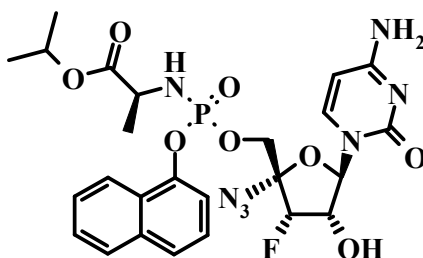
Paso B.

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (1,81 ml, 1,81 mmol) a una solución de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-
10 azido-4-fluoro-5-hidroximetil-3-trietilsilaniloxi-tetrahidro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona quiral preparada en la preparación 11 (0,29 g, 724 μ mol) en THF anhidro (42 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi) fosforilamino)propanoato de (2S)-isopropilo crudo (1,57 ml, 783 μ mol) se añadió gota a gota. La mezcla de la
15 reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se añadieron la solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (0,9 ml, 0,9 mmol) y la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino) propanoato de (2S)-isopropilo crudo (1,81 ml, 0,9 mmol), secuencialmente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. más. Se añadió MeOH (5 ml). El
20 disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 g, MeOH al 2-18% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanquecino (430 mg, 83%).

LC-MS (M+H)⁺ = 720,3

Ejemplo 4

25 Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo



I-4

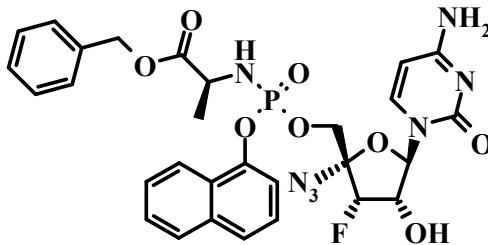
P.M. 605,52 C₂₅H₂₉FN₇O₈P

El (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-trietilsilanilo-tetrahydro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo preparado en la preparación 12 (0,43 g, 597 µmol) se disolvió en ácido acético (80%, 28 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. El disolvente se evaporó bajo presión reducida, y el residuo de ácido acético se sustrajo mediante la concentración azeotrópica con MeOH, tres veces. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, MeOH al 2-18% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (0,2 g, 55%).

LC-MS (M+H)⁺ = 606,1

Ejemplo 5

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahydro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de bencilo



I-5

P.M. 653,57 C₂₉H₂₉FN₇O₈P

20 Paso A.

Se suspendieron en DCM anhidroso (15 ml) el clorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-bencilo (Chem Impex, 0,66 g, 3,06 mmol) y el fosforodichloridato naftalen-1-ilo preparados en el ejemplo 3, Paso A (0,8 g, 3,06 mmol). La reacción se refrigeró hasta los -78 °C. Se añadió trietilamina gota a gota (619 mg, 852 µl, 6,12 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a -78 °C durante 1 h, entonces se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. El disolvente se sustrajo, y el residuo se lavó con etiléter seco y se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-bencilo crudo en forma de un aceite amarillo claro (1 g, 81%) y se utilizó sin purificación

adicional.

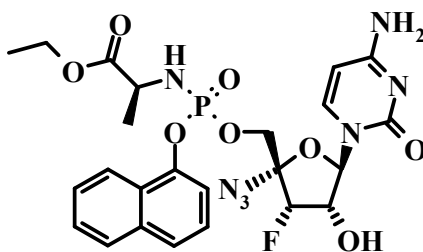
Paso B.

A una solución de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona quiral preparada en la Preparación 8 (85 mg, 292 μmol) en THF anhidro (8,5 ml) se le añadió una solución de THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (742 μL , 742 μmol) por goteo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, entonces la solución de THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-bencilo crudo (1,48 ml, 742 μmol) se añadió por goteo. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, seguido a continuación de la adición de solución de THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (371 μL , 371 μmol) y solución de THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-bencilo crudo (0,74 ml, 371 μmol) secuencialmente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h adicionales. Se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se extrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 0-20% MeOH en DCM) para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo claro (10 mg, 5%).

LC-MS (M+H)⁺ = 654,1

Ejemplo 6

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahydro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de etilo



I-6

P.M. 591,50 C₂₄H₂₇FN₇O₈P

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (437 μL , 437 μmol) a una solución de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona

quiral preparada en la preparación 8 (50 mg, 175 μ mol) en THF anhidro (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino) propanoato de (2S)-etilo crudo preparada en el ejemplo 3, paso B (873 μ L, 437 μ mol) se añadió gota a gota. La

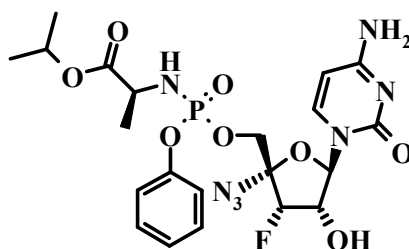
5 mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se añadieron la solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (219 μ L, 219 μ mol) y la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-bencilo crudo (437 μ L, 219 μ mol), secuencialmente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente

10 durante 2 h. más. Se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 g, MeOH al 0-16% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanco (5 mg, 5%).

LC-MS (M+H)⁺ = 592,2

15 Ejemplo 7

Preparación del (S)-2-{[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahydro-furan-2-ilmetoxi]-fenoxi-fosforilamino}-propionato de isopropilo



20 I-7

P.M. 555,46 C₂₁H₂₇FN₇O₈P

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (376 μ L, 376 μ mol) a una solución de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona

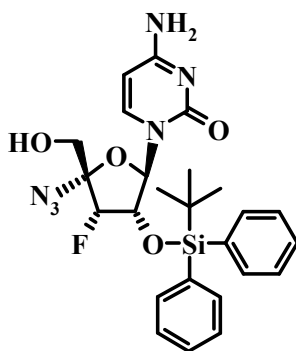
25 quiral preparada en el ejemplo 8 (43 mg, 150 μ mol) en THF anhidro (8 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino) propanoato de (2S)-isopropilo crudo preparada en el ejemplo 1, paso A (751 μ L, 376 μ mol) se añadió gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se

añadieron la solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *tert*-butilmagnesio (188 μ L, 188 μ mol) y la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi) fosforilamino)propanoato de (2S)-bencilo crudo (376 μ L, 188 μ mol), secuencialmente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, MeOH al 0-18% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanco (3 mg, 4%).

LC-MS (M+H)⁺ = 556,0

Preparación 13

Preparación del intermediario quiral 4-amino-1-[(2R,3S,4S,5R)-5-azido-3-(*tert*-butil-difenilo-silanilo)-4-fluoro-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-il]-1H-pirimidin-2-ona



P.M. 524,63 C₂₅H₂₉FN₆O₄Si

Se añadió *tert*-butilclorodifenilosilano (Aldrich, 480 mg, 1,75 mmol) a una solución de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-fluoro-3-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-ilo)-1H-pirimidin-2-ona quiral preparada en el ejemplo 8 (50 mg, 175 μ mol) e imidazol (119 mg, 1,75 mmol) en DMF anhidro (2,62 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua varias veces y con solución salina. La capa orgánica se separó, se secó con MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (MeOH al 0-18% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (36 mg, 39%)

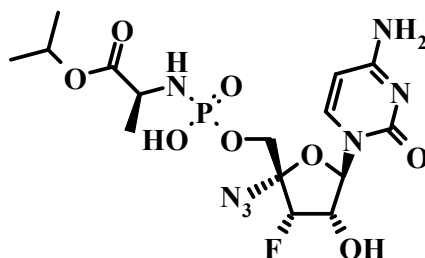
Preparación 14

Preparación de intermediario (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-4-(*tert*-butil-difenilo-silanilo)-3-fluoro-tetrahydro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-fosforilamino]-propionato de isopropilo

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-magnesio (95,3 µL, 95,3 µmol) a una solución de 4-amino-1-[(2R,3S,4S,5R)-5-[3-(*terc*-butil-difenilo-silanilo)-4-fluoro-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-il]-1H-indin-2-ona quiral (20 mg, 38,1 µmol) en THF anhidro (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución THF (0,5 M) de 2-(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-isopropilo crudo preparada en la preparación 12, paso A (191 µL, 95,3 µmol) se añadió gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se añadieron la solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (48 µL, 48 µmol) y la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-isopropilo crudo preparada en la preparación 12, paso A (96 µL, 48 µmol), inicialmente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 mg, MeOH al 2-18% en DCM) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanco (22 mg, 10%).

Ejemplo 8

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-o-3-fluoro-4-hidroxi-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-hidroxi-fosforilamino]-nato de isopropilo quiral



I-8

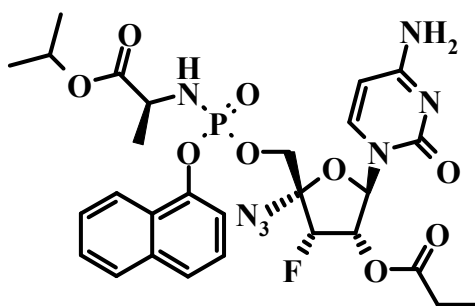
P.M. 479,36 C₁₅H₂₃FN₇O₈P

Se añadió una solución THF (1 M) de TBAF (21,3 µL, 21,3 µmol) a una
 5 solución de (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-2-azido-4-(
 (terc-butil-difenilo-silaniloxy)-3-fluoro-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-
 fosforilamino]-propionato de isopropilo (18 mg, 21,3 µmol) en THF (2,88 ml). La
 mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El
 disolvente se sustrajo, y el residuo se purificó mediante HPLC prep. para
 10 proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (6 mg, 59%).

LC-MS (M+H)⁺ = 479,9

Ejemplo 9

Preparación del (S)-2-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-
 2-azido-3-fluoro-4-propioniloxy-tetrahidro-furan-2-ilmetoxi]-(naftalen-1-iloxi)-
 15 fosforilamino]-propionato de isopropilo



I-9

P.M. 661,59 C₂₈H₃₃FN₇O₉P

Se añadió gota a gota una solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-
 20 butilmagnesio (183 µL, 183 µmol) a una solución de propionato de (2R,3S,4S,5R)-
 2-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-ilo)-5-azido-4-fluoro-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-
 3-ilo quiral (preparación descrita aparte, 25 mg, 73,0 µmol) en THF anhidro (5 ml).
 La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min., entonces la solución
 THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi) fosforilamino)propanoato de (2S)-isopropilo

crudo preparada en la preparación 12, paso A (365 μ L, 183 μ mol) se añadió gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, luego se añadieron la solución THF (Aldrich, 1 M) de cloruro de *terc*-butilmagnesio (92 μ L, 92 μ mol) y la solución THF (0,5 M) de 2-(cloro(naftalen-1-iloxi)fosforilamino)propanoato de (2S)-isopropilo crudo preparada en la preparación 12, paso A (183 μ L, 92 μ mol), secuencialmente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió MeOH (2 ml). El disolvente se sustrajo. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (gel de sílice, 40 mg, MeOH al 2-18% en DCM), entonces se sometió a HPLC prep. para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido blanco (28 mg, 58%).

LC-MS (M+H)⁺ = 662,2

Ejemplos biológicos

Ensayo del replicón del VHC

Este ensayo evalúa la habilidad de los compuestos con la fórmula I para inhibir la replicación del RNA del VHC, y por consiguiente su utilidad potencial para el tratamiento de las infecciones por el VHC. El ensayo utiliza un mensajero como un indicador simple del nivel del RNA del replicón del VHC intercelular. El gen *Renilla luciferase* primero se introdujo en el primer marco de lectura abierto de una construcción del replicón NK5.1 del genotipo 1b (N. Krieger et al., J. Virol. 2001 75(10):4614), inmediatamente después de la secuencia del lugar de entrada del ribosoma interno (IRES), y se fusionó con el gen de la fosfotransferasa de neomicina (NPTII) mediante la autoescisión del péptido 2A del virus de la fiebre aftosa (M.D. Ryan & J. Drew, EMBO 1994 13(4):928-933). Tras la transcripción *in vitro*, el RNA se sometió a electroforesis en células Huh7 del hepatoma humano y se aislaron y expandieron colonias G418-resistentes. La línea celular seleccionada de manera estable 2209-23 contiene el RNA replicativo subgenómico del VHC, y la actividad de *Renilla luciferase* expresada mediante el replicón refleja el nivel de RNA en las células. El ensayo se llevó a cabo en placas duplicadas, una en blanco opaco y otra en una transparente, con el fin de medir la actividad antiviral y la citotoxicidad de un compuesto químico a la vez que se asegura que la actividad observada no es consecuencia de un decrecimiento de la proliferación celular o de la muerte de las células.

Las células del replicón del VHC (2209-23), que expresan el mensajero *Renilla luciferase*, se cultivaron en el MEM de Dulbecco (Invitrogen, N° de cat. 10569-010) con suero bovino fetal al 5% (FBS, Invitrogen, N° de cat. 10082-147), se colocaron en una placa de 96 pocillos en una densidad de 5000 células por pocillo y incubaron durante la noche. Veinticuatro horas después, se añadieron a las células diferentes disoluciones de compuestos químicos en el medio de crecimiento, las cuales se incubaron adicionalmente a 37°C durante tres días. Al finalizar el tiempo de la incubación, las células de las placas blancas se recogieron y se midió la actividad luciferasa mediante el uso del sistema de ensayo *R. luciferase* (Promega, N° de cat. E2820). Todos los reactivos descritos en el siguiente párrafo se incluyeron en el kit del fabricante, y se siguieron las instrucciones del fabricante en la preparación de los reactivos. Las células se lavaron una vez con 100 ml de suero salino tamponado con fosfato (pH 7,0) (PBS) por pocillo y se lisaron con 20 ml de 1x tampón de lisis del ensayo *R. luciferase*, antes de la incubación a temperatura ambiente durante 20 min. Entonces la placa se introdujo en el luminómetro de microplacas Centro LB 960 (Berthold Technologies), y se inyectaron 100 µl del tampón del ensayo *R. luciferase* en cada pocillo y la señal se midió mediante la utilización de un programa de retraso de 2 segundos, medición en 2 segundos. La CI_{50} , la concentración del fármaco requerida para reducir el nivel del replicón al 50% en relación al valor control de las células no tratadas, puede calcularse a partir del gráfico de la reducción del porcentaje de la actividad de la luciferasa, frente a la concentración de fármaco, tal y como se describe con anterioridad.

Se utilizó el reactivo WST-1 de Roche Diagnostic N° de cat. 1644807) para el ensayo de citotoxicidad. Se añadieron diez microlitros del reactivo WST-1 a cada pocillo de las placas transparentes, incluyendo los pocillos que sólo contienen medio como control. Entonces se incubaron las células durante 2 h a 37° C, y el valor OD se midió mediante la utilización del lector de placas de microtitulación MRX Revelation (Lab System) a 450 nm (filtro de referencia a 650 nm). De nuevo, la CC_{50} , la concentración del fármaco requerida para reducir la proliferación celular al 50% en relación al valor control de células no tratadas, puede calcularse a partir del gráfico de reducción del porcentaje del valor del WST-1 frente a la

concentración del fármaco, tal y como se describe con anterioridad.

Los datos biológicos representativos se muestran en la tabla II a continuación:

5 TABLA II.

Compuesto	CI ₅₀ del replicón del VHC (□M)	CC ₅₀ de la citotoxicidad del WST-1 (□M)
I-1	>100	>100
I-2	39,805	>100
I-3	79,095	>100
I-4	>100	>100
I-5	1,53875	91,2
I-6	32	>100
I-7	56	>100
I-8	>100	>100
I-9	27	58

Debe comprenderse que las referencias que aquí se hacen al tratamiento también se extienden a la profilaxis, así como al tratamiento de las condiciones
10 existentes, y el tratamiento de animales incluye el tratamiento de humanos así como de otros mamíferos. Además, el tratamiento de una infección por el virus de la hepatitis C (VHC), tal y como se utiliza aquí, también incluye el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o condición asociada o mediada por la infección del virus de la hepatitis C (VHC), o los síntomas clínicos de la misma.

15 Las características descritas en la presente descripción o en las siguientes reivindicaciones, o las ilustraciones acompañantes, expresadas en sus formas específicas o en términos de un medio para la realización de la función descrita, o un método o proceso para alcanzar los resultados descritos como apropiados, pueden utilizarse para la realización de la invención en diversas formas de la
20 misma, por separado o en cualquier combinación de tales características.

La invención precedente se ha descrito en cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo, con los fines de la claridad y el entendimiento. Los expertos en la materia entenderán como obvio que se pueden introducir cambio y modificaciones dentro del ámbito de las reivindicaciones anejas. Por consiguiente, debe comprenderse que se pretende que la descripción anterior sea ilustrativa y no restrictiva. Por consiguiente, el ámbito de la invención no debería determinarse en referencia a la descripción anterior sino que debería determinarse en referencia a las reivindicaciones anejas siguientes, junto con el ámbito completo de las equivalentes a las cuales tales reivindicaciones están autorizadas.

10 Todas las patentes, solicitudes de patente y publicaciones citadas en esta solicitud se incorporan aquí a modo de referencia en su globalidad, para todos los fines, en la misma medida en la que cada patente, solicitud de patente o publicación individual se indicó individualmente.