

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 938 335**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/4155 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.03.2017 PCT/KR2017/003194**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.09.2018 WO18174320**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2017 E 17901680 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2023 EP 3604303**

54 Título: **Nuevo derivado de pirrolopiridina, método para producir el mismo y uso del mismo**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.04.2023

73 Titular/es:

**ST PHARM CO., LTD. (100.0%)
231, Hyeomyeok-ro
Siheung-si, Gyeonggi-do 15086, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, BONG JIN;
LEE, ILL YOUNG;
KIM, JAE HAK;
SHIN, HONG SUK;
SON, JONG CHAN;
LEE, CHONG-KYO;
KIM, KYUNGJIN;
KIM, UK-IL y
NAM, HWA JUNG**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 938 335 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevo derivado de pirrolopiridina, método para producir el mismo y uso del mismo

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un compuesto antivírico, más particularmente, a un compuesto que exhibe alta selectividad y actividad fisiológica contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), a un método para preparar el mismo y al uso del mismo.

10

Antecedentes de la técnica

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) está causado por la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Existen dos tipos de VIH, VIH-1 y VIH-2, y el tipo más prevalente a nivel mundial es el VIH-1. Para el tratamiento del SIDA, se han desarrollado inhibidores enzimáticos de acuerdo con los mecanismos de acción del VIH. Dependiendo del punto de acción, dichos inhibidores se clasifican en inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa (NRTI), inhibidor de la proteasa (IP), inhibidor de la fusión e inhibidor de la integrasa.

15

El documento US 2014-0249162 A1 se refiere a un derivado de pirrolopiridina representado por la fórmula química I y a un racemato o a un estereoisómero del mismo o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y se refiere a una composición antivírica que incluye el mismo como principio activo. El compuesto de fórmula química I tiene excelente actividad antivírica y selectividad para el VIH-1 DE tipo salvaje y resistente, y, por lo tanto, es útil como agente terapéutico para el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

20

El documento WO 2013/012649 A1 se refiere a compuestos de azaindol y a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, a sus composiciones farmacéuticas, a sus métodos de preparación y a su uso para tratar infecciones víricas mediadas por un miembro de la familia de virus retrovirus, tal como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

25

Los inhibidores de la integrasa se clasifican en inhibidores del sitio catalítico e inhibidores del sitio no catalítico. La investigación sobre los inhibidores de la integrasa del sitio catalítico se ha llevado a cabo activamente hasta la fecha y se han desarrollado tres tipos de fármacos que están comercialmente disponibles. El raltegravir, desarrollado en 2008, es un fármaco representativo. Por otra parte, el mecanismo de acción de los inhibidores de la integrasa del sitio no catalítico lo presentaron Ziger Debyser, *et al.* (Frauke Christ, Zeger Debyser *et al.*, Nature Chemical Biology, 2010, vol. 6, 442), y se ha avanzado activamente en el desarrollo de inhibidores para este mecanismo de acción.

30

35

Además, se han llevado a cabo diversos estudios para desarrollar fármacos para el tratamiento eficaz contra virus resistentes. Dichos agentes quimioterapéuticos se administran en combinación de dos o cuatro fármacos que inhiben diferentes mecanismos de acción, que se conocen como terapias antirretrovíricas altamente activas (HAART), lo que da como resultado grandes efectos de prolongación de la vida. A pesar de tales esfuerzos, sin embargo, el SIDA no se ha curado por completo y debido a la toxicidad de los fármacos y la expresión de resistencia a los agentes terapéuticos actuales, se requiere el desarrollo de nuevos fármacos de forma continua.

40

Divulgación de la invención

45

Problema técnico a resolver

Con el fin de resolver los problemas anteriormente mencionados, los presentes inventores han llevado a cabo estudios intensivos para buscar nuevos agentes terapéuticos contra el SIDA y, como resultado, descubrieron que los compuestos de pirrolopiridina que tienen un nuevo esqueleto tienen efectos inhibidores de la proliferación del VIH. La presente invención se ha completado sobre la base de tales descubrimientos.

50

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar un novedoso derivado de pirrolopiridina y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que exhibe efectos inhibidores de la proliferación del VIH-1 al inhibir la actividad de las enzimas integrasas del VIH-1 y también presenta excelentes resultados en las pruebas de toxicidad básica y propiedades de los fármacos.

55

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un método para preparar el nuevo compuesto de pirrolopiridina como se ha descrito anteriormente y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende el compuesto mencionado anteriormente como principio activo.

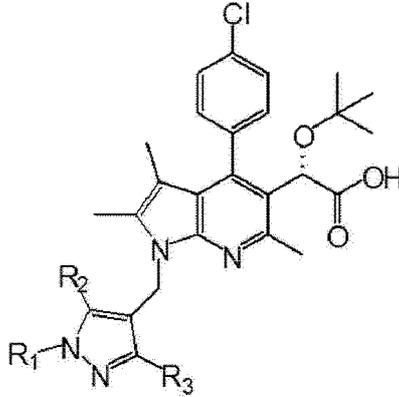
Solución técnica

65

Un primer aspecto de la presente invención proporciona un compuesto representado por la siguiente Fórmula Química

I, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Fórmula química I



5

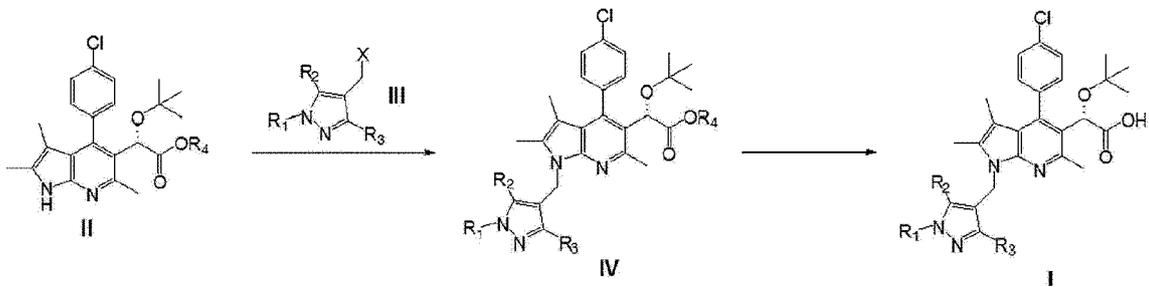
en donde,

- 10 R₁ es alquilo C₁₋₆ y
R₂ y R₃ son cada uno independientemente hidrógeno.

En una realización, la presente invención proporciona el compuesto donde R₁ es metilo, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 Un segundo aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar el compuesto de Fórmula Química I de acuerdo con el esquema de reacción 1 a continuación:

Esquema de reacción 1

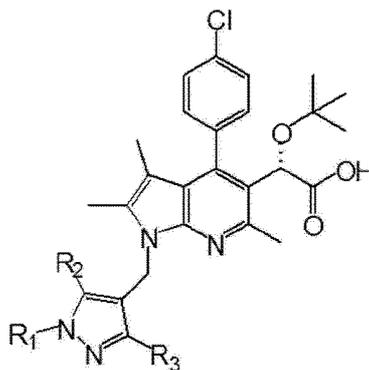


20

Específicamente, el método para preparar el compuesto de fórmula química I,

25

Fórmula química I

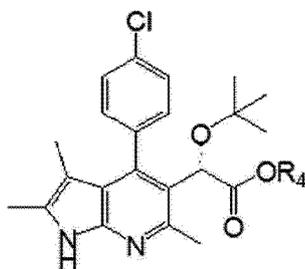


comprende:

1) primera etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la Fórmula Química II con un compuesto representado por la Fórmula Química III para preparar un compuesto representado por la Fórmula Química IV,

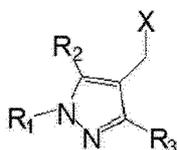
5

Fórmula química II

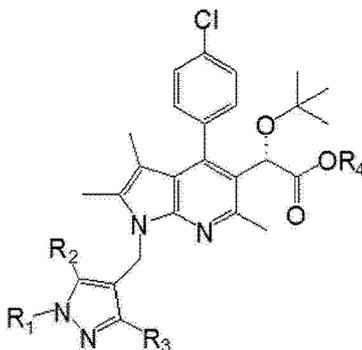


10

Fórmula química III



Fórmula química IV



15

y
2) segunda etapa de hidrolizar el compuesto representado por la Fórmula Química I, en donde,

20

R₁ es alquilo C₁₋₆,

R₂ y R₃ son cada uno independientemente hidrógeno,

25

R₄ es un alquilo C₁₋₆ y

X es halo, metanosulfonilo, toluenosulfonilo o trifluorometanosulfonilo.

30

Específicamente, R₄ puede ser metilo o etilo y X puede ser cloro o p-toluensulfonilo.

En la primera etapa del método para preparar el compuesto de Fórmula Química I, una relación molar entre el compuesto de Fórmula Química II y el compuesto de Fórmula Química III es, preferentemente, de 1:2 a 1:5, aunque no de forma limitativa.

35

En la primera etapa, un disolvente de reacción puede ser diclorometano, dimetilformamida, tetrahidrofurano o cualquier combinación de los mismos, aunque no de forma limitativa.

La primera etapa se puede realizar de 2 horas a 18 horas, aunque no de forma limitativa.

La primera etapa se puede realizar en presencia de carbonato de cesio y se utiliza preferentemente como disolvente la dimetilformamida.

- 5 En la primera etapa, el carbonato de cesio se utiliza en una cantidad preferentemente de 2 a 5 equivalentes con respecto al compuesto de Fórmula Química II.

En este momento, aunque no de forma limitativa, la temperatura de reacción es, preferentemente, de 40 °C a 100 °C, y el tiempo de reacción es, preferentemente, de 4 horas a 18 horas.

- 10 Por ejemplo, el compuesto representado por la Fórmula química II, que se utiliza como material de partida para la preparación del compuesto de Fórmula Química I de acuerdo con la presente invención, se puede preparar de acuerdo con el método revelado en el ejemplo de preparación del documento WO 2013/073875A1.

- 15 En la segunda etapa, la hidrólisis se puede llevar a cabo con hidróxido de litio, hidróxido de calcio, hidróxido de bario o hidróxido de potasio, aunque no de forma limitativa. Preferentemente, se puede usar hidróxido de potasio o hidróxido de litio.

- 20 En la hidrólisis, se puede usar hidróxido de potasio o hidróxido de litio de 3 a 8 equivalentes con respecto al compuesto de Fórmula Química IV, aunque no de forma limitativa.

La hidrólisis en la segunda etapa puede llevarse a cabo a temperatura ambiente o, como alternativa, a de 35 °C a 50 °C.

- 25 En la hidrólisis, se pueden usar agua, metanol, tetrahidrofurano o cualquier combinación de los mismos como disolvente, pero sin limitaciones.

En una realización, la hidrólisis se lleva a cabo con hidróxido de litio en un disolvente mixto, por ejemplo, hidróxido de sodio 4N/metanol o tetrahidrofurano/metanol/agua.

- 30 La hidrólisis se puede realizar específicamente durante de 6 horas a 18 horas, aunque no de forma limitativa.

Un tercer aspecto de la presente invención proporciona una composición antivírica que comprende el compuesto representado por la Fórmula Química I descrita anteriormente, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 35 En particular, la composición mencionada anteriormente es una composición para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

- 40 En la presente invención, el ejemplo específico del compuesto de Fórmula Química I es ácido (S)-2-(*terc*-butoxi)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,6-trimetil-1-((1-metil-1H-pirazol-4-il)metil)-1H-pirrololo[2,3-b]piridin-5-il)acético.

El ejemplo de referencia es ácido (S)-2-(*terc*-butoxi)-2-(1-((5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-(4-clorofenil)-2,3,6-trimetil-1H-pirrololo[2,3-b]piridin-5-il)acético.

- 45 El compuesto de Fórmula Química I de la presente invención preparado como se ha indicado anteriormente puede formar una sal, en concreto, una sal farmacéuticamente aceptable. La sal farmacéuticamente aceptable adecuada no está particularmente limitada siempre que sea una sal que se use normalmente en la técnica, tal como una sal de adición de ácido (consulte J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1).

- 50 El ejemplo preferible de un ácido para la sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable incluye un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido ortofosfórico o ácido sulfúrico; o un ácido orgánico, tal como ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido málico, ácido succínico, ácido salicílico, ácido maleico, ácido glicerofosfórico o ácido acetilsalicílico.

- 55 También se puede obtener una sal metálica farmacéuticamente aceptable de acuerdo con un método convencional con una base. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula Química I puede disolverse en una cantidad en exceso de una solución de hidróxido de metal alcalino o hidróxido de metal alcalinotérreo, la sal no disuelta del compuesto se puede filtrar y el filtrado se puede evaporar y secar, para obtener una sal metálica farmacéuticamente aceptable del compuesto.

- 60 Una sal o solvato farmacéuticamente inaceptable del compuesto de Fórmula Química I se puede utilizar como intermedio en la preparación del compuesto de Fórmula Química I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 65

El compuesto de Fórmula Química I de acuerdo con la presente invención incluye no solo sales farmacéuticamente aceptables del mismo, pero también solvatos e hidratos de los mismos que se pueden preparar a partir de los mismos. Los estereoisómeros del compuesto representado por la Fórmula Química I y los intermedios del mismo se pueden preparar de acuerdo con un método convencional.

5 Además, el compuesto de Fórmula Química I de acuerdo con la presente invención se puede preparar en forma cristalina o en forma no cristalina. Cuando el compuesto de Fórmula Química I se prepara en una forma cristalina, puede estar opcionalmente hidratado o solvatado.

10 Por otra parte, la presente invención proporciona una composición antivírica que comprende, como principio activo, el compuesto de Fórmula Química I descrito anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un solvato del mismo. En ese caso, la composición antivírica es particularmente una composición para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

15 En ejemplos experimentales de la presente invención, se descubrió que el compuesto representado por la Fórmula Química I es una sustancia excelente, cuya citotoxicidad es baja, el efecto de inhibición del VIH es excelente y la actividad fisiológica es alta, y muestra seguridad en el resultado de la prueba de toxicidad básica y tiene una solubilidad adecuada para las propiedades del fármaco.

20 La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención se puede formular en forma de administración oral o de inyección. Por ejemplo, una formulación para administración oral incluye un comprimido, una cápsula y similares, y dicha formulación contiene un diluyente (por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina) y un deslizante (por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico o una sal de magnesio o calcio de ácido esteárico o polietilenglicol), además del principio activo. El comprimido también puede contener un aglutinante, tal como silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica o polivinilpicolidina, y según el caso, puede contener un agente disgregante tal como almidón, agar, ácido algínico o un sal sódica del mismo o una mezcla en ebullición y/o un absorbente, un colorante, un agente aromatizante y un agente edulcorante. Una formulación para inyección es, preferentemente, una solución o suspensión acuosa isotónica.

30 La composición mencionada anteriormente puede esterilizarse y/o puede contener un adyuvante, tal como un conservante, un estabilizante, un polvo humectable o un acelerador de emulsión, una sal para el ajuste de la presión osmótica y/o un tampón, y cualquier otra sustancia terapéuticamente útil.

35 La formulación mencionada anteriormente se puede preparar mediante una mezcla típica, método de granulación o recubrimiento, y puede contener un principio activo en el intervalo de aproximadamente 0,1 a 75 % en peso, y preferentemente en el intervalo de aproximadamente 1 a 50 % en peso. Una formulación unitaria para un mamífero de aproximadamente 50 a 70 kg contiene aproximadamente de 10 a 200 mg de un principio activo.

40 La dosificación preferente del compuesto de la invención varía dependiendo de la afección y el peso de los pacientes, la progresión de las enfermedades, la forma de los fármacos, la vía y el período de tiempo de administración, pero los expertos en la materia pueden seleccionarla adecuadamente. La dosis diaria puede administrarse por vía oral o parenteral en dosis únicas o divididas.

45 La composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar a un mamífero, incluidos una rata, un ratón, un animal doméstico, un ser humano y similares, a través de diversas vías. Se pueden contemplar todas las vías de administración y se puede administrar, por ejemplo, por inyección oral, rectal o intravenosa, intramuscular, subcutánea, intrauterina dural o intracerebroventricular.

Efectos ventajosos

50 El compuesto representado por la Fórmula General I de acuerdo con la presente invención, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un solvato del mismo muestra una alta selectividad y actividad fisiológica contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con baja toxicidad y, por lo tanto, es útil para el tratamiento de la infección por virus, en concreto, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Descripción detallada de las realizaciones

60 En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos y ejemplos de preparación. Sin embargo, los siguientes ejemplos de preparación y los ejemplos se proporcionan únicamente con fines ilustrativos y el alcance de la presente invención no se limita a ellos.

Ejemplo de preparación 1: Preparación de sal clorhidrato de 4-(clorometil)-1-metil-1H-pirazol

65 Se añadieron diclorometano (1,8 ml) y trietilamina (2 gotas) a (1-metil-1H-pirazol-4-il) metanol (380 mg, 3,39 mmol) preparado según un método conocido (Frey, R. R.; et al, J. Med. Chem., 2008, 51, 3777-3787), y luego la mezcla

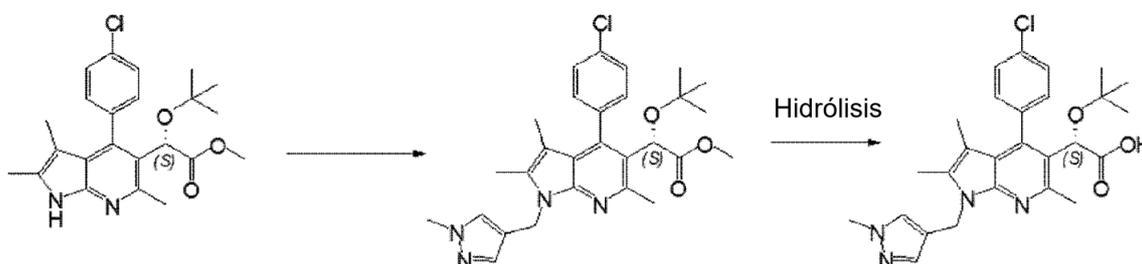
resultante se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente una solución en la que se disolvió cloruro de tionilo (0,62 ml) en tolueno (1,8 ml) y la mezcla se agitó durante 2 horas a 30 °C. El disolvente y la cantidad en exceso de cloruro de tionilo se eliminaron de la solución de reacción a presión reducida para obtener un compuesto objetivo. El compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación.

5

Ejemplo de preparación 2: Preparación de 4-(bromometil)-5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazol

(5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metanol (937 mg, 5,8 mmol) preparado según un método conocido (Attardo, G.; Triphy, S., solicitud Internacional PCT 2010, WO 2010-132999 A1) se disolvió en diclorometano (40 ml) y luego, se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente una solución en la que tribromuro de fósforo (0,54 ml, 5,8 mmol) se diluyó con diclorometano (5 ml) y luego la mezcla resultante se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó de la solución de reacción a presión reducida para obtener un compuesto objetivo. El compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación.

15 Ejemplo 1: Ácido (S)-2-(*terc*-butoxi)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,6-trimetil-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)-2,3,6-trimetil-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)acético.



20 **Etapa 1:** Se disolvió (S)-2-(*terc*-butoxi)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,6-trimetil-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)-2,3,6-trimetil-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)acetato (700 mg, 1,69 mmol) en dimetilformamida (14 ml) y luego se añadieron al mismo carbonato de cesio (2,75 g, 8,45 mmol) y 10 gotas de trietilamina. Después de ajustar la temperatura a 40 °C, el compuesto obtenido en el Ejemplo de preparación 1 (560 mg, 3,39 mmol) se añadió en porciones durante 1 hora. La mezcla resultante se agitó durante 18 horas a la misma temperatura para completar la reacción. La solución de reacción se enfrió con un baño de hielo y agua, se le añadió agua (50 ml) y el producto resultante se agitó durante 10 minutos. Los sólidos producidos se filtraron y se lavaron con agua. Sin secar, el sólido obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/n-hexano = 1/2 y 1/1) para dar un compuesto objetivo (430 mg, 50 %).

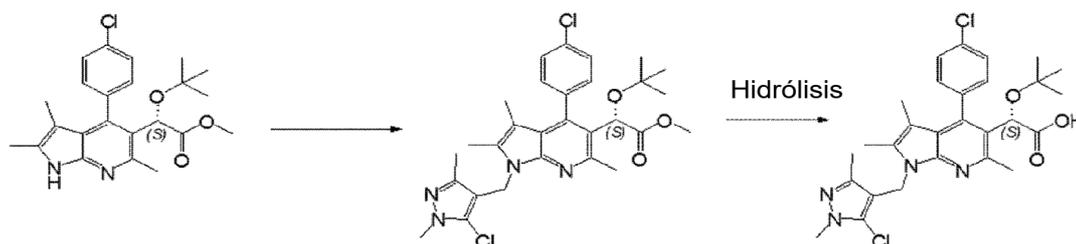
30 RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 1,01 (s, 9H), 1,49 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,83 (s, 3H), 5,11 (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 7,30 (m, 2H), 7,44-7,47 (m, 4H); MS(EI, m/e)= 509(M⁺).

Etapa 2: Después de disolver el compuesto (369 mg, 0,724 mmol) obtenido en la etapa 1 en tetrahidrofurano (5,5 ml), se añadió hidróxido de sodio 4N en metanol (0,98 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 18 horas a 35 °C. La solución de reacción se enfrió a 10 °C y luego se neutralizó añadiendo ácido clorhídrico 4N. Después de retirar el disolvente de la solución de reacción a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: diclorometano/metanol = 95/5 y 90/10) para dar un compuesto objetivo (260 mg, 73 %) en un sólido blanco.

40 RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) δ 1,00 (s, 9H), 1,52 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,72 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 5,14 (s, 1H), 5,37 (s, 2H), 7,34-7,53 (m, 6H);

MS(EI, m/e)= 495(M⁺).

45 Ejemplo 2: Ácido (S)-2-(*terc*-butoxi)-2-(1-((5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-(4-clorofenil)-2,3,6-trimetil-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)-1H-pirrol-2-yl)acético. (ejemplo de referencia)



Se obtuvo un compuesto objetivo (30 mg, 44 %) haciendo reaccionar metil(S)-2-(*terc*-butoxi)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,6-trimetil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)acetato (200 mg, 0,48 mmol) y el compuesto obtenido en el Ejemplo de preparación 2 (432 mg, 1,44 mmol) de la misma manera que en el Ejemplo 1.

RMN ¹H (CD₃OD, 500 MHz) δ 1,00 (s, 9H), 1,49 (s, 3H), 1,90 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,68 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 5,20 (s, 1H), 2,28 (dd, *J* = 40,7, 15,8 Hz, 2H), 7,24 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,47-7,39 (m, 2H), 7,63 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H);

MS(EI, m/e) = 544(M⁺).

Ejemplo experimental 1: Investigación de efectos inhibitorios frente al VIH-1 (tipo salvaje/mutante) y ensayo de citotoxicidad del compuesto de la invención

Con el fin de examinar los efectos de inhibición del VIH-1 (tipo salvaje/mutante) del compuesto de la invención, se realizó una prueba para el efecto de inhibición del VIH-1 (tipo salvaje/mutante) *in vitro* como sigue según un método conocido (H. Tanaka *et al.*, J. Med. Chem., 1991, 34, 349). Se usaron células MT-4 como células huésped y se investigó el grado de inhibición de la citotoxicidad del compuesto de la presente invención para las células MT-4 infectadas con virus.

En primer lugar, las células MT-4 se dispersaron en un medio de cultivo a una concentración de 1 x 10⁴ células/pocillo, y se inoculó VIH-1 de modo que la concentración fuera 500 TC₅₀ (concentración a la que el 50 % de las células están infectadas)/pocillo. Inmediatamente después de la inoculación, la dispersión celular se transfirió en 100 µl cada una a una placa de microtitulación plana en la que se colocó una muestra del compuesto de la invención. La muestra se incubó durante aproximadamente 4 a 5 días a 17 °C y se determinó el efecto de inhibición del virus con un método MTT. Además, la viabilidad de las células infectadas experimentalmente se observó con el método MTT para determinar el grado de citotoxicidad. Como compuesto comparativo, se usaron azidotimidina (AZT), raltegravir, dolutegravir y elvitegravir. Los resultados se muestran en las Tablas 1 y 2 a continuación.

[Tabla 1]

Compuestos	VIH-1 de tipo salvaje (IIIB) en células MT-4
	CE ₅₀ (nM)*
Ejemplo 1	3,23
Ejemplo 2**	25,7
Raltegravir	5,85
AZT	2,24

*CE₅₀: concentración del 50 % de inhibición de la infección por VIH
** ejemplo de referencia

[Tabla 2]

	NL4-3 ts	4736 2*	4736 4*	8070 1*	8070 2*	1556 1*
	Cl ₅₀ (nM)					
Ejemplo 1	3,6	1,1	3,4	0,9	3,4	3,4
AZT	38,4	29,7	34,6	34,7	57,6	33,1
Raltegravir	4,6	351	351	4.322	3.844	3.757
Dolutegravir	3,2	3,5	3	8,5	4,4	3,2
Elvitegravir	< 0,10	410	320	>10.000	N/A	276

* Clon del VIH-1: Mutantes de resistencia a raltegravir (4736_2/4736_4/8070_1/8070_2/1556_1)
** Cl₅₀: La concentración inhibitoria semimáxima

Ejemplo experimental 2: Ensayo de farmacocinética del compuesto de la invención

Se llevaron a cabo experimentos para detectar cambios la cinética *in vivo*, incluyendo absorción *in vivo*, distribución, metabolismo y excreción del compuesto del Ejemplo 1 de la presente invención. Se insertó un tubo en la vena yugular y la vena femoral de una rata. Se administró un fármaco en la vena femoral en el caso de administración intravenosa y se administró un fármaco en la cavidad oral en el caso de administración oral. Se recogió sangre de la vena yugular en un momento predeterminado.

La concentración de la dosis fue de 1 mg/kg para la administración intravenosa y de 2 mg/kg para la administración oral. Después de centrifugar la sangre para separar el plasma, las muestras de plasma y orina se trataron previamente con un disolvente orgánico apropiado y luego se analizó la concentración del fármaco con LC-MS/MS. A partir de los datos de la concentración del fármaco en sangre en relación con el tiempo que se analizaron después de las administraciones oral e intravenosa, el parámetro farmacocinético no compartimental se calculó con WinNonlin (Pharsight, EE. UU.).

[Tabla 3]

Parámetros farmacocinéticos en ratas macho			
Compuesto	Parámetros	IV, 1 mg/kg	VO, 2 mg/kg
Compuesto del Ejemplo 1	T _{máx} (h)	-	3,2
	C _{máx} (nM)	-	914
	T _{1/2} (h)	8,63	8,66
	AUC _t (h*nM)	6.081	8.734
	AUC _∞ (h*nM)	6.508	10.423
	CL (l/kg/h)	0,323	-
	V _{ss} (l/kg)	1,77	-
	F (%)		71,8

Ejemplo experimental 3: Ensayo *in vitro* de estabilidad metabólica del compuesto de la invención

- 5 Se realizó un ensayo *in vitro* de estabilidad metabólica para el compuesto del Ejemplo 1 de la presente invención. Para confirmar la estabilidad metabólica *in vitro*, se observó la semivida microsómica hepática del compuesto. Se hizo reaccionar un compuesto farmacológico con NADPH usando un microsoma hepático específico de especie (rata, perro, mono y ser humano) que contiene varias enzimas metabolizantes y luego se determinó la semivida del fármaco cuantificando con LC-MS/MS en minutos. Se descubrió que el compuesto del Ejemplo 1 era un compuesto estable con una semivida de 2 o 3 horas o más.

[Tabla 4]

Estabilidad microsomal hepática (T _{1/2} , Mín)				
Compuestos	Hígado de rata (T _{1/2} , Mín)	Hígado de perro (T _{1/2} , Mín)	Hígado de mono (T _{1/2} , Mín)	Hígado humano (T _{1/2} , Mín)
Compuesto del Ejemplo 1	>145	>145	133,3	135,9
Control (Testosterona)	0,7	23,6	13,0	19,7

Ejemplo experimental 4: Ensayo de inhibición de CYP450 del compuesto de la invención

- 15 Se llevó a cabo la prueba de inhibición de CYP450 para el compuesto de la presente invención. Microsomas hepáticos humanos (0,25 mg/ml), tampón fosfato 0,1 M (pH 7,4) cócteles de fármacos de cinco enzimas metabolizantes de fármacos (CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 y CYP3A5) (Cóctel A: Fenacetina 50 µM, S-mefenitoína 100 µM, dextrometorfano 5 nM, midazolam 2,5 µM, Cóctel B: se añadió tolbutamida 100 µM) y el compuesto del Ejemplo 1 a concentraciones de 0 y 10 µM, respectivamente, y luego se cultivaron a 37 °C durante 15 minutos. Posteriormente, para completar la reacción, se añadió una solución de acetonitrilo que contenía un patrón interno (clorpropamida) y la mezcla resultante se centrifugó (14.000 rpm, 4 °C) durante 5 minutos. A continuación, se inyectó el sobrenadante en el sistema LC/MS/MS y los metabolitos de los fármacos sustrato se analizaron simultáneamente para evaluar de este modo las actividades del compuesto de prueba que inhibía las enzimas metabolizantes de fármacos. Se ha evaluado que el compuesto del Ejemplo 1 no exhibe actividad inhibitoria contra tales cinco enzimas CYP.

[Tabla: 5]

Inhibición de CYP (% de actividad de control) a 10 µM					
Compuesto	1A2	2C9	2D6	3A4	2C19
Compuesto del Ejemplo 1	113,6	68,5	101,6	92,1	101,6

Ejemplo experimental 5: Ensayo de canal hERG K⁺ del compuesto de la invención

- 30 Se llevó a cabo un ensayo de canal hERG K⁺ para predecir la cardiotoxicidad del compuesto de la invención. La actividad de hERG del compuesto se midió con HERG-HEK293 usando una pinza de parche plana automatizada [PatchXpress 7000A]. Este método es el método más conocido para estudiar el canal iónico, en el que el flujo de iones a través del canal se mide directamente con una pinza de tensión. El valor de CI₅₀ del canal hERG K⁺ para el compuesto del Ejemplo 1 fue de 66,7 µM. Un valor de CI₅₀ por debajo de 10 µM es un criterio para el cual se determina que es posible presentar cardiotoxicidad. Por lo tanto, el compuesto del Ejemplo 1, cuyo valor era más que tal criterio, se identificó como seguro.

[Tabla 6]

Ensayo de canal hERG K ⁺ (método de registro de pinzamiento de parche)	
Compuestos	CI ₅₀ (µM)
Compuesto del Ejemplo 1	66,7
Control (astemizol)	0,079

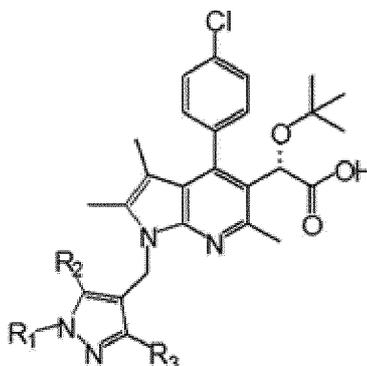
40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente Fórmula química I, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

5

Fórmula química I



10 en la que,

R_1 es alquilo C_{1-6} y
 R_2 y R_3 son cada uno independientemente hidrógeno.

15 2. El compuesto, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R_1 es metilo.

20 3. Una composición antivírica que comprende el compuesto representado por la Fórmula Química I de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, un racemato o un estereoisómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la composición es para el anti-virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

25 5. Compuesto representado por la Fórmula Química I de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en el tratamiento de infecciones víricas.

6. Compuesto representado por la Fórmula Química I para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el virus es el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).