

ELIMINACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B CON AGENTES

ANTIVIRALES

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos, métodos y composiciones para la prevención, el tratamiento y/o la cura de infecciones por el virus de la hepatitis B (VHB). Más específicamente, la invención describe compuestos aromáticos o heteroaromáticos sustituidos específicamente, sales farmacéuticamente aceptables, u otros derivados de los mismos y el uso de los mismos en el tratamiento de infecciones por el VHB.

Antecedentes de la invención

El virus de la hepatitis B (VHB) provoca un grave problema de la salud humana y es la segunda causa del cáncer humano, solamente después del tabaco. Se desconoce cuál es el mecanismo por el cual el VHB induce al cáncer. Se asume que puede disparar directamente el desarrollo de tumores, o que puede disparar en forma indirecta el desarrollo de tumores a través de la inflamación crónica, la cirrosis y la regeneración de células asociada con la infección.

Después de un período de incubación de 2 a 6 meses, durante el cual el huésped normalmente desconoce la infección, la infección por el VHB puede derivar en la hepatitis aguda y el daño hepático, que deriva en dolor abdominal, ictericia y niveles elevados en sangre de determinadas enzimas. El VHB puede causar la hepatitis fulminante, una forma que progresa rápidamente, frecuentemente fatal de la enfermedad en la cual se destruyen grandes secciones del hígado.

Los sujetos normalmente se recuperan de la fase aguda de la infección por el VHB. Sin embargo, en algunos pacientes, el virus continúa replicándose durante un período prolongado o indefinido y provoca una infección crónica. Las infecciones crónicas pueden derivar en hepatitis persistente crónica. Los pacientes infectados con el VHB persistente crónico son los más comunes en los países en desarrollo. A mediados de 1991, había aproximadamente 225 millones de portadores crónicos del VHB solamente en Asia y en todo el mundo casi 300 millones de portadores. La hepatitis persistente crónica puede provocar fatiga, cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular, un cáncer hepático primario.

En los países industrializados, el grupo de alto riesgo para la infección por el VHB incluye a aquellos que están en contacto con portadores del VHB o con sus muestras de sangre. La

epidemiología del VHB es muy similar a aquella del VIH/SIDA, que es el motivo por el cual la infección por el VHB es común entre los pacientes infectados con el VIH o que padecen SIDA. Sin embargo, el VHB es más contagioso que el VIH.

3TC (lamivudina), interferón alfa-2b, peginterferón alfa-2a, hepsera (adefovir dipivoxil), baraclude (entecavir) y Tyzeka (Telbivudina) son actualmente los fármacos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos para tratar la infección por el VHB. Otros nucleósidos, fumarato de alafenamida de tenofovir (TAF) (anteriormente GS-7340) está actualmente en la fase 3. Estos tres fármacos son altamente efectivos en la reducción de la carga viral, pero algunos de estos fármacos proveen una cura para el VHB. Además, su impacto puede estar limitado por problemas de resistencia al fármaco, baja eficacia y tolerabilidad. Los bajos índices de cura del VHB se atribuyen por lo menos en parte a la presencia y la persistencia del ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc) en el núcleo de los hepatocitos infectados.

Por consiguiente, existe una necesidad urgente de fármacos nuevos para el VHB que sean potentes, que funcionen mediante un mecanismo diferente de sus nucleósidos análogos y que puedan reducir la forma latente del VHB denominado ADNccc.

Sería ventajoso proveer nuevos agentes antivirales, composiciones que incluyen estos agentes y métodos tratamiento usando estos agentes para el tratamiento del VHB y la prevención de la emergencia del VHB resistente a los fármacos. La presente invención provee dichos agentes, composiciones y métodos.

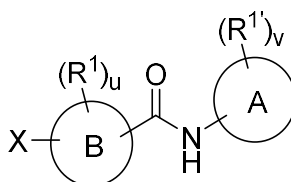
Resumen de la invención

La presente invención provee compuestos, métodos y composiciones para la prevención, el tratamiento y/o la cura de la infección por el VHB en un huésped, o la reducción de la actividad del VHB en el huésped. Los métodos consisten en administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de por lo menos un compuesto como se describe en la presente para el tratamiento, la cura o la prevención de una infección por, o una cantidad suficiente para la reducción de la actividad biológica de una infección por el VHB.

Los compuestos también se pueden usar para el tratamiento de infecciones virales, que incluyen aquellas por virus de flaviviridae, tales como el virus del Nilo Occidental y el virus de la hepatitis C (VHC), la Fiebre del Dengue y el virus del Zika.

Las composiciones farmacéuticas incluyen uno o más de los compuestos descritos en la presente, en combinación con un portador o un excipiente farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento de un huésped infectado por el VHB. Estos compuestos se pueden usar en combinación con inhibidores de nucleósidos y no son nucleósidos del VHB. Las formulaciones además pueden incluir por lo menos un agente terapéutico más. Además, la presente invención incluye procesos para la preparación de dichos compuestos.

En una realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo

en donde:

A es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

B es un anillo seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C₅₋₁₄,

Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un carbono, son independientemente hidrógeno, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF₅, CF₃, hidroxil, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxi de C₁₋₆, haloalcoxi de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, ciano, alquino de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxil, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆;

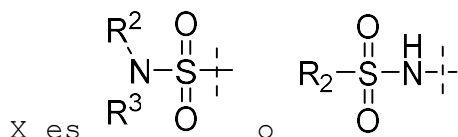
Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un nitrógeno, son, independientemente, hidrógeno, alcoxi de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alqueno de C₂₋₆, alcoxycarbonilo, carbonilalquilo, carbonil arilo, alquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, hidroxialquilo de C₂₋₆, o S(O)₂R' ;

Cada R' es independientemente H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxi de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, alquino de C₂₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo, heteroarilo, alquilarilo, o arilalquilo, o si dos R' están sobre el mismo átomo de nitrógeno,

pueden unirse y formar juntos un anillo de C₃₋₆ que opcionalmente contiene un heteroátomo de N, O, o S;

Los grupos de R' opcionalmente se pueden sustituir con uno o más sustituyentes que son, independientemente, halo, haloalquilo de C₁₋₆, hidroxialquilo de C₁₋₆, hidroxilo, carboxilo, acilo, arilo, aciloxi, amino, amido, derivados de carboxilo, alquilamino, dialquilamino, arilamino, alcoxí, alcoxialquilo, ariloxi, nitro, ciano, ácido sulfónico, tiol, imina, sulfonilo, sulfanilo, sulfinilo, sulfamonilo, éster, ácido carboxílico, amida, fosfonilo, fosfinilo, fosforilo, fosfina, tioéster, tioéter, haluro de ácido, anhídrido, oxima, hidrocina, carbamato, ácido fosfónico, o fosfonato, sin proteger, o protegidos según sea necesario, como lo saben los expertos en el arte, por ejemplo, como se enseña en Greene, et al., Protective Groups in Organic Synthesis [Grupos Protectores en la Síntesis Orgánica], John Wiley and Sons, Segunda Edición, 1991, que se incorpora por la presente por referencia;

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;



R³ es H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, o alquinilo de C₂₋₆,

R² es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, arilo, tal como fenilo,

heteroarilo, que incluyen anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos, o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que, independientemente, son N, O, o S, alquillarilo, arilalquilo, un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; cicloalquilo, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

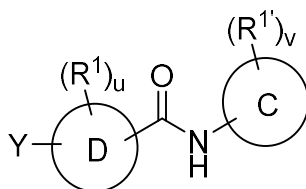
R^2 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, C_{1-6} carboxi, C_{1-6} haloalquilo, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está opcionalmente sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes

sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $\text{N(R')S(O)}_2\text{R'}$, $\text{S(O)}_2\text{R'}$, $\text{S(O)}_2\text{N(R')}_2$, C(O)R' , alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} .

o

R^2 y R^3 pueden unirse juntos con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros, un anillo saturado de 3 a 8 miembros, o un anillo insaturado de 5 miembros; dichos anillos bicíclicos, de puente, saturados e insaturados opcionalmente contienen uno o más heteroátomos adicionales, donde cada uno es, independientemente, O, S o N y opcionalmente se sustituye con uno o más sustituyentes, en donde cada uno es, independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br, I), CF_3 , hidroxilo, $\text{N(R')S(O)}_2\text{R'}$, $\text{S(O)}_2\text{R'}$, $\text{S(O)}_2\text{N(R')}_2$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclicilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} .

En una segunda realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(II)

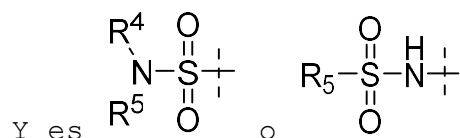
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $R^{1'}$ son los definidos con respecto a la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

C es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C_{4-14} , alquilarilo, o alquilheteroarilo;

D es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C_{5-14} ,



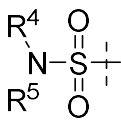
R^4 es H o alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} ; en una realización, R^4 es alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} ,

R^5 es alquilarilo, arilalquilo, alquénilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , arilo, tal como fenilo, heteroarilo, que incluye anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos, o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que, independientemente, son N, O, o S; y un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; en una realización, R^5 es alquilarilo, arilalquilo, fenilo, un heteroarilo de cinco o seis miembros, o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S;

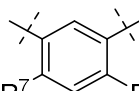
R^5 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo arilalcoxicarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de

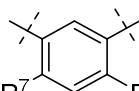
C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C₁₋₆;

donde, en una realización, si C es fenilo, D no es fenilo o un anillo de heteroarilo de 5 miembros y en otra realización, si C es fenilo y D es fenilo o un anillo de heteroarilo de 5 miembros, entonces R⁵ no es alquilarilo, alquenoilo, o un anillo de puente de seis miembros;

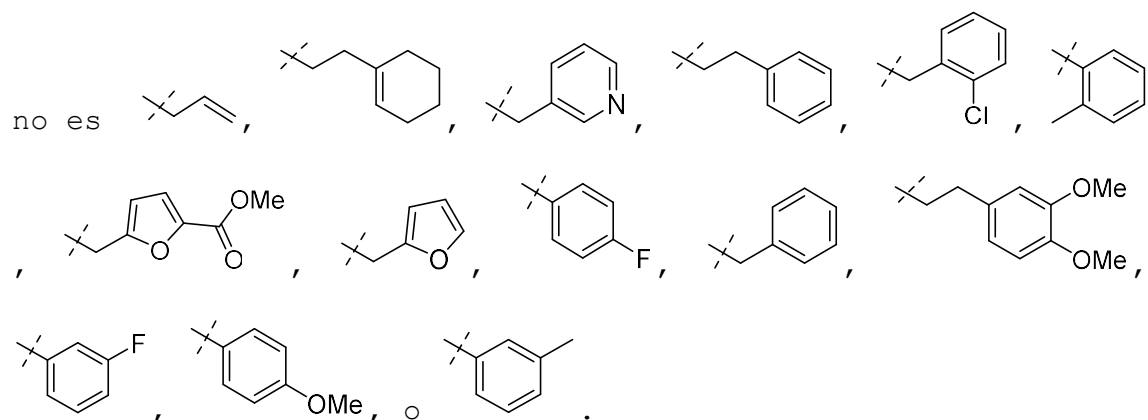


o cuando Y es $\begin{array}{c} \text{R}^4 \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{N} - \text{S} - \text{C} \\ \diagup \quad \parallel \quad | \\ \text{R}^5 \quad \text{O} \end{array}$, R⁴ y R⁵ junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo de 3 a 4 miembros opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente, halógeno (que incluye F, Cl, Br, I), CF₃, hidroxilo, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxilo de C₁₋₆, ciano, azido, alquenoilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxilo, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆.

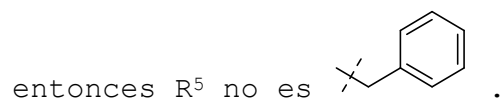


En una realización, D es R^7 --R⁶, donde R⁶ es H, Cl, F o Br y R⁷ es H, metilo, F o Cl.

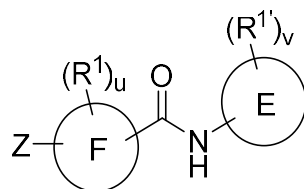
En un aspecto de la presente realización, cuando Y es $\begin{array}{c} \text{R}^4 \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{N} - \text{S} - \text{C} \\ \diagup \quad \parallel \\ \text{R}^5 \quad \text{O} \end{array}$, R^5



En otro aspecto de la presente realización, cuando R^4 es etilo,



En una tercera realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(III)

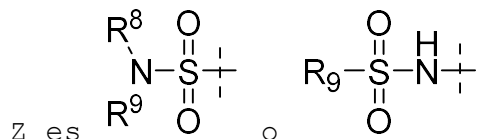
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $R^{1'}$ son lo definido con respecto a la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

E es un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos, en donde cada uno es, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

F es un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C₄₋₁₄,



R⁸ es H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, o alquinilo de C₂₋₆,

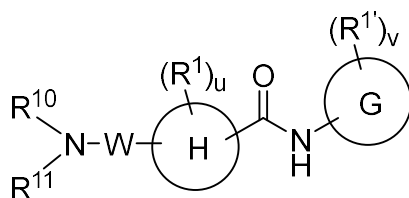
R⁹ es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son independientemente N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos, que son independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo de tres miembros;

R^9 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxil de C_{1-6} , haloalcoxil de C_{1-6} , ciano, azido, alquínil de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonil, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo, arilalcoxicarbonil, carboxil, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxil de C_{1-6} , ciano, azido, alquínil de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonil, alcoxicarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ; o

R^8 y R^9 pueden unirse con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros o un anillo saturado de 3 a 8 miembros, dicho grupo anillo bicíclico, de puente o saturado opcionalmente contiene uno o más heteroátomos más que, independientemente, son O, S o N y opcionalmente se sustituyen con uno o más sustituyentes, cada uno es independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxil de C_{1-6} , ciano, azido, alquínil de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonil, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} ,

arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclicilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆.

En una cuarta realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(IV)

o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

G es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

H es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo no aromático de seis miembros que opcionalmente contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; o un anillo bicíclico de C₄₋₁₄;

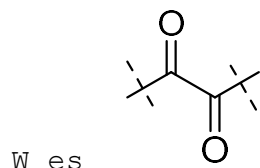
Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un carbono son, independientemente, hidrógeno, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF₃, hidroxilo, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxido de

C₁₋₆, ciano, alquinilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterocicliclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆;

Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un nitrógeno son, independientemente, hidrógeno, alcoxi de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, carbonilalquilo, carbonil arilo, alquilo de C₁₋₆, alquinilo de C₂₋₆, alquenilo de C₂₋₆, heterocicliclilalquilo, hidroxialquilo de C₁₋₆, o S(O)₂R';

Cada R' es independientemente H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxi de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo, heteroarilo, alquilarilo, o arilalquilo, o si dos R' están sobre el mismo átomo de nitrógeno pueden unirse y formar un anillo de alquilo de C₃₋₆ que opcionalmente contiene un N, O, o S; en donde los grupos de R' se pueden sustituir con uno o más sustituyentes definidos anteriormente, por ejemplo, hidroxialquilo de C₁₋₆, aminoalquilo y alcoxialquilo;

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;



R¹⁰ es H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆ o alquinilo de C₂₋₆,

R^{11} es alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alcoxialquilo de C_{2-8} , alqueno de C_{2-6} , alquino de C_{2-6} , arilo, heteroarilo, alquilarilo, arilalquilo, fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de tres miembros, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

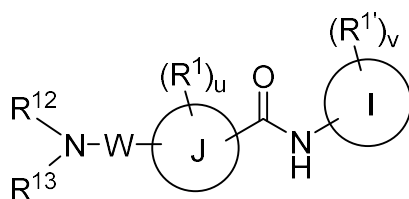
en donde R^{11} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , alqueno de C_{2-6} , ciano, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxilo, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, hidroxialquilo de C_{1-6} , arilo, arilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido, donde los

sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF₅, CF₃, hidroxí, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, C(O)R', alcoxí de C₁₋₆, ciano, azido, alquinilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo y alquilo de C₁₋₆;

o

R¹⁰ y R¹¹ pueden unirse junto con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros o un anillo saturado de 3 a 8 miembros; dicho grupo anillo bicíclico, de puente o saturado opcionalmente contiene uno o más heteroátomos adicionales, cada uno de los cuales es, independientemente, O, S o N y opcionalmente están sustituidos con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF₃, SF₅, hidroxí, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxí de C₁₋₆, ciano, azido, alquinilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxicarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆.

En una quinta realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(V)

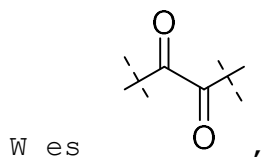
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $\text{R}^{1'}$ son los definidos con respecto a la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

I es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo bicíclico de C_{4-14} ; alquilheteroarilo, o alquilarilo;

J es a un anillo de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; o un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S,



R^{12} es H, alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , o alquinilo de C_{2-6} ,

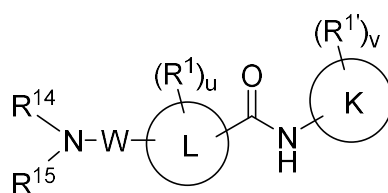
R^{13} es alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , arilo, que incluye fenilo, heteroarilo, que incluye anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; alquilarilo, arilalquilo, un anillo bicíclico de C_{4-14} ; un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S,

R^{13} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno (F, Cl, Br, I), CF_3 , SF_5 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo, arilalcoxycarbonilo, carboxilo, haloalquilo, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está opcionalmente sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido o el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 ,

hidroxi, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ;

o R^{12} y R^{13} junto con el nitrógeno al cual están unidos forman un anillo de 3 a 4 miembros opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno (F, Cl, Br, I), CF_3 , hidroxi, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclicilalquilo e hidroxialquilo de C_{1-6} .

En una sexta realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(VI)

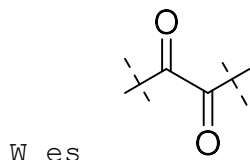
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $R^{1'}$ son lo definido con respecto a la Fórmula 1,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

K es un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

L es un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C₄₋₁₄,



R¹⁴ es H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, o alquinilo de C₂₋₆,

R¹⁵ es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos

heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S;

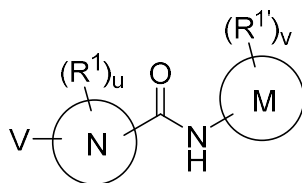
R^{15} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente halógeno (F, Cl, Br, I), SF_5 , CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , C_{1-6} haloalcoxi, ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo, arilalcoxycarbonilo, carboxil, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está opcionalmente sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ;

o

R^{14} y R^{15} pueden unirse junto con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros o un anillo saturado de 3 a 8 miembros; dicho grupo anillo bicíclico, de puente y saturado opcionalmente contiene uno o más heteroátomos más que son, independientemente, O, S o N y opcionalmente están sustituidos con uno o más sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste

en halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF₅, CF₃, hidroxí, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxi de C₁₋₆, ciano, azido, alquinilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcóxicarbonilo, alcóxicarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcóxicarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo e hidroxialquilo de C₁₋₆.

En una séptima realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(VII)

o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

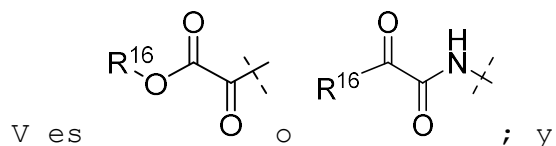
R¹ y R^{1'} son lo definido para la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

M es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo,

N es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo

heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente N, O, o S, un anillo de seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; o un anillo bicíclico de C₄₋₁₄,

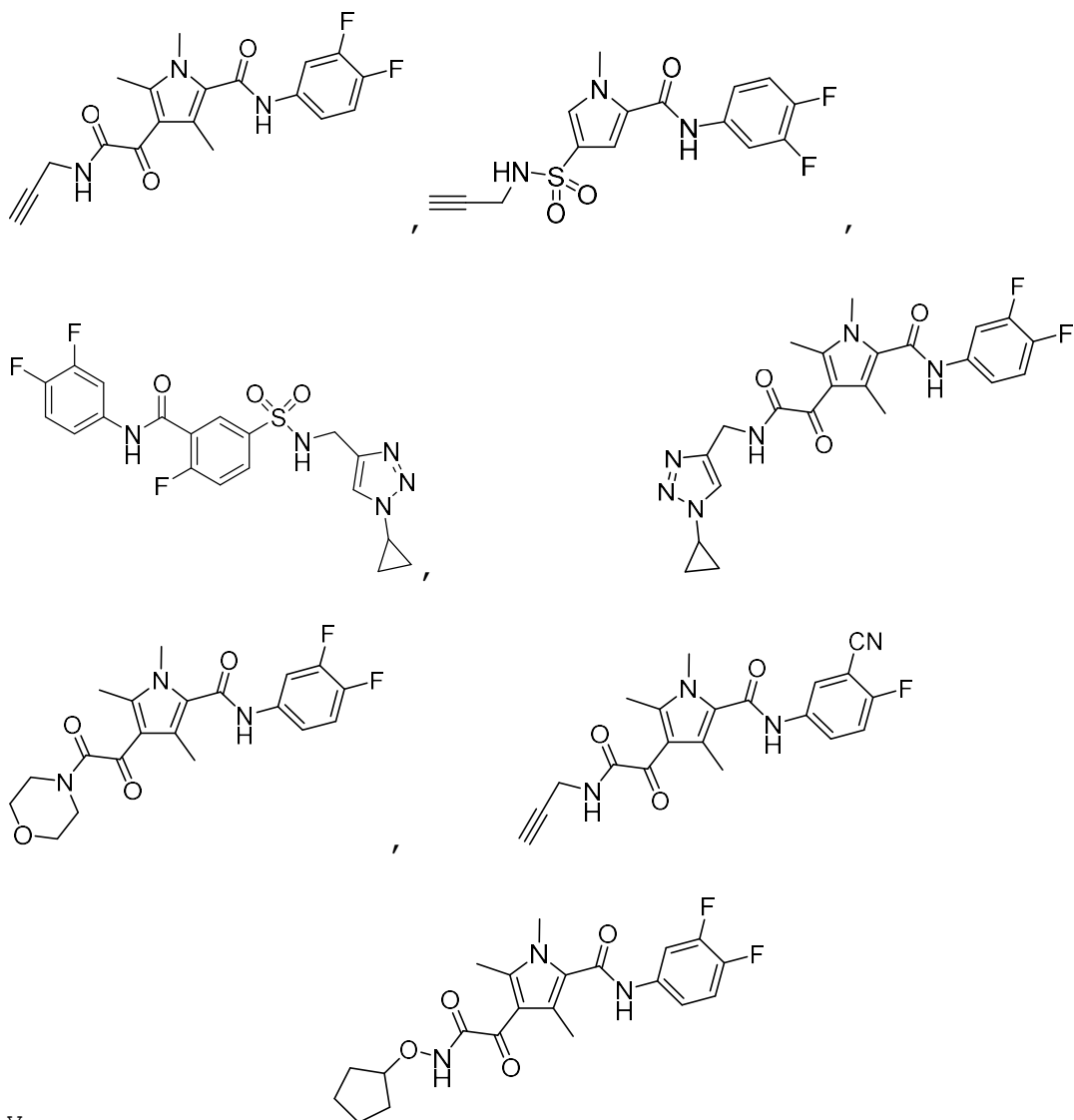


R¹⁶ es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, arilo, tal como fenilo, heteroarilo, tal como un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno o un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son,

independientemente, N, O, o S; alquilarilo, arilalquilo, alquilheteroarilo, o alquilarilo,

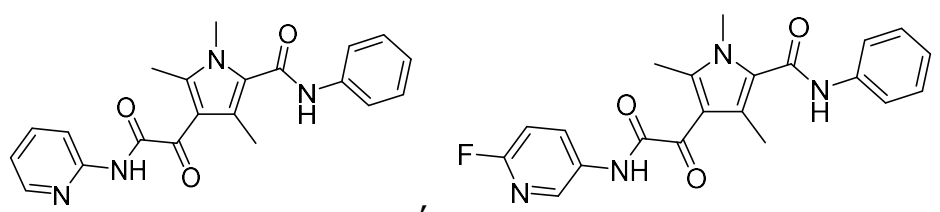
en donde R^{16} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , alqueno de C_{2-6} , ciano, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, hidroxialquilo de C_{1-6} , arilo, arilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} .

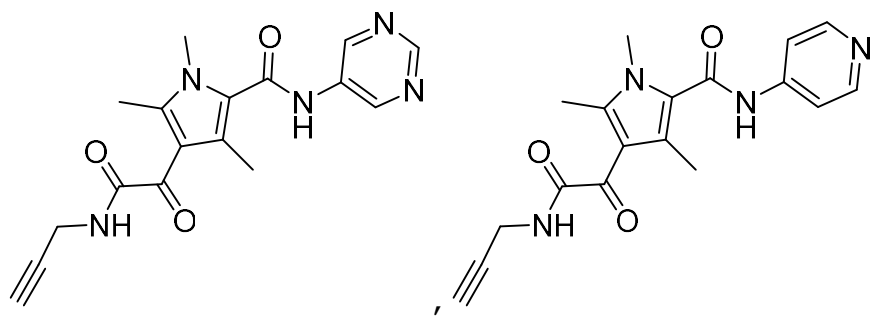
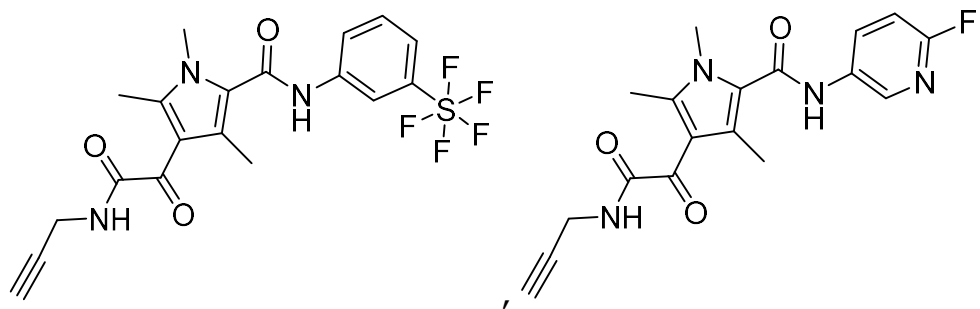
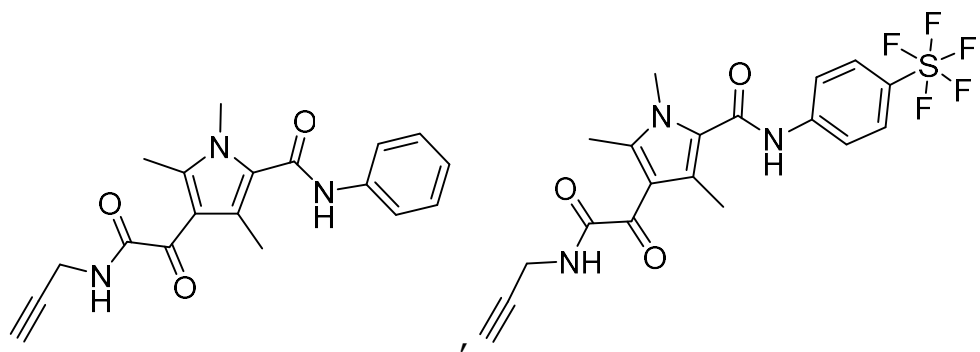
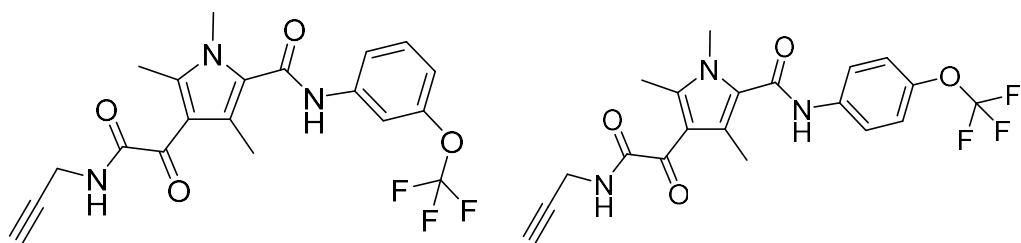
Algunos compuestos representativos que están dentro del alcance de la invención incluyen los siguientes:

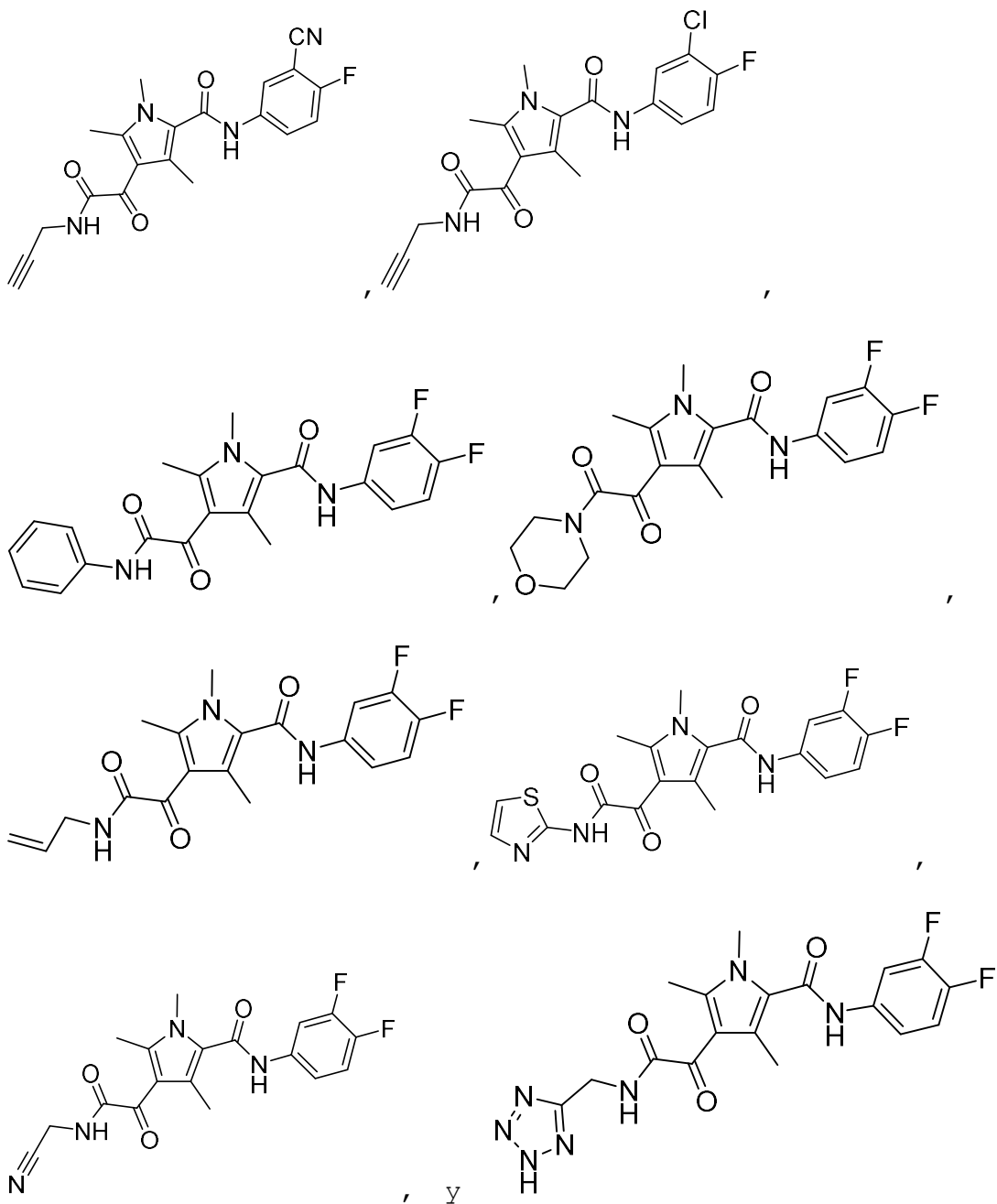

$$y$$

y las sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otros compuestos también incluyen

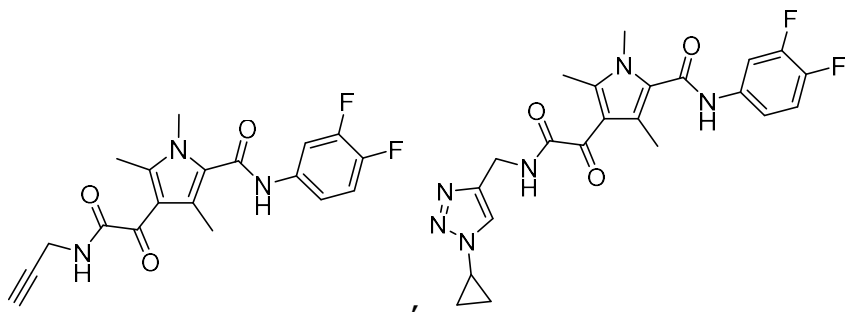






las sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Algunos compuestos particularmente preferidos incluyen:



o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos.

También se divulgan composiciones farmacéuticas que incluyen uno o más de los compuestos de las Fórmulas I-VII y un portador farmacéuticamente aceptable. El portador puede ser, por ejemplo, una composición oral, una composición inyectable, una composición transdérmica, o una composición nanoparticulada. Las composiciones pueden incluir además un segundo agente antiviral, específicamente donde el agente es activo contra una infección por el VHB y más específicamente donde el agente antiviral es activo contra la infección por el VHB a través de un mecanismo diferente de los compuestos descritos en la presente.

Algunos tipos representativos de los segundos agentes antivirales incluyen inhibidores de la polimerasa, inhibidores de la entrada viral, inhibidores de la maduración viral, moduladores del ensamblaje de la cápside, inhibidores de la IMPDH (inosina monofosfato deshidrogenasa, por su sigla en inglés), inhibidores de la proteasa, agentes terapéuticos basados en inmune, inhibidores de la transcriptasa inversa, agonistas de

TLR (receptor de tipo Toll, por su sigla en inglés) y agentes de un mecanismo distinguible o desconocido. Se pueden usar combinaciones de estos agentes.

Los compuestos descritos en la presente se pueden usar para preparar medicamentos para el tratamiento de la infección por el VHB, la prevención de infecciones por el VHB, o la reducción de la actividad biológica de una infección con el VHB. Los medicamentos además pueden incluir otro agente anti-VHB.

Los compuestos y las composiciones se pueden usar en métodos para el tratamiento de un huésped infectado con el VHB, para la prevención de una infección por un VHB y la reducción de la actividad biológica de una infección por el VHB en un huésped. Los métodos también pueden consistir en la administración conjunta de otro agente anti-VHB, cuya administración conjunta puede ser simultánea o secuencial.

Éstos y otros aspectos de la invención se explican adicionalmente en la siguiente descripción detallada.

Breve Descripción de las Figuras

la Figura 1 muestra una serie de micrografías electrónicas del resultado de la incubación del VHB Cp149 en las condiciones en

las cuales normalmente formaría cápsides y cuando la incubación estuvo acompañada por el agregado de un agente activo putativo, donde el agente activo funciona por lo menos en parte inhibiendo la formación de cápsides. Cuando se atravesó la incubación usando el excipiente solo, las micrografías electrónicas muestran las cápsides en la forma de esferas huecas completamente formadas. Cuando se incuban con GLS4, las cápsides formaron esferas huecas mal ensambladas y con el Compuesto 7a, las cápsides formaron esferas huecas incompletas, con una abundancia relativamente baja.

La Figura 2 muestra una serie de micrografías electrónicas de cápsides del VHB Cp149 tratadas con excipiente (lo cual muestra las cápsides en la forma de esferas huecas completamente formadas), con GLS4, lo cual muestra que las cápsides han formado esferas huecas mal ensambladas y con el Compuesto 7 a, lo cual muestra que las cápsides formaron esferas huecas incompletas, con una abundancia relativamente baja.

La Figura 3 muestra una serie de micrografías electrónicas de las cápsides mostradas en la Figura 2, donde las primeras dos micrografías se repitieron y una tercera micrografía amplió las partes de la segunda micrografía para mejorar la vista del daño a las cápsides.

La Figura 4 muestra una serie de micrografías electrónicas de las cápsides mostradas en la Figura 2, donde la primera y la tercera micrografías se repitieron como la primera y segunda micrografías. Se muestra una tercera micrografía, que amplía la parte de la segunda micrografía para mejorar la vista del daño a las cápsides.

Los resultados muestran que los compuestos interrumpieron efectivamente la formación de cápsides del VHB.

Descripción Detallada de la invención

Se divulgan compuestos y composiciones útiles en el tratamiento, la prevención, o la cura de la infección por el VHB. También se divulgan métodos para el tratamiento, la prevención, o la cura de la infección por el VHB.

Los compuestos descritos en la presente muestran la actividad inhibidora contra el VHB en ensayos basados en las células. En consecuencia, los compuestos se pueden usar para el tratamiento o la prevención de un VHB en un huésped, o la reducción de la actividad biológica del virus. El huésped puede ser un mamífero y, específicamente, un humano, infectado con el VHB. Los métodos consisten en administrar una cantidad efectiva de uno o más de los compuestos descritos en la presente.

También se divulgan composiciones farmacéuticas que incluyen uno o más compuestos descritos en la presente, en combinación con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable, en combinación con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. En una realización, las formulaciones incluyen por lo menos un compuesto descrito en la presente y por lo menos otro agente terapéutico.

La presente invención se comprenderá mejor con referencia a las siguientes definiciones.

I. Definiciones

El término "independientemente" se usa en la presente para indicar que la variable, que se aplica independientemente, varía independientemente de la aplicación a la aplicación. Por lo tanto, en un compuesto tal como R"XYR", en donde R" es "independientemente carbono o nitrógeno", ambos R" pueden ser carbono, ambos R" pueden ser nitrógeno, o un R" puede ser carbono y el otro R" puede ser nitrógeno.

Como se usa en la presente, el término "enantioméricamente puro" se refiere a un compuesto composición que comprende por lo menos aproximadamente el 95% y, de preferencia, aproximadamente el 97%, 98%, 99% o 100% de un solo enantiómero de ese compuesto.

Como se usa en la presente, el término "sustancialmente libre de" o "sustancialmente en la ausencia de" se refiere a un compuesto composición que incluye por lo menos del 85% al 90% en peso, preferentemente del 95% al 98% en peso y, aún más preferentemente, del 99% al 100% en peso, del enantiómero designado de ese compuesto. En una realización preferida, los compuestos descritos en la presente están sustancialmente libres de enantiómeros.

En forma similar, el término "aislado" se refiere a un compuesto composición que incluye por lo menos del 85% al 90% en peso, preferentemente del 95% al 98% en peso y aún más preferentemente, del 99% al 100% en peso, del compuesto, el resto comprende otras especies químicas o enantiómeros.

El término "alquilo", como se usa en la presente, a menos que se especifique de otro modo, se refiere a hidrocarburos saturados rectos, ramificados, o cíclicos, primarios, secundarios o terciarios, que incluyen grupos alquilo sustituidos así como no sustituidos. El grupo alquilo puede estar opcionalmente sustituido con cualquier grupo que no interfiera de otro modo con la reacción o que provea una mejora en el proceso, que incluye en forma no taxativa, halo, haloalquilo, hidroxilo, carboxilo, acilo, arilo, aciloxi, amino, amido, derivados de carboxilo, alquilamino, dialquilamino, arilamino, alcoxi,

ariloxi, nitro, ciano, ácido sulfónico, tiol, imina, sulfonilo, sulfanilo, sulfinilo, sulfamonilo, éster, ácido carboxílico, amida, fosfonilo, fosfinilo, fosforilo, fosfina, tioéster, tioéter, haluro de ácido, anhídrido, oxima, hidrozina, carbamato, ácido fosfónico, fosfonato, sin proteger, protegido según sea necesario, como lo saben los expertos en el arte, por ejemplo, como se enseña en Greene et al, Protective Groups in Organic Synthesis [Grupos Protectores en la Síntesis Orgánica], John Wiley and Sons, Segunda Edición, 1991, que se incorpora por referencia en la presente. Están específicamente incluidos CF_3 y CH_2CF_3 .

En el texto, siempre que se usa el término C(rango de alquilo), el término incluye independientemente cada uno de los miembros de esa clase como si se expusiera específicamente y por separado. El término "alquilo" incluye grupos alquilo de C_{1-22} y el término "alquilo inferior" incluye grupos alquilo de C_{1-6} . Los expertos en el arte comprenderán que el radical alquilo pertinente se nombra reemplazando el sufijo "-ano" con el sufijo "-ilo".

Como se usa en la presente, un "alquilo de puente" se refiere a un biciclo- o triciclo alcano, por ejemplo, un 2:1:1 biciclohexano.

Como se usa en la presente, un "espiro alquilo" se refiere a dos anillos que se unen en un solo átomo de carbono (cuaternario).

El término "alquenilo" se refiere a un radical de hidrocarburo, insaturado, lineal o ramificado, siempre que contenga uno o más enlaces dobles. El grupo alquenilo divulgado en la presente se puede sustituir opcionalmente con cualquier grupo que no afecte en forma adversa al proceso reactivo, que incluye en forma no taxativa aquellos descritos para los sustituyentes sobre grupos alquilo. Algunos ejemplos no taxativos de los grupos alquenilo incluyen etileno, metiletileno, isopropilideno, 1,2-etano-diilo, 1,1-etano-diilo, 1,3-propano-diilo, 1,2-propano-diilo, 1,3-butano-diilo y 1,4-butano-diilo.

El término "alquinilo" se refiere a un radical de hidrocarburo acíclico, insaturado, lineal o ramificado, siempre que contenga uno o más enlaces triples. El grupo alquinilo puede estar opcionalmente sustituido con cualquier grupo que no afecte en forma adversa al proceso de la reacción, que incluye en forma no taxativa aquellos descritos anteriormente para los grupos alquilo. Algunos ejemplos no taxativos de grupos alquinilo adecuados incluyen radicales de etinilo, propinilo, hidroxipropinilo, butin-1-ilo, butin-2-ilo, pentin-1-ilo, pentin-2-ilo, 4-metoxipentin-2-ilo, 3-metilbutin-1-ilo, hexin-1-ilo, hexin-2-ilo y hexin-3-ilo, 3,3-dimetilbutin-1-ilo.

El término "alquilamino" o "arilamino" se refiere a un grupo amino que tiene uno o dos sustituyentes de alquilo o arilo, respectivamente.

El término "protegido" como se usa en la presente y a menos que se defina de otro modo, se refiere a un grupo que se agrega a un átomo de oxígeno, nitrógeno, o fósforo para prevenir su nueva reacción o con otros propósitos. Una amplia variedad de grupos protectores de oxígeno y de nitrógeno son conocidos para los expertos en el arte de la síntesis orgánica y se describen, por ejemplo, en Greene et al, *Protective Groups in Organic Synthesis* [Grupos Protectores en la Síntesis Orgánica], supra.

El término "arilo", solo o en combinación, significa un sistema aromático carbocíclico que contiene uno, dos, o tres anillos en donde dichos anillos se pueden unir juntos en una forma pendiente o se pueden fusionar. Ejemplos no taxativos de arilo incluyen fenilo, bifenilo, o naftilo, u otros grupos aromáticos que permanecen después de la eliminación de un hidrógeno de un anillo aromático. El término arilo incluye grupos sustituidos así como no sustituidos. El grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido con cualquier grupo que no afecte en forma adversa al proceso, que incluye en forma no taxativa aquellos descritos anteriormente para los grupos alquilo. Ejemplos no taxativos de arilo sustituido incluyen heteroarilamino, N-aril-N-

alquilamino, N-heteroarilamino-N-alquilamino, heteroaralcoxi, arilamino, aralquilamino, ariltio, monoarilamidossulfonilo, arilsulfonamido, diarilamidossulfonilo, monoaril amidossulfonilo, arilsulfinilo, arilsulfonilo, heteroariltio, heteroarilsulfinilo, heteroarilsulfonilo, aroilo, heteroaroiilo, aralcanoilo, heteroaralcanoilo, hidroxialquililo, hidroxiheteroaralquililo, haloalcoxialquililo, arilo, aralquililo, ariloxi, aralcoxi, ariloxialquililo, heterociclilo saturado, heterociclilo parcialmente saturado, heteroarilo, heteroariloxi, heteroariloxialquililo, arilalquililo, heteroarilalquililo, arilalquenilo y heteroarilalquenilo, carboaralcoxi.

Los términos "alcarilo" o "alquilarilo" se refieren a un grupo alquililo con un sustituyente arilo. Los términos "aralquililo" o "arilalquililo" se refieren a un grupo arilo con un sustituyente de alquililo.

El término "halo", como se usa en la presente, incluye cloro, bromo, yodo y halo.

El término "acilo" se refiere a un éster de ácido carboxílico en el cual el grupo que no es carbonilo del grupo éster se selecciona del grupo que consiste en alquililo recto, ramificado, o cíclico, o alquililo inferior, alcoxialquililo, que incluye, en

forma no taxativa, metoximetilo, aralquilo, que incluye, en forma no taxativa, bencilo, ariloxialquilo, tales como fenoximetilo, arilo, que incluye, en forma no taxativa fenilo, opcionalmente sustituido con halógeno (F, Cl, Br, o I), alquilo (que incluye, en forma no taxativa, C₁, C₂, C₃ y C₄) o alcoxi (que incluye, en forma no taxativa, C₁, C₂, C₃ y C₄), ésteres de sulfonato tales como alquilo o aralquil sulfonilo, que incluye en forma no taxativa metanosulfonilo, el éster de mono, di o trifosfato, tritilo o monometoxitritilo, bencilo sustituido, trialquilsililo (por ejemplo, dimetil-t-butilsililo) y difenilmetilsililo. Los grupos arilo de los ésteres opcionalmente comprenden un grupo fenilo. El término "arilo inferior" se refiere a un grupo acilo en el cual el grupo que no es carbonilo es alquilo inferior.

Los términos "alcoxi" y "alcoxialquilo" abarcan radicales que contienen oxi lineales o ramificados que tienen grupos alquilo, tales como un radical de metoxi. El término "alcoxialquilo" también abarca radicales de alquilo que tienen uno o más radicales de alcoxi unidos al radical de alquilo, es decir, para formar radicales de monoalcoxialquilo y de dialcoxialquilo. Los radicales de "alcoxi" además se pueden sustituir con uno o más átomos de halo, tales como fluoro, cloro, o bromo, para proveer radicales de "haloalcoxi". Algunos ejemplos de dichos radicales incluyen fluorometoxi, clorometoxi, trifluorometoxi,

difluorometoxi, trifluoroetoxi, fluoroetoxi, tetrafluoroetoxi, pentafluoroetoxi y fluoropropoxi.

El término "alquilamino" indica "monoalquilamino" y "dialquilamino" que contiene uno o dos radicales de alquilo, respectivamente, unidos a un radical de amino. Los términos arilamino indican "monoarilamino" y "diarilamino" que contienen uno o dos radicales de arilo, respectivamente, unidos a un radical de amino. El término "aralquilamino" abarcan radicales de aralquilo unidos a un radical de amino. El término aralquilamino indica "monoaralquilamino" y "diaralquilamino" que contiene uno o dos radicales de aralquilo, respectivamente, unidos a un radical de amino. El término aralquilamino además indica "monoaralquil monoalquilamino" que contiene un radical de aralquilo y un radical de alquilo unido a un radical de amino.

El término "heteroátomo", como se usa en la presente, se refiere a oxígeno, azufre, nitrógeno y fósforo.

Los términos "heteroarilo" o "heteroaromático", como se usan en la presente, se refieren a un aromático que incluye por lo menos un azufre, oxígeno, nitrógeno o fósforo del anillo aromático.

El término "heterocíclico", "heterociclilo" y "cicloheteroalquilo" se refieren a un grupo cíclico no aromático

en donde hay por lo menos un heteroátomo, tal como oxígeno, azufre, nitrógeno, o fósforo en el anillo.

Ejemplos no taxativos de grupos heteroarilo y heterocíclico incluyen furilo, furanilo, piridilo, pirimidilo, tienilo, isotiazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, quinolilo, isoquinolilo, benzotienilo, isobenzofurilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, benzimidazolilo, purinilo, carbazolilo, oxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, isooxazolilo, pirrolilo, quinazolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, xantinilo, hipoxantinilo, tiofeno, furano, pirrol, isopirrol, pirazol, imidazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, oxazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, pirimidina o piridacina y pteridinilo, aciridinas, tiazol, isotiazol, 1,2,3-oxadiazol, tiacina, piridina, piracina, piperacina, pirrolidina, oxaziranos, fenacina, fenotiacina, morfolinilo, pirazolilo, piridacinilo, piracinilo, quinoxalinilo, xantinilo, hipoxantinilo, pteridinilo, 5-azacitidinilo, 5-azauracililo, triazolopiridinilo, imidazolopiridinilo, pirrolopirimidinilo, pirazolopirimidinilo, adenina, N6-alquilpurinas, N6-bencilpurina, N6-halopurina, N6-vinipurina, N6-purina acetilénica, N6-acil purina, N6-hidroxialquil purina, N6-tioalquil purina, timina, citosina, 6-azapirimidina, 2-mercaptopirimidina, uracilo, N5- alquilpirimidinas, N5-

bencilpirimidinas, N5-halopirimidinas, N5-vinilpirimidina, N5-pirimidina acetilénica, N5-acil pirimidina, N5-hidroxialquil purina y N6-tioalquil purina e isoxazolilo. El grupo heteroaromático se puede sustituir opcionalmente como se describe anteriormente para arilo. El grupo heterocíclico o heteroaromático se pueden sustituir opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, haloalquilo, alquilo, alcoxi, hidroxilo, derivados de carboxilo, amido, amino, alquilamino y dialquilamino. El grupo heteroaromático puede estar parcial o completamente hidrogenado según se desee. Como un ejemplo no taxativo, se puede usar dihidropiridina en lugar de piridina. Los grupos funcionales oxígeno y nitrógeno sobre el grupo heterocíclico o heteroarilo se pueden proteger según sea necesario o se desee. Los grupos protectores adecuados son bien conocidos para los expertos en el arte e incluyen trimetilsililo, dimetilhexilsililo, t-butildimetilsililo y t-butildifenilsililo, tritilo o tritilo sustituido, grupos alquilo, grupos acilo tales como acetilo y propionilo, metanosulfonilo y p-toluenolsulfonilo. El grupo heterocíclico o heteroaromático se pueden sustituir con cualquier grupo que no afecte en forma adversa la reacción, que incluye en forma no taxativa aquellos descritos anteriormente para arilo.

El término "huésped", como se usa en la presente, se refiere a un organismo unicelular o multicelular en el cual el virus se puede replicar, que incluye en forma no taxativa líneas celulares y animales, y, preferentemente, humanos. Alternativamente, el huésped puede ser portador de una parte del genoma viral, cuya replicación o función pueden estar alteradas por los compuestos de la presente invención. El término "huésped" se refiere específicamente a células infectadas, células transfectadas total o parcialmente con el genoma viral y los animales, en particular, primates (que incluyen, en forma no taxativa, chimpancés) y humanos. En la mayor parte de las aplicaciones de animales de la presente invención, el huésped es un ser humano. Las aplicaciones veterinarias, en determinadas indicaciones, sin embargo, están claramente contempladas por la presente invención (tales como para su uso en el tratamiento de chimpancés).

El término "péptido" se refiere a un compuesto natural o sintético que contiene de dos a cien aminoácidos vinculados por el grupo carboxilo de un aminoácido al grupo amino de otro.

El término "sal o profármaco farmacéuticamente aceptable" se usa en toda la memoria descriptiva para describir cualquier forma farmacéuticamente aceptable (tal como un éster) de compuesto que, cuando se administra a un paciente, provee el compuesto. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas

derivadas de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales adecuadas incluyen aquellas derivadas de metales alcalinos tales como potasio y sodio, metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio, entre otros numerosos ácidos conocidos en el arte farmacéutico.

El término "sal o profármaco farmacéuticamente aceptable" se usa en toda la presente memoria descriptiva para describir todas las formas farmacéuticamente aceptables (tales como un éster) de compuestos que, cuando se administran a un paciente, proveen el compuesto. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales adecuadas incluyen aquellas derivadas de metales alcalinos tales como potasio y sodio, metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio, entre otros numerosos ácidos conocidos en el arte farmacéutico. Los profármacos farmacéuticamente aceptables se refieren a un compuesto que se metaboliza, por ejemplo, se hidroliza o se oxida, en el huésped para formar el compuesto de la presente invención. Algunos ejemplos típicos de profármacos incluyen compuestos que tienen grupos protectores biológicamente lábiles sobre grupos funcionales del compuesto activo. Algunos profármacos incluyen compuestos que se pueden oxidar, reducir, aminor, desaminar, hidroxilar, deshidroxilar, hidrolizar, deshidrolizar, alquilar, desalquilar, acilar, desacilar,

fosforilar, o desfosforilar para producir el compuesto activo. Las formas de profármacos de los compuestos de la presente invención pueden poseer actividad antiviral, se pueden metabolizar y formar un compuesto que presenta dicha actividad, o ambas.

II. Compuestos Activos

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus envuelto, de ADN de doble cadena parcial (ADNds) de la familia de los Hepadnavirus (Hepadnaviridae). Su genoma contiene 4 marcos de lectura superpuestos: el gen de prenúcleo/núcleo; el gen de polimerasa; los genes L, M y S, que codifican las 3 proteínas de la envoltura; y el gen X.

Cuando ocurre la infección, el genoma de ADN de doble cadena parcial (el ADN circular relajado; ADNcr) se convierte en un ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc) en el núcleo de la célula huésped y se transcriben los ARNm virales. Una vez que está envuelto en la cápside, el ARN pregenómico (ARNpg), que también codifica la proteína del núcleo y pol, sirve como la plantilla para la transcripción inversa, que regenera el genoma de ADNds parcial (ADNcr) en la nucleocápside.

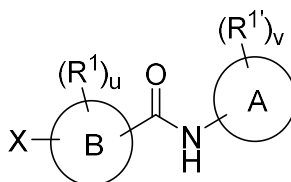
Después de las infecciones por hepatitis B, el ADNccc puede permanecer después del tratamiento clínico de las células hepáticas y se puede reactivar. La cantidad relativa del ADNccc presente es un indicador del tratamiento del VHB (Bourne et al (enero de 2007). "Análisis cuantitativo del ADNccc del VHB a partir de muestras clínicas: la correlación con la respuesta clínica y virológica durante la terapia antiviral". Journal of Hepatitis 14 (1): 56-63).

La cápside es la envoltura de un virus e incluye subunidades estructurales oligoméricas hechas de proteínas denominadas promotores. Las subunidades morfológicas tridimensionales, que se pueden observar, que pueden o no corresponder a proteínas individuales, se denominan capsómeros. La cápside envuelve el material genómico del virus.

In vivo, las cápsides del VHB se ensamblan alrededor de un complejo de ARN-transcriptasa inversa. El ensamblaje de la cápside es necesario para la transcripción inversa del pregenoma de ARN para madurar la forma de ADN. En el VHB, la forma predominante de la cápside está compuesta por 120 copias del dímero de la proteína de la cápside. Aun las mutaciones más modestas de la proteína de la cápside pueden tener efectos dramáticos sobre la viabilidad del virus de la progenie.

La mayor parte de los compuestos descritos en la presente son activos como inhibidores de la cápside. La inhibición del ensamblaje de la cápside puede reducir el ADNccc, el principal depósito para el VHB y también puede reducir los niveles del ADN del VHB, HBeAg y HBsAg.

En una realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(I)

o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

A es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

B es un anillo seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos,

que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C₅₋₁₄,

Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un carbono, son independientemente hidrógeno, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF₃, SF₅, hidroxilo, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxi de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, ciano, alquino de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆;

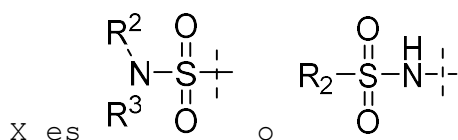
Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un nitrógeno, son, independientemente, hidrógeno, alcoxi de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alqueno de C₂₋₆, alcoxycarbonilo, carbonilalquilo, carbonil arilo, alquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, hidroxialquilo de C₂₋₆, o S(O)₂R' ;

Cada R' es independientemente H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxi de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, alquino de C₂₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo, heteroarilo, alquilarilo, o arilalquilo, o si dos R' están sobre el mismo átomo de nitrógeno, pueden unirse y formar juntos un anillo de C₃₋₆ que opcionalmente contiene un heteroátomo de N, O, o S;

Los grupos de R' opcionalmente se pueden sustituir con uno o más sustituyentes, cuyos sustituyentes son, independientemente, halo, haloalquilo de C₁₋₆, hidroxialquilo de C₁₋₆, hidroxilo, carboxilo, acilo, arilo, aciloxi, amino, amido, derivados de carboxilo, alquilamino, dialquilamino, arilamino,

alcoxi, alcoxialquilo, ariloxi, nitro, ciano, ácido sulfónico, tiol, imina, sulfonilo, sulfanilo, sulfinilo, sulfamonilo, éster, ácido carboxílico, amida, fosfonilo, fosfinilo, fosforilo, fosfina, tioéster, tioéter, haluro de ácido, anhídrido, oxima, hidrocina, carbamato, ácido fosfónico, o fosfonato, sin proteger, o protegidos según sea necesario, como lo saben los expertos en el arte, por ejemplo, como se enseña en Greene, et al., Protective Groups in Organic Synthesis [Grupos Protectores en la Síntesis Orgánica], John Wiley and Sons, Segunda Edición, 1991, que se incorpora por la presente por referencia;

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;



R³ es H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alqueniilo de C₂₋₆, o alquinilo de C₂₋₆,

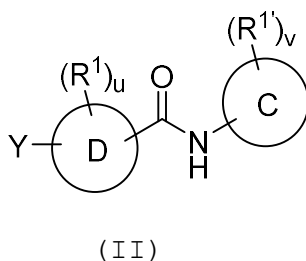
R² es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, alqueniilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, arilo, tal como fenilo, heteroarilo, que incluyen anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos, o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que, independientemente, son N, O, o S, alquillarilo, arilalquilo, un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero,

uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; cicloalquilo, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

R^2 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxicarbonilo, carboxi, C_{1-6} haloalquilo, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está opcionalmente sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} .

R^2 y R^3 pueden unirse juntos con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros, un anillo saturado de 3 a 8 miembros, o un anillo insaturado de 5 miembros; dichos anillos bicíclicos, de puente, saturados e insaturados opcionalmente contienen uno o más heteroátomos adicionales, donde cada uno es, independientemente, O, S o N y opcionalmente se sustituye con uno o más sustituyentes, en donde cada uno es, independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br, I), CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquilino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} .

En una segunda realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



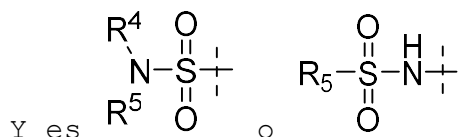
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $R^{1'}$ son los definidos con respecto a la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

C es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilarilo, o alquilheteroarilo;

D es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C₅₋₁₄,



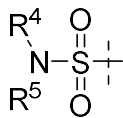
R⁴ es H o alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆; en una realización, R⁴ es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆,

donde, en una realización, si C es fenilo, D no es fenilo o un heteroarilo de anillo de 5 miembros y en otra realización, si C es fenilo y D es fenilo o un heteroarilo de anillo de 5 miembros, entonces R⁵ no es alquilarilo, alquenilo, o un anillo de puente de seis miembros;

R⁵ es alquilarilo, arilalquilo, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, arilo, tal como fenilo, heteroarilo, que incluye anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos, o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros

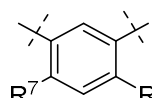
que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que, independientemente, son N, O, o S; y un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; en una realización, R^5 es alquilarilo, arilalquilo, fenilo, un heteroarilo de cinco o seis miembros, o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S;

R^5 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ;

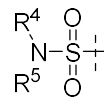


o cuando Y es $\begin{array}{c} \text{R}^4 \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{N} - \text{S}^+ \\ \diagup \quad \parallel \\ \text{R}^5 \quad \text{O} \end{array}$, R^4 y R^5 junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo de 3 a 4 miembros opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente, halógeno (que incluye F, Cl, Br, I), CF_3 , hidroxilo, $\text{N(R')S(O)}_2\text{R'}$, $\text{S(O)}_2\text{R'}$, $\text{S(O)}_2\text{N(R')}_2$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} .

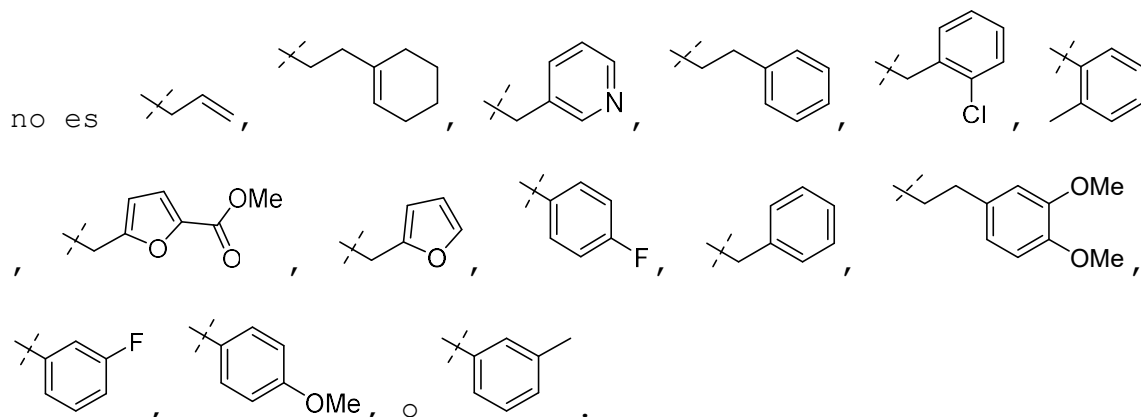
En una realización de los compuestos de la Fórmula II, D es



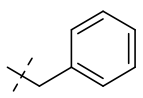
R^7 y R^6 , donde R^6 es H, Cl, F o Br y R^7 es H, metilo, F o Cl.



En un aspecto de la presente realización, cuando Y es $\begin{array}{c} \text{R}^4 \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{N} - \text{S}^+ \\ \diagup \quad \parallel \\ \text{R}^5 \quad \text{O} \end{array}$, R^5



En otro aspecto de la presente realización, cuando R^4 es etilo,

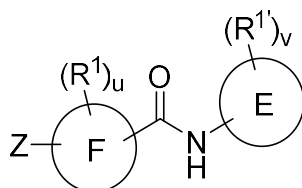
entonces R^5 no es  .

En una realización de los compuestos de la Fórmula II, C es un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C_{4-14} , alquilarilo, o alquilheteroarilo.

En una realización de los compuestos de la Fórmula II, D es un anillo bicíclico de C_{4-14} .

En otra realización de los compuestos de la Fórmula II, R^5 es arilalquilo, alquilarilo de C_{2-6} , arilo, tal como fenilo, heteroarilo, que incluye anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que, independientemente, son N, O o S; y un anillo espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O o S.

En una tercera realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(III)

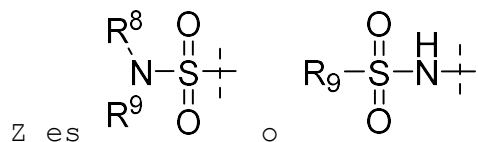
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $R^{1'}$ son lo definido con respecto a la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

E es un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos, en donde cada uno es, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C_{4-14} , alquilheteroarilo, o alquilarilo;

F es un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C_{4-14} ,



R^8 es H, alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , o alquinilo de C_{2-6} ,

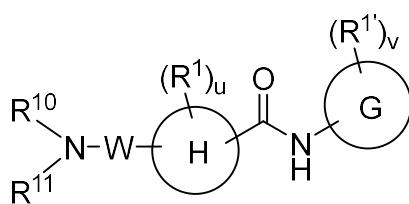
R^9 es alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alcoxialquilo de C_{2-8} , un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-

fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son independientemente N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos, que son independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo de tres miembros;

R^9 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo, arilalcoxycarbonilo, carboxil, haloalquilo de C_{1-6} , heterocicliclalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxil, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ; o

R^8 y R^9 pueden unirse con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros o un anillo saturado de 3 a 8 miembros, dicho grupo anillo bicíclico, de puente o saturado opcionalmente contiene uno o más heteroátomos más que, independientemente, son O, S o N y opcionalmente se sustituyen con uno o más sustituyentes, cada uno es independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterocicliclalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} .

En una cuarta realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(IV)

o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

G es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres

heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

H es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo no aromático de seis miembros que opcionalmente contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; o un anillo bicíclico de C₄₋₁₄;

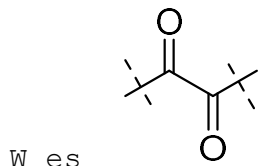
Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un carbono son, independientemente, hidrógeno, halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF₃, hidroxilo, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxi de C₁₋₆, ciano, alquinilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆;

Cuando R¹ y R^{1'} están unidos a un nitrógeno son, independientemente, hidrógeno, alcoxi de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, carbonilalquilo, carbonil arilo, alquilo de C₁₋₆, alquinilo de C₂₋₆, alquenilo de C₂₋₆, heterociclilalquilo, hidroxialquilo de C₁₋₆, o S(O)₂R' ;

Cada R' es independientemente H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxi de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo, heteroarilo, alquilarilo, o arilalquilo, o si dos R' están sobre el mismo átomo de nitrógeno pueden unirse y formar un anillo de alquilo de C₃₋₆ que opcionalmente contiene un N, O, o S; en donde los grupos de R'

se pueden sustituir con uno o más sustituyentes definidos anteriormente, por ejemplo, hidroxialquilo de C₁₋₆, aminoalquilo y alcoxialquilo;

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;



R¹⁰ es H, alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alquenilo de C₂₋₆ o alquinilo de C₂₋₆,

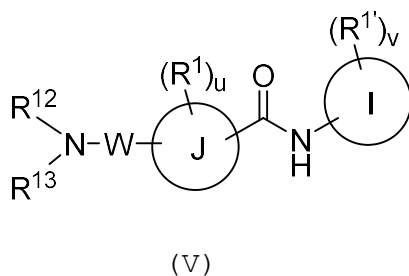
R¹¹ es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, arilo, heteroarilo, alquilarilo, arilalquilo, fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de tres miembros, alquilheteroarilo, o alquilarilo;

en donde R^{11} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , alqueno de C_{2-6} , ciano, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclicilalquilo, hidroxialquilo de C_{1-6} , arilo, arilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ; o

R^{10} y R^{11} pueden unirse junto con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros o un anillo saturado de 3 a 8 miembros; dicho grupo anillo bicíclico, de puente o saturado opcionalmente contiene uno o más heteroátomos adicionales, cada uno de los cuales es, independientemente, O, S o N y opcionalmente están sustituidos con uno o más sustituyentes, cada uno de los cuales es, independientemente halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), CF_3 , SF_5 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquino de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} ,

arilalcoxicarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C₁₋₆.

En una quinta realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

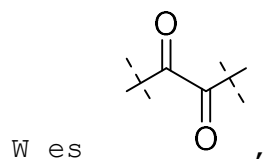
R¹ y R^{1'} son los definidos con respecto a la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

I es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo bicíclico de C₄₋₁₄; alquilheteroarilo, o alquilarilo;

J es a un anillo de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que

son, independientemente, N, O, o S; o un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S,



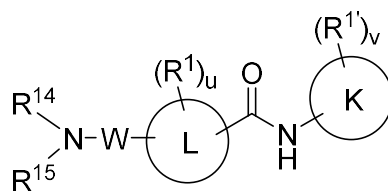
R^{12} es H, alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alqueniilo de C_{2-6} , o alquiniilo de C_{2-6} ,

R^{13} es alqueniilo de C_{2-6} , alquiniilo de C_{2-6} , arilo, que incluye fenilo, heteroarilo, que incluye anillos heteroaromáticos de seis miembros que contienen uno, dos o tres átomos de nitrógeno y anillos heteroaromáticos de cinco miembros que contienen uno, dos o tres heteroátomos, que son, independientemente, N, O, o S; alquilarilo, arilalquilo, un anillo bicíclico de C_{4-14} ; un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S,

R^{13} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno (F, Cl, Br, I), CF_3 , SF_5 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alqueniilo de C_{2-6} , alcoxi alquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo, arilalcoxicarbonilo, carboxilo, haloalquilo, heterociclilalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está opcionalmente sustituido con arilo, arilo sustituido,

o R¹² y R¹³ junto con el nitrógeno al cual están unidos forman un anillo de 3 a 4 miembros opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno (F, Cl, Br, I), CF₃, hidroxilo, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxilo de C₁₋₆, ciano, azido, alquino de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterocicliclalquilo e hidroxialquilo de C₁₋₆.

En una sexta realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(VI)

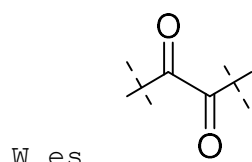
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y $R^{1'}$ son lo definido con respecto a la Fórmula 1,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

K es un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo bicíclico de C_{4-14} , alquilheteroarilo, o alquilarilo;

L es un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, o un anillo bicíclico de C_{4-14} ,



R^{14} es H, alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , o alquinilo de C_{2-6} ,

R^{15} es alquilo de C_{1-6} , haloalquilo de C_{1-6} , alcoxialquilo de C_{2-8} , un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de puente o espiro-fusionado de siete miembros que contiene cero,

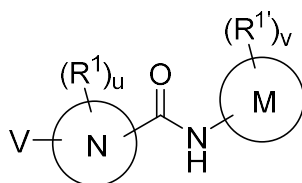
uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S;

R^{15} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que son independientemente halógeno (F, Cl, Br, I), SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , C_{1-6} haloalcoxi, ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo, arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterocicliclalquilo, o hidroxialquilo de C_{1-6} ; o está opcionalmente sustituido con arilo, arilo sustituido, heteroarilo, o heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxilo, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquinilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} ; o

R^{14} y R^{15} pueden unirse junto con el nitrógeno al cual están unidos y formar un anillo bicíclico o de puente de 6-10 miembros o un anillo saturado de 3 a 8 miembros; dicho grupo anillo bicíclico, de puente y saturado opcionalmente contiene uno o más heteroátomos más que son, independientemente, O, S o N y opcionalmente están sustituidos con uno o más sustituyentes,

cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF₅, CF₃, hidroxilo, N(R')S(O)₂R', S(O)₂R', S(O)₂N(R')₂, alcoxi de C₁₋₆, ciano, azido, alquínilo de C₂₋₆, alcoxialquilo de C₃₋₆, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo de C₁₋₆, arilalcoxycarbonilo, carboxi, haloalquilo de C₁₋₆, heterociclilalquilo e hidroxialquilo de C₁₋₆.

En una séptima realización, los compuestos tienen la siguiente fórmula:



(VII)

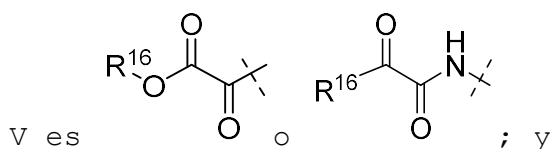
o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R¹ y R^{1'} son lo definido para la Fórmula I,

u y v son independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

M es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo bicíclico de C₄₋₁₄, alquilheteroarilo, o alquilarilo,

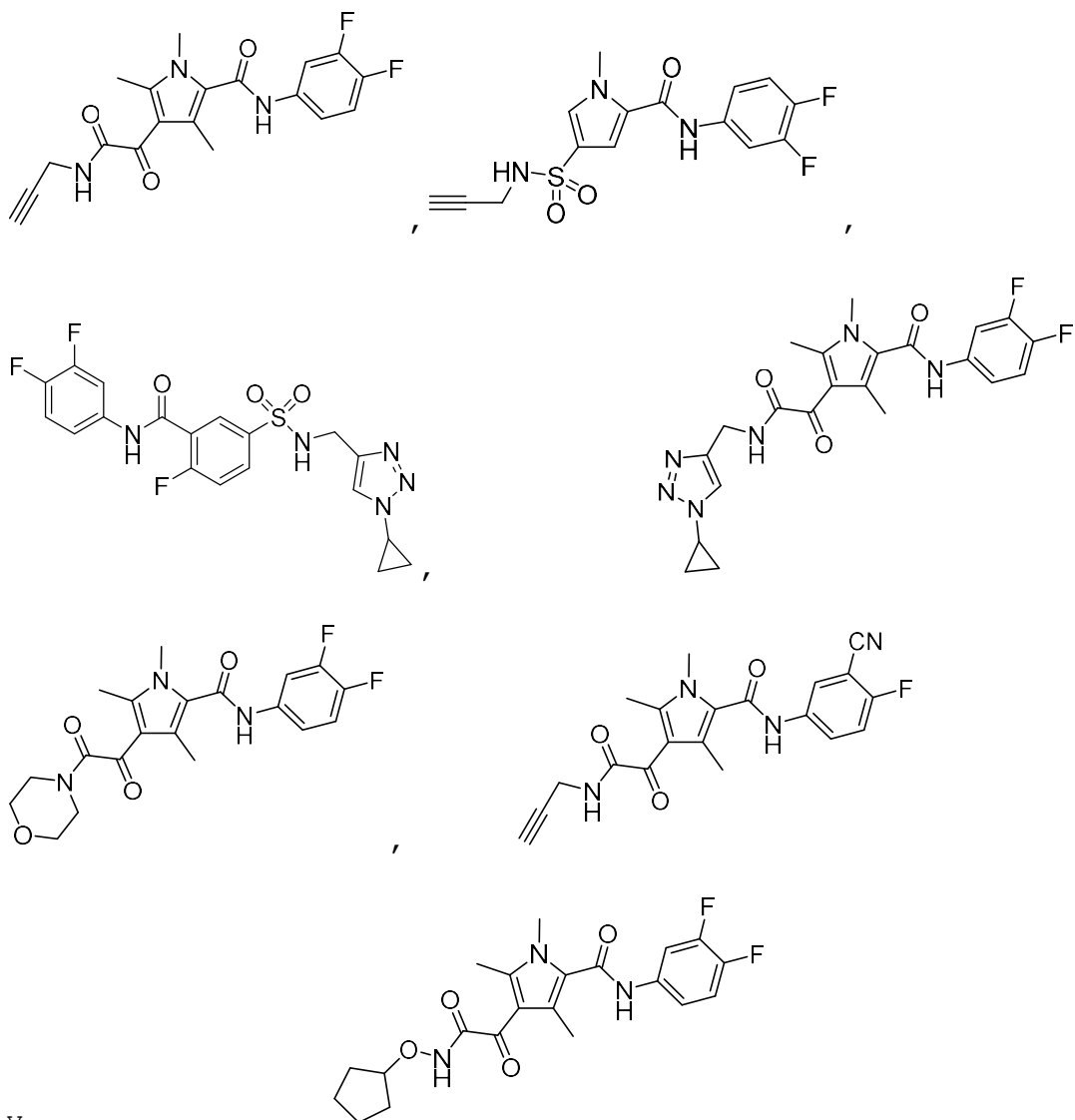
N es fenilo, un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos, o tres átomos de nitrógeno, un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de N, O, o S, un anillo de seis o siete miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis o siete miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; o un anillo bicíclico de C₄₋₁₄,



R¹⁶ es alquilo de C₁₋₆, haloalquilo de C₁₋₆, alcoxialquilo de C₂₋₈, alquenilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, arilo, tal como fenilo, heteroarilo, tal como un anillo heteroaromático de seis miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno o un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene uno, dos, o tres heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de seis miembros o un anillo de puente o espiro-fusionado de seis miembros que contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S, un anillo de cinco miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; un anillo de cuatro miembros que

contiene cero, uno, o dos heteroátomos que son, independientemente, N, O, o S; alquilarilo, arilalquilo, alquilheteroarilo, o alquilarilo, en donde R^{16} está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno (que incluye F, Cl, Br e I), SF_5 , CF_3 , hidroxí, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, alcoxi de C_{1-6} , haloalcoxi de C_{1-6} , alquénilo de C_{2-6} , ciano, alquínilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo, alquilo de C_{1-6} , arilalcoxicarbonilo, carboxi, haloalquilo de C_{1-6} , heterociclilalquilo, hidroxialquilo de C_{1-6} , arilo, arilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido, donde los sustituyentes sobre el arilo sustituido y el heteroarilo sustituido se seleccionan del grupo que consiste en halógeno, SF_5 , CF_3 , hidroxí, $N(R')S(O)_2R'$, $S(O)_2R'$, $S(O)_2N(R')_2$, $C(O)R'$, alcoxi de C_{1-6} , ciano, azido, alquínilo de C_{2-6} , alcoxialquilo de C_{3-6} , alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilalquilo y alquilo de C_{1-6} .

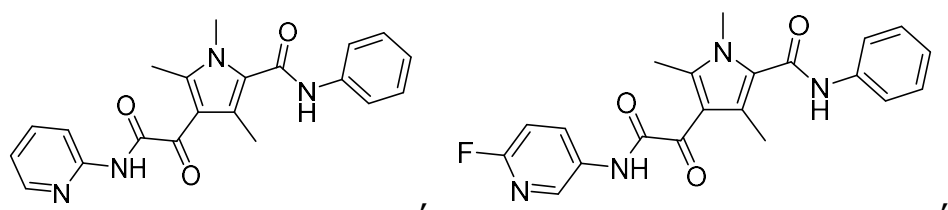
Algunos compuestos representativos que están dentro del alcance de la invención incluyen los siguientes:

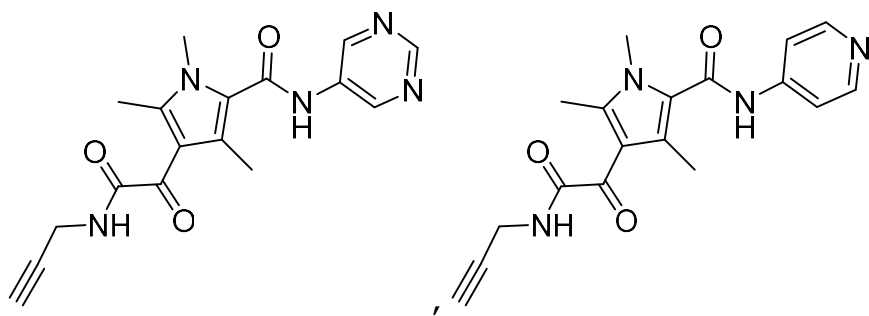
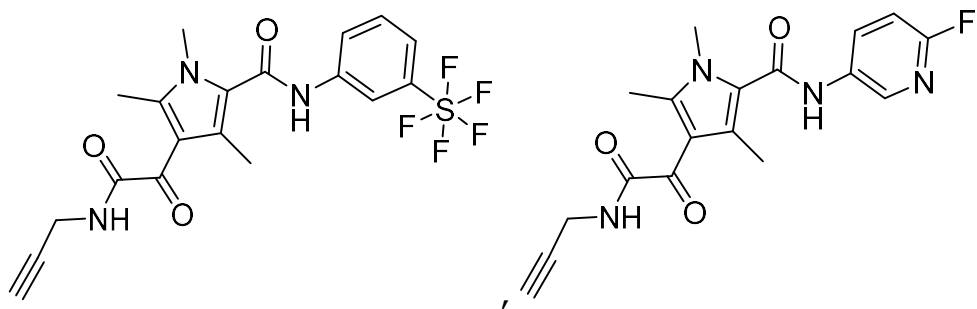
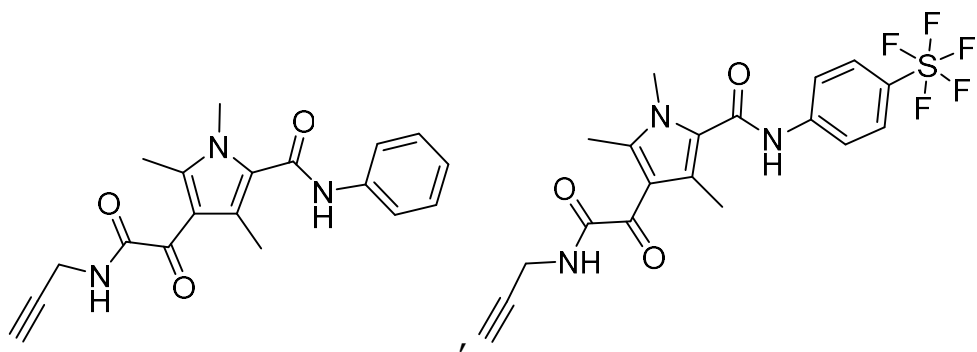
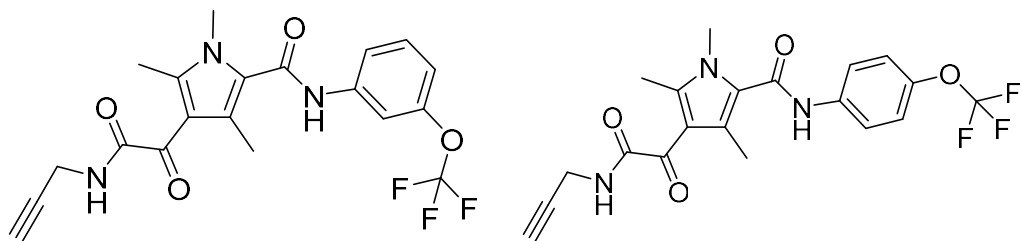


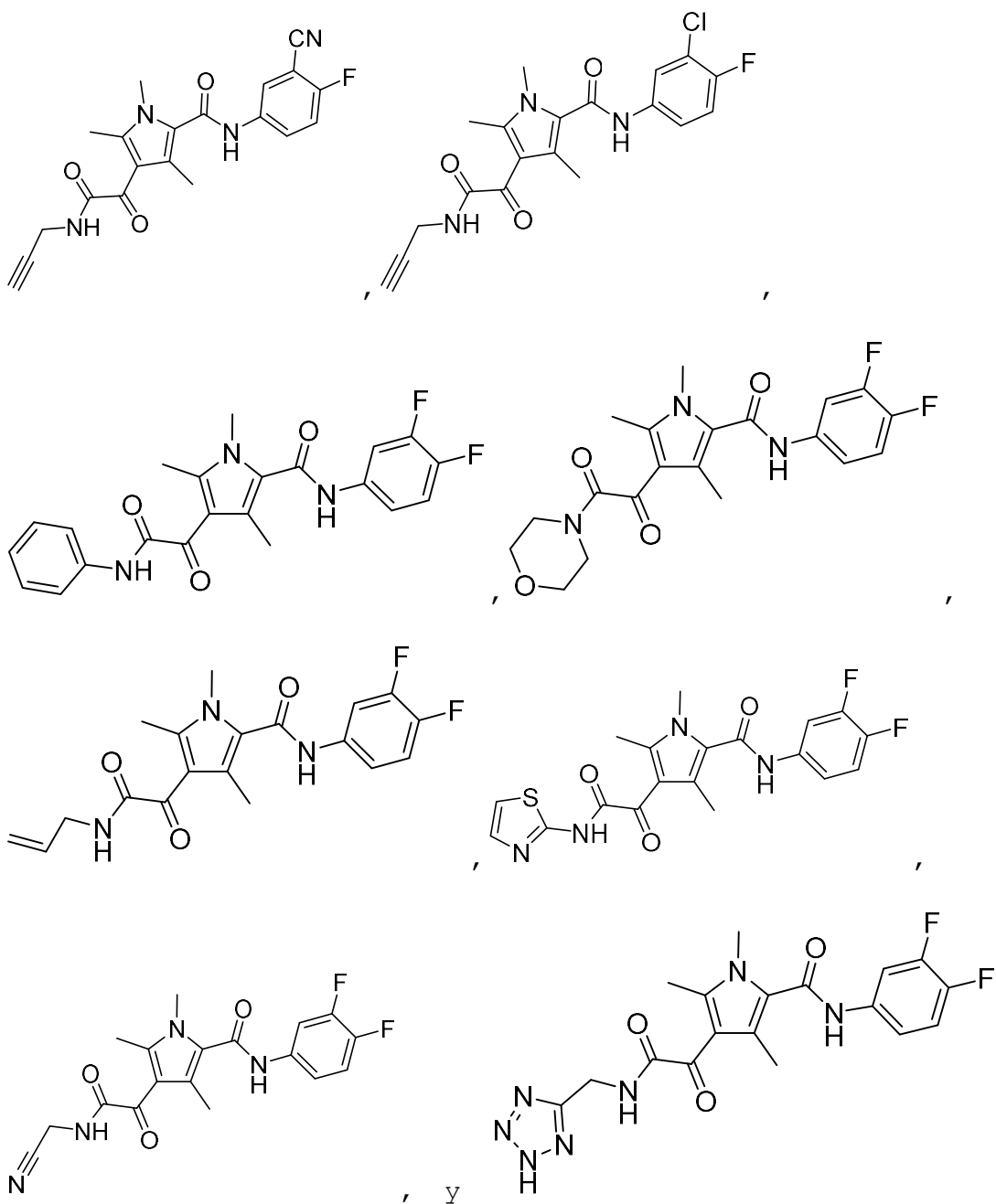
y

y las sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otros compuestos también incluyen

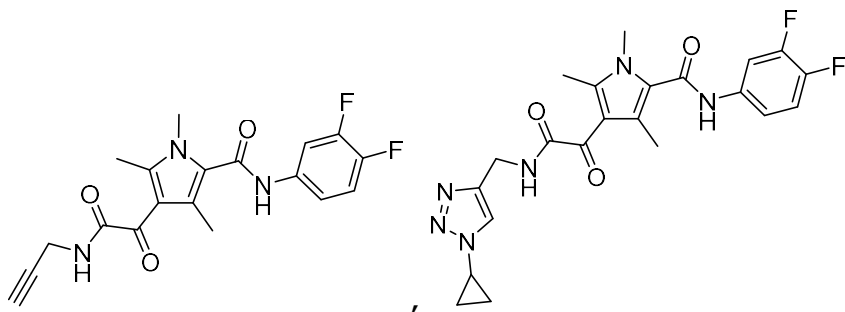






las sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

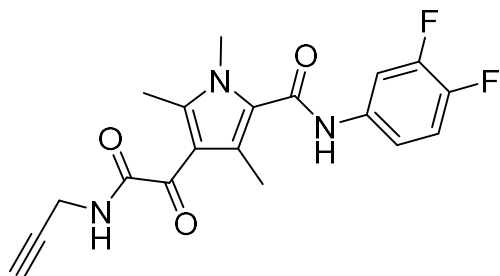
Algunos compuestos particularmente preferidos incluyen:



o una sal o

profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Un compuesto particularmente preferido tiene la fórmula:



, o una sal farmacéuticamente

aceptable del mismo.

III. Estereoisomerismo y Polimorfismo

Los compuestos descritos en la presente pueden tener centros asimétricos y presentarse como racematos, mezclas racémicas, diastereómeros o enantiómeros individuales, con todas las formas isoméricas incluidas en la presente invención. Los compuestos de la presente invención que tienen un centro quiral pueden existir y estar aislados en formas ópticamente activas y racémicas. Algunos compuestos pueden presentar polimorfismo. La presente invención comprende formas racémicas, ópticamente activas,

polimórficas, o estereoisoméricas, o mezclas de las mismas, de un compuesto de la invención, que poseen las propiedades útiles descritas en la presente. las formas ópticamente activas se pueden preparar, por ejemplo, mediante la resolución de la forma racémica mediante técnicas de recristalización, mediante síntesis desde materiales de partida ópticamente activos, mediante síntesis quirál, o mediante separación cromatográfica usando una fase estacionaria quirál o mediante resolución enzimática. Se puede purificar el compuesto respectivo, luego derivar el compuesto y formar los compuestos descritos en la presente, o purificar los propios compuestos.

Las formas ópticamente activas de los compuestos se pueden preparar usando cualquier método conocido en el arte, que incluye en forma no taxativa mediante la resolución de la forma racémica mediante técnicas de recristalización, mediante la síntesis a partir de materiales de partida, mediante síntesis quirál, o mediante la separación cromatográfica usando una fase estacionaria quirál.

Algunos ejemplos de métodos para obtener materiales ópticamente activos incluyen por lo menos los siguientes:

- i) Separación física de cristales: técnica mediante la cual se separan manualmente cristales macroscópicos de los enantiómeros

individuales. Esta técnica se puede usar si existen cristales de los enantiómeros por separado, es decir, el material es un conglomerado y los cristales son visualmente distinguibles;

ii) Cristalización simultánea: técnica mediante la cual los enantiómeros individuales se cristalizan por separado desde una solución del racemato, es posible solamente si este último es un conglomerado en el estado sólido;

iii) Resoluciones enzimáticas: técnica mediante la cual, la separación parcial o completa de un racemato en virtud de los índices diferentes de reacción para los enantiómeros con una enzima;

iv) Síntesis asimétrica enzimática: técnica sintética mediante la cual por lo menos un paso de la síntesis usa una reacción enzimática para obtener un precursor entantioméricamente puro o sintético enriquecido del enantiómero deseado;

v) síntesis asimétrica química: técnica sintética mediante la cual el enantiómero deseado se sintetiza desde un precursor aquiral en condiciones que producen asimetría (es decir, quiralidad) en el producto, que se puede lograr usando catalizadores quirales o auxiliares quirales;

vi) separaciones de diastereómeros: técnica mediante la cual se alcanza un compuesto racémico con un reactivo enantioméricamente

puro (el auxiliar quiral) que convierte los enantiómeros individuales en diastereómeros. Los diastereómeros resultantes luego se separan mediante cromatografía o cristalización en virtud de sus diferencias estructurales ahora más distinguibles y el auxiliar quiral posteriormente se eliminó y se obtuvo el enantiómero deseado;

vii) transformación asimétrica de primero y segundo orden:

técnica mediante la cual los diastereómeros desde el racemato se equilibran y producen una preponderancia en solución del diastereómero desde el enantiómero deseado o donde la cristalización preferencial del diastereómero desde el enantiómero deseado perturba el equilibrio de manera tal que finalmente en principio todo el material se convierta en el diastereómero cristalino desde el enantiómero deseado. El enantiómero deseado luego se libera desde el diastereómero.

viii) Resoluciones cinéticas: esta técnica se refiere a la obtención de la resolución parcial o completa de un racemato (o de otra resolución de un compuesto parcialmente resuelto) en virtud de los índices de reacción desiguales de los enantiómeros con un reactivo o catalizador no racémico, quiral en condiciones cinéticas;

ix) Síntesis enantioespecífica desde precursores no racémicos:

técnica sintética mediante la cual se obtiene el enantiómero

deseado desde los materiales de partida no quirales y donde la integridad estereoquímica no está comprometida o está comprometida sólo mínimamente durante el transcurso de la síntesis;

x) Cromatografía líquida quiral: técnica mediante la cual los enantiómeros de un racemato se separan en una fase móvil líquida en virtud de sus diferentes interacciones con una fase estacionaria (que incluye en forma no taxativa mediante HPLC quiral). Se puede realizar la fase estacionaria del material quiral o la fase móvil puede contener otro material quiral para provocar las diferentes interacciones.

xi) Cromatografía gaseosa quiral: técnica mediante la cual el racemato se volatiliza y los enantiómeros se separan en virtud de las diferentes interacciones en la fase móvil gaseosa con una columna que contiene una fase adsorbente quiral no racémica fija;

xii) Extracción con solventes quirales: técnica mediante la cual los enantiómeros se separan en virtud de la disolución preferencial de un enantiómero en un solvente quiral particular;

xiii) Transporte a través de membranas quirales: técnica mediante la cual se pone un racemato en contacto con una barrera de membrana delgada. La barrera normalmente separa dos fluidos miscibles, uno que contiene el racemato y una fuerza impulsora tal como la concentración o la presión diferencial provocan el

transporte preferencial a través de la barrera de membrana. La separación ocurre como resultado de la naturaleza quiral no racémica de la membrana que permite que la atraviese solamente un enantiómero del racemato.

La cromatografía quiral, que incluye en forma no taxativa, la cromatografía de lecho móvil simulado, se usa en una realización. Está disponible una amplia variedad de fases estacionarias quirales.

VI. Formulaciones de Sales o Profármacos

En los casos en los cuales los compuestos son suficientemente básicos o ácidos para formar sales de ácidos o de bases no tóxicas, la administración del compuesto como una sal farmacéuticamente aceptable puede ser apropiada. Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son de ácidos orgánicos, que forman un anión fisiológico aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato y α -glicerofosfato. También se pueden formar sales inorgánicas adecuadas, que incluyen, en forma no taxativa, sales de sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato. Para determinadas aplicaciones transdérmicas, se puede preferir usar sales de ácidos grasos de los compuestos descritos en la presente. Las sales de ácidos

grasos pueden contribuir a penetrar el estrato córneo. Algunos ejemplos de sales adecuadas incluyen sales de los compuestos con ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido palmítico, ácido caprílico y ácido cáprico.

Se pueden obtener sales farmacéuticamente aceptables usando procedimientos normales conocidos en el arte, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto suficientemente básico tal como una amina con un ácido adecuado, lo cual proporciona un anión fisiológicamente aceptable. En aquellos casos en los cuales un compuesto incluye varios grupos amina, las sales se pueden formar con cualquier número de grupos amina. También se pueden fabricar sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio o litio) o de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio), de ácidos carboxílicos.

Un profármaco es una sustancia farmacológica que se administra en una forma inactiva (o significativamente menos activa) y posteriormente se metaboliza in vivo hacia un metabolito activo. Llevar más fármaco hacia el objetivo deseado a una dosis más baja suele ser la razón de ser del uso de un profármaco y generalmente se atribuye a mejores propiedades de absorción, distribución, metabolismo y/o excreción (ADME). Los profármacos están diseñados para mejorar la biodisponibilidad oral, donde la mala absorción desde el tracto gastrointestinal es el factor

limitante. Además, el uso de una estrategia de profármacos puede aumentar la selectividad del fármaco para su blanco deseado reduciendo así la posibilidad de efectos fuera del rango.

V. Isótopos

Los compuestos descritos en la presente incluyen compuestos marcados isotópicamente, que son idénticos a aquellos recitados en las diversas fórmulas y estructuras que se presentan en la presente, pero por el hecho de que uno o más átomos se reemplacen por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o del número de masa que habitualmente se halla en la naturaleza. En otras realizaciones, hay ejemplos de isótopos que se incorporan en los presentes compuestos que incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor y cloro, tales como, por ejemplo, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , respectivamente. Determinados compuestos marcados en forma isotópica descritos en la presente, por ejemplo, aquellos en los cuales se incorporan isótopos radioactivos tales como ^2H , son útiles en los ensayos de la distribución de fármacos y/o sustratos en el tejido. Además, en algunas realizaciones, la sustitución con isótopos tales como deuterio, es decir, ^2H , puede ofrecer determinadas ventajas terapéuticas que derivan de la mayor estabilidad

metabólica, tales como, por ejemplo, la demanda de semivida in vivo aumentada y de dosificación reducida.

VI. Métodos de Tratamiento

Los compuestos descritos en la presente se pueden usar para la prevención, el tratamiento o la cura de infecciones por el virus de la hepatitis B (VHB) e infecciones por el virus del Nilo Occidental.

Los huéspedes, que incluyen, en forma no taxativa, humanos, que padecen uno de estos cánceres, o infectados con uno de estos virus, tales como el VHB, o un fragmento del gen del mismo, se pueden tratar administrando al paciente al paciente una cantidad efectiva del compuesto activo o un profármaco o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la presencia de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los materiales activos se pueden administrar por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, parenteral, intravenosa, intradérmica, transdérmica, subcutánea, o tópica, en forma líquida o sólida.

Los compuestos y las composiciones que se describen en la presente también se pueden usar para el tratamiento de otras enfermedades virales. Por ejemplo, mediante la cura, el control, o la eliminación de la infección por el VHB, también se puede

suprimir o eliminar la infección por el VHD. Sheldon et al, "Does treatment of hepatitis B virus (HBV) infection reduce hepatitis delta virus (HDV) replication in HIV-HBV-HDV-coinfected patients?" ["¿El tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis B (VHB) reduce la replicación del de la hepatitis delta (VHD) en pacientes infectados conjuntamente por VIH-VHB-VHD]" Antivir Ther. 2008;13(1):97-102).

El virus de la hepatitis delta (VHD) tiene un proceso de replicación único que necesita la infección conjunta con el virus de la hepatitis B (VHB). Si bien se cree que el tratamiento actualmente está limitado a la terapia con interferón, los pacientes que se someten a una terapia exitosa contra el VHB con los compuestos descritos en la presente pueden beneficiarse indirectamente con la supresión de la replicación del VHD. Se puede obtener una reducción significativa y sostenida en el ARN del VHD del suero reduciendo el ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc). El ADNccc del VHB se forma mediante la conversión del ADN circular relajado asociado con la cápside (ADNcr). [Guo et al., "Characterization of the intracellular deproteinized relaxed circular DNA of hepatitis B virus: an intermediate of covalently closed circular DNA formation". ["Caracterización de ADN circular relajado desproteínizado intracelular del virus de la hepatitis B: un compuesto intermedio de la formación del ADN circular covalentemente cerrado"] J

Virol. 81 (22): 12472-12484 (Noviembre de 2007). Por consiguiente, la inhibición de la formación de la cápside usando los compuestos descritos en la presente también puede suprimir o eliminar la replicación del VHD.

Además, existe un subgrupo de pacientes con VHC que también han estado infectados anteriormente con el VHD y el VHD está inactivo en el momento en que se está tratando el VHC. En algunos de estos pacientes, el tratamiento exitoso del VHC (por ejemplo, con Harvoni/Sovaldi) puede reactivar la infección del VHB inactivo. La administración conjunta de los compuestos descritos en la presente, junto con el tratamiento del VHC, puede impedir la reactivación de la infección por el VHB, o tratar la infección por el VHB reactivado.

VII. Combinación de Terapias Alternadas

En una realización, los compuestos de la invención se pueden emplear junto con por lo menos un agente antiviral más, que incluye, en forma no taxativa, inhibidores de la polimerasa, nucleósidos anti-VHB y sus profármacos, el inhibidor de la entrada viral, el inhibidor de la maduración viral, el modulador del ensamblaje de la cápside que se describe en la bibliografía, agentes terapéuticos basados en inmune, inhibidor de la transcriptasa inversa, un agonista de TLR y agentes de un

mecanismo distinguible o desconocido. También se pueden usar en conjunto con enfoques de CRISPR/CAS9 que usan el AAV como el vector de administración humano.

Por ejemplo, cuando se lo usa para el tratamiento o la prevención de la infección por el VHB, el compuesto activo o su profármaco o sal farmacéuticamente aceptable se puede administrar en combinación alternado con otro agente anti-VHB que incluye, en forma no taxativa, aquellos de las fórmulas precedentes. En general, en la terapia de combinación, las dosificaciones efectivas de dos o más agentes se administran juntas, mientras que durante la terapia alternada, una dosificación efectiva de cada uno de los agentes se administra en serie. La dosificación depende de los índices de absorción, inactivación y excreción del fármaco, así como de otros factores conocidos para los expertos en el arte. Se debe señalar que los valores de dosificación también varían con la gravedad de la condición que se ha de aliviar. Además, se debe comprender que, para cualquier sujeto particular, se deben ajustar regímenes y cronogramas de dosificación específicos en el tiempo, según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones.

Algunos ejemplos no taxativos de agentes antivirales que se pueden usar en combinación con los compuestos divulgados en la presente, incluyen aquellos de la siguiente tabla.

Terapias para la Hepatitis B

NOMBRE DE FAMILIA/ FÁRMACO	MECANISMO	COMPANÍA/ ESTADO
Intrón A (Interferón alfa-2b)	Inmunomodulator	Merck, Whitehouse Station, NJ Aprobado
Pegasys (Peginterferón alfa-2a)	Inmunomodulator	Genentech, South San Francisco, CA Aprobado
Epivir-VHB (Lamivudina)	Inhibe la ADN polimerasa viral	GlaxoSmithKline, Philadelphia, PA Aprobada
Hepsera (Adefovir Dipivoxil)	Inhibe la ADN polimerasa viral	Gilead Sciences, Foster City, CA Aprobada
Baraclude (Entecavir)	Inhibe la ADN polimerasa viral	Bristol-Myers Squibb, Princeton, NJ Aprobado

Tyzeka (Telbivudina)	Inhibe la ADN polimerasa viral	Novartis, Suiza Aprobada
Viread (Tenofovir)	Inhibe la ADN polimerasa viral	Gilead Sciences, Foster City, CA Aprobada
Clevudina (L-FMAU)	Inhibe la ADN polimerasa	Bukwang, Corea del Sur Eisai, Japón Aprobada Corea del Sur 2006 (Levovir)
Tenofovir alafenamida (TAF)	Profármaco de Tenofovir	Gilead Sciences, Foster City, CA Fase III
CMX157	Profármaco de Tenofovir	ContraVir Pharmaceuticals, Edison, NJ Fase II
AGX-1009	Profármaco de Tenofovir	Agenix, Australia Fase I, China
Myrcludex B	Inhibidor de la Entrada	Hepatera, Rusia con Myr-GmbH, Alemania Fase II para el VHB y el VHD

ARC520	Silenciador del gen de ARNi	Arrowhead Research, Pasadena, CA Fase II/III
NVR 3-778	Inhibidor de la cápside	Novira Therapeutics, Doylestown, PA Fase IIa
Mesilato de morfotiadina (GLS4)	Inhibidor de la cápside	Sunshine Lake Pharma de HEC, China Fase II
ISIS-HBVRx	Fármaco antisentido	ISIS Pharma (c/ GSK), Carlsbad, CA Fase II
VHB SB 9200	Híbridos de ácido nucleico de moléculas pequeñas o "SMNH"	Spring Bank Pharma, Milford, MA Fase II
Rep 2139-Ca	Inhibidor de la liberación de HBsAg	REPLICor Inc., Canadá Fase II
Bay 41-4109	Inhibidor de la cápside	AiCuris, Alemania Fase I
TKM-VHB	Silenciador del gen de ARN	Tekmira, Canadá Fase I

Alinia (Nitazoxanida)	Molécula pequeña	Romark Labs, Tampa, FL Preclínico
CpAMS	Proteína del núcleo del VHB	Assembly Biosciences, NY, NY Preclínico
ALN-VHB	Silenciador del gen de ARN	Alnylam, Cambridge, MA Preclínico
CPI-431-32	Inhibidor de la ciclofilina	Ciclofilin Pharma, San Diego, CA Preclínico
Hepbarna	Silenciador del gen de ARN	Benitec, Australia Preclínico
OCB-030	Inhibidor de la ciclofilina	Arbutus Biopharma (anteriormente denominada Tekmira), Canadá Preclínica
GS-9620	Agonista de TLR7	Gilead Sciences, Foster City, CA Fase II
RG7795 (anteriormente ANA773)	Agonista de TLR7	Roche, Suiza Fase II

CYT107 (Interleucina 7)	Inmunomodulator	Cytheris, Francia Fase I/IIa
NCT01641536	Vacune terapéutica	Ichor Medical Systems (c/Janssen), San Diego, CA Fase I
TG 1050	Inmunoterapéutico	Transgene, Shanghai Fase I
CYT-003	Agonista de TLR9	Arbutus Biopharma (anteriormente denominada Tekmira), Canadá Preclínico
ARB 1467	TKM-VHB	Arbutus Biopharma (anteriormente denominada Tekmira), Canadá Preclínico
ARB-1468	TKM-VHB	Arbutus Biopharma (anteriormente denominada Tekmira), Canadá Preclínico

Otros tratamientos anti-VHB que pueden usarse en combinación o en forma alternada

Además de los compuestos descritos en la presente, que pueden funcionar inhibiendo el ADNccc y las terapias de combinación descritas anteriormente, que combinan los compuestos descritos en la presente con fármacos anti-VHB aprobados tales como TAF, también se pueden usar enfoques como ARNsi, ARNsh, Talen, Crisper/Cas9 y mir (microARN).

Terapia de ARNip y ARNhc

La terapia de ARNip para el tratamiento del VHB se describe, por ejemplo, en Chen y Mahato, "siRNA Pool Targeting Different Sites of Human Hepatitis B Surface Antigen Efficiently Inhibits HBV Infection"; [Mezcla de ARNip dirigido a diferentes sitios del Antígeno de la superficie de la Hepatitis B humana inhibe eficientemente la infección por el VHB"] J Drug Target. Febrero de 2008; 16(2): 140-148 y Morrissey et al., "Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs", [Actividad anti-VHB in vivo potente y persistente de los ARNip modificados químicamente"], Nature Biotechnology 23, 1002 - 1007 (2005).

El ARNi es un mecanismo silenciador del gen post-transcripcional, específico de la secuencia, disparado por el ARNip sintético de doble cadena o por el ARN de horquilla corta (ARNhc) expresado en forma intracelular desde un vector. Se puede inhibir la replicación y la expresión del VHB mediante la administración de ARNip sintéticos o ARNhc expresados en forma endógena. Véanse, por ejemplo, Giladi et al., "Small interfering RNA inhibits hepatitis B virus replication in mice" ["El ARN de interferencia pequeño inhibe la replicación del virus de la hepatitis B en ratones"], *Mol Ther.* 2003;8(5):769-76; McCaffrey et al., "Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference" [Inhibición del virus de la hepatitis B en ratones mediante la interferencia del ARN"], *Nat Biotechnol.* 2003;21(6):639-44; y Shlomai y Shaul, "Inhibition of hepatitis B virus expression and replication by RNA interference" [Inhibición de la expresión y la replicación del virus de la hepatitis B mediante la interferencia del ARN"], *Hepatology.* 2003;37(4):764-70). El silenciado del gen del VHB puede depender, por ejemplo, de la dosificación y de las secuencias del RNAip y los objetivos para el silenciado del gen incluyen, por ejemplo, la inhibición de la replicación del virus y la supresión de la expresión de HBsAg.

En una realización, se usa una combinación de varis ARNip y/o ARNhc, dirigiendo dos o más de los genes S, C, P y X del VHB. De

esta manera, se puede acceder a varios objetivos para la inhibición de la replicación del VHB y la expresión del gen.

Una vez que se ha identificado un objetivo apropiado, el antígeno de la superficie del virus de la hepatitis B humana (HBsAg) (N° de Acceso del Banco Genético NM_U95551), se pueden diseñar ARNip siguiendo la guía provista por Ambion (http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html) e Invitrogen (<https://rnaidesigner.invitrogen.com/rnaiexpress/design.do>). La especificidad de la secuencia de los ARNip se puede verificar realizando una búsqueda en BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Una vez que se identifican las secuencias del ARNip, se pueden convertir en ARNhc. Para expresar el ARNhc, se pueden construir vectores control, por ejemplo, usando psiSTRIKE®, que es un plásmido que se hizo lineal y contiene un promotor de ARN polimerasa U6. Estos ARNhc contienen dos oligonucleótidos complementarios que se pueden templar y formar el ADN de doble cadena para la ligadura en los sitios correspondientes del vector psiSTRIKE®, bajo un promotor adecuado, tal como el promotor U6, usando una ligasa apropiada, tal como la ADN ligasa T4. Se pueden purificar plásmidos, por ejemplo, usando el Miniestuche de Plásmidos QIAGEN® (QIAGEN, Valencia, CA).

Talens/CRISPR

Como se discute anteriormente, las infecciones virales crónicas por el VHB suelen persistir debido a la presencia de las formas de larga vida del ADN viral en las células infectadas. Las terapias actuales pueden suprimir la replicación viral, pero tienen escaso o ningún efecto sobre las formas de ADN de larga vida, entonces la replicación viral se reanuda tan pronto como se detiene la terapia.

Además de dirigirse hacia formas del ADN de larga vida usando los inhibidores de la cápside descritos en la presente, se pueden usar endonucleasas dirigidas, tales como las endonucleasas direccionales, nucleasas de dedos de zinc (ZFN), nucleasas efectoras de tipo activador de la transcripción (TALEN) y el sistema de CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas e interespaciadas regularmente). El uso de TALEN para dirigirlas al VHB se describe, por ejemplo, en Weber et al., "TALENs Targeting HBV: Designer Endonuclease Therapies for Viral Infections" [TALEN dirigidas al VHB: Terapias de Endonucleasas de Diseñador para infecciones virales"], Molecular Therapy (2013); 21 10, 1819-1820; <http://www.nature.com/mt/journal/v21/n10/full/mt2013208a.html>.

Estas nucleasas funcionan reconociendo específicamente y desdoblado secuencias seleccionadas de ADN, lo cual deriva en la rotura del gen cuando ocurre la reparación imprecisa del ADN. Las TALEN dirigidas al genoma del virus de la hepatitis B (VHB) pueden derivar en mutaciones inducidas por TALEN en el ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc) del VHB de larga duración. La mutación y/o la rotura del ADNccc impide la replicación viral bloqueando la expresión de las proteínas virales funcionales.

CRISPR

Las CRISPR, o repeticiones palindrómicas cortas agrupadas e interespaciadas regularmente, son otra forma de mutar el ADN del VHB, proporcionando la edición del genoma al cual se dirigen. Además de las herramientas de edición programables, tales como las nucleasas de dedos de zinc y las nucleasas efectoras de tipo activador de la transcripción (TALEN) descritas anteriormente, la tecnología de CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas e interespaciadas regularmente)/Cas9 también permite la edición del genoma y permite la dirección genómica específica del sitio en el VHB.

El sistema de CRISPR/Cas tipo II es un sistema de respuesta inmune adaptativa procariota que usa ARN no codificante para

guiar a la nucleasa Cas9 para inducir el desdoblamiento del ADN específico del sitio. Este daño del ADN se repara mediante mecanismos de reparación del ADN celular, a través de la vía de reparación del ADN de unión de extremos no homólogos (NHEJ, por su sigla en inglés) o la vía de reparación directa por homología (HDR, por su sigla en inglés).

El sistema de CRISPR/Cas9 provee un método de ARN programable, simple para generar eliminaciones (mediante inserción/eliminación) o golpes a genes (mediante HDR) y permite la dirección genómica específica del sitio en el VHB. El sistema de CRIPR/Cas tipo II es un sistema de respuesta inmune adaptativa procariota que usa ARN no codificantes para guiar a la nucleasa Cas9 para inducir el desdoblamiento del ADN específico del sitio.

Para crear las roturas de genes, se genera un ARN guía único (ARNgu) para dirigir la nucleasa Cas9 a una ubicación genómica específica. Las roturas de la doble cadena inducida por Cas9 se reparan a través de la vía de reparación del ADN de NHEJ. La reparación es propensa a errores y por lo tanto se pueden introducir inserciones y eliminaciones (INDEL) que pueden interrumpir la función del gen.

Por lo tanto, la dirección hacia el ADNccc del virus de la hepatitis B usando una nucleasa CRISPR/Cas9 puede inhibir eficientemente la replicación viral.

Mir/MicroARN

Los MicroARN (miARN) son ARN no codificantes muy pequeños que regulan la expresión de genes principalmente al nivel post-transcripcional mediante la unión a ARNm. Los miARN contribuyen a una variedad de procesos fisiológicos y patológicos. Se ha descubierto que numerosos miARN no cumplen una función pivotal en la interacción entre el huésped y el VHB. La infección por el VHB puede cambiar los patrones de expresión de miARN celulares y diferentes etapas de la enfermedad asociada con el VHB han presentado perfiles de miARN distinguibles. Los miARN expresados en forma diferente están involucrados en la progresión de enfermedades relacionadas con el VHB. Por ejemplo, algunos miARN están involucrados en la génesis tumoral y la metástasis tumoral hepática. El miARN en circulación en el suero o en el plasma puede ser un biomarcador muy útil para el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades relacionadas con el VHB. Además, la terapia basada en miARN se puede usar para el tratamiento, la prevención o la cura de enfermedades relacionadas con el VHB. Véase, por ejemplo, Ying-Feng Wei, "MicroRNAs may solve the mystery of chronic hepatitis B virus infection" ["Los microARN

pueden resolver el misterio de la infección crónica por el virus de la hepatitis B"] , World J Gastroenterol. 14 de agosto de 2013; 19(30): 4867-4876.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3740416>.

En la interacción entre el virus y el huésped, los miARN se pueden dividir en miARN celulares y miARN virales. Los perfiles de expresión de los miARN celulares cambian en el estado infectado y los miARN anormales suelen estar estrechamente relacionados con el ciclo de vida viral así como el trastorno del huésped. Los miARN virales pueden evolucionar para regular la expresión del gen viral y celular.

Algunas veces, los virus explotan miARN celulares para facilitar determinados pasos de su ciclo de vida. Por ejemplo, miR-122 cumple una función antiviral en el ciclo de vida del VHB. La sobreexpresión de miR-122 inhibe la expresión del VHB, mientras que el agotamiento de miR-122 endógeno, deriva en la producción aumentada de VHB en células transfectadas. Los inhibidores de miR-122 provocan un aumento en la hemo oxigenasa 1 celular, lo cual puede reducir los niveles del ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc) del VHB reduciendo la estabilidad de la proteína del núcleo del VHB. La expresión de miR-122 en el hígado se puede regular en forma descendente de manera significativa en pacientes infectados por el VHB en comparación con controles

sanos. El miR-122 se regula en forma ascendente de manera significativa en pacientes infectados por el VHB y puede inhibir la replicación del VHB en las células Huh7 y HepG2. La ciclina G1 es un objetivo de miR-122 que interactúa específicamente con P53, lo cual deriva en la unión específica de p53 con elementos mejoradores del VHB y la anulación simultánea de la inhibición mediada por p53 de la transcripción del VHB.

El VHB es un virus no citopático que se replica preferentemente en los hepatocitos. El ADNccc sirve como una plantilla para la transcripción de todo el ARN viral que se sintetiza después de que el ADN del VHB ingresa en el núcleo del hepatocito. El genoma del VHB tiene 3,2 kb de longitud y contiene cuatro marcos de lectura abiertos superpuestos. Puede transcribir el ARN pregenómico viral que invierte la transcripción para sintetizar el genoma del ADN viral y codificar el antígeno de la superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), la proteína del núcleo del virus de la hepatitis B, la ADN polimerasa inversa viral (Pol) y la proteína X.

Hsa-miR-125a-5p interfiere con la traslación del VHB y regula en forma descendente la expresión del antígeno de la superficie del VHB. Por consiguiente, los miARN celulares también pueden alterar la expresión del gen del VHB dirigiéndose a las transcripciones del VHB.

Los miARN celulares pueden afectar la traslación viral y cambiar la replicación viral. Además del caso de la inhibición de miR-122 de la replicación del VHB, existen otros ejemplos en los cuales los miARN del huésped alteran la replicación del VHB. MiR-141 suprime la replicación del VHB reduciendo las actividades de los promotores del VHB, regulando en forma descendente el receptor alfa activado por el proliferador de peroxisomas. La hipermetilación del ADN puede estar estrechamente relacionada con la supresión de la transcripción del ADNccc del VHB y miR-152 puede ser un factor involucrado en la regulación de la metilación del ADNccc del VHB.

Por consiguiente, los miARN pueden alterar directa o indirectamente la replicación del VHB. La estrecha relación entre los miARN y las enfermedades relacionadas con el VHB ofrece la oportunidad de usar miARN o antagomir en las terapias de combinación para el tratamiento, la cura o la prevención del VHB.

VIII. Composiciones Farmacéuticas

Se puede tratar a los huéspedes, que incluyen en forma no taxativa, los humanos, infectados con el VHB, administrando al paciente una cantidad efectiva del compuesto activo o un

profármaco o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la presencia de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los materiales activos se pueden administrar por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, parenteral, intravenosa, intradérmica, subcutánea o tópica, en forma líquida o sólida.

Una dosis preferida del compuesto está en el rango de entre 0,01 y 10 mg/kg, más generalmente, entre 0,1 y 5 mg/kg y, preferentemente entre 0,5 y 2 mg/kg, del peso corporal del destinatario por día. El rango de dosificación efectivo de las sales y profármacos farmacéuticamente aceptables se pueden calcular basado en el peso del compuesto parental que se debe administrar. Si la sal o el profármaco presenta actividad en sí, la dosificación efectiva se puede estimar como anteriormente usando el peso de la sal o del profármaco, o por otros medios conocidos para los expertos en el arte.

El compuesto se administra convenientemente en cualquier forma de dosificación unitaria adecuada, que incluye en forma no taxativa una que contiene de 7 a 600 mg, preferentemente de 70 a 600 mg del ingrediente activo por cada forma de dosificación unitaria. Una dosificación oral de 1-400 mg habitualmente es conveniente.

La concentración del compuesto activo en la composición farmacológica depende de los índices de absorción, inactivación y excreción del fármaco, así como otros factores conocidos para los expertos en el arte. Se debe señalar que los valores de la dosificación también varían según la gravedad de la condición que se ha de aliviar. También se debe comprender que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar en el tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones y que los rangos de la concentración expuestos en la presente son solamente ejemplos y no están destinados a limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada. El ingrediente activo se puede administrar una vez, o se puede dividir en un número de dosis más pequeñas que se han de administrar con intervalos de tiempo variables.

Una forma de administración preferida del compuesto activo es la oral, aunque para determinados pacientes, una forma inyectable estéril se puede administrar por vía subcutánea, intraperitoneal o intravenosa. Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un portador comestible. Se las puede encerrar en cápsulas de gelatina o comprimir en tabletas. Con el propósito de la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes y se puede usar en la forma de

tabletas, pedacitos o cápsulas. Los agentes ligantes farmacéuticamente compatibles y/o los materiales coadyuvantes pueden estar incluidos como parte de la composición.

Las tabletas, pastillas, cápsulas, pedacitos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un ligante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrador tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo, o saborizante de naranja. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener, además del material del tipo precedente, un portador líquido tal como un aceite graso. Además, algunas formas de dosificación unitarias pueden contener otros diversos materiales que modifican la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, revestimientos de azúcar, goma laca, u otros agentes entéricos.

El compuesto se puede administrar como un componente de un elixir, una suspensión, un jarabe, una oblea, un chicle o similar. Un jarabe puede contener, además del compuesto(s)

activo, sacarosa como un agente edulcorante y determinados conservantes, tinturas y colorantes y saborizantes.

El compuesto o un profármaco o sal farmacéuticamente aceptable también se puede mezclar con otros materiales activos que no deterioran la acción deseada, o con materiales que complementan la acción deseada, tales como antibióticos, antimicóticos, antiinflamatorios u otros compuestos antivirales. Las soluciones o suspensiones usadas para la aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea, o tópica pueden incluir los siguientes componentes, un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos, antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de tonicidad, tal como cloruro de sodio o dextrosa. La preparación parenteral se puede encerrar en ampollas, jeringas disponibles o varios frascos de dosis hechos de vidrio o de plástico.

Si se administra por vía intravenosa, algunos portadores preferidos son solución salina fisiológica o solución salina con tampón de fosfato (PBS).

Formulaciones Transdérmicas

En algunas realizaciones, las composiciones están presentes en la forma de formulaciones transdérmicas, tales como aquella usada en el agonista aprobado por la FDA rotigitina transdérmica (parche Neupro). Otra formulación adecuada se describe en la Publicación Estadounidense N° 20080050424, titulada "Sistema Terapéutico Transdérmico para el tratamiento del Parkinsonismo". Esta formulación incluye una silicona o un adhesivo basado en acrilato y puede incluir un aditivo que tiene solubilidad aumentada para la sustancia activa, en una cantidad efectiva para aumentar la capacidad de disolución de la matriz para la sustancia activa.

Las formulaciones transdérmicas pueden ser matrices de fase simple que incluyen una capa de respaldo, una matriz autoadhesiva que contiene una sustancia activa y una película protectora que se debe eliminar antes de usarla. Algunas realizaciones más complicadas contienen matrices de múltiples capas que también pueden contener capas no adhesivas y membranas control. Si se usa un adhesivo basado en poliacrilato, se puede reticular con iones de metales multivalentes tales como iones de zinc, calcio, aluminio, o titanio, tales como acetilacetato de aluminio y acetilacetato de titanio.

Cuando se usan adhesivos de silicona, normalmente existen polidimetilsiloxanos. Sin embargo, otros residuos orgánicos tales como, por ejemplo, los grupos etilo o grupos fenilo en principio pueden estar presentes en lugar de los grupos metilo. Como los compuestos activos son aminas, puede ser ventajoso usar adhesivos resistentes a las aminas. Algunos adhesivos resistentes a las aminas se describen, por ejemplo, en EP 0180377.

Algunos adhesivos basados en acrilato representativos incluyen ácido acrílico, acrilamida, acrilato de hexilo, acrilato de 2-etilhexilo, acrilato de hidroxietilo, acrilato de octilo, acrilato de butilo, acrilato de metilo, acrilato de glicidilo, ácido metacrílico, metacrilamida, metacrilato de hexilo, metacrilato de 2-etilhexilo, metacrilato de octilo, metacrilato de metilo, metacrilato de glicidilo, acetato de vinilo, vinilpirrolidona y combinaciones de los mismos.

El adhesivo debe tener una capacidad de disolución para la sustancia activa y la sustancia activa debe poder moverse dentro de la matriz y poder atravesar la superficie de contacto hacia la piel. Los expertos en el arte pueden formular fácilmente una formulación transdérmica con el transporte transdérmico apropiado de la sustancia activa.

Determinadas sales farmacéuticamente aceptables tienden a ser más preferidas para su uso en formulaciones transdérmicas, porque pueden ayudar a la sustancia activa a atravesar la barrera del estrato córneo. Algunos ejemplos incluyen sales de ácidos grasos, tales como sales de ácido esteárico y de ácido oleico. Las sales de oleato y de estearato son relativamente lipófilas e inclusive pueden actuar como un mejorador de la penetración de la piel.

También se pueden usar mejoradores de la penetración. Los mejoradores de la penetración representativos incluyen alcoholes grasos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, amidas de ácidos grasos, glicerol o sus ésteres de ácidos grasos, N-metilpirrolidona, terpenos tales como limoneno, alfa-pineno, alfa-terpineol, carvona, carveol, óxido de limoneno, óxido de pineno y 1,8-eucaliptol.

Los parches generalmente se pueden preparar disolviendo o suspendiendo el agente activo o en otro solvente orgánico adecuado, luego se puede agregar la solución adhesiva con agitación. Se pueden agregar otras sustancias auxiliares a la solución adhesiva, la solución de la sustancia activa o a la solución adhesiva que contiene la sustancia activa. La solución luego puede revestir una hoja adecuada, los solventes se pueden

eliminar, se puede laminar una capa de respaldo sobre la capa de la matriz y se pueden punzar parches del laminado total.

Composiciones nanoparticuladas

Los compuestos descritos en la presente también se pueden administrar en la forma de composiciones nanoparticuladas.

En una realización, las formulaciones nanoparticuladas de liberación controlada comprenden un agente activo nanoparticulado que se debe administrar y un polímero de control de la velocidad que funciona para prolongar la liberación del agente después de la administración. En la presente realización, las composiciones pueden liberar el agente activo, después de la administración, durante un período de tiempo de 2 a 24 horas o hasta 3 días o más. Algunas formulaciones de liberación controlada representativas que incluyen una forma nanoparticulada del agente activo se describen, por ejemplo, en la Patente Estadounidense N° 8.293.277.

Las composiciones nanoparticuladas comprenden partículas de los agentes activos descritos en la presente, que tienen un estabilizador de la superficie no reticulado adsorbido sobre, o asociado con, su superficie.

El tamaño promedio de las partículas de los nanoparticulados normalmente es menor de 800 nm, más normalmente menor de 600 nm, aún más normalmente menor de 400 nm, menor de 300 nm, menor de 250 nm, menor de 100 nm, o menor de 50 nm. En un aspecto de la presente realización, por lo menos un 50% de las partículas del agente activo tiene un tamaño promedio de las partículas menor de 800, 600, 400, 300, 250, 100, o 50 nm, respectivamente, cuando se mide mediante técnicas de dispersión de luz.

Una variedad de estabilizadores de la superficie normalmente se usa con composiciones nanoparticuladas para impedir que las partículas formen se amasen o se acumulen. Algunos estabilizadores representativos incluyen, en forma no taxativa, gelatina, lecitina, dextrano, goma de acacia, colesterol, tragacanto, ácido esteárico, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, glicerol monoestearato, alcohol cetoestearílico, cera emulsionante cetomacrogol, ésteres de sorbitano, éteres de alquilo de polioxietileno, derivados de aceite de castor de polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de sorbitano de polioxietileno, polietilenglicoles, estearatos de polioxietileno, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetil-celulosa, celulosa no cristalina, silicato de

magnesio y aluminio, trietanolamina, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, tiloxapol, poloxámeros, poloxaminas, poloxamina 908, ésteres de dialquilo del ácido sulfosuccínico de sodio, sulfato de laurilo de sodio, un sulfonato de poliéter de alquil arilo, una mezcla de estearato de sacarosa y diestearato de sacarosa, p-isononilfenoxipoli-(glicidol), SA90HCO, decanoil-N-metilglucamida, n-decil -D-glucopiranosido, n-decil-D-maltopiranosido, n-dodecil-D-glucopiranosido, n-dodecil-D-maltósido, heptanoil-N-metilglucamida, n-heptil-D-glucopiranosido, n-heptil-D-tioglucoído, n-hexil-D-glucopiranosido, nonanoil-N-metilglucamida, n-nonil-D-glucopiranosido, octanoil-N-metilglucamida, n-octil-D-glucopiranosido y octil-D-tioglucoipiranosido. También se pueden usar lisozimas como estabilizadores de la superficie para composiciones nanoparticuladas. Determinadas nanopartículas tales como nanopartículas basadas en poli(ácido láctico con glicólico) (PLGA) son conocidas para dirigirse al hígado cuando se administran por vía intravenosa (IV) o subcutánea (SC).

Como el VHB provoca daños y están presentes en el hígado, en una realización, las nanopartículas u otros excipientes para la administración de fármacos están dirigidas al hígado. Uno de dichos tipos de excipiente para la administración de fármacos dirigidos al hígado se describe en Park, et al., Mol Imaging. febrero de 2011; 10(1): 69-77 y usa Glipicano 3 (GPC3) como un

objetivo molecular. Park enseñó el uso de este objetivo para el carcinoma hepatocelular (HCC), un cáncer hepático primario frecuentemente provocado por la hepatitis persistente crónica.

En un aspecto de la presente realización, el presente excipiente para la administración de fármacos también se usa para dirigir la terapéutica al hígado para tratar infecciones virales. Además, dado que los compuestos descritos en la presente tienen usos anticáncer directos, este tipo de sistema puede dirigir los compuestos al hígado y tratar cánceres hepáticos o revertir el cáncer. El GPC3 es un proteoglicano de sulfato de heparán que no se expresa en los tejidos de adultos normales, pero se sobreexpresan significativamente en hasta el 80% de los HCC humanos. El GPC3 se puede dirigir, por ejemplo, usando la dirección y unión mediada por anticuerpos (Véase Hsu, et al., Cancer Res. 1997; 57:5179-84).

Otro tipo del sistema de administración de fármacos para la dirección al hígado se describe en la Patente Estadounidense N° 7.304.045. La patente '045 divulga un sistema dirigido a tumores o cánceres de dos partículas, que incluye una primera nanopartícula de dirección mediada por el ligando conjugada con galactosamina, donde el ligando está sobre una célula objetivo. La primera nanopartícula incluye copolímeros de bloques de poli(ácido (γ -glutámico)/poli(lactida) y un compuesto antiviral,

que en este caso es un compuesto descrito en la presente y en la patente '045, fue ganciclovir. Una segunda nanopartícula incluye copolímeros de bloques de poli(ácido (γ-glutámico)/poli(lactida), un promotor específico de las células endoteliales y un plásmido construido con el gen de (virus del herpes simple)-(timidina quinasa) y provee permeabilidad y dirección mediada por la retención mejoradas. La primera y dicha segunda nanopartícula se mezclan en una solución configurada para la administración al hígado. Cuando el trastorno que se debe tratar es un tumor o cáncer hepático, la administración puede estar directamente, o adyacente al tumor o cáncer hepático.

Algunos polímeros para el control de la velocidad representativos en los cuales se pueden formular las nanopartículas, incluyen quitosano, óxido de polietileno (PEO), ftalato de acetato de polivinilo, goma arábiga, agar, goma guar, gomas cereal, dextrano, caseína, gelatina, pectina, ceras de carragenina, laca, aceites vegetales hidrogenados, polivinilpirrolidona, hidroxipropil celulosa (HPC), h hidroxietil celulosa (HEC), hidroxipropil metilceluosa (HPMC), carboximetilcelulosa de sodio (CMC), polióxido (de etileno), alquil celulosa, etil celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa, derivados de celulosa hidrófila, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, acetato de celulosa, butirato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, trimelitato de

acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetil celulosa, succinato de acetato de hidroxipropilmetil celulosa, polivinil acetaldietilamino acetato, poli(alquilmecacrilato), poli(vinil acetato), polímeros derivados de ácido acrílico o metacrílico y sus respectivos ésteres y copolímeros derivados de ácido acrílico o metacrílico y sus respectivos ésteres.

Algunos métodos para fabricar composiciones de nanoparticulados se describen, por ejemplo, en las Patentes Estadounidenses N° 5.518.187 y 5.862.999, ambas para "Método para moler sustancias farmacéuticas"; Patente Estadounidense N° 5.718.388, para "Método continuo para moler sustancias farmacéuticas" y la Patente Estadounidense N° 5.510.118 para "Proceso para Preparar composiciones terapéuticas que contienen nanopartículas".

También se describen composiciones de nanoparticulados, por ejemplo, en la Patente Estadounidense N° 5.298.262 para "Uso de modificadores del punto de turbidez iónico para prevenir la acumulación de partículas durante la esterilización", en la Patente Estadounidense N° 5.302.401 para "Método para reducir el crecimiento del tamaño de las partículas durante la liofilización", en la Patente Estadounidense N° 5.338.767 para "Comparaciones de contraste de rayos X útiles en imágenes médicas", en la patente estadounidense N° 5.326.552 para

"Formulación novedosa para agentes de contraste de mezclas de sangre de rayos X de nanoparticulados usando surfactantes no iónicos de bajo peso molecular", en la patente estadounidense N° 5.328.404 para "Método de imágenes de rayos X usando propanodioatos aromáticos yodados", en la patente estadounidense N° 5.336.507 para "Uso de fosfolípidos cargados para reducir la acumulación de nanopartículas", en la patente estadounidense N° 5.340.564 para "Formulaciones que comprenden Olin 10-G para prevenir la acumulación de partículas y aumentar la estabilidad", en la patente estadounidense N° 5.346.702 para "Uso de modificadores del punto de turbiedad no iónico para minimizar la acumulación de nanoparticulados durante la esterilización", en la patente estadounidense N° 5.349.957 para "Preparación y propiedades magnéticas de partículas de dextrano magnéticas muy pequeñas", en la patente estadounidense N° 5.352.459 para "Uso de modificadores de la superficie purificados para prevenir la acumulación de partículas durante la esterilización", en las patentes estadounidenses N° 5.399.363 y 5.494.683, ambas para "Nanopartículas anticáncer de superficie modificada", en la patente estadounidense N° 5.401.492 para "Partículas de manganeso no magnéticas insolubles en agua como agentes para el mejoramiento de la resonancia magnética", en la patente estadounidense N° 5.429.824 para "Uso de Tiloxapol como un estabilizador de nanoparticulados", en la patente estadounidense N° 5.447.710 para "Método para fabricar agentes

de contraste de mezcla de sangre de rayos X de nanoparticulados usando surfactantes no iónicos de alto peso molecular", en la patente estadounidense N° 5.451.393 para "Composiciones de contraste de rayos X útiles en imágenes médicas", en la patente estadounidense N° 5.466.440 para "Formulaciones de agentes de contraste de rayos X de diagnóstico gastrointestinales orales en combinación con arcillas farmacéuticamente aceptables", en la patente estadounidense N° 5.470.583 para "Método para preparar composiciones de nanopartículas que contienen fosfolípidos cargados para reducir la acumulación", en la patente estadounidense N° 5.472.683 para "Anhídridos carbámicos mezclados de diagnóstico nanoparticulados como agentes de contraste de rayos X para mezcla de sangre e imágenes del sistema linfático", en la patente estadounidense N° 5.500.204 para "Dímeros de diagnóstico nanoparticulados como agentes de contraste de rayos X para mezcla de sangre e imágenes del sistema linfático", en la patente estadounidense N° 5.518.738 para "Formulaciones de NSAID Nanoparticulado", en la patente estadounidense N° 5.521.218 para "Derivados de yododipamida nanoparticulada para el uso como agentes de contraste de rayos X", en la patente estadounidense N° 5.525.328 para "Agentes de contraste de rayos X basados en diatrizoxi éster de diagnóstico nanoparticulado para mezcla de sangre e imágenes del sistema linfático", en la patente estadounidense N° 5.543.133 para "Proceso para preparar composiciones de contraste de rayos X que

contienen nanopartículas", en la patente estadounidense N° 5.552.160 para "Nanopartículas de NSAID de superficie modificada", en la patente estadounidense N° 5.560.931 para "Formulaciones de compuestos como dispersiones de nanoparticulados en aceites dispersables o ácidos grasos", en la patente estadounidense N° 5.565.188 para "Copolímeros de bloques de polialquileno como modificadores de la superficie para nanopartículas", en la patente estadounidense N° 5.569.448 para "Surfactante de copolímero de bloques no iónico sulfatado como revestimientos estabilizadores para composiciones de nanopartículas", en la patente estadounidense N° 5.571.536 para "Formulaciones de compuestos como dispersiones de nanoparticulados en aceites o ácidos grasos digeribles", en la patente estadounidense N° 5.573.749 para "Anhídridos carboxílicos mezclados de diagnóstico nanoparticulados como agentes de contraste de rayos X para mezcla de sangre e imágenes del sistema linfático", en la patente estadounidense N° 5.573.750 para "Agentes de contraste de rayos X de imágenes de diagnóstico", en la patente estadounidense N° 5.573.783 para "Matrices de películas nanoparticuladas dispersables nuevamente con recubrimientos protectores", en la patente estadounidense N° 5.580.579 para "Adhesión específica del sitio dentro del tracto gastrointestinal usando nanopartículas estabilizadas por polímeros de poli(óxidos de etileno) lineales, de alto peso molecular", en la patente estadounidense N° 5.585.108 para

"Formulaciones de agentes terapéuticos gastrointestinales orales en combinación con arcillas farmacéuticamente aceptables", en la patente estadounidense N° 5.587.143 para "Surfactantes de copolímeros de bloques de óxido de butileno y óxido de etileno como recubrimientos estabilizadores para composiciones de nanoparticulados", en la patente estadounidense N° 5.591.456 para "Naproxeno molido con hidroxipropil celulosa como estabilizador de dispersión", en la patente estadounidense N° 5.593.657 para "Formulaciones de sal de bario novedosas estabilizadas por estabilizadores no iónicos y aniónicos", en la patente estadounidense N° 5.622.938 para "Surfactante basado en azúcar para nanocristales", en la patente estadounidense N° 5.628.981 para "Formulaciones mejoradas de los agentes de contraste de rayos X de diagnóstico gastrointestinales orales y agentes terapéuticos gastrointestinales orales", en la patente estadounidense N° 5.643.552 para "Anhídridos carbónicos mezclados de diagnóstico de nanoparticulado como agentes de contraste de rayos X para mezcla de sangre e imágenes del sistema linfático", en la patente estadounidense N° 5.718.388 para "Método continuo para moler sustancias farmacéuticas", en la patente estadounidense N° 5.718.919 para "Nanopartículas que contienen el Enantiómero R(-) de Ibuprofeno", en la patente estadounidense N° 5,747,001 para "Aerosoles que contienen dispersiones de nanopartículas de beclometasona", en la patente estadounidense N° 5.834.025 para "Reducción de reacciones

fisiológicas adversas inducidas por formulaciones de nanoparticulado administradas por vía intravenosa", en la patente estadounidense N° 6.045.829 "Formulaciones nanocristalinas de inhibidores de la proteasa del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) que usan estabilizadores de la superficie celulósica", en la patente estadounidense N° 6.068.858 para "Métodos para fabricar formulaciones nanocristalinas de inhibidores de la proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que usan estabilizadores de la superficie celulósica", en la patente estadounidense N° 6.153.225 para "Formulaciones inyectables de naproxeno nanoparticulado", en la patente estadounidense N° 6.165.506 para "Forma de dosis sólida nueva de naproxeno nanoparticulado", en la patente estadounidense N° 6.221.400 para "Métodos para tratar a mamíferos usando formulaciones nanocristalinas de inhibidores de la proteasa del virus de inmunodeficiencia humana (VIH)", en la patente estadounidense N° 6.264.922 para "Aerosoles nebulizados que contienen dispersiones de nanopartículas", en la patente estadounidense N° 6.267.989 para "Métodos para prevenir el crecimiento de los cristales y la acumulación de las partículas en composiciones de nanopartículas", en la patente estadounidense N° 6.270.806 para "Uso de lípidos derivados de PEG como estabilizadores de la superficie para composiciones nanoparticuladas", en la patente estadounidense N° 6.316.029 para "Forma de dosificación sólida oral de desintegración

rápida", en la patente estadounidense N° 6.375.986 para "Composiciones nanoparticuladas de dosis sólida que comprenden una combinación sinérgica de un estabilizador de la superficie polimérico y sulfosuccinato de dioctil sodio", en la patente estadounidense N° 6.428.814 para "Composiciones nanoparticuladas bioadhesivas que tienen estabilizadores de la superficie catiónicos", en la patente estadounidense N° 6.431.478 para "Molino de escala pequeña" y en la patente estadounidense N° 6.432.381 para "Métodos para dirigir la administración del fármaco hacia el tracto gastrointestinal superior y/o inferior", la totalidad de las cuales se incorpora específicamente en la presente por referencia. Además, la Solicitud de Patente Estadounidense N° 20020012675 A1, publicada el 31 de enero de 2002, para "Composiciones nanoparticuladas de liberación controlada" describe composiciones nanoparticuladas y se incorpora específicamente por referencia.

Las formulaciones de nanopartículas que incluyen los compuestos descritos en la presente, así como en la forma de un profármaco o de una sal, se pueden usar para el tratamiento o la prevención de infecciones por el virus de la hepatitis B.

Algunas composiciones de partículas pequeñas amorfas se describen, por ejemplo, en la Patente Estadounidense N° 4.783.484 para "Composición particulada y uso de la misma como un agente

antimicrobiano", en la patente estadounidense N° 4.826.689 para "Método para fabricar partículas de un tamaño uniforme a partir de compuestos orgánicos insolubles en agua", en la patente estadounidense N° 4.997.454 para "Método para fabricar partículas de un tamaño uniforme a partir de compuestos insolubles", en la patente estadounidense N° 5.741.522 para "Partículas porosas no acumuladas, muy pequeñas de un tamaño uniforme para atrapar burbujas de gas dentro de las mismas y métodos" y en la patente estadounidense N° 5.776.496, para "Partículas porosas muy pequeñas para mejorar la dispersión hacia atrás por ultrasonido".

Formulaciones de liberación controlada

En una realización preferida, los compuestos activos se preparan con portadores que protegen el compuesto contra la eliminación rápida desde el cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye en forma no taxativa implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etileno vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Por ejemplo, se pueden usar compuestos con recubrimiento entérico para la protección contra su descomposición por el ácido gástrico. Algunos métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los

expertos en el arte. Los materiales adecuados también se pueden obtener comercialmente.

También se prefieren las suspensiones liposomales (que incluyen en forma no taxativa liposomas dirigidas hacia células infectadas con anticuerpos monoclonales de antígenos virales) como portadores farmacéuticamente aceptables. Éstas se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos para los expertos en el arte, por ejemplo, los descritos en la Patente Estadounidense N° 4.522.811 (incorporada por referencia). Por ejemplo, algunas formulaciones de liposomas se pueden preparar disolviendo un lípido(s) apropiado (tal como estearoil fosfatidil etanolamina, estearoil fosfatidil colina, aracadoil fosfatidil colina y colesterol) en un solvente inorgánico que luego se evapora, dejando atrás una película delgada de lípido seco sobre la superficie del envase. Una solución acuosa del compuesto activo luego se introduce en el envase. El envase luego se revuelve manualmente para liberar el material de lípidos de los costados del envase y para dispersar acumulaciones de lípidos, formando de ese modo la suspensión liposomal.

Los términos usados en la descripción de la invención se usan comúnmente y son conocidos para los expertos en el arte. Como se usan en la presente, las siguientes abreviaturas tienen las definiciones indicadas:

ACN	Acetonitrilo
Boc ₂ O	Dicarbonato de di- <i>terc</i> -butilo
CDI	carbonuldiimidazol
DCC	<i>N,N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DIPEA	diisopropil etil amina (base de Hünig)
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
EDC	clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EtOAc	acetato de etilo
h	hora
HATU	hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio
M	molar
min	minuto
rt o RT	temperatura ambiente
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
DMA	Dimetilacetamida

IX. Métodos generales para preparar compuestos activos

Los métodos para la preparación fácil de compuestos activos son conocidos en el arte y derivan de la combinación selectiva de métodos conocidos. Los compuestos divulgados en la presente se pueden preparar como se describe detalladamente a continuación, o mediante otros métodos conocidos en el arte. Un experto en el arte comprende que se pueden hacer variaciones del detalle sin apartarse del espíritu y que de ninguna manera limitan el alcance de la presente invención.

Los diversos esquemas de reacciones se resumen a continuación:

El **Esquema 1** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, un enfoque de síntesis hacia el compuesto **A**.

El **Esquema 2** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, otro enfoque de síntesis hacia el compuesto **B**.

El **Esquema 3** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, un enfoque de síntesis hacia el compuesto **C**.

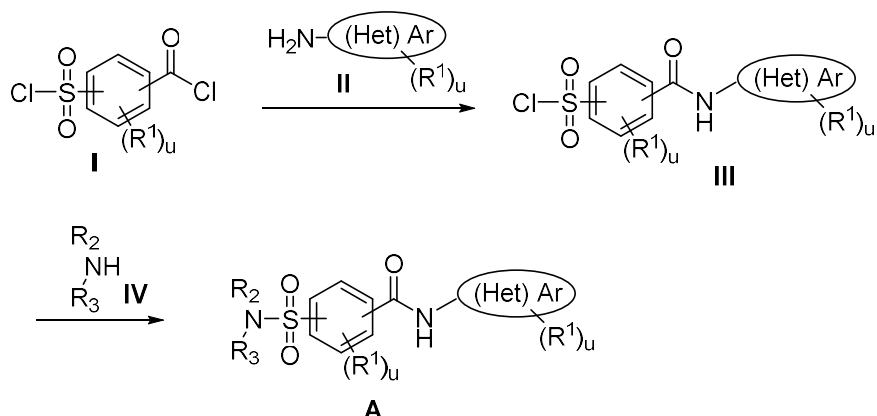
El **Esquema 4** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, un enfoque de síntesis hacia el compuesto **D**.

El **Esquema 5** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, un enfoque de síntesis hacia el compuesto **E**.

El **Esquema 6** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, un enfoque de síntesis hacia los compuestos **F** y **G**.

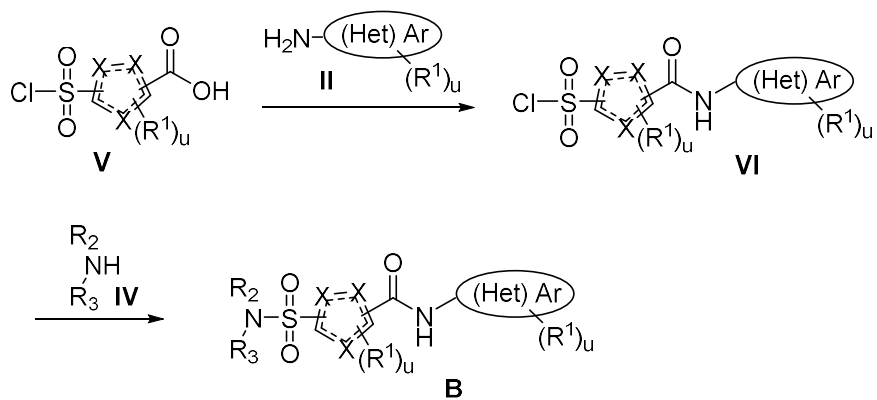
El **Esquema 7** es un ejemplo no taxativo de la síntesis de compuestos activos de la presente invención, y específicamente, un enfoque de síntesis hacia el compuesto **H**.

Los compuestos de la fórmula **A** se puede preparar mediante una primera reacción selectiva de un derivado de anilina con un cloruro de ácido carboxílico de la fórmula general **I** en la presencia de una base orgánica tal como Et₃N o DIPEA. Luego se hace reaccionar el compuesto intermedio **III** con una amina de la fórmula general **IV**, por ejemplo, en un solvente orgánico como CH₂Cl₂, en la presencia de una base orgánica tal como Et₃N.



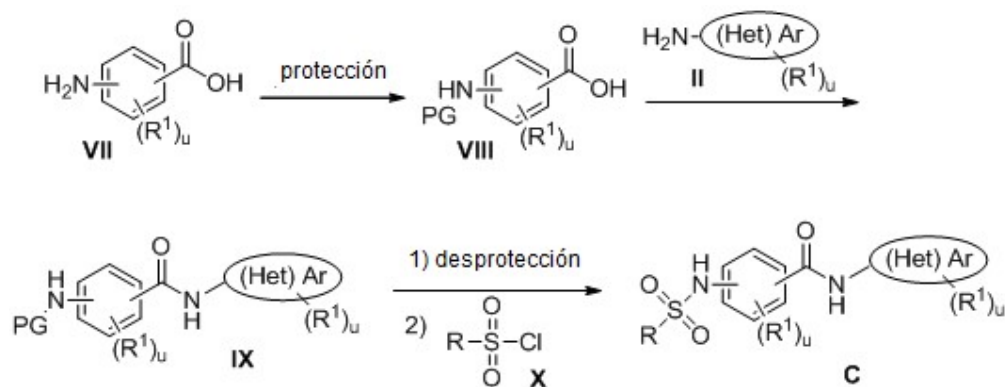
Esquema 1 Enfoque sintético hacia el compuesto **A**

Los compuestos de la fórmula **B** se pueden preparar mediante la reacción selectiva de un derivado de amina con un cloruro de ácido carboxílico de la fórmula general **V** en la presencia de una base orgánica tal como Et_3N o DIPEA. Luego se hace reaccionar el compuesto intermedio **VI** con una amina de la fórmula general **IV**, por ejemplo, en un solvente orgánico como CH_2Cl_2 , en la presencia de una base orgánica tal como Et_3N .



Esquema 2 Enfoque sintético hacia el compuesto **B**

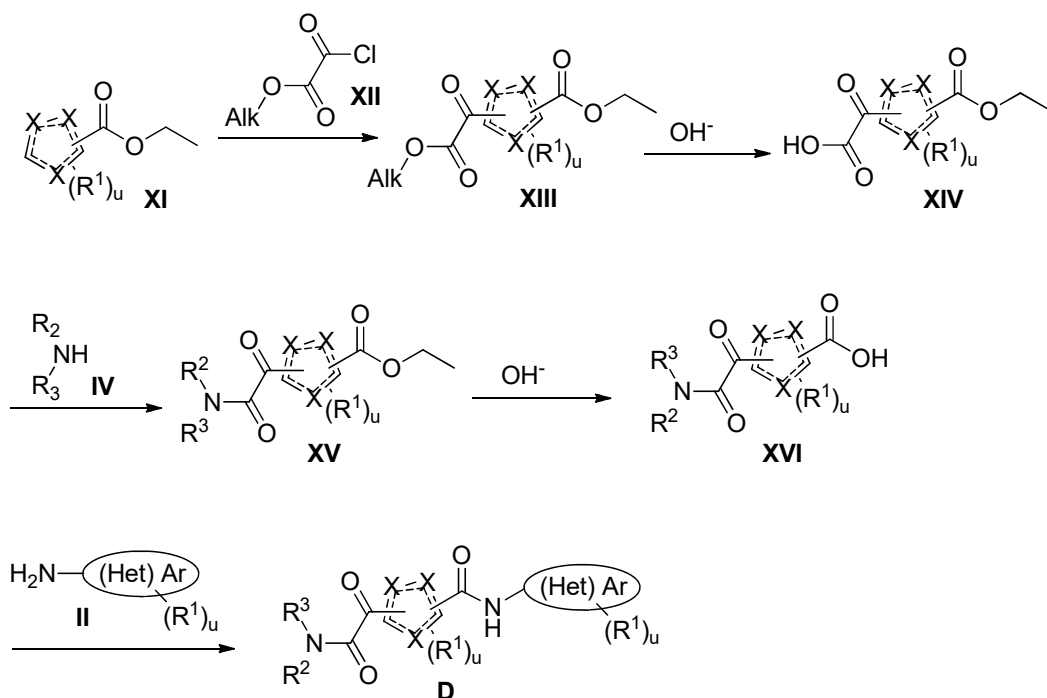
La síntesis de los compuestos de la formula general **C** se puede realizar como se describe en el Esquema 3. Un ácido carboxílico de la formula general **VII** se puede proteger con N, por ejemplo, mediante el tratamiento con Boc_2O en la presencia de una base tal como NaHCO_3 . El compuesto intermedio **VIII** se puede acoplar con una amina de la formula general **II** usando un reactivo de acoplamiento basado en péptidos, como, por ejemplo, EDC en la presencia de una base de amina orgánica tal como DMAP. El compuesto resultante de la formula general **IX** luego se puede desproteger, por ejemplo, en la presencia de TFA cuando se usó Boc como un grupo protector y luego es lo hace reaccionar con cloruro de sulfonilo de la fórmula general **X** en la presencia de una base de amina orgánica tal como Et_3N .



Esquema 3 Enfoque de síntesis hacia el compuesto **C**

La síntesis de compuestos de la formula general **D** se puede realizar como se describe en el Esquema 4. Se puede hacer

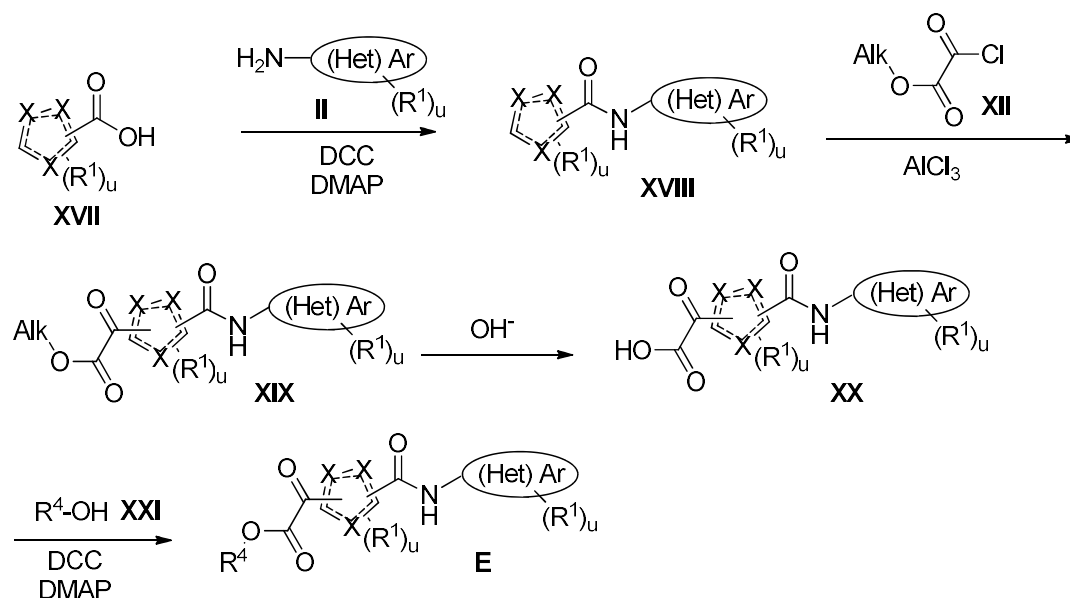
reaccionar un éster de la formula general **XI** con un éster de monoalquilo de cloruro de oxalilo de la fórmula general **XII** en la presencia de un ácido de Lewis como, por ejemplo, AlCl_3 y esto da el compuesto intermedio **XIII**. La hidrólisis selectiva con una base inorgánica como, por ejemplo, NaOH y luego el acoplamiento del alfa cetoácido resultante **XIV** con una amina de la fórmula general **IV** en la presencia de un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, CDI, provee un compuesto de la fórmula general **XV**. La hidrólisis del grupo éster con una base inorgánica como, por ejemplo, NaOH y luego el acoplamiento del ácido carboxílico resultante con una amina de la fórmula general **II** en la presencia de un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, HATU en la presencia de una base de amina orgánica tal como DIPEA da compuestos de la fórmula general **D**.



Esquema 4 Enfoque sintético hacia el compuesto **D**

La síntesis de compuestos de la fórmula general **E** se puede realizar como se describe en el Esquema 5. Un ácido carboxílico de la fórmula general **XVII** se puede acoplar con una amina de la fórmula general **II** usando un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, HATU en la presencia de una base de amina orgánica tal como DIPEA. Se puede hacer reaccionar el compuesto intermedio **XVIII** con un éster de monoalquilo de cloruro de oxalilo de la fórmula general **XII** en la presencia de un ácido de Lewis como, por ejemplo, AlCl_3 , lo cual da el compuesto intermedio **XIX**. La hidrólisis selectiva con una base inorgánica como, por ejemplo, NaOH y luego el acoplamiento del alfa cetoácido resultante **XX** con un alcohol de la fórmula general **XXI**

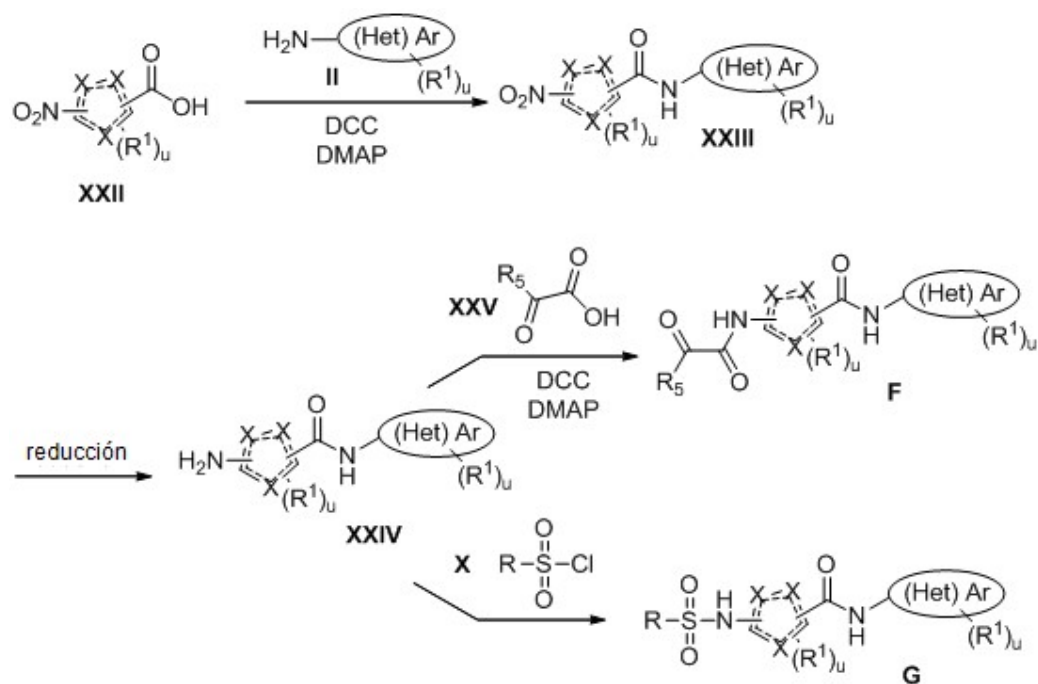
en la presencia de un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, DCC en la presencia de una base de amina orgánica tal como DMAP provee los compuestos de la fórmula general **E**.



Esquema 5 Enfoque sintético hacia el compuesto **E**

La síntesis de compuestos de las fórmulas generales **F** y **G** se pueden realizar como se describe en el Esquema 6. Un ácido carboxílico de la fórmula general **XXII** se puede acoplar con una amina de la fórmula general **II** usando un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, HATU en la presencia de una base de amina orgánica tal como DIPEA. La reducción de los compuestos **XXIII** usando, por ejemplo, Zn en la presencia de ácido fórmico deriva en derivados de amino de la fórmula general **XXIV**

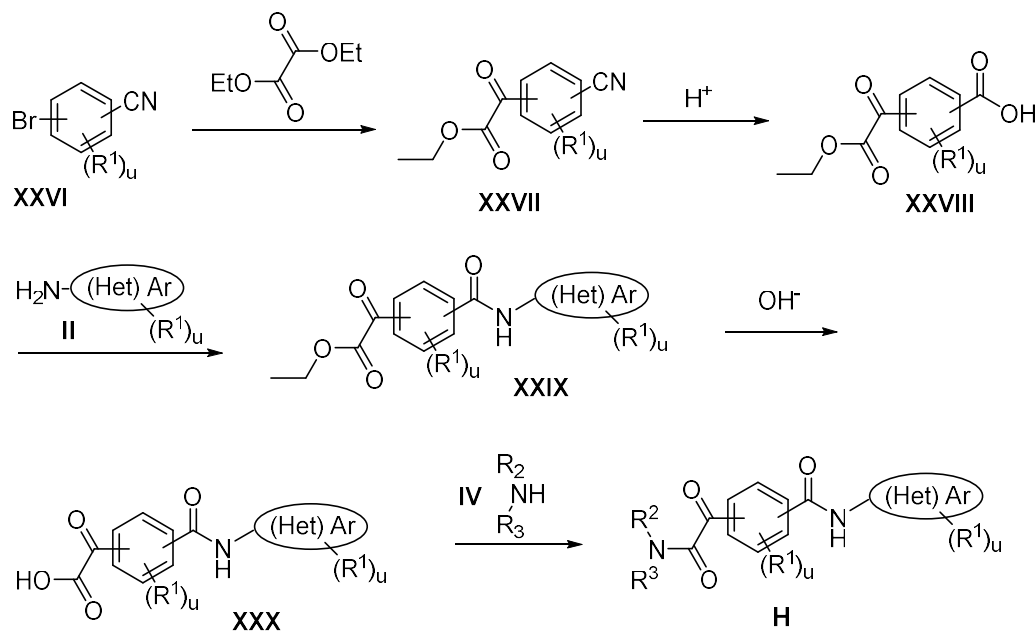
que se puede hacer reaccionar con un derivado de ácido oxoacético de la fórmula general **XXV** en la presencia de un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, DCC o con un cloruro de sulfonilo de la fórmula general **X** en la presencia de una base de amina orgánica tal como Et₃N producen respectivamente los compuestos de las fórmulas generales **F** y **G**.



Esquema 6 Enfoque sintético hacia los compuestos **F** y **G**

La síntesis de compuestos de la fórmula general **H** se pueden realizar como se describe en el Esquema 7. Un derivado de bromo de la fórmula general **XXVI** puede experimentar un intercambio de litio y halógeno usando un reactivo de organolitio tal como, por ejemplo, *n*-BuLi y reaccionar con un oxalato de dialquilo como,

por ejemplo, oxalato de dietilo. El compuesto resultante luego se puede hidrolizar y formar el ácido carboxílico de la fórmula general **XXVIII** que se puede acoplar con una amina de la fórmula general **II** usando un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, HATU en la presencia de una base de amina orgánica, tal como DIPEA. La hidrólisis del compuesto **XXIX** con una base orgánica como, por ejemplo, NaOH y luego el acoplamiento del alfa cetoácido resultante **XXX** con una amina de la fórmula general **IV** en la presencia de un reactivo de acoplamiento basado en péptidos como, por ejemplo, CDI en la presencia de una base de amina orgánica tal como DIPEA provee compuestos de la fórmula general **H**.



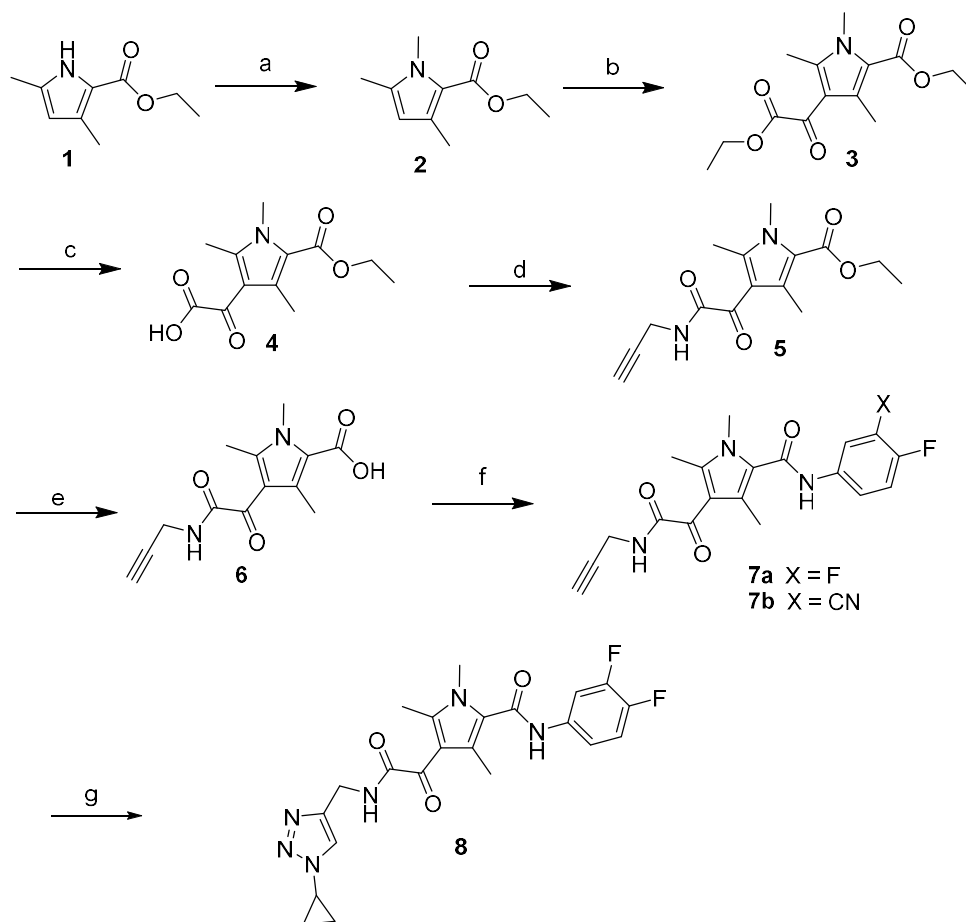
Esquema 7 Enfoque sintético hacia los compuestos **H**

Ejemplos Específicos

Se prepararon compuestos específicos que son representativos de la presente invención de acuerdo con los siguientes ejemplos y secuencias de reacción; los ejemplos y los diagramas que ilustran las secuencias de la reacción se dan a modo de ejemplo, para contribuir a la comprensión de la invención y no se debe interpretar que limitan de ninguna manera la invención expuesta en las reivindicaciones que siguen a continuación. Los presentes compuestos también se pueden usar como compuestos intermedios en ejemplos posteriores para producir otros compuestos de la presente invención. No necesariamente se ha hecho intentos para optimizar los rendimientos obtenidos en cualquiera de las reacciones. Un experto en el arte conocería la manera de aumentar dichos rendimientos a través de variaciones de rutina en los tiempos, a las temperaturas, en los solventes y/o en los reactivos de la reacción.

Los solventes anhidros se compraron a Aldrich Chemical Company, Inc. (Milwaukee, WI) y EMD Chemicals Inc. (Gibbstown, NJ). Los reactivos se adquirieron de fuentes comerciales. A menos que se indique de otro modo, los materiales usados en los ejemplos se obtuvieron de proveedores comerciales disponibles o se sintetizaron mediante métodos normales conocidos para un experto en el arte de la síntesis química. Los espectros de ^1H y ^{13}C NMR

se extrajeron sobre un espectrómetro de transformada de Fourier de 400 MHz Bruker Ascend™ a temperatura ambiente y se informan en ppm campo abajo desde el tetrametilsilano interno. Se realizaron experimentos de intercambio de deuterio, desacoplamiento o 2D-COSY [espectroscopía de correlación bidimensional] para confirmar las asignaciones de protones. Las multiplicidades de señales están representadas por s (singlete), d (doblete), dd (doblete de dobletes), t (triplete), q (cuadruplete), br (ancho), bs (singlete ancho), m (multiplete). Todos los valores de J están en Hz. Los espectros de masa se determinaron sobre un espectrómetro Micromass Platform LC usando técnicas de eletrospray. Las TLC analíticas se realizaron sobre placas de gel de sílice soportada por aluminio Sigma-Aldrich® (25 μ m). La cromatografía de columna se llevó a cabo sobre Gel de Sílice o mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa.

Ejemplo 1

Reactivos y condiciones: a) MeI, KOH, DMSO; b) ClCOCOOEt, AlCl₃, CH₂Cl₂; c) NaOH 5%, MeOH, RT, 10 min; d) CDI, HCCCH₂NH₂, DMF, 3 h, RT; e) NaOH 5%, MeOH, 16 h, RT; f) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, RT; o SOCl₂, 3-ciano-4-fluoroanilina, DMA, reflujo; g) i) bromociclopropano, NaN₃, H₂O, 120 °C, MW, 30 min; ii) CuSO₄, ascorbato de Na, ACN, 80 °C, MW, 30 min.

1,3,5-Trimetilpirrol-2-carboxilato de etilo (2)

3,5-dimetilpirrol-2-carboxilato de etilo (100,0 g, 0,59 mol) se añadió a una solución de hidróxido de potasio (100,6 g, 1,79 mol) en dimetilsulfóxido (1 L) y se agitó durante 30 min bajo nitrógeno a 0 °C. Yoduro de metilo (55,9 mL, 0,89 mol) luego se añadió y la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La reacción luego se extrajo con éter dietílico (3 x 1 L) y las capas orgánicas combinadas se lavaron finalmente con agua (2 x 150 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se cristalizó lentamente para obtener 1,3,5-trimetilpirrol-2-carboxilato de etilo **2** (102,4 g, 0,56 mol, 94%) en forma de un sólido amarillento. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 1,32 (t, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 4,22 (q, 2H), 5,75 (s, 1H). MS (ESI): m/z [M+H]⁺ calc. para C₉H₁₄NO₂: 182,2, experimental: 182,3.

Ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxílico (**6**)

A una solución de 1,3,5-trimetilpirrol-2-carboxilato de etilo (10,0 g, 55,2 mmol) en CH₂Cl₂ (250 mL) a 0 °C se añadió gota a gota una solución de 2-cloro-2-oxo-acetato de etilo (9,3 mL, 82,8 mmol) en CH₂Cl₂ (100 mL) seguido por AlCl₃ (22,1 g, 165,7 mmol) en porciones. La mezcla de reacción luego se agitó durante la noche a temperatura ambiente y

luego se neutralizó con hielo. Después de la adición de agua (300 mL), la mezcla se filtró en celite y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de carbonato de sodio (250 mL) y una solución saturada de cloruro de amonio (250 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. Al aceite resultante se añadieron metanol (100 mL) y una solución al 5% de hidróxido de sodio (100 mL) y la mezcla se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. Después de la remoción de metanol al vacío, la mezcla se lavó con acetato de etilo (2 x 100 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (100 mL) y hexanos (100 mL) para obtener ácido 2-(5-etoxycarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (8,1 g, 32,0 mmol, 58%) en forma de un polvo blanquecino. A una solución de ácido 2-(5-etoxycarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (2,0 g, 7,9 mmol) en DMF (15 mL) y CH_2Cl_2 (10 mL) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (1,92 g, 11,8 mmol) y propargilamina (0,607 mL, 9,5 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y

se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío para dar **5** en forma de un aceite amarillento. Al 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo **5** disuelto en metanol (10 mL) y THF (10 mL) se añadió una solución al 5% de hidróxido de sodio (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después de evaporar el metanol y THF al vacío, la solución acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (1,8 g, 6,9 mmol, 87%) en forma de un polvo blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,77 (s, 1H), 9,14 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3,99 (dd, J = 5,7, 2,6 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,18 (t, J = 2,4 Hz, 1H), 2,37 (s, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO) δ 188,0, 167,2, 163,0, 142,8, 129,7, 121,8, 117,5, 80,5, 73,8, 33,3, 28,1, 12,3, 12,0. HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4$: 263,1032, experimental: 263,1025.

4-[(Propargilamino)(oxo)acetil]-N-(3,4-difluorofenil)-
1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida (**7a**).

A una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (750 mg, 2,7 mmol), 3,4-difluoroanilina (410 mg, 3,2 mmol) y DIPEA (746 μ L, 4,3 mmol) en DMF (15 mL) se añadió HATU (1,63 g, 4,3 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. A fin de alcanzar la culminación, más 3,4-difluoroanilina (410 mg, 3,2 mmol) se añadió y la mezcla luego se agitó durante la noche a 65 °C. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **7a** en forma de un polvo blanco (47%, 503 mg, 1,4 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,49 (s, 1H), 8,22 - 8,07 (m, 1H), 8,07 - 7,95 (m, 1H), 7,59 - 7,43 (m, 1H), 7,33 (q, J = 9,4 Hz, 1H), 4,21 - 4,07 (m, 2H), 3,69 (s, 3H), 2,73 (s, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona) δ 188,9, 167,9, 162,1, 152,7, 152,6, 150,3, 150,2, 149,3, 149,2, 146,9, 146,8, 142,8, 137,9, 137,9, 128,5, 124,6, 119,1, 118,9, 118,8, 117,5, 117,5, 117,4, 117,4, 110,7, 110,5, 81,4, 73,2, 33,2, 29,7, 12,8, 12,7. ^{19}F RMN

(377 MHz, Acetona- d_6) δ -139,8 - -140,0 (m), -147,1 - -147,2 (m). HRMN (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{19}H_{18}F_2N_3O_3$: 374,1316, experimental: 374,1309.

4-(2-(((1-ciclopropil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-2-oxoacetil)-*N*-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (8)

Una solución de bromociclopropano (0,4 mL, 3,3 mmol) y azida sódica (430 mg, 6,6 mmol) en agua (1 mL) se calentó bajo irradiación de microondas durante 30 minutos a 120 °C. Una solución de compuesto **7** (0,05 g, 0,1 mmol) en acetonitrilo (1 mL) luego se añadió, seguido por ascorbato de sodio (10 mg, 0,05 mmol) y sulfato de cobre (20 mg, 0,12 mmol). La mezcla se calentó durante 30 minutos a 80 °C bajo irradiación de microondas y luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL). Después de la extracción con acetato de etilo (3 x 50 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. La mezcla resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos/acetato de etilo = 6:4 v/v), para dar el compuesto **8** en forma de un polvo blanco (61%, 31 mg, 0,06 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,50 (s, 1H), 8,29 - 8,18 (m, 1H), 8,06 - 7,94 (m, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,57 - 7,48 (m, 1H), 7,39 - 7,28 (m, 1H), 6,16 - 5,98 (m,

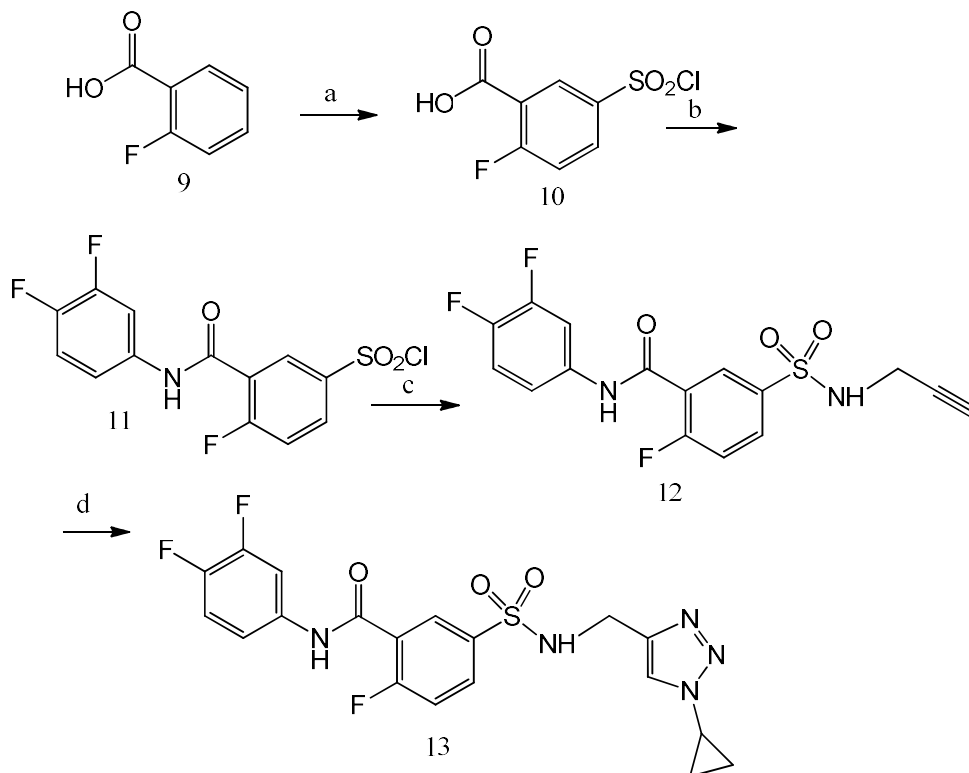
1H), 5,31 – 5,20 (m, 1H), 5,09 – 5,00 (m, 2H), 4,58 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,67 (d, J = 1,4 Hz, 3H), 2,38 (d, J = 1,3 Hz, 3H), 2,24 (d, J = 1,3 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona) δ 187,4, 166,3, 160,3, 150,9, 150,8, 148,5, 148,4, 147,5, 147,4, 145,1, 144,9, 144,4, 144,4, 140,9, 136,2, 136,1, 136,1, 136,0, 132,7, 126,6, 122,9, 122,5, 118,3, 117,3, 117,1, 117,1, 115,7, 115,7, 115,7, 115,7, 108,9, 108,7, 51,9, 34,4, 31,4, 11,1, 11,0. ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -139,8 – -140,1 (m), -147,0 – -147,2 (m). HRMN (ESI): m/z [M+H] $^{+}$ calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_3$: 457,1800, experimental: 457,1790.

N-(3-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**7b**).

A una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (0,1 g, 0,38 mmol) en tolueno (5 mL) se añadieron 0,1 mL de SOCl_2 a temperatura ambiente y la mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 h. Después de la remoción de SOCl_2 al vacío, el aceite residual se solubilizó en DMA (5 mL) y 3-ciano-4-fluoroanilina (0,1 g, 0,7 mmol) se añadió. La mezcla se agitó a 100 °C durante 3 h y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. La solución luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo

con EtOAc (3 x 25 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío.

El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos/EtOAc = 6:4 v/v) para obtener *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **7b** (48%, 0,7 g, 0,2 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 9,61 (s, 1H), 8,37 - 8,27 (m, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,13 - 8,04 (m, 1H), 7,45 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,21 - 4,06 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,77 - 2,70 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). ¹³C RMN (101 MHz, Acetona-*d*₆) δ 188,9, 167,8, 162,3, 160,7 (d, *J* = 252,7 Hz) 143,0, 138,0 (d, *J* = 3,1 Hz), 128,4 (d, *J* = 8,1 Hz), 128,2, 125,5, 125,0, 118,9, 118,6 (d, *J* = 20,9 Hz), 115,3, 102,6 (d, *J* = 16,5 Hz), 81,4, 73,3, 33,3, 29,7, 12,9, 12,8. ¹⁹F RMN (377 MHz, Acetona-*d*₆) δ -115,9 (dd, *J* = 9,6, 4,7 Hz). LCMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₂₀H₁₉FN₄O₃: 381,1, experimental: 381,3.



Reactivos y condiciones: a) HSO_3Cl , 0 °C, 1 h; b) i) SOCl_2 , 80 °C, 1,5 h; ii) 3,4-difluoroanilina, tolueno, 100 °C, 4 h; c) Propargilamina, Et_3N , DMF, RT, durante la noche; d) i) bromociclopropano, NaN_3 , H_2O , 120 °C, MW, 30 min; ii) CuSO_4 , ascorbato de sodio, CH_3CN , 80 °C, MW, 30 min.

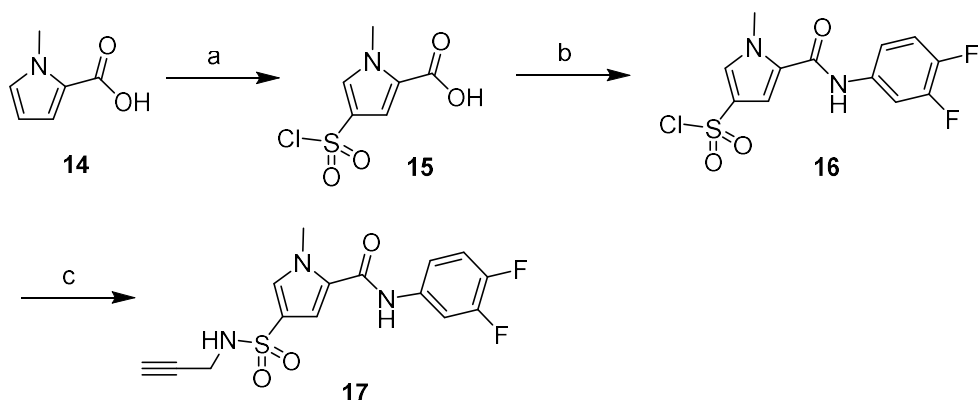
5-(N-((1-Ciclopropil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)sulfamoil)-N-(3,4-difluorofenil)-2-fluorobenzamida (**13**)

Ácido 2-fluorobenzoico **9** (10,0 g, 71,4 mmol) se añadió a ácido clorosulfónico (50 mL) a 0 °C y la mezcla se agitó

a 0 °C durante 1 h. La mezcla de reacción luego se vertió en hielo cristalizada. El precipitado formado se filtró, se enjuagó con agua (3 x 100 mL) y se secó al vacío durante la noche para obtener ácido 5-(clorosulfonil)-2-fluorobenzoico **10** en forma de un sólido amarronado (10,5 g, 44,0 mmol). Ácido 5-(clorosulfonil)-2-fluorobenzoico **10** (10,0 g, 41,9 mmol) se añadió a 60 mL de SOCl₂ a temperatura ambiente y la mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 h. Después de la remoción de SOCl₂ al vacío, el aceite residual se solubilizó en tolueno (150 mL) y 3,4-difluoroanilina (6,5 g, 50,3 mmol) se añadió. La mezcla se agitó a 100 °C durante 4 h y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. La solución luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos/EtOAc = 6:4 v/v) para obtener cloruro de 3-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-4-fluorobencen-1-sulfonil **11** (92%, 13,51 g, 38,6 mmol). A una solución de cloruro de 3-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-4-fluorobencen-1-sulfonil **11** (10,0 g, 28,6 mmol) en CH₂Cl₂ (200 mL) a 0 °C se añadieron clorhidrato de propargilamina (3,1 g, 34,3 mmol) y Et₃N (7,8 mL, 57,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la

noche a temperatura ambiente y luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (250 mL). Después de la extracción con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y finalmente se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener *N*-(3,4-difluorofenil)-2-fluoro-5-(*N*-(prop-2-in-1-il)sulfamoyl)benzamida **12** (74%, 7,8 g, 21,1 mmol) en forma de un polvo blanco. Una solución de bromociclopropano (0,6 mL, 4,9 mmol) y azida sódica (483 mg, 7,4 mmol) en agua (1 mL) se calentó bajo irradiación de microondas durante 30 minutos a 120 °C. A esa solución se añadieron una solución de compuesto **12** (0,1 g, 0,3 mmol) en acetonitrilo (1 mL), ascorbato de sodio (10 mg, 0,05 mmol) y sulfato de cobre (20 mg, 0,12 mmol). La mezcla de reacción luego se calentó durante 30 minutos a 80 °C bajo irradiación de microondas antes de verter en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL). Después de la extracción con EtOAc (3 x 50 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **13** en forma de un polvo blanco (19%, 23 mg, 0,05 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,92 (s, 1H), 8,25 (dd, J = 6,6, 2,5 Hz, 1H), 8,06 - 7,95 (m,

2H), 7,77 (s, 1H), 7,58 – 7,52 (m, 1H), 7,48 (dd, $J = 10,1, 8,7$ Hz, 1H), 7,37 (dt, $J = 10,6, 9,0$ Hz, 1H), 7,21 (brs, 1H), 6,11 – 5,94 (m, 1H), 5,32 – 5,16 (m, 1H), 4,99 (dt, $J = 6,0, 1,5$ Hz, 2H), 4,32 (s, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona- d_6) δ 188,9, 167,9, 162,1, 150,2, 149,2 (d, $J = 12,9$ Hz), 146,8 (d, $J = 13,0$ Hz), 142,8, 137,9 (d, $J = 5,9$ Hz), 128,5, 124,6, 120,4 – 118,2 (m), 117,5 (dd, $J = 6,0, 3,6$ Hz), 110,6 (d, $J = 22,1$ Hz), 81,5, 73,3, 33,2, 29,7, 12,8 (d, $J = 9,6$ Hz). ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -110,6 (s), -139,6 – -139,7 (m), -146,1 – -146,3 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$: 452,1004, experimental: 452,0999.

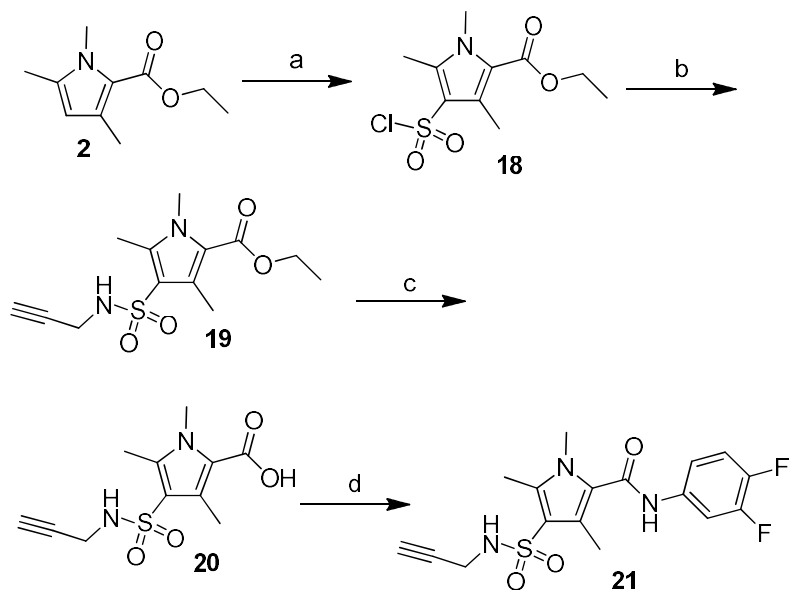


Reactivos y condiciones: a) HSO_3Cl , 0 °C, 1 h; b) i) SOCl_2 , 100 °C, 1,5 h; ii) 3,4-difluoroanilina, tolueno, RT, 48 h; c) Propargilamina, DIPEA, DMF, RT, durante la noche.

N-(3,4-Difluorofenil)-1-metil-4-(N-(prop-2-in-1-il)sulfamoil)-1H-pirrol-2-carboxamida (17)

Ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico (10,0 g, 80 mmol) se añadió a ácido clorosulfónico (50 mL) a 0 °C y la solución resultante se agitó a 0 °C durante 1 h. La mezcla de reacción luego se vertió en hielo cristalizada. El precipitado formado luego se filtró, se enjuagó con agua (3 x 100 mL) y se secó al vacío durante la noche para obtener ácido 4-(clorosulfonyl)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico **15** en forma de un sólido amarronado (10,7 g, 47,8 mmol). El ácido 4-(clorosulfonyl)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico **15** (1,0 g, 4,4 mmol) se añadió a SOCl₂ a temperatura ambiente y la mezcla se calentó a 100 °C durante 1,5 h. Después de la remoción de cloruro de tionilo al vacío, el aceite residual se solubilizó en tolueno (50 mL) y 3,4-difluoroanilina se añadió (650 mg, 5,0 mmol). La solución se agitó durante 48 h a temperatura ambiente antes de verter en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL). Esta solución se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. Después de concentrar al vacío, el residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener cloruro de 5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1H-pirrol-3-sulfonyl **16** (775 mg, 2,3 mmol). A una solución de cloruro de 5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1H-pirrol-3-sulfonyl **16** (100 mg, 0,3 mmol) en DMF (5

mL) se añadieron clorhidrato de propargilamina (33 mg, 0,4 mmol) y DIPEA (78 μ L, 0,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(*N*-(prop-2-*in*-1-il)sulfamoil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **17** (77%, 81 mg, 0,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,56 (s, 1H), 8,05 – 7,87 (m, 1H), 7,62 – 7,48 (m, 2H), 7,38 – 7,25 (m, 1H), 7,22 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,03 (s, 3H), 3,79 (s, 2H), 2,70 (t, J = 2,5 Hz, 1H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona- d_6) δ 160,9, 152,6 (d, J = 13,0 Hz), 150,1 (d, J = 13,2 Hz), 149,1 (d, J = 12,7 Hz), 146,7 (d, J = 12,8 Hz), 137,9 (dd, J = 9,1, 3,0 Hz), 132,2, 128,4, 123,7, 119,7 – 118,4 (m), 117,8 (dd, J = 5,9, 3,5 Hz), 114,0, 110,8 (d, J = 22,1 Hz), 80,8, 74,5, 38,5, 34,2. ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ – 138,4 – –138,7 (m), –145,4 – –146,1 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: 354,0724, experimental: 354,0717.



Reactivos y condiciones: a) HSO_3Cl , 0 °C hasta TA, 4 h; b) $\text{HCCCH}_2\text{NH}_2$, Et_3N , DMF, RT, 2 h; c) NaOH 5%, MeOH, 16 h, TA hasta 60 °C, 18 h; d) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 50 °C, 16 h.

Ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxílico (20)

1,3,5-trimetilpirrol-2-carboxilato de etilo **2** (2,0 g, 11,0 mmol) se añadió a ácido clorosulfónico (10 mL) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h ten 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción luego se vertió en hielo cristalizada. La mezcla se alcalinizó con una solución al 5% de hidróxido de sodio (pH > 7) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas se combinaron,

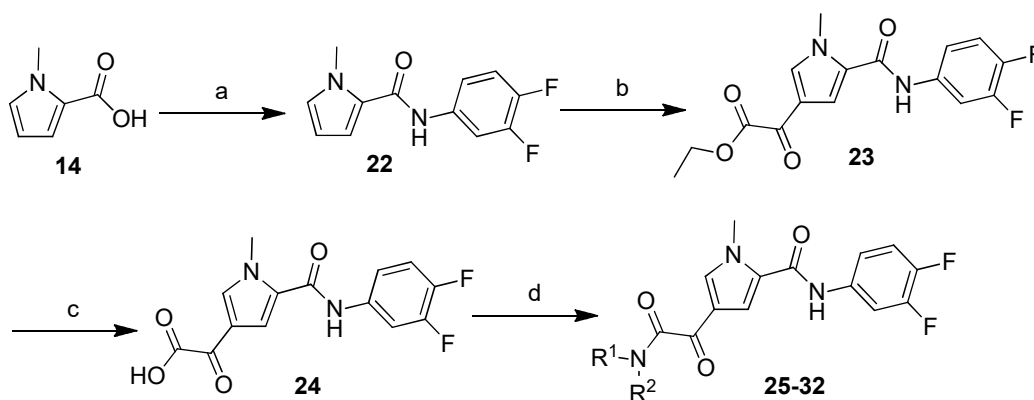
se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para obtener **18** un sólido marrón oscuro crudo (69%, 2,1 g, 7,5 mmol). Al 4-(clorosulfonil)-1,3,5-trimetil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo intermediario **18** solubilizado en DMF (10 mL) se añadieron propargilamina (0,72 mL, 11,3 mmol) y trietilamina (3,1 mL, 22,5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL). Después de la extracción con EtOAc (3 x 50 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El aceite resultante se diluyó en metanol (5 mL) y una solución al 5% de hidróxido de sodio (15 mL) se añadió. La mezcla se agitó durante la noche a 60 °C. Después de la remoción del metanol al vacío, la mezcla se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (20 mL) y hexanos (20 mL) para obtener ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **20** (28%, 0,8 g, 0,3 mmol) en forma de un polvo blanquecino. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,70 (s, 1H), 7,64 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,58 (dd, J = 6,0, 2,6 Hz, 2H), 3,04 (t,

$J = 2,5 \text{ Hz}$, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,41 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) δ 163,0, 138,9, 127,6, 120,8, 118,1, 80,1, 74,3, 33,4, 31,8, 12,0, 11,5.

N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**21**)

A una solución de ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **20** (0,1 g, 0,3 mmol), 3,4-difluoroanilina (96 mg, 7,4 mmol) y DIPEA (746 μL , 1,1 mmol) en DMF (15 mL) se añadió HATU (0,211 g, 0,5 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 50 °C durante la noche. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **21** en forma de un polvo blanco (36%, 51 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,44 (s, 1H), 8,24 - 7,80 (m, 1H), 7,74 - 7,44 (m, 1H), 7,40 - 7,22 (m, 1H), 6,51 (d, $J = 6,3 \text{ Hz}$, 1H), 3,77 - 3,70 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 2,68 - 2,60 (m, 1H), 2,51 (s, 3H), 2,37 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona- d_6) δ 160,2, 150,9 (d, $J = 13,1 \text{ Hz}$), 148,4 (d, $J = 13,0 \text{ Hz}$), 147,5 (d, $J = 12,9 \text{ Hz}$), 145,1 (d, $J = 12,6$

Hz), 137,1, 126,1, 120,7, 117,2 (d, $J = 18,1$ Hz), 117,0, 115,8 (d, $J = 3,9$ Hz), 108,9 (d, $J = 22,2$ Hz), 79,1, 72,3, 31,7, 10,4 (d, $J = 32,3$ Hz). ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -139,8 - -139,9 (m), -147,0 - -147,1 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: 382,1037, experimental: 382,1027.



Reactivos y condiciones: a) HATU, 3,4-difluoroanilina, DIPEA, DMF, 65 °C, durante la noche; b) clorooxoacetato de etilo, AlCl_3 , CH_2Cl_2 , 0 °C hasta TA, durante la noche; c) i) NaOH 5%, MeOH, RT, 15 min; ii) HCl 1N; d) CDI, $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$, DMF, CH_2Cl_2 , RT, 2 h.

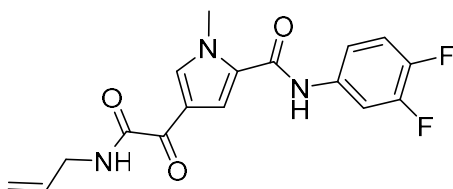
Ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoyl)-1-metil-1H-pirrol-3-il)-2-oxoacético (24)

A una solución de ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico (4 g, 32 mmol), 3,4-difluoroanilina (6,2 g, 48 mmol) y DIPEA

(13 mL, 96 mmol) en DMF (150 mL) se añadió HATU (18,2 g, 48 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 65 °C durante la noche y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con acetato de etilo (3 x 50 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. La mezcla resultante se purificó por cromatografía flash (hexanos:EtOAc = 6:4 v/v), para dar el compuesto **22** en forma de un polvo blanco (82%, 6,2 g, 26,2 mmol).

A una solución de *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **22** (3 g, 12,7 mmol) en CH₂Cl₂ (150 mL) se añadió gota a gota, a 0 °C, una solución de 2-cloro-2-oxo-acetato de etilo (2,12 mL, 19,1 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL), seguido por AlCl₃ (5,1 g, 38,1 mmol) en porciones. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se vertió en hielo picado. Después de la adición de agua (300 mL), la mezcla se filtró en Celite y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de carbonato de sodio (100 mL), una solución saturada de cloruro de amonio (100 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El aceite resultante se diluyó en metanol/THF (v/v = 1/2, 30 mL) y una solución al 5% de hidróxido de sodio (30 mL) se añadió. Después de agitar

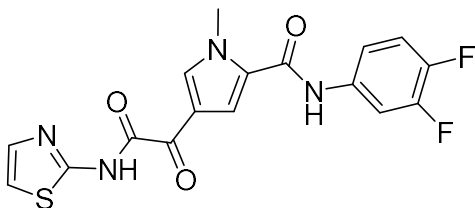
durante 15 min a temperatura ambiente, la mezcla se concentró al vacío. La mezcla se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (20 mL) y hexanos (20 mL) para obtener ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoyl)-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (3,48 g, 11,3 mmol) en forma de un polvo blanquecino. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,28 (s, 1H), 8,02 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,94 - 7,81 (m, 1H), 7,60 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,56 - 7,47 (m, 1H), 7,44 - 7,24 (m, 1H), 3,96 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) δ 181,1, 165,3, 159,5, 150,5 (d, J = 13,1 Hz), 148,0 (d, J = 13,1 Hz), 147,0 (d, J = 12,5 Hz), 144,6 (d, J = 12,6 Hz), 136,6, 136,4 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz), 127,9, 119,0, 117,7 (d, J = 17,7 Hz), 116,8 (dd, J = 5,8, 3,2 Hz), 114,9, 109,4 (d, J = 21,7 Hz), 37,7. ^{19}F RMN (377 MHz, DMSO- d_6) δ -138,0 - -138,2 (m), -145,5 - -145,6 (m).



4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida (25)

A una solución de 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1H-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol) en DMF (4 mL) y CH₂Cl₂ (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y alilamina (29 µL, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener 4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **25** en forma de un polvo blanquecino (81%, 91 mg, 0,2 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-d₆) δ 9,60 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 8,04 - 7,90 (m, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,57 - 7,49 (m, 1H), 7,30 (q, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,25 - 5,68 (m, 1H), 5,22 (d, *J* = 16,8 Hz, 1H), 5,11 (dt, *J* = 10,3, 1,4 Hz, 1H), 4,06 (s, 3H), 3,99 - 3,92 (m, 2H). ¹³C RMN (101 MHz, Acetona-d₆) δ 182,7, 163,7, 161,1, 152,6 (d, *J* = 13,1 Hz), 150,2 (d, *J* = 12,9 Hz), 149,1 (d, *J* = 12,8 Hz), 146,7 (d, *J* = 12,9 Hz), 138,9, 137,9, 136,2, 129,0, 120,9, 118,8 (d, *J* = 18,0 Hz), 117,9 - 117,4 (m), 117,0, 116,6, 110,7

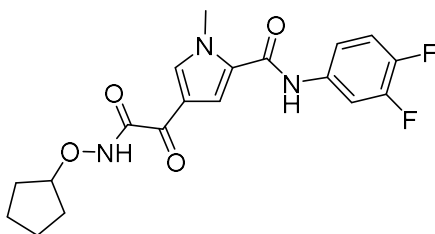
(d, $J = 22,1$ Hz), 42,9, 38,7. ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -138,5 - -138,8 (m), -145,9 - -146,2 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$: 348,1260, experimental: 348,1158.



N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**26**)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol) en DMF (4 mL) y CH_2Cl_2 (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y tiazol-2-amina (33 mg, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH_2Cl_2 (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **26** en forma de un

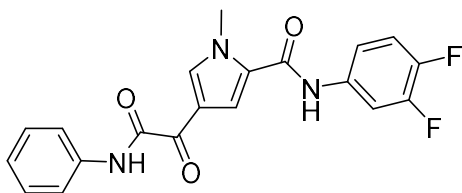
polvo amarronado (79%, 101 mg, 0,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,74 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,94 – 7,83 (m, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,60 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 7,56 – 7,49 (m, 1H), 7,48 – 7,38 (m, 1H), 3,98 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 180,6, 162,5, 159,5, 150,5 (d, $J = 12,9$ Hz), 148,1 (d, $J = 12,5$ Hz), 138,6, 137,2, 136,4 (d, $J = 12,0$ Hz), 127,9, 118,7, 117,8 (d, $J = 17,6$ Hz), 116,8, 109,5 (d, $J = 21,7$ Hz), 60,2, 37,8, 17,9 (d, $J = 672,1$ Hz). ^{19}F RMN (377 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -137,3 – -137,4 (m), -144,5 – -144,7 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: 391,0676, experimental: 391,0669.



4-(2-((ciclopentiloxi)amino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida (**27**)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1H-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol) en DMF (4 mL) y CH_2Cl_2 (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y clorhidrato de O-ciclopentilhidroxilamina (44 mg, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2

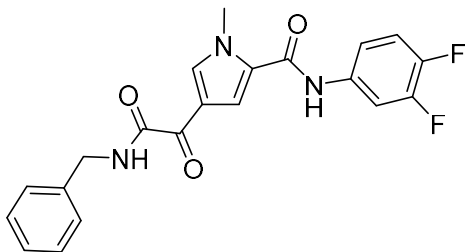
h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH_2Cl_2 (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexano:EtOAc = 7:3 v/v) para dar 4-(2-((ciclopentiloxi)amino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **27** en forma de un polvo amarronado (26%, 33 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 10,83 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 8,14 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 8,03 - 7,90 (m, 1H), 7,65 - 7,46 (m, 2H), 7,40 - 7,20 (m, 1H), 4,69 - 4,57 (m, 1H), 4,06 (s, 3H), 1,95 - 1,85 (m, 2H), 1,79 - 1,65 (m, 4H), 1,57 (s, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona- d_6) δ 181,0, 161,2 (d, J = 178,9 Hz), 159,7, 159,3, 150,8 (d, J = 13,2 Hz), 148,3 (d, J = 13,2 Hz), 147,3 (d, J = 12,8 Hz), 144,9 (d, J = 12,7 Hz), 136,8, 136,2 (dd, J = 9,1, 3,0 Hz), 127,4, 119,2, 117,0 (d, J = 18,0 Hz), 116,5 - 115,7 (m), 114,5, 109,1 (d, J = 22,2 Hz), 87,4, 87,0, 37,0, 30,9, 23,4. ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -138,6 - -138,7 (m), -146,0 - -146,1 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4$: 392,1422, experimental: 392,1415.



N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**28**)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol) en DMF (4 mL) y CH₂Cl₂ (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y anilina (35 µL, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **28** en forma de un polvo blanco (32%, 40 mg, 0,1 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 9,79 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,04 - 7,94 (m, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,63 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,60 - 7,52 (m, 1H), 7,44 - 7,37 (m, 2H), 7,36 - 7,27 (m, 1H), 7,22 - 7,14 (m, 1H), 4,10 (s, 3H). ¹³C RMN

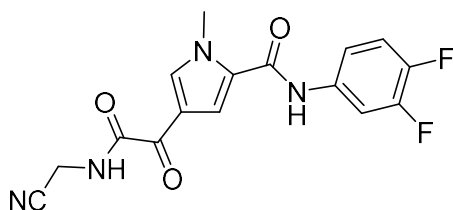
(101 MHz, Acetona- d_6) δ 182,4, 162,0, 161,1, 152,6 (d, J = 13,0 Hz), 150,2 (d, J = 13,2 Hz), 149,1 (d, J = 12,5 Hz), 146,7 (d, J = 12,8 Hz), 139,7, 139,1, 138,0 (dd, J = 9,2, 2,9 Hz), 130,6, 129,2, 126,3, 121,8, 120,5, 118,9 (d, J = 17,9 Hz), 117,8 (dd, J = 5,9, 3,5 Hz), 116,7, 110,9 (d, J = 22,3 Hz), 38,8. ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -138,6 - -138,9 (m), -146,1 - -146,2 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$: 384,116, experimental: 384,1153.



N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-oxo-2-(benzilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxamida (29)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1H-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol), en DMF (4 mL) y CH_2Cl_2 (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y bencilamina (42 μL , 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH_2Cl_2 (3 x 20 mL), las capas

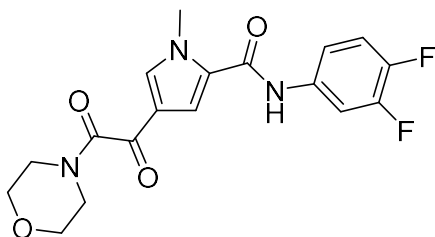
orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexano:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **29** en forma de un polvo blanco (99%, 126 mg, 0,2 mmol). ¹³C RMN (101 MHz, Acetona-*d*₆) δ 182,7, 163,9, 161,1, 159,9, 152,6 (d, *J* = 13,0 Hz), 150,1 (d, *J* = 13,3 Hz), 149,1 (d, *J* = 12,7 Hz), 146,7 (d, *J* = 12,8 Hz), 142,8, 140,7, 139,0, 138,0 (d, *J* = 12,1 Hz), 130,2, 130,0, 129,4, 129,0, 128,9, 128,4, 120,9, 118,8 (d, *J* = 18,3 Hz), 118,3 - 117,5 (m), 116,7, 110,8 (d, *J* = 22,2 Hz), 45,3, 44,3, 38,8. ¹⁹F RMN (377 MHz, Acetona-*d*₆) δ -138,7 - -138,8 (m), -146,1 - -146,4 (m). HRMN (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₂₁H₁₈F₂N₃O₃: 398,1316, experimental: 398,1312.



4-(2-((cianometil)amino)-2-oxoacetil)-*N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**30**)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-2-

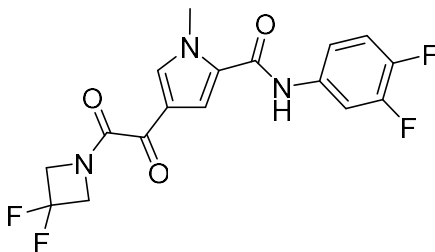
oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol), en DMF (4 mL) y CH₂Cl₂ (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y clorhidrato de 2-aminoacetonitrilo (36 mg, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener 4-(2-((cianometil)amino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **30** en forma de un polvo amarronado (30%, 34 mg, 0,1 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-d₆) δ 9,43 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 8,06 - 7,71 (m, 1H), 7,54 - 7,40 (m, 1H), 7,37 - 7,12 (m, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,88 - 6,84 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,66 - 3,43 (m, 1H), 1,99 - 1,93 (m, 3H), 1,79 - 1,68 (m, 2H), 1,67 - 1,55 (m, 2H). ¹³C RMN (101 MHz, Acetona-d₆) δ 181,1, 164,1, 161,1, 139,0, 129,3, 120,5, 118,9 (d, *J* = 17,6 Hz), 118,0, 117,8 (dd, *J* = 6,0, 3,2 Hz), 116,6, 110,9 (d, *J* = 22,1 Hz), 38,8, 28,8. ¹⁹F RMN (377 MHz, Acetona-d₆) δ -138,7 - -138,8 (m), -145,9 - -146,2 (m). HRMN (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₇H₂₀F₂N₃O₃S : 384,1193, experimental: 384,1186.



N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-
1*H*-pirrol-2-carboxamida (**31**)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1*H*-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol), en DMF (4 mL) y CH₂Cl₂ (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y morfolina (34 µL, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida **31** en forma de un polvo blanco (80%, 97 mg, 0,2 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,28 (s, 1H), 8,19 - 7,80 (m, 2H), 7,57 - 7,47 (m, 2H), 7,46 - 7,36 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,81 - 3,67 (m, 2H), 3,64 - 3,59 (m, 2H), 3,58 - 3,49 (m, 2H), 3,34 - 3,25 (m, 2H).

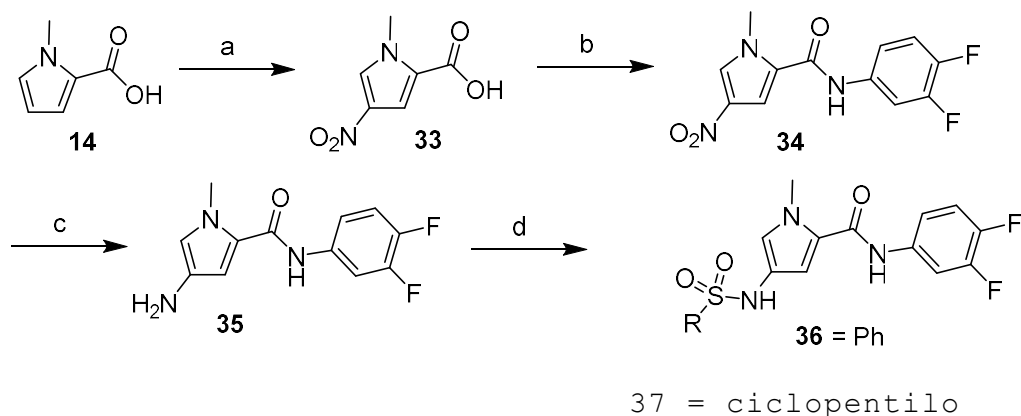
^{13}C RMN (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 185,9, 165,8, 159,5, 150,5 (d, $J = 13,1$ Hz), 148,1 (d, $J = 13,2$ Hz), 147,1 (d, $J = 12,8$ Hz), 144,7 (d, $J = 12,8$ Hz), 136,4 (dd, $J = 9,1, 3,0$ Hz), 135,9, 128,1, 119,8, 117,8 (d, $J = 17,7$ Hz), 117,2 - 116,3 (m), 114,0, 109,5 (d, $J = 21,7$ Hz), 66,5 (d, $J = 30,5$ Hz), 46,3, 41,5, 37,8. ^{19}F RMN (377 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -137,2 - -137,4 (m), -144,5 - -144,6 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4$: 378,1265, experimental: 378,1257.



4-(2-(3,3-difluoroazetidin-1-il)-2-oxoacetyl)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida (**32**)

A una solución de ácido 2-(5-((3,4-difluorofenil)carbamoil)-1-metil-1H-pirrol-3-il)-2-oxoacético **24** (0,1 g, 0,3 mmol), en DMF (4 mL) y CH_2Cl_2 (5 mL) se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (79 mg, 0,05 mmol) y clorhidrato de 3,3-difluoroazetidina (50 mg, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con CH_2Cl_2 (3

x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para obtener 4-(2-(3,3-difluoroazetidin-1-il)-2-oxoacetil)-*N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **32** en forma de un polvo blanco (48%, 60 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,60 (s, 1H), 8,06 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 8,01 - 7,86 (m, 1H), 7,70 - 7,47 (m, 2H), 7,34 - 7,26 (m, 1H), 4,98 - 4,79 (m, 2H), 4,65 - 4,31 (m, 2H), 4,05 (s, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, Acetona- d_6) δ 182,6, 163,7, 161,1, 152,6 (d, J = 13,1 Hz), 150,2 (d, J = 13,6 Hz), 149,1 (d, J = 12,8 Hz), 146,7 (d, J = 13,1 Hz), 138,4, 138,2 - 137,6 (m), 129,2, 121,4, 121,0, 118,9 (d, J = 17,9 Hz), 118,3, 118,0 - 117,5 (m), 116,2, 115,6, 110,8 (d, J = 22,2 Hz), 65,8 (t, J = 28,6 Hz), 61,9 (t, J = 28,7 Hz), 38,8. ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -102,1 (p, J = 12,3 Hz), -138,7 - -138,8 (m), -146,0 - -146,2 (m). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{F}_4\text{N}_3\text{O}_3$: 384,0971, experimental: 384,0964.



Reactivos y condiciones: a) HNO_3 , Ac_2O , $-25\text{ }^\circ\text{C}$ hasta TA, 2 h; b) HATU, DIPEA, 3,4-difluoroanilina, DMF, $50\text{ }^\circ\text{C}$, durante la noche; c) Zn, HCOOH , MeOH, RT, 10 min; d) RSO_2Cl , Et_3N , DMF, RT, durante la noche.

N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-(fenilsulfonamido)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (36)

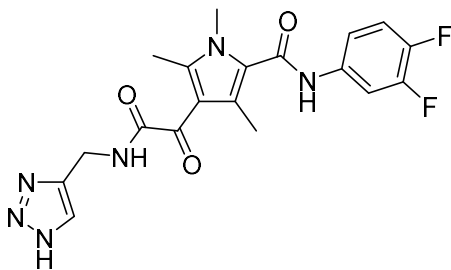
A una solución de ácido 1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxílico **14** (4 g, 32 mmol) en anhídrido acético (40 mL) se añadió ácido nítrico 70% (3,2 mL) a $-25\text{ }^\circ\text{C}$. La reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Después de la adición de agua (200 mL) a $-25\text{ }^\circ\text{C}$, la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de carbonato de sodio (3 x 100 mL), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 4:6 v/v) para dar

el compuesto **33** en forma de un aceite oscuro (14%, 770 mg, 4,5 mmol). A una solución de ácido 1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxílico **33** (0,77 g, 4,5 mmol), 3,4-difluoroanilina (1,16 g, 9,0 mmol) y DIPEA (1,85 mL, 13,6 mmol) en DMF (20 mL) se añadió HATU (1,89 g, 5,0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante la noche y luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL). Después de la extracción con acetato de etilo (3 x 50 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 7:3 v/v) para dar *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxamida **34** (64%, 820 mg, 2,9 mmol). To una suspensión de *N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-4-nitro-1*H*-pirrol-2-carboxamida **34** (250 mg, 0,9 mmol) en metanol (20 mL) y formic acid (0,5 mL, 13,3 mmol) se añadió Zn dust (250 mg, 3,8 mmol). La mezcla se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente y se filtró en Celite. La solución se extrajo con HCl 1 N (3 x 50 mL) y se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL). La capa acuosa luego se alcalinizó usando una solución al 5% de hidróxido de sodio (pH > 8) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se

concentraron al vacío para dar 4-amino-*N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **35** en forma de un sólido marrón / amarillento (68%, 153 mg, 0,6 mmol). A una solución de 4-amino-*N*-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **35** (25 mg, 0,1 mmol) en DMF (3 mL) se añadieron cloruro de bencensulfonilo (14 µL, 0,1 mmol) y Et₃N (20 µL, 0,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (20 mL). Después de la extracción con EtOAc (3 x 20 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 1:1 v/v) para dar el compuesto **36** (51%, 20 mg, 0,05 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 9,37 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,05 – 7,85 (m, 1H), 7,81 – 7,71 (m, 2H), 7,68 – 7,58 (m, 1H), 7,58 – 7,51 (m, 2H), 7,45 – 7,41 (m, 1H), 7,35 – 7,17 (m, 1H), 6,77 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,72 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H). ¹³C RMN (101 MHz, Acetona-*d*₆) δ 161,3, 141,9, 134,3, 130,6, 128,8, 125,6, 124,2, 121,9, 118,7 (d, *J* = 17,9 Hz), 118,1 – 117,4 (m), 110,7 (d, *J* = 22,1 Hz), 110,2, 38,0. ¹⁹F RMN (377 MHz, Acetona-*d*₆) δ -140,2 – -140,4 (m), -147,9 – -148,1 (m). HRMN (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₈H₁₆F₂N₃O₃S: 392,0880, experimental: 392,0872.

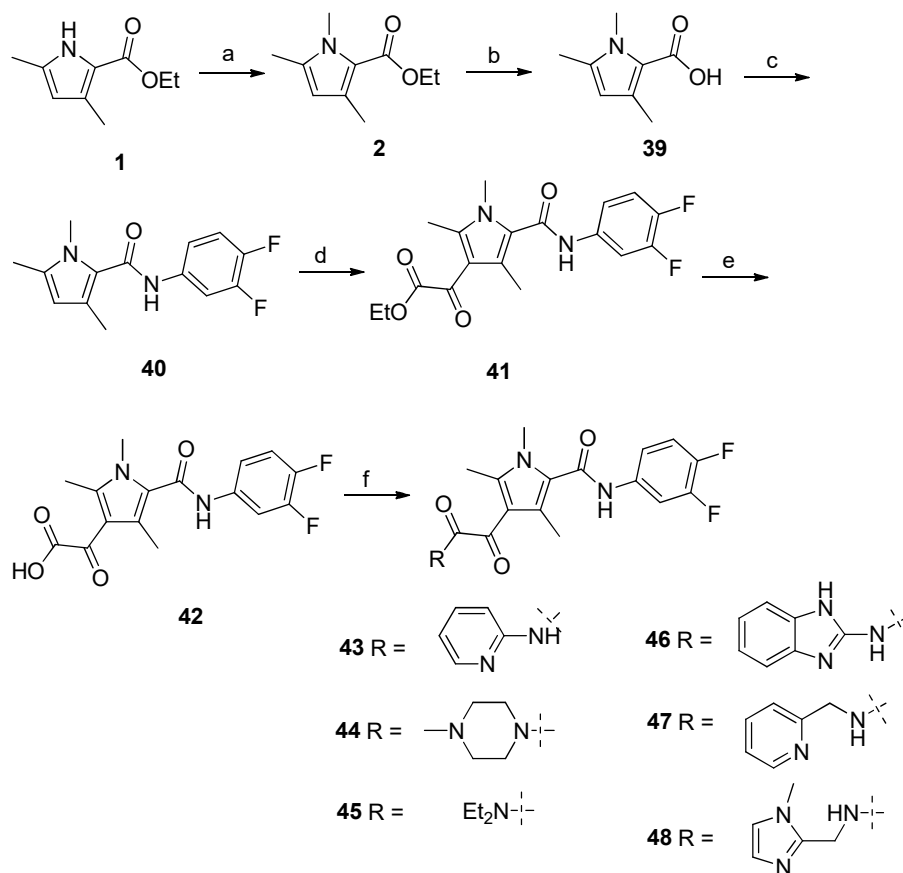
4-(ciclopentansulfonamido)-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida (37)

A una solución de 4-amino-N-(3,4-difluorofenil)-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **35** (50 mg, 0,2 mmol) en DMF (5 mL) se añadieron cloruro de ciclopentilsulfonilo (51 μ L, 0,4 mmol) y Et₃N (40 μ L, 0,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (30 mL). Después de la extracción con EtOAc (3 x 30 mL), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 1:1 v/v) para dar el compuesto **37** (56%, 43 mg, 0,1 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-d₆) δ 9,43 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 8,06 - 7,71 (m, 1H), 7,54 - 7,40 (m, 1H), 7,37 - 7,12 (m, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,88 - 6,84 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,66 - 3,43 (m, 1H), 1,99 - 1,93 (m, 3H), 1,79 - 1,68 (m, 2H), 1,67 - 1,55 (m, 2H). ¹⁹F RMN (377 MHz, Acetona-d₆) δ -140,2 - -140,4 (m), -148,0 - -148,1 (m). HRMN (ESI): m/z [M+H]⁺ calc. para C₁₇H₂₀F₂N₃O₃S: 384,1193, experimental: 384,1186.



4-(2-(((1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-2-oxoacetyl)-N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida
(38)

A una solución de **7a** en una mezcla de ACN/H₂O (2 mL, 1:1) se añadieron azida sódica (26 mg, 0,4 mmol), CuSO₄·5H₂O (5 mg) y ascorbato de sodio (12 mg). La mezcla de reacción se calentó a 150 °C bajo irradiación de microondas durante 1 h. La solución se diluyó con EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando DCM/MeOH (95:5) para obtener **38** en un rendimiento del 41% (23 mg). HRMN (ESI): m/z [M+H]⁺ calc. para C₁₉H₁₉F₂N₆O₃: 417,1487, experimental: 417,1476.



Reactivos y condiciones: a) MeI, KOH, DMSO; b) NaOH, EtOH, 100 °C, 6 h; c) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 60 °C; d) cloruro de etiloxalilo, AlCl₃, DCM, 0 °C hasta ta, 16 h; e) NaOH, EtOH, rt, 1 h; f) amina, CDI, DMF, DCM, rt, 1 h.

Ácido 1,3,5-Trimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (39)

A una solución de **2** (3 g, 72 mmol) en EtOH (100 mL) se añadió NaOH 20% (70 mL). La reacción se calentó a 100 °C durante 6 h. EtOH se evaporó al vacío y la mezcla se lavó

con DCM (3 x 30 mL). La capa acuosa se acidificó cuidadosamente a pH 3-4 con HCl 1 M. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con Et₂O frío para obtener **39** en un rendimiento del 61% (6,7 g) en forma de un sólido rosa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,88 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 3,68 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,15 (s, 3H). MS (ESI): m/z [M+H]⁺ calc. para C₈H₁₂NO₂: 154,1, experimental: 154,5.

N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida (**40**)

A una solución de **39** (2,9 g, 18,9 mmol) en DMF (20 mL) se añadieron 3,4-difluoroanilina (4,5 mL, 22,7 mmol), HATU (8,6 g, 22,7 mmol) y DIPEA (6,6 mL, 37,8 mmol) a 0 °C. La mezcla se calentó a 60 °C durante 2 días. La mezcla de reacción luego se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl 1 M, agua y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexanos/EtOAc (8:2) para obtener **40** en un rendimiento del 37% (1,85 g). ¹H RMN (400 MHz, Cloroformo-d) δ 7,76 - 7,65 (m, 1H), 7,19 - 7,07 (m, 2H), 5,80 (s, 1H), 3,77 (s, 3H),

2,38 (s, 3H), 2,24 (s, 3H). MS (ESI): m/z [M+H]⁺ calc. para C₁₄H₁₄F₂N₂O: 264,1, experimental: 265,5.

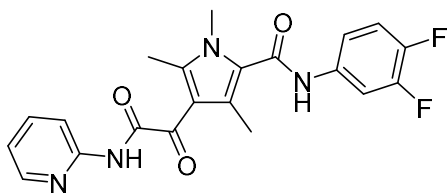
Ácido 2-(5-((3,4-Difluorofenil)carbamoil)-1,2,4-trimetil-1H-pirrol-3-il)-2-oxoacético (42)

A una solución de **40** (860 mg, 3,26 mmol) en DCM (30 mL) se añadieron cloruro de etiloxalilo (980 µL, 8,80 mmol) y AlCl₃ (1,08 g, 8,15 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h y se vertió en hielo picado. La mezcla se extrajo con DCM y las capas orgánicas combinadas se filtraron en Celite. El filtrado se concentró y el residuo resultante se usó en la siguiente etapa sin ulterior purificación. A una solución de **41** crudo en EtOH se añadió NaOH al 10 % (25 mL). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. EtOH se evaporó al vacío y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 M. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con Et₂O para obtener **42** en un rendimiento del 59% (646 mg) en dos etapas. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 14,13 (s, 1H), 10,46 (s, 1H), 8,04 - 7,71 (m, 1H), 7,59 - 7,28 (m, 2H), 3,60 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,26 (s, 3H). MS (ESI):

m/z [M+H]⁺ calc. para C₁₆H₁₅F₂N₂O₄: 337,1, experimental: 337,5.

Procedimiento general para la síntesis de 43-48

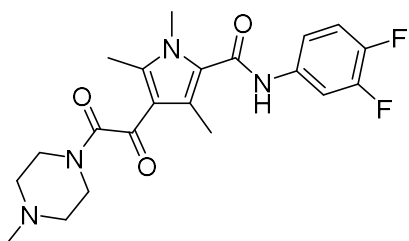
A una solución de **42** (40 mg, 0,119 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (2 mL, 1:1) se añadió CDI (29 mg, 0,178 mmol) a temperatura ambiente. Después de 15 min, la amina (0,178 mmol) se añadió y la mezcla se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con H₂O (3 x 5 mL). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando DCM/MeOH (98:2) para obtener los compuestos **43-48**.



N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(piridin-2-ilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxamida (**43**)

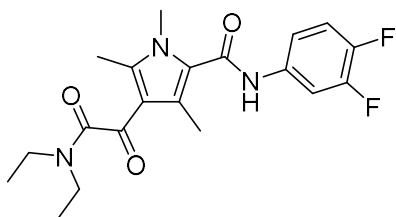
Rendimiento: 69%. ¹H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 9,33 (s, 1H), 8,45 - 8,38 (m, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,85 - 7,67 (m, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,22 - 7,12 (m, 3H), 3,75 (s,

3H), 2,45 (s, 3H), 2,44 (s, 3H). HRMN (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{21}H_{19}F_2N_4O_3$: 413,1425, experimental: 413,1416.



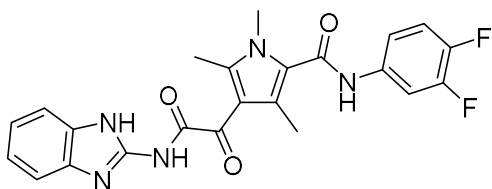
N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)-2-oxoacetil)-1H-pirrol-2-carboxamida
(44)

Rendimiento: 74%. ^1H RMN (400 MHz, Cloroformo- d) δ 8,98 (s, 1H), 7,80 – 7,69 (m, 1H), 7,43 – 7,32 (m, 1H), 7,13 (dt, J = 10,0, 8,8 Hz, 1H), 3,72 – 3,67 (m, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,32 (dd, J = 5,9, 4,1 Hz, 2H), 2,46 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,35 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). HRMN (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{21}H_{25}F_2N_4O_3$: 419,1895, experimental: 419,1886.



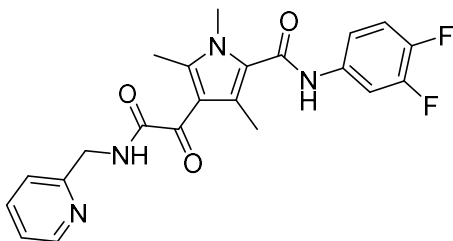
4-(2-(dietilamino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-
1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida (45)

Rendimiento: 71%. ^1H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 9,07 (s, 1H), 7,87 – 7,73 (m, 1H), 7,45 – 7,36 (m, 1H), 7,13 (dt, J = 10,0, 8,8 Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,48 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,22 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,21 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,14 (t, J = 7,0 Hz, 3H). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$: 392,1786, experimental: 392,1776.



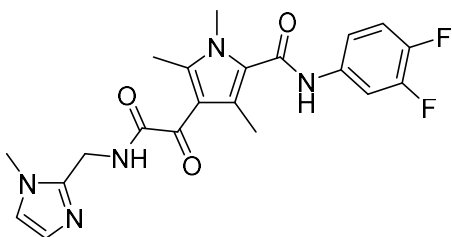
4-(2-((1H-benzo[d]imidazol-2-yl)amino)-2-oxoacetil)-N-
(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida
(46)

Rendimiento: 46%. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,42 (s, 2H), 10,45 (s, 1H), 8,03 – 7,76 (m, 1H), 7,56 – 7,38 (m, 4H), 7,18 (dd, J = 5,9, 3,2 Hz, 2H), 3,61 (s, 3H), 2,45 (s, 3H), 2,27 (s, 3H). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_3$: 452,1534, experimental: 452,1525.



N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-((piridin-2-ilmetil)amino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxamida (47)

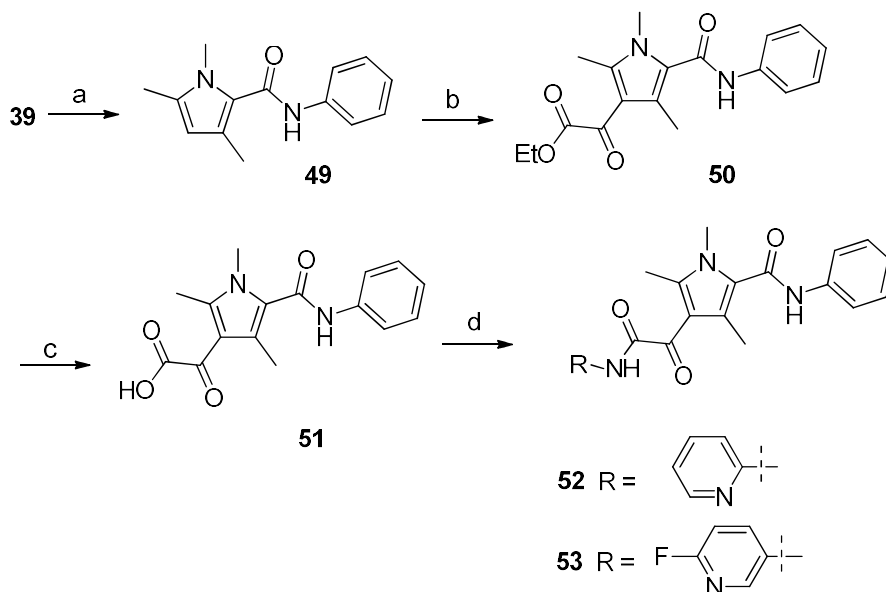
Rendimiento: 55%. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,42 (s, 1H), 9,28 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 8,53 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,94 - 7,77 (m, 2H), 7,46 - 7,41 (m, 2H), 7,38 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,34 - 7,26 (m, 1H), 4,50 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,59 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,21 (s, 3H). HRMN (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_3$: 427,1582, experimental: 427,1572.



N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-(((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)amino)-2-oxoacetil)-1H-pirrol-2-carboxamida (48)

Rendimiento: 63%. ^1H RMN (400 MHz, Cloroformo- d) δ 8,48 (s, 2H), 7,77 - 7,66 (m, 1H), 7,26 - 7,20 (m, 1H), 7,13 (dt, J

= 9,9, 8,7 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,24 (s, 3H). HRMN (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{21}H_{22}F_2N_5O_3$: 430,1691, experimental: 430,1681.



a) anilina, HATU, DIPEA, DMF, 60 °C, 16 h; b) cloruro de etiloxalilo, $AlCl_3$, DCM, 0 °C hasta ta, 16 h; c) NaOH, EtOH, rt, 1 h; d) amina, HATU, DIPEA, DMF, rt, 2 h.

1,3,5-trimetil-N-fenil-1H-pirrol-2-carboxamida (**49**)

A una solución de **39** (2,0 g, 13 mmol) en DMF (50 mL) se añadieron anilina (2,4 mL, 26 mmol), HATU (5,93 g, 15,6 mmol) y DIPEA (4,5 mL, 26 mmol) a 0 °C. La mezcla se calentó a 60 °C durante 2 días. La mezcla de reacción luego se

diluyó con EtOAc y se lavó con HCl 1 M, agua y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando hexanos/EtOAc (8:2) para obtener **49** en un rendimiento del 58% (1,72 g). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,60 (s, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,31 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,04 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 5,73 (s, 1H), 3,57 (s, 3H), 2,17 (s, 6H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₄H₁₇N₂O: 229,1, experimental: 229,5.

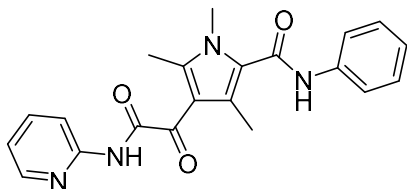
Ácido 2-oxo-2-(1,2,4-trimetil-5-(fenilcarbamoil)-1H-pirrol-3-il)acético (**51**)

A una solución de **49** (695 mg, 3,05 mmol) en DCM (30 mL) se añadieron cloruro de etiloxalilo (916 µL, 8,23 mmol) y AlCl₃ (1,01 g, 7,62 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h y se vertió en hielo picado. La mezcla se extrajo con DCM y las capas orgánicas combinadas se filtraron en Celite. El filtrado se concentró y el residuo resultante se usó en la siguiente etapa sin ulterior purificación. A una solución de **50** crudo en EtOH se añadió NaOH al 10 % (30 mL). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. EtOH se evaporó al vacío y la mezcla se lavó con EtOAc (3 x 10 mL). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 M. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x

10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con Et_2O para obtener **51** en un rendimiento del 70% (642 mg) en dos etapas. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14,18 (s, 1H), 10,26 (s, 1H), 7,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,35 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,10 (td, $J = 7,4, 1,1$ Hz, 1H), 3,61 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,26 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4$: 301,1, experimental: 301,5.

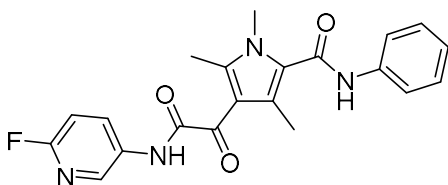
Procedimiento general para la síntesis de los compuestos **52** y **53**

A una solución de **51** (50 mg, 0,17 mmol) en DMF (2 mL) se añadieron amina (0,25 mmol), HATU (76 mg, 0,20 mmol) y DIPEA (58 μL , 0,33 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución luego se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando DCM/MeOH (98:2) para obtener para obtener los compuestos deseados **52** y **53**.



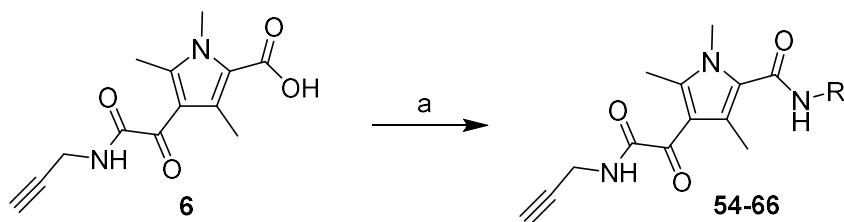
1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(piridin-2-ilamino)acetil)-N-fenil-1H-pirrol-2-carboxamida (52)

Rendimiento: 75%. ^1H RMN (400 MHz, Cloroformo- d) δ 9,47 (s, 1H), 8,43 – 8,35 (m, 1H), 8,30 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,86 – 7,74 (m, 1H), 7,68 – 7,57 (m, 3H), 7,46 – 7,34 (m, 1H), 7,22 – 7,10 (m, 2H), 3,73 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,43 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3$: 377,2, experimental: 377,4.

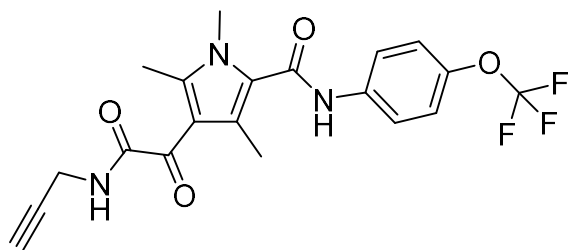


4-(2-((5-fluoropiridin-2-il)amino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-N-fenil-1H-pirrol-2-carboxamida (53)

Rendimiento: 68%. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,16 (s, 1H), 10,26 (s, 1H), 8,61 – 8,47 (m, 1H), 8,40 – 8,19 (m, 1H), 7,76 – 7,66 (m, 2H), 7,34 (dd, J = 8,5, 7,4 Hz, 2H), 7,25 (dd, J = 8,8, 3,2 Hz, 1H), 7,15 – 7,04 (m, 1H), 3,62 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,26 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{FN}_4\text{O}_3$: 395,2, experimental: 395,5.



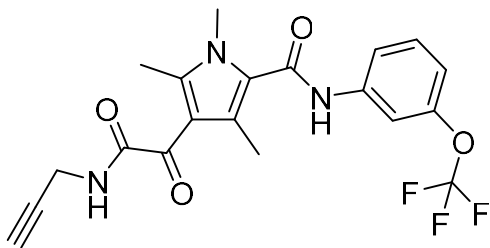
Reactivo y condiciones: a) amina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, rt; o i) SOCl₂, tolueno, 110 °C, 1 h, ii) amina, DMA, 0 °C, 2 h.



1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (**54**)

A una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxoacetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (250 mg, 1,0 mmol), 4-(trifluorometoxi)anilina (227 mg, 1,3 mmol) y DIPEA (330 µL, 2,0 mmol) en piridina (10 mL) se añadió HATU (0,65 g, 1,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 65 °C durante 18 h. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se

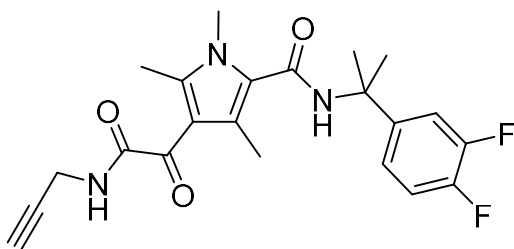
concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **54** en forma de un polvo blanco (35%, 141 mg, 0,3 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,51 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 7,95 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 7,36 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 4,17 (dd, J = 5,9, 2,6 Hz, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,75 (t, J = 2,5 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,31 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$: 422,4, experimental: 422,4.



1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-(3-(trifluorometoxi)fenil)-1H-pirrol-2-carboxamida (**55**)

A una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (250 mg, 1,0 mmol), 3-(trifluorometoxi)anilina (227 mg, 1,3 mmol) y DIPEA (330 μL , 2,0 mmol) en piridina (10 mL) se añadió HATU (0,65 g, 1,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 65 °C durante 18 h. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas

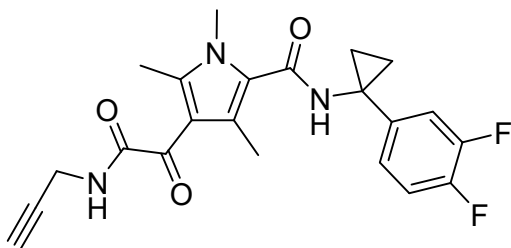
combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **55** en forma de un polvo blanco (34%, 135 mg, 0,3 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,57 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,81 - 7,67 (m, 1H), 7,50 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,16 - 7,06 (m, 1H), 4,17 (dd, J = 5,8, 2,6 Hz, 2H), 3,71 (s, 3H), 2,75 (t, J = 2,5 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,32 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$: 422,4, experimental: 422,4.



N-(2-(3,4-difluorofenil)propan-2-il)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxamida
(56)

A una solución de 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol), 2-(3,4-difluorofenil)propan-2-amina (65 mg, 0,4 mmol) y DIPEA (132 μL , 0,8 mmol) en DMF (5 mL) se añadió HATU (0,218 g, 0,6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a

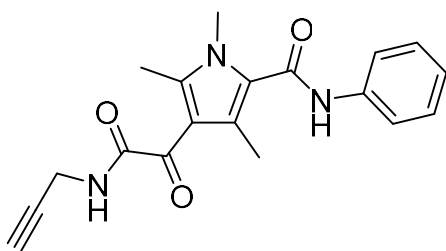
65 °C durante 18 h. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **56** (38%, 61 mg, 0,1 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,47 - 7,38 (m, 1H), 7,37 - 7,31 (m, 1H), 7,26 (dt, *J* = 10,5, 8,5 Hz, 1H), 4,14 (dd, *J* = 5,8, 2,5 Hz, 2H), 3,53 (s, 3H), 2,72 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 1,77 (s, 6H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₂₂H₂₄F₂N₃O₃: 416,4, experimental: 416,5.



N-(1-(3,4-difluorofenil)ciclopropil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida
(57)

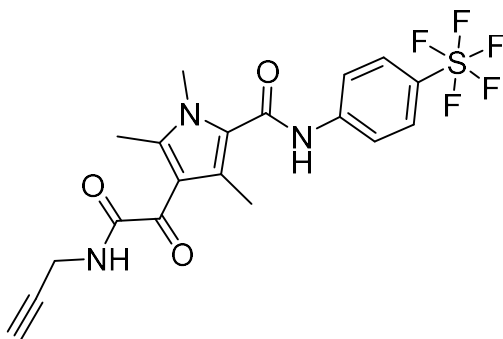
A una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (75 mg, 0,3

mmol), 1-(3,4-difluorofenil)ciclopropanamina (50 mg, 0,3 mmol) y DIPEA (100 μ L, 0,6 mmol) en DMF (5 mL) se añadió HATU (0,163 g, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 65 °C durante 18 h. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **57** (46%, 55 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 8,11 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,35 - 7,28 (m, 1H), 7,27 - 7,17 (m, 2H), 4,13 (dd, J = 5,8, 2,5 Hz, 2H), 3,60 (s, 3H), 2,72 (t, J = 2,6 Hz, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 1,41 - 1,30 (m, 4H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$: 414,4, experimental: 414,5.



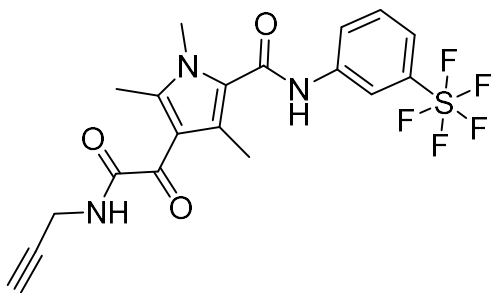
1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-fenil-1H-pirrol-2-carboxamida (**58**)

A una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol), anilina (53 mg, 0,6 mmol) y DIPEA (100 μ L, 0,6 mmol) en DMF (5 mL) se añadió HATU (0,163 g, 0,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 65 °C durante 18 h. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (DCM:MeOH = 98:2 v/v) para dar el compuesto **58** en forma de un polvo amarillento (66%, 82 mg, 0,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,32 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,88 – 7,79 (m, 2H), 7,44 – 7,32 (m, 1H), 7,20 – 7,08 (m, 1H), 4,16 (dd, J = 5,9, 2,5 Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 2,75 (t, J = 2,5 Hz, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,31 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$: 338,4, experimental: 338,5.



1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-(4-(pentafluorosulfanil)fenil)-1H-pirrol-2-carboxamida
(59)

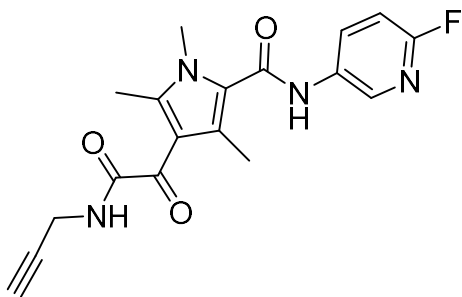
Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 µL, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó hasta reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 4-pentafluorosulfanilanilina (167 mg, 0,8 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución de ácido clorhídrico 1 N (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **59** en forma de un polvo blanco (47%, 83 mg, 0,2 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 9,72 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,88 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H), 4,16 (dd, *J* = 5,9, 2,6 Hz, 2H), 3,71 (s, 3H), 2,75 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,32 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₂₀H₁₉F₃N₃O₄: 464,4, experimental: 464,4.



1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-
(3-(pentafluorosulfanil)fenil)-1H-pirrol-2-carboxamida
(60)

Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó hasta reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 3-pentafluorosulfanilanilina (167 mg, 0,8 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución de ácido clorhídrico 1 N (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **60** en forma de un polvo blanco (40%, 71 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,68 (s, 1H), 8,54

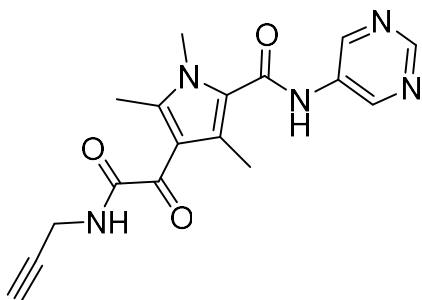
(s, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,00 (m, 1H), 7,63 (m, 1H), 4,16 (dd, $J = 5,9, 2,6$ Hz, 2H), 3,71 (s, 3H), 2,75 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{19}H_{19}F_5N_3O_3S$: 464,4, experimental: 464,4.



N-(6-fluoropiridin-3-il)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**61**)

Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó hasta reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 6-fluoropiridin-3-amina (85 mg, 0,8 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato

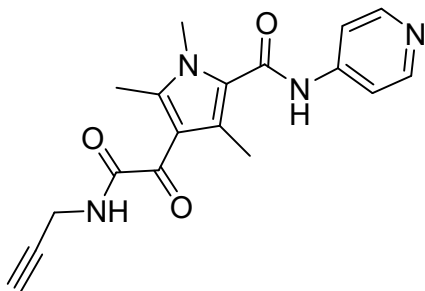
de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **61** en forma de un polvo blanco (68%, 92 mg, 0,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,56 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,47 – 8,36 (m, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,14 (dd, J = 8,9, 3,4 Hz, 1H), 4,24 – 4,15 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 2,78 – 2,74 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,34 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{FN}_4\text{O}_3$: 357,4, experimental: 357,4.



1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-(pirimidin-5-il)-1H-pirrol-2-carboxamida (**62**)

Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μL , 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó hasta reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de pirimidin-5-amina (73 mg, 0,8 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida

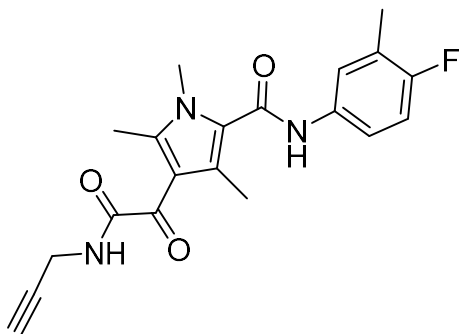
(5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **62** en forma de un polvo blanco (31%, 40 mg, 0,1 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 9,61 (s, 1H), 9,21 (s, 2H), 8,93 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 4,19 (dd, *J* = 5,8, 2,6 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,77 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,37 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₇H₁₈N₅O₃: 340,4, experimental: 340,5.



1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-N-(piridin-4-il)-1H-pirrol-2-carboxamida (**63**)

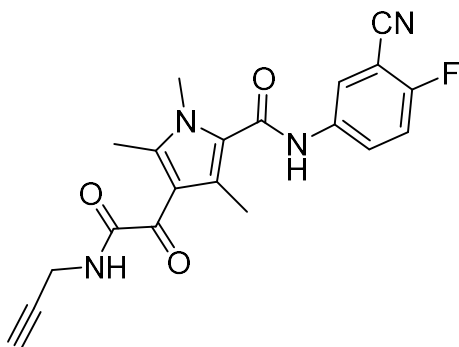
Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 µL, 2,7 mmol) en tolueno (5

mL) se calentó hasta reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 4-aminopiridina (53 mg, 0,6 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (DCM:MeOH = 98:2 v/v) para dar el compuesto **63** (71%, 92 mg, 0,3 mmol). ¹H RMN (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 9,60 (s, 1H), 8,49 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H), 8,19 (s, 1H), 7,75 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H), 4,15 (dd, *J* = 5,7, 2,5 Hz, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,74 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₈H₁₉N₄O₃: 339,4, experimental: 339,5.



N-(4-fluoro-3-metilfenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**64**)

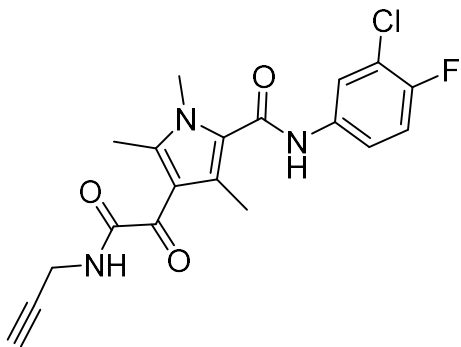
Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó a reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 4-fluoro-3-metilanilina (71 mg, 0,6 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **64** en forma de un sólido blanco (67%, 95 mg, 0,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,25 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,72 (dd, J = 6,9, 2,5 Hz, 1H), 7,68 - 7,59 (m, 1H), 7,05 (t, J = 9,2 Hz, 1H), 4,15 (dd, J = 5,9, 2,6 Hz, 2H), 3,68 (s, 3H), 2,73 (t, J = 2,6 Hz, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,27 (d, J = 2,0 Hz, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_3\text{O}_3$: 370,4, experimental: 370,5.



N-(3-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**65**)

Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó a reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 5-amino-2-fluorobenzonitrilo (78 mg, 0,6 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **65** en forma de un sólido blanco (42%, 61 mg, 0,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,61 (s, 1H), 8,32 (dd, J = 5,7, 2,7 Hz, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,13 - 8,07 (m, 1H), 7,46 (t, J = 9,1 Hz, 1H), 4,15 (dd, J = 5,8, 2,5 Hz,

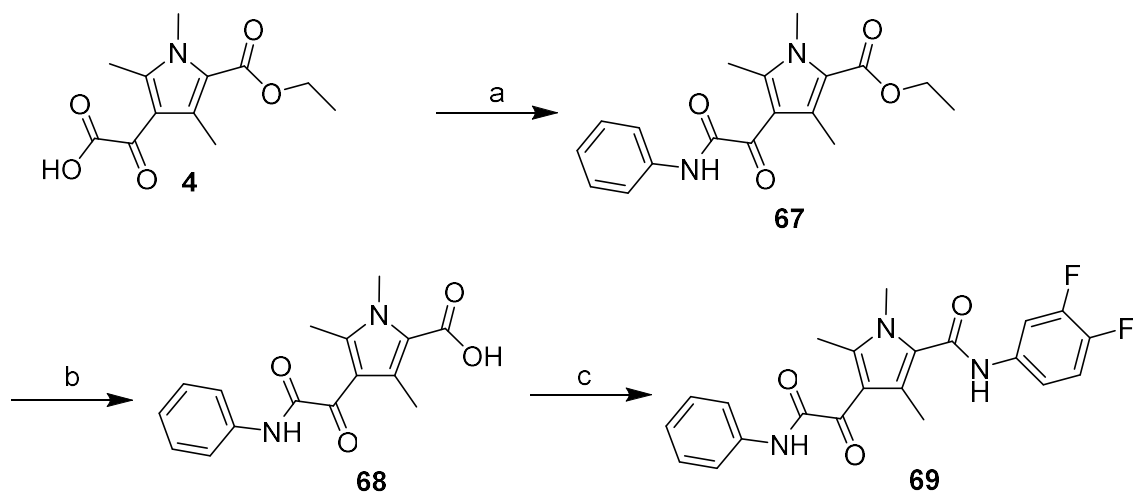
2H), 3,70 (s, 3H), 2,74 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{20}H_{18}FN_4O_3$: 381,4, experimental: 381,3.



N-(3-cloro-4-fluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**66**)

Una solución de ácido 4-[2-(propargilamino)-2-oxo-acetil]-1,3,5-trimetil-pirrol-2-carboxílico **6** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó a reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 3-cloro-4-fluoroanilina (83 mg, 0,6 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash

(Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **66** en forma de un sólido blanco (20%, 30 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,45 (s, 1H), 8,29 – 8,03 (m, 2H), 7,84 – 7,64 (m, 1H), 7,32 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 4,15 (dd, J = 5,9, 2,6 Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 2,73 (s, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClFN}_3\text{O}_3$: 390,8, experimental: 390,4.

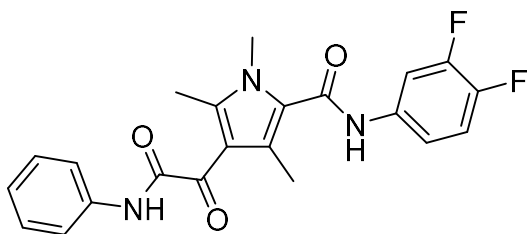


Reactivos y condiciones: a) CDI, anilina, DMF, 3 h, rt; b) NaOH 5%, MeOH, 16 h, rt; c) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, rt.

Ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxílico (**68**)

A una solución de ácido 2-(5-etoxycarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (2,5 g, 9,9 mmol) en DMF (15 mL) y CH_2Cl_2 (10 mL) se añadió 1,1'-

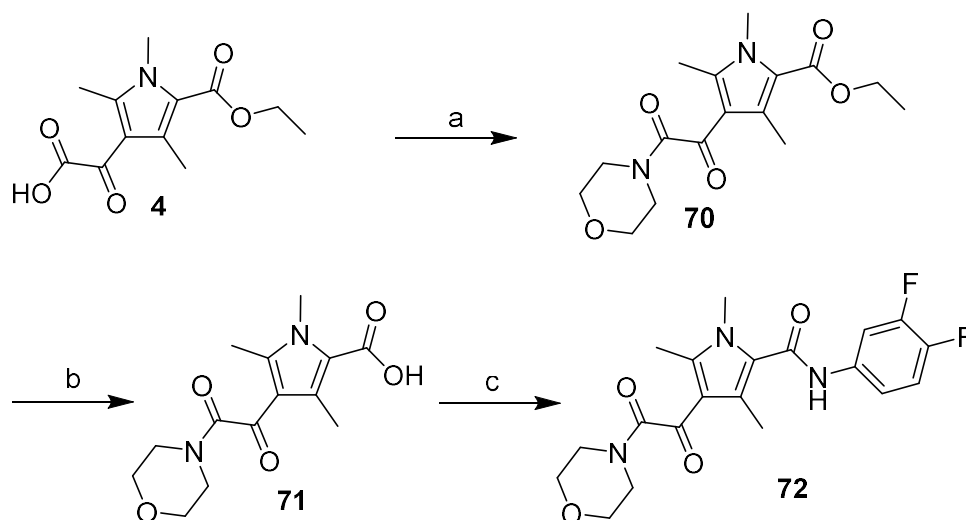
carbonildiimidazol (2,4 g, 11,8 mmol) y anilina (1,35 mL, 9,5 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío para dar **67** en forma de un sólido blanco. Al 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo **67** disuelto en metanol (10 mL) y THF (10 mL) se añadió una solución al 5% de hidróxido de sodio (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después de evaporar el metanol y THF al vacío, la solución acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo otra vez con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **68** (1,8 g, 6,0 mmol, 62%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,79 (s, 1H), 7,75 - 7,67 (m, 2H), 7,37 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,20 - 7,11 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,41 (s, 6H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₆H₁₇N₂O₄: 301,3, experimental: 301,4.



N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxamida (**69**)

A una solución de ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(fenilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxílico **68** (200 mg, 0,7 mmol), 3,4-difluoroanilina (129 mg, 1,0 mmol) y DIPEA (231 μ L, 4,3 mmol) en DMF (5 mL) se añadió HATU (304 mg, 0,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. A fin de alcanzar la culminación, más 3,4-difluoroanilina (65 mg, 0,5 mmol) se añadió y la mezcla luego se agitó durante la noche a 65 °C. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **69** en forma de un polvo blanco (35%, 110 mg, 0,3 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,73 (s, 1H), 9,52 (s, 1H), 8,02 - 7,94 (m, 1H), 7,87 - 7,80 (m, 2H), 7,56 -

7,48 (m, 1H), 7,43 – 7,36 (m, 2H), 7,32 (dt, $J = 10,6, 9,0$ Hz, 1H), 7,20 – 7,13 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,31 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{22}H_{20}F_2N_3O_3$: 412,4, experimental: 412,5.

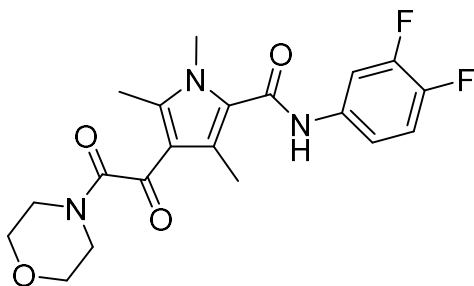


Reactivos y condiciones: a) CDI, morfolina, DMF, 3h, rt; b) NaOH 5%, MeOH, 16 h, rt; d) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, rt.

Ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-1H-pirrol-2-carboxílico (71)

A una solución de ácido 2-(5-etoxicarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (0,5 g, 2,0 mmol) en DMF (15 mL) y CH_2Cl_2 (10 mL) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (0,53 g, 3,2 mmol) y morfolina (0,25 mL, 3,2 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de

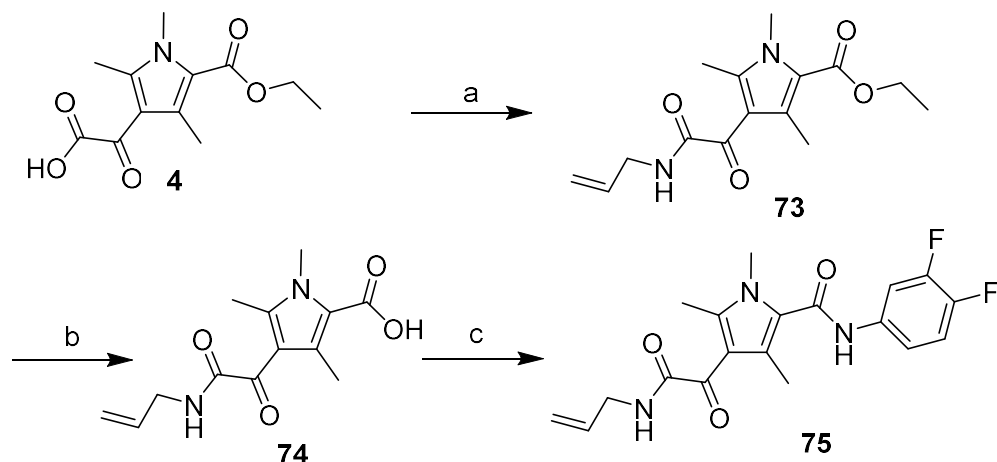
reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío para dar **70** en forma de un aceite amarillento. Al 1,3,5-trimetil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo **70** disuelto en metanol (10 mL) y THF (10 mL) se añadió una solución al 5% de hidróxido de sodio (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después de evaporar el metanol y THF al vacío, la solución acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo otra vez con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **71** (0,41 g, 1,3 mmol, 70%). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,86 (s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,71 – 3,63 (m, 2H), 3,59 – 3,51 (m, 4H), 3,33 – 3,25 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,42 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_5$: 295,3, experimental: 295,4.



N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**72**)

Una solución de ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-morfolino-2-oxoacetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **71** (100 mg, 0,3 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó hasta reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 3,4-difluoroanilina (66 mg, 0,5 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (DCM:MeOH = 98:2 v/v) para dar el compuesto **72** en forma de un sólido amarronado (29%, 40 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,53 (s, 1H), 8,03 – 7,93 (m, 1H), 7,58 – 7,44 (m, 1H), 7,33 (dt, J = 10,6, 9,0 Hz, 1H), 3,74 – 3,67 (m, 6H), 3,66 – 3,61 (m, 3H), 3,39 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 2,51

(s, 3H), 2,33 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{20}H_{22}F_2N_3O_4$: 406,4, experimental: 406,5.

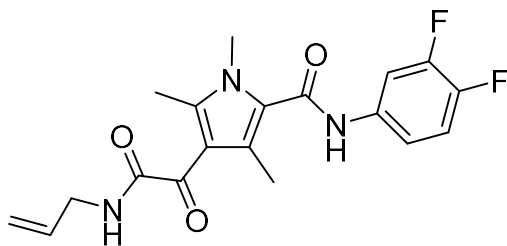


Reactivos y condiciones: a) CDI, alilamina, DMF, 3 h, RT;
 b) NaOH 5%, MeOH, 16 h, rt;
 c) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, rt.

Ácido 4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (74)

A una solución de ácido 2-(5-etoxycarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (0,5 g, 2,0 mmol) en DMF (15 mL) y CH_2Cl_2 (10 mL) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (0,53 g, 3,2 mmol) y alilamina (0,18, 3,2 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). Las capas orgánicas

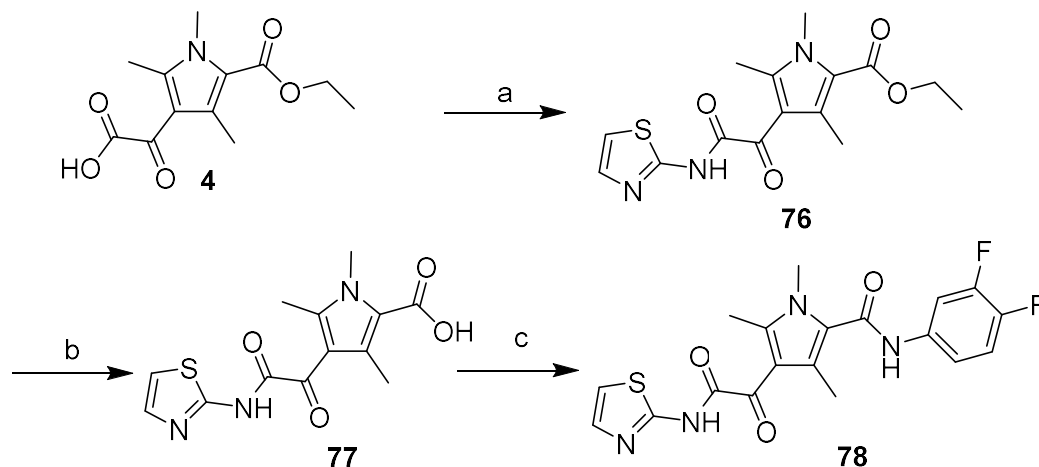
combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío para dar **73** en forma de un sólido blanco. Al 4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo **73** disuelto en metanol (10 mL) y THF (10 mL) se añadió una solución al 5% de hidróxido de sodio (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después de evaporar el metanol y THF al vacío, la solución acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo otra vez con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener ácido 4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxílico **74** (270 mg, 1,0 mmol, 51%). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,74 (s, 1H), 8,86 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 5,99 – 5,66 (m, 1H), 5,36 – 5,05 (m, 2H), 3,85 – 3,80 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,36 (s, 6H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4$: 265,3, experimental: 265,4.



4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida (**75**)

Una solución de ácido 4-(2-(alilamino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxílico **74** (100 mg, 0,4 mmol) y cloruro de tionilo (210 μ L, 2,7 mmol) en tolueno (5 mL) se calentó a reflujo durante 1 h. La solución resultante se concentró al vacío, se solubilizó en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) y se añadió a una solución de 3,4-difluoroanilina (73 mg, 0,6 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **75** en forma de un sólido blanco (18%, 25 mg, 0,1 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,48 (s, 1H), 8,09 – 7,94 (m, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,59 – 7,48 (m, 1H), 7,32 (dt, J = 10,2, 9,0 Hz, 1H), 6,02 – 5,86 (m, 1H), 5,28 (dd, J = 17,2, 1,6 Hz, 1H), 5,12

(dd, $J = 10,2, 1,4$ Hz, 1H), 3,99 – 3,94 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). MS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{19}H_{20}F_2N_3O_3$: 376,4, experimental: 376,4.

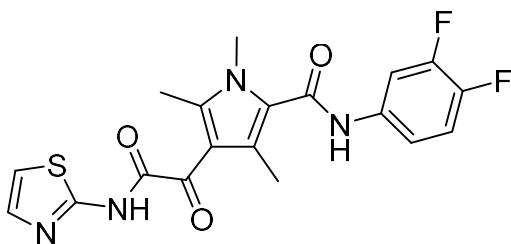


Reactivos y condiciones: a) CDI, 2-aminotiazol, DMF, 3 h, rt; b) NaOH 5%, MeOH, 16 h, rt; c) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, rt.

Ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1H-pirrol-2-carboxílico (77)

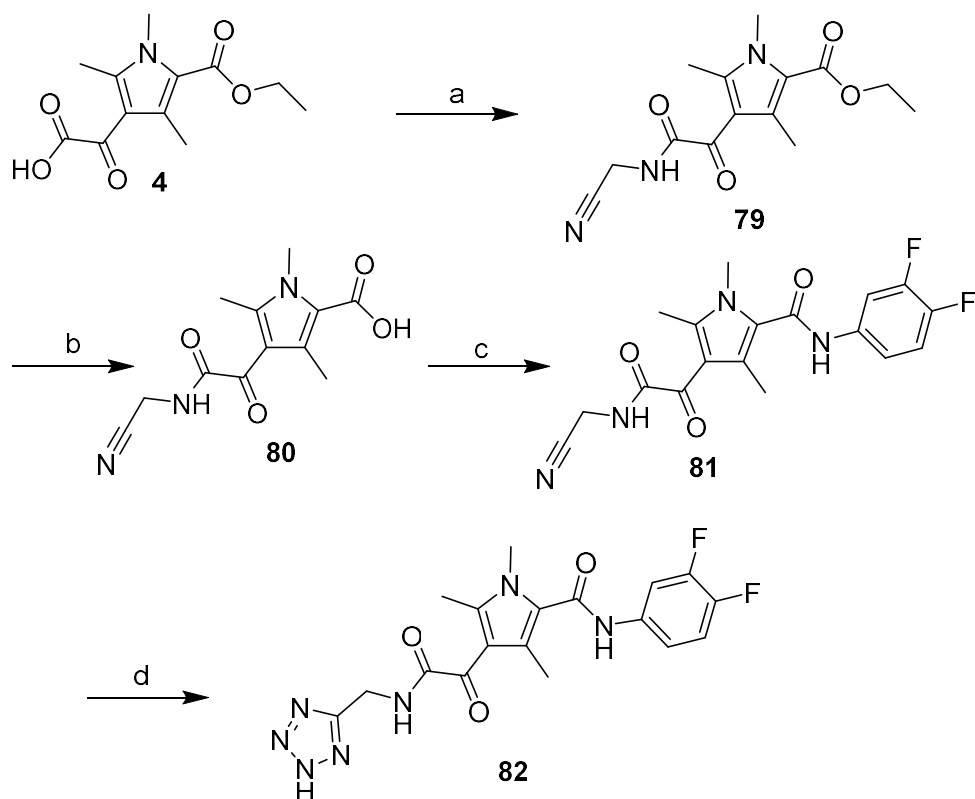
A una solución de ácido 2-(5-etoxycarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (2,0 g, 7,9 mmol) en DMF (15 mL) y CH_2Cl_2 (10 mL) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (1,92 g, 11,8 mmol) y 2-aminotiazol (0,95 g, 9,5 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de

amonio, se filtró a través de un embudo fritado, se secó al vacío para dar **76** en forma de un sólido amarillo. Al 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo **76** disuelto en metanol (10 mL) y THF (10 mL) se añadió una solución al 5% de hidróxido de sodio (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después de evaporar el metanol y THF al vacío, la solución acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo otra vez con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **77** (1,9 g, 6,1 mmol, 78%) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,96 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₃H₁₄N₃O₄: 308,3, experimental: 308,4.



N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**78**)

A una solución de ácido 1,3,5-trimetil-4-(2-oxo-2-(tiazol-2-ilamino)acetil)-1*H*-pirrol-2-carboxílico **77** (250 mg, 0,8 mmol), 3,4-difluoroanilina (158 mg, 1,2 mmol) y DIPEA (283 μ L, 1,6 mmol) en DMF (15 mL) se añadió HATU (0,37 g, 1,0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. A fin de alcanzar la culminación, más 3,4-difluoroanilina (80 mg, 0,6 mmol) se añadió y la mezcla luego se agitó durante la noche a 65 °C. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (DCM:MeOH = 98:2 v/v) para dar el compuesto **78** en forma de un polvo amarillento (55%, 187 mg, 0,4 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,01 (s, 1H), 10,47 (s, 1H), 7,88 (dd, *J* = 13,3, 7,5 Hz, 1H), 7,58 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 7,54 - 7,35 (m, 3H), 3,62 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,19 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₉H₁₈F₂N₃O₃: 419,4, experimental: 419,4.

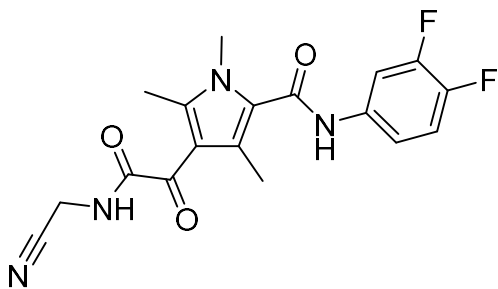


Reactivos y condiciones: a) CDI, clorhidrato de aminoacetonitrilo, Et_3N , DMF, 3 h, rt; b) NaOH 5%, MeOH, 16 h, rt; c) 3,4-difluoroanilina, HATU, DIPEA, DMF, 16 h, rt; d) NaN_3 , ZnBr_2 , $i\text{PrOH}$, 110 °C MW, 20 min.

Ácido 4-(2-((cianometil)amino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (**80**)

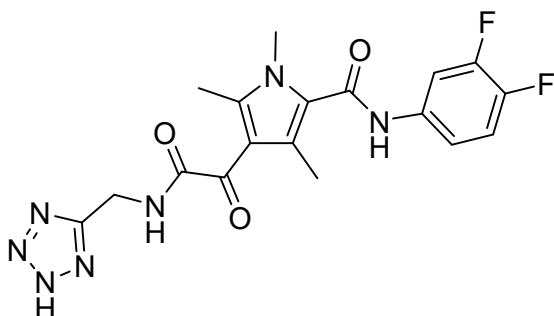
A una solución de ácido 2-(5-etoxicarbonil-1,3,5-trimetil-pirrol-3-il)-2-oxo-acético **4** (3,0 g, 11,8 mmol) en DMF (20 mL) y CH_2Cl_2 (20 mL) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (2,3 g, 14,2 mmol) y clorhidrato de 2-aminoacetonitrilo (1,63 g,

17,8 mmol) y diisopropiletilamina (4,12 mL, 23,7 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío para dar **79** en forma de un sólido. Al 4-(2-((cianometil)amino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo crudo **79** disuelto en metanol (10 mL) y THF (10 mL) se añadió una solución al 5% de hidróxido de sodio (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después de evaporar el metanol y THF al vacío, la solución acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL), se acidificó con una solución 1 N de HCl (pH = 1) y se extrajo otra vez con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El sólido resultante se lavó con éter dietílico (50 mL) y hexanos (50 mL) para obtener ácido 4-(2-((cianometil)amino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico **80** (0,41 g, 15,5 mmol, 13%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,79 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 4,32 (d, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,36 (s, 3H). MS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calc. para C₁₂H₁₄N₃O₄: 264,3, experimental: 264,4.



4-(2-((cianometil) amino)-2-oxoacetil)-N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxamida (**81**)

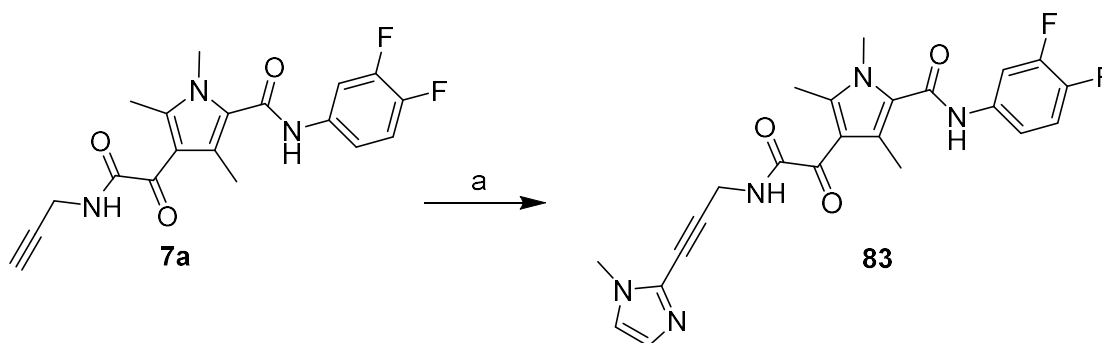
Ácido 4-(2-((cianometil) amino)-2-oxoacetil)-1,3,5-trimetil-1H-pirrol-2-carboxílico **80** (2 g, 7,6 mmol), 3,4-difluoroanilina (1,47 g, 11,4 mmol) y DIPEA (1,98 mL, 11,4 mmol) en DMF (30 mL) se añadió HATU (3,18 g, 8,3 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 65 °C durante 18 h. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía flash (Hexanos:EtOAc = 6:4 v/v) para dar el compuesto **81** en forma de un polvo blanco (30%, 840 mg, 2,2 mmol). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,52 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,09 – 7,90 (m, 1H), 7,58 – 7,45 (m, 1H), 7,40 – 7,23 (m, 1H), 4,49 – 4,36 (m, 2H), 3,74 – 3,65 (m, 3H), 2,46 – 2,40 (m, 3H), 2,34 – 2,25 (m, 3H). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_3$: 375,3, experimental: 375,4.



4-(2-(((2*H*-tetrazol-5-il)metil)amino)-2-oxoacetyl)-*N*-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**82**)

Azida sódica (26 mg, 0,4 mmol) y bromuro de zinc (90 mg, 0,4 mmol) se añadieron a una suspensión de 4-(2-((cianometil)amino)-2-oxoacetyl)-*N*-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-1*H*-pirrol-2-carboxamida **81** (50 mg, 0,1 mmol) en isopropanol (2 mL). La mezcla se calentó hasta 110 °C durante 20 min bajo irradiación de microondas. La mezcla de reacción luego se vertió en una solución saturada de carbonato de sodio (50 mL) y se lavó con acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase acuosa luego se acidificó a pH ~ 1 y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía flash (DCM/MeOH = 95:5 v/v), para dar como resultado el compuesto **82** en forma de un polvo blanco (48%, 27 mg, 0,1 mmol). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,41 (s, 1H),

9,46 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 7,92 - 7,83 (m, 1H), 7,50 - 7,37 (m, 2H), 4,69 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,58 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,17 (s, 3H). LCMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calc. para $C_{18}H_{18}F_2N_7O_3$: 418,4, experimental: 418,4.



Reactivos y condiciones: a) 2-bromo-1-metil-1*H*-imidazol, Et_3N , DMF, CuI , dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio, 70 °C MW, 20 min.

N-(3,4-difluorofenil)-1,3,5-trimetil-4-(2-((3-(1-metil-1*H*-imidazol-2-il)prop-2-in-1-il)amino)-2-oxoacetil)-1*H*-pirrol-2-carboxamida (**83**)

El compuesto **7a** (100 mg, 268 μ mol), 2-bromo-1-metil-1*H*-imidazol (65 mg, 402 μ mol), trietilamina (73 μ L, 541 μ mol) y dimetilformamida (2 mL) se combinaron en un tubo sellado. La mezcla se roció durante 2 minutos con nitrógeno y dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (19 mg, 27 μ mol) se añadió seguido por yoduro de cobre (10 mg, 53 μ mol). La

mezcla se roció otra vez con nitrógeno y se agitó durante 20 minutos a 70 °C bajo irradiación de microondas. La reacción se diluyó con acetato de etilo (50 mL), se lavó con una solución saturada de cloruro de amonio (50 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía flash en gel de sílice (DCM/MeOH: 96/4) para dar el compuesto **83** (62 mg, 137 μ mol, 51%). ^1H RMN (400 MHz, Acetona- d_6) δ 9,51 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,99 (ddd, J = 13,2, 7,4, 2,6 Hz, 1H), 7,57 - 7,48 (m, 1H), 7,34 (dt, J = 10,5, 9,0 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 4,46 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,70 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,32 (s, 3H). ^{19}F RMN (377 MHz, Acetona- d_6) δ -139,91 - -140,01 (dt, J = 22,1, 11,6 Hz), -147,12 - -147,23 (dt, J = 20,5, 10,4 Hz). MS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_3$: 454,4, experimental: 454,4.

Ejemplo 2

Ensayos de toxicidad celular

La toxicidad de los compuestos se ensayó en células Vero, PBM humano, CEM (linfoblastoide humano), MT-2 y HepG2, como se describió previamente (ver Schinazi R.F., Sommadossi J.-P., Saalman V., Cannon D.L., Xie M.-Y., Hart G.C., Smith G.A. & Hahn E.F. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, 34,

1061-67). La cicloheximida se incluyó como control citotóxico positivo, y las células no tratadas expuestas el solvente se incluyeron como controles negativos. La citotoxicidad IC₅₀ se obtuvo de la curva de concentración-respuesta usando el método efectivo medio descrito previamente (ver Chou T.-C. & Talalay P. *Adv. Enzyme Regul.* **1984**, 22, 27-55; Belen'kii M.S. & Schinazi R.F. *Antiviral Res.* **1994**, 25, 1-11). Los resultados se muestran en la Tabla 1 de abajo:

Tabla 1
Citotoxicidad, CC₅₀, μ M (% de inhibición)

	Citotoxicidad; CC ₅₀ (μ M)			
Compuesto	PBM	CEM	VERO	HepG2
7a	>100	>100	>90	
17	>100	53	41	
13	64,8	17,5	66,0	
8	60,5	45,4	>100	98,6
36	13,9	36,7	22,9	43,5
13	>100	78,3	55,6	>100

20	>100	>100	>100	>100
31	>100	>100	41,9	93,9
27		37,9	80,1	>100
28		>100	13,4	>100
29		>100	62,4	>100
30		>100	91,4	>100
25	>100	>100	68,1	>100
26	>100	>100	31,2	>100
32	>100	>100	>100	>100
7b	>100	>100	>100	>100
38	>100	29	45	85
43	>100	50	>100	>100
44	92	17	>100	90
45	90	36	47	75
46	>100	38	10	7
47	>100	47	51	35
48	>100	27	>100	84

52 (3057)	>100	50	>100	>100
54	3	4	6	
55	>100	38	15	88
56	>100	>100	>100	>100
57	>100	>100	>100	>100
58	>100	>100	>100	>100
59	44	3	12	43
60	86	23	82	>100
61	>100	>100	>100	>100
62	>100	>100	>100	>100
63	>100	>100	>100	>100
64	>100	18	96	>100
65	>100	>100	>100	>100
66	>100	52	70	83
69	>100	>100	48	59
72	30	14	51	100
75	>100	66	33	>100

78	>100	15	>100	84
81	30	33	>100	71
82	>100	>100	>100	>100
83	7	4	7	42

Ejemplo 3

Ensayos de toxicidad mitocondrial en células HepG2:

i) Efecto de los compuestos sobre el crecimiento celular y la producción de ácido láctico: El efecto sobre el crecimiento de células HepG2 se determinó por incubación de células en presencia de 0 μM , 0,1 μM , 1 μM , 10 μM y 100 μM de fármaco. Las células (5×10^4 por cavidad) se plaquearon en clústeres de cultivo celular de 12 cavidades en medio esencial mínimo con aminoácidos no esenciales suplementados con 10% de suero bovino fetal, 1% de piruvato de sodio y 1% de penicilina/estreptomicina y se incubaron durante 4 días a 37 °C. Al final del período de incubación, se determinó la cantidad celular usando un hemocitómetro. Además se enseñó por Pan-Zhou X-R, Cui L, Zhou X-J, Sommadossi J-P, Darley-Usmer VM. "Differential effects of antiretroviral nucleoside analogs on mitochondrial function

in HepG2 cells", Antimicrob. Agents Chemother. **2000**; 44: 496-503.

Para medir los efectos de los compuestos sobre la producción de ácido láctico, las células HepG2 de un cultivo madre se diluyeron y plaquearon en placas de cultivo de 12 cavidades a $2,5 \times 10^4$ células por cavidad. Varias concentraciones (0 μ M, 0,1 μ M, 1 μ M, 10 μ M y 100 μ M) de compuesto se añadieron y los cultivos se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada de 5% de CO₂ durante 4 días. El día 4, se determinó la cantidad de células en cada cavidad y el medio de cultivo se recolectó. El medio de cultivo luego se filtró y el contenido de ácido láctico en el medio se determinó usando un ensayo de ácido láctico colorimétrico (Sigma-Aldrich). Si bien el producto de ácido láctico se puede considerar un marcador para la función mitocondrial alterada, los niveles elevados de producción de ácido láctico detectado en células cultivadas en presencia de los compuestos de ensayo indicarían un efecto citotóxico inducido por fármaco.

ii) Efecto sobre compuestos en la síntesis de ADN mitocondrial: se desarrolló un ensayo de PCR en tiempo real para cuantificar en forma precisa el contenido de ADN mitocondrial (ver Stuyver LJ, Lostia S, Adams M, Mathew JS,

Pai BS, Grier J, Tharnish PM, Choi Y, Chong Y, Choo H, Chu CK, Otto MJ, Schinazi RF. Antiviral activities and cellular toxicities of modified 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrocytidine analogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**; 46: 3854-60). Este ensayo se usó en todos los estudios descritos en esta solicitud que determinan el efecto de los compuestos sobre el contenido de ADN mitocondrial. En este ensayo, se sembraron células HepG2 de número de bajo pasaje a 5000 células/cavidad en placas de 96 cavidades recubiertas con colágeno. Los compuestos de ensayo se añadieron al medio para obtener concentraciones finales de 0 μ M, 0,1 μ M, 10 μ M y 100 μ M. El día de cultivo 7, se prepararon ácidos nucleicos celulares usando columnas asequibles en comercios (RNeasy 96 kit; Qiagen). Estos kits copurificaron ARN y ADN y, así, se eluyen ácidos nucleicos totales de las columnas. El gen de citocromo c oxidasa mitocondrial subunidad II (COXII) y la β -actina o gen de rARN se amplificaron de 5 μ l de los ácidos nucleicos eluidos usando un protocolo de Q-PCR múltiple con cebadores y sondas apropiados tanto para las amplificaciones diana como de referencia. Para COXII, se usaron los siguientes cebadores con sentido, sonda y antisentido, respectivamente: 5'- TGCCCGCCATCATCCTA-3', 5'- tetracloro-6-carboxifluoresceína-TCCTCATCGCCCTCCCATCCC-TAMRA-3' y 5'-CGTCTGTTATGTAAAGGATGCGT-3'. Para el exón 3

del gen de β -actina (GenBank accession número E01094), los cebadores con sentido, sonda y antisentido son 5'-GCGCGGCTACAGCTTCA-3', 5'-6-FAMCACCACGGCCGAGCGGGATAMRA-3' y 5'-TCTCCTTAATGTCACGCACGAT-3', respectivamente. Los cebadores y sondas para el gen de rARN son asequibles en comercios de Applied Biosystems. Si bien se obtienen eficaces de amplificación iguales para todos los genes, se usó el método comparativo CT para investigar la potencial inhibición de la síntesis de ADN mitocondrial. El método comparativo de CT usa fórmulas aritméticas en las que la cantidad del blanco (gen COXII) se normaliza a la cantidad de una referencia endógena (la β -actina o gen de rARN) y es relativa a un calibrador (un control sin fármaco al día 7). La fórmula aritmética para este enfoque se brinda por $2^{-\Delta\Delta CT}$, donde $\Delta\Delta CT$ es (CT para muestra de ensayo diana promedio - CT para control diana) - (CT para ensayo de referencia promedio - CT para control de referencia) (ver Johnson MR, K Wang, JB Smith, MJ Heslin, RB Diasio. Quantitation of dihydropyrimidine dehydrogenase expression by real-time reverse transcription polymerase chain reaction. Anal. Biochem. 2000; 278:175-184). Una reducción en el contenido de ADN mitocondrial en células cultivadas en presencia de fármaco indicó toxicidad mitocondrial.

El efecto de los compuestos **7** y **9** sobre los niveles de ADN mitocondrial y nuclear y la producción de ácido láctico se evaluó en células HepG2 (ensayo de 14 días) y los datos se tabulan más abajo en la Tabla 2:

Tabla 2

Comp	μM	% de inhibición de MtADN / nADN	IC_{50} , μM de MtADN / nADN	MtADN (% de control)	Producción de ácido láctico (% de control)
7a		< 1 /		110 (100 -	103 $\pm$
	10	5,4		121)	32,0
	25	< 1 / < 1	> 50 / > 50	91,8 (80,2 -105)	106 $\pm$ 19,5
	50	17,7		94,6 (73,8	193 $\pm$
		/13,1		- 121)	12,6
ddC (contr ol)	10	97,4 / 52,4	< 10 / < 10	5,3 (5,0 - 5,8)	196 $\pm$ 73,0
3TC (contr ol)	10	8,8 / 29,6	> 10 / > 10	130 (85,7 - 196)	94 $\pm$ 20,8

Los datos muestran que los compuestos **7a**, como se describe en la presente, son no tóxicos hasta 25 μM y se

observó una muy baja toxicidad incluso a 50 μ M, similar al control negativo 3TC.

Ejemplo 4

Ensayos de toxicidad mitocondrial en células Neuro2A

Para estimar el potencial de los compuestos de esta invención para causar toxicidad neuronal, se pueden usar células Neuro2A de ratón (American Type Culture Collection 131) como un sistema de modelo (ver Ray AS, Hernández-Santiago BI, Mathew JS, Murakami E, Bozeman C, Xie MY, Dutschman GE, Gullen E, Yang Z, Hurwitz S, Cheng YC, Chu CK, McClure H, Schinazi RF, Anderson KS. Mechanism of anti-human immunodeficiency virus activity of beta-D-6-cyclopropylamino-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyguanosine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, 49, 1994-2001). Las concentraciones necesarias para inhibir el crecimiento celular en un 50% (CC₅₀) se pueden medir usando el ensayo a base de tintura de bromuro de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, como se describió. Las perturbaciones en los niveles de ácido láctico celular y ADN mitocondrial a concentraciones definidas de fármaco se pueden llevar a cabo como se describió con anterioridad. ddC y AZT se pueden usar como análogos de nucleósidos de control.

Ejemplo 5

Ensayo para la citotoxicidad de la médula ósea

Las células mononucleares primarias de la médula ósea humana se pueden obtener en comercios de Cambrex Bioscience (Walquersville, MD). Los ensayos de CFU-GM se llevan a cabo usando un agar blando bicapa en presencia de 50 unidades/mL de factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos recombinantes humanos, mientras que ensayos de BFU-E usaron una matriz de etilcelulosa que contenía 1 unidad/mL de eritropoyetina (ver Sommadossi JP, Carlisle R. Toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine for normal human hepatopoietic progenitor cells in vitro. Antimicrob. Agents Chemother. 1987; 31: 452-454; Sommadossi, JP, Schinazi, RF, Chu, CK y Xie, MY. Comparison of cytotoxicity of the (-) and (+) enantiomer of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine in normal human bone marrow progenitor cells. Biochem. Pharmacol. 1992; 44:1921-1925). Cada experimento se puede llevar a cabo por duplicado en células de tres donantes diferentes. AZT se usa como un control positivo. Las células se pueden incubar en presencia del compuesto durante 14-18 días a 37 °C con 5% de CO₂ y colonias de más de 50 células se pueden contar usando un microscopio invertido para

determinar la IC₅₀. La concentración inhibidora del 50% (IC₅₀) se puede obtener por análisis de regresión lineal de mínimos cuadrados del logaritmo de concentración de fármaco versus fracciones sobrevivientes de BFU-E. Los análisis estadísticos se pueden llevar a cabo con prueba t de Student para muestras no en pares independientes.

Ejemplo 6

Ensayo anti-HBV

La actividad anti-HBV de los compuestos se determinó tratando la línea celular AD-38 llevando HBV de tipo salvahe bajo el control de tetraciclina (ver Ladner S.K., Otto M.J., Barker C.S., Zaifert K., Wang G.H., Guo J.T., Seeger C. & King R.W. Antimicrob. Agents Chemother. 1997, 41, 1715-20). La remoción de tetraciclina del medio [Tet (-)] resulta en la producción de HBV. Los niveles de HBV en fluidos de sobrenadante de cultivo de células tratadas con los compuestos se compararon con aquellos de los controles no tratados. Los cultivos de control con tetraciclina [Tet (+)] también se mantuvieron para determinar los niveles basales de la expresión de HBV. 3TC se incluyó como control positivo.

Las concentraciones eficaces medias (EC_{50}) que varían de varios de los compuestos descritos en la presente respecto de HBV se muestra en la Tabla 3:

A = 1-9 μ M

B = 0,1-0,9 μ M

C = 0,01-0,09 μ M

D = 0,001-0,009 μ M

E = 0,0001-0,0009 μ M

Tabla 3

Actividad de anti-HBV		
	EC_{50}	EC_{90}
7a	D	C
17	B	A
13	B	B
8	D	C
36	B	A
13	B	A
20	B	B
31	C	A

27	C	A
28	C	A
29	B	A
30	A	A
25	C	A
26	B	A
32	A	A
7b	C	B
38	D	B
43	C	B
44	B	A
45	B	A
46	B	A
47	C	B
48	D	C
52	C	B
54	A	

55	B	A
56	>A	
57	>A	
58	C	B
59	A	
60	B	B
61	B	B
62	A	A
63	B	A
64	E	D
65	C	B
66	D	C
69	D	C
72	B	B
75	D	C
78	D	C
81	D	B

82	A	
83	A	
3TC	B	A

Ejemplo 7

La producción de HBeAg segregada es predominantemente dependiente de cccADN en células HepAD38 y, por ende, pueden servir como un marcador sustituto para cccADN (Ladner, S.K., Otto, M.J., Barker, C.S., Zaifert, K., Wang, G.H., Guo, J.T., Seeger, C., King, R.W. Antimicrob Agents Chemother 1997, 41, 1715-1720; Zhou T, Guo H, Guo JT, Cuconati A, Mehta A, Block TM. Antiviral Res. 2006; 72 (2): 116-24.). El efecto sobre los niveles de formación de cccADN se ensayó usando un ensayo de base celular que mide HBV y antígeno (HBeAg) como un marcador dependiente de cccADN en el sistema de HepAD38. Las células HepAD38 se sembraron a 50000 células/cavidad en placas de 96 cavidades recubiertas con colágeno con medio DMEM/F12 (Life Technologies) suplementado con 10% de suero bovino fetal inactivado con calor. Las células se trataron con 0,3 µg/ml de tetraciclina, de ser necesario. Los compuestos de ensayo y los controles se añadieron a las células hasta una

concentración final de 10 μM o de una manera de respuesta a la dosis que va de 0,001 a 10 μM . El medio y los compuestos de ensayo se refrescaron cada 5 días en cultivo. Los sobrenadantes se cosecharon en el día 14, se clarificaron por centrifugación a 5000 rpm durante 5 min y se almacenaron a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el uso. **ELISA** - medio de cultivo se diluyó 1:15 en DMEM/F12 y los niveles de HBeAg segregados en el medio de cultivo se midieron usando el kit HBeAg ELISA (BioChain Institute Inc. Hayward, CA) de acuerdo con el protocolo del fabricante. La concentración de compuesto que reducía los niveles de HBeAg segregado al 50% (EC_{50}) se determinó por regresión lineal.

Tabla 4

Actividad de anti-HBeAg (μM)		
Compuesto	EC_{50}	EC_{90}
7a	0,008	0,58
13	<10 (86%)	ND

Ejemplo 8

De modo interesante, algunos de los compuestos sintetizados y hallados activos contra HBV *in vitro* también eran inesperadamente activos contra West Nile Virus (WNV). WNV es un *arbovirus* zoonótico transmitido por los mosquitos pertenecientes al género *Flavivirus* en la familia *Flaviviridae*. El material genético de WNV es un ARN monocatenario en sentido positivo, que tiene un largo de entre 11000 y 12000 *nucleótidos*; estos *genes* codifican siete proteínas no estructurales y tres proteínas estructurales. La cadena de ARN se mantiene dentro de una nucleocápside formada de bloques de proteínas de 12 *kDa*; la cápside está contenida dentro de una membrana derivada del huésped alterada por dos *glicoproteínas* virales.

Control antiviral usando un replicón reportero de luciferasa de West Nile Virus (WNV).

Se usaron células de riñón de hámster bebé (BHK) con contenido de un replicón reportero de luciferasa de WNV (ver Shy PY, Tilgner M, Lo MK. *Virology*. 2002; 296 (2): 219-33) para control de alto rendimiento. Se manipularon por ingeniería luciferasa de renilla y se manipularon genes de resistencia a blasticitina como un gen marcador seleccionable por ingeniería en el replicón para reemplazar las proteínas estructurales virales. Las actividades de la

luciferasa se midieron después de 48 h de incubación usando el sistema de ensayo *Renilla* Luciferase Assay system (Promega).

La susceptibilidad del West Nile virus a los compuestos descritos en la presente también se puede evaluar usando el ensayo previamente descrito en: Song, G.Y., Paul, V., Choo, H., Morrey, J., Sidwell, R.W., Schinazi, R.F., Chu, C.K. Enantiomeric synthesis of D- and L-cyclopentenyl nucleosides and their antiviral activity against HIV and West Nile virus. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3985-3993.

Ejemplo 9

La susceptibilidad de la fiebre amarilla a los compuestos descritos en la presente también se puede ensayar como se describió previamente en: Julander, J.G., Furuta, Y., Shafer, K., Sidwell, R.W. Activity of T-1106 in a Hamster Model of Yellow Fever Virus Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 1962-1966.

Ejemplo 10

La susceptibilidad de Dengue a los compuestos descritos en la presente se puede evaluar usando el ensayo de alto rendimiento revelado por Lim et al., A scintillation proximity assay for dengue virus NS5 2'-O-

methyltransferase-kinetic and inhibition analyses, Antiviral Research, Volume 80, Issue 3, diciembre de 2008, páginas 360-369.

El virus del Dengue (DENV) NS5 posee actividad de metiltransferasa (MTasa) en su secuencia de aminoácidos N-terminales y es responsable de la formación de una estructura de cierre de tipo 1, m⁷GpppAm2'-O en el ARN genómico viral. Las condiciones óptimas in vitro para la actividad de DENV2 2'-O-MTasa se puede caracterizar usando proteína recombinante purificada y una plantilla de ARN tapada con GTP biotinilado corto. Los parámetros de cinética en estado estable derivados de las velocidades iniciales se pueden usar para establecer un ensayo de proximidad de centelleo robusto para el ensayo de los compuestos. Los estudios de preincubación por Lim et al., Antiviral Research, Volume 80, Issue 3, diciembre de 2008, páginas 360-369, mostraron que los complejos de MTasa-AdoMet y MTasa-ARN eran catalíticamente competentes de igual modo y la enzima soporta una aleatoriedad por un mecanismo cinético. Lim validó el ensayo con agentes inhibidores competitivos, S-adenosil-homocisteína y dos homólogos, sinefungina y deshidosinefungina. Un bolsillo de unión a GTP presente en el N-terminal de DENV2 MTasa se postuló previamente por ser el sitio de unión al cierre. Este ensayo

permite una detección rápida y muy sensible de la actividad de 2'-O-MTasa y se puede adaptar con facilidad para el control de alto rendimiento de los compuestos de inhibición. También es apropiado para la determinación de actividades enzimáticas de una amplia variedad de MTasas de cierre de ARN.

Ejemplo 11

Actividad de anti-Norovirus

Los compuestos pueden exhibir la actividad de anti-norovirus por inhibición de norovirus polimerasa y/o helicasa, por inhibición de otras enzimas necesarias en el ciclo de replicación o por otras vías.

Actualmente, no hay un tratamiento farmacéutico aprobado por infección de Norovirus y esto se debió probablemente al menos en parte a la falta de disponibilidad de un sistema de cultivo celular. Recientemente, un sistema de replicones se desarrolló para la cepa original de Norwalk G-I (Chang, K. O., et al. (2006) Virology 353:463-473).

Tanto replicones de Norovirus como replicones de Hepatitis C requieren helicasa, proteasa y polimerasa viral para ser funcionales para que se produzca la replicación del replicón. Más recientemente, un ensayo de infectividad de cultivo celular *in vitro* se informó utilizando inóculos

del genogrupo I y II de Norovirus (Straub, T. M. et al. (2007) *Emerg. Infect. Dis.* 13(3):396-403). Este ensayo se realiza en un biorreactor de paredes rotativas utilizando células epiteliales del intestino delgado en perlas microportadoras. El ensayo de infectividad se puede usar para controlar los inhibidores de entrada.

Ejemplo 12

Actividad anti-Chikungunia

La actividad anti-Chikungunia se puede evaluar como se destaca en "Anti-Chikungunia Viral Activities of Aplisiatoxin-Related Compounds from the Marine Cyanobacterium *Trichodesmium eritraeum*" Gupta, D. K.; Kaur, P.; Leong, S. T.; Tan, L. T.; Prinsep, M. R.; Chu, J J. H. *Mar Drugs*. Jan 2014; 12(1): 115-127; 10,3390/md12010115 y referencias mencionadas en la presente.

Ejemplo 13

Actividad anti-HCV

La actividad anti-HCV de los compuestos descritos en la presente se puede medir, por ejemplo, usando un ensayo de replicón de HCV como se describe, por ejemplo, en Stuiver L et al., Ribonucleoside analogue that blocks replication

or bovine viral diarrhea and hepatitis C viruses in culture. Antimicrob. Agents Chemother. 2003, 47, 244-254.

En este ensayo, las células de Huh 7 Clon B que contienen ARN de replicón de HCV se pueden sembrar en una placa de 96 cavidades a 5000 células/cavidad y los compuestos ensayados a 10 μ M por triplicado inmediatamente después de sembrar. Después de cinco días de incubación (37 °C, 5% de CO₂), se puede aislar ARN celular total usando un kit de purificación versaGene RNA de Gentra. El ARN de replicón y un control interno (TaqMan rRNA control reagents, Applied Biosystems) se pueden amplificar en un ensayo de una etapa multiplex Real Time RT-PCR Assay. La efectividad antiviral de los compuestos se puede calcular sustrayendo el ciclo de RT-PCR umbral del compuesto de ensayo a partir del ciclo de RT-PCR umbral del control no farmacológico (Δ Ct HCV). Un Δ Ct de 3,3 es igual a una reducción 1-log (igual al 90% menos de material de partida) en niveles de ARN de replicones. La citotoxicidad de los compuestos también se puede calcular usando los valores Δ Ct de rARN. 2'-C-Me-C se puede usar como el control positivo. Para determinar los valores de EC₉₀ e IC₅₀, los valores de Δ Ct se pueden convertir primero en la fracción de material de partida y luego se usan para calcular % de inhibición.

Para ver específicamente si los compuestos inhiben HCV NS5B, se puede usar un ensayo como el que se describe en "A complex network of interactions between S282 and G283 of HCV NS5B and the template strand affect susceptibility to Sofosbuvir and Ribavirin", Kulkarni et al., Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jan 11. pii: AAC,02436-15.

Ejemplo 14

Ensayo de formación de cápsides para usar en el control del ensamble de HBV-cápside

En ausencia de los compuestos que disrumpen la formación de cápside, la proteína C-terminalmente truncada del núcleo del virus de hepatitis B (HBV Cp149, proteína aislada por métodos informados [Zlotnick, A et al; *Biochem* **1996**, 35, 7412-7421] se ensambla normalmente en una cápside HBV Cp149. La finalidad de este ejemplo era determinar si los agentes activos putativos disrumpirá la formación de cápsides y, así, si son activos como agentes anti-HBV. Los agentes activos putativos se incubaron a una concentración de 25 μ M durante 1 h a 4 °C con HBV Cp149 a una concentración de 10 μ M. El ensamble de cápside luego se promovió por adición de 300 mM de NaCl y almacenamiento de la mezcla durante la noche a 4 °C. Las micrografías electrónicas de tinción negativa se recolectaron usando un microscopio

electrónico JEOL JEM-1400 de 120 kV usando acetato de uranilo como un agente de contraste. Estas imágenes mostraron si las cápsides se formaron y si se formaron, si formaban esferas huecas completamente formadas o esferas deformadas (es decir, por ejemplo, desensambladas o incompletas).

Cuando se trataron con vehículo, la formación de cápsides procedió como se esperaba, formando esferas huecas completamente formadas con un diámetro de aproximadamente 40 nm. Cuando se añadió el compuesto GLS4, la formación de cápsides se disrumpió, como se muestra con la formación de esferas huecas desensambladas relativamente grandes (aproximadamente 80-100 nm). Cuando se añadió el compuesto 7a, la formación de cápsides se disrumpió, como se muestra con la formación de esferas huecas relativamente pequeñas (menos de aproximadamente 40 nm) e incompletas estrechamente empaquetadas. Los resultados se muestran en la Figura 1.

La siguiente cuestión era si estos compuestos podrían disrumpir las cápsides ya formadas. Por consiguiente, las cápsides se formaron como se analizó con anterioridad (incubación de HBV Cp149 aislado con 300 mM de NaCl, almacenado durante la noche a 4 °C). Luego, las cápsides se incubaron con el compuesto putativo (durante la noche a 4 °C) y luego se tomaron micrografías electrónicas. La Figura

2 muestra micrografías electrónicas de cápsides incubadas con vehículo, con 25 μM de GLS4 y con 25 μM del compuesto 7a. La Figura 3 muestra los resultados con GLS4, en donde las cápsides se disrumpieron. Las micrografías muestran que las cápsides se rompieron, como cáscaras de huevo rotas. La Figura 4 muestra los resultados con el compuesto 7a, donde la concentración de las cápsides se reducía clara y significativamente y las cápsides restantes se empaquetaron relativa y estrechamente.

Varias publicaciones se citan en la presente, cuyas revelaciones se incorporan por referencia en su totalidad para todas las finalidades.

La presente invención no está limitada al alcance por medio de las formas de realización específicas descritas en la presente. De hecho, varias modificaciones de la invención además de las descritas se volverán obvias para los expertos en la técnica de la descripción anterior y las figuras acompañantes. Estas modificaciones pretenden entrar dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.