

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 934**

51 Int. Cl.:  
**C07K 5/08** (2006.01)  
**A61K 38/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04811049 .8**  
96 Fecha de presentación: **12.11.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1687018**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.08.2006**

54 Título: **Inhibidores de virus de la hepatitis C**

30 Prioridad:  
**12.11.2003 US 519124 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.05.2012**

73 Titular/es:  
**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY  
ROUTE 206 AND PROVINCE LINE ROAD  
PRINCETON, NJ 08543-4000, US**

72 Inventor/es:  
**SCOLA, Paul, Michael;  
MCPHEE, Fiona;  
MEANWELL, Nicholas, A.;  
HEWAWASAM, Piyasena y  
CAMPBELL, Jeffrey, Allen**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 380 934 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

Inhibidores del virus de la hepatitis C

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere generalmente a compuestos antivíricos, y más específicamente se refiere a compuestos que inhiben el funcionamiento de la proteasa NS3 (también denominada aquí "serina proteasa") codificada por el virus de la hepatitis C (VHC), a las composiciones que comprenden dichos compuestos y a procedimientos para inhibir el funcionamiento de la proteasa NS3.

**Antecedentes de la invención**

- 10 El VHC es un patógeno humano importante que se ha estimado que infecta a unos 170 millones de personas en todo el mundo, casi cinco veces más que el número de personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1. Una parte importante de estos individuos infectados con el VHC desarrollan enfermedad hepática grave progresiva, incluida cirrosis y carcinoma hepatocelular (Lauer, G. M.; Walker, B. D. N. Engl. J. Med. (2001), 345, 41-52).

- 15 Actualmente, el tratamiento más efectivo contra el VHC usa una combinación de interferón alfa y ribavirina que está asociado a una eficacia mantenida en el 40 % de los pacientes (Poynard, T. et al. Lancet (1998), 352, 1426-1432). Los resultados de los últimos estudios clínicos demuestran que el interferón alfa pegilado es superior al interferón alfa no modificado en monoterapia (Zeuzem, S. et al. N. Engl. J. Med. (2000), 343, 1666-1672). Sin embargo, incluso con regímenes terapéuticos experimentales que implican combinaciones de interferón alfa pegilado y ribavirina, una parte importante de los pacientes no presentan una reducción mantenida de la carga vírica. Por lo tanto, desde hace tiempo existe una evidente necesidad de desarrollar tratamientos efectivos para la infección por el VHC.

- 20 El VHC es un virus ARN de cadena positiva. Basándose en una comparación entre la secuencia de aminoácidos deducida y la gran similitud en la región no traducida 5', el VHC se ha clasificado como un género aparte dentro de la familia Flaviviridae. Todos los miembros de la familia Flaviviridae poseen viriones con envoltura que contienen un genoma de ARN de cadena positiva que codifica para todas las proteínas específicas del virus conocidas mediante la traducción de un único marco abierto de lectura ininterrumpido.

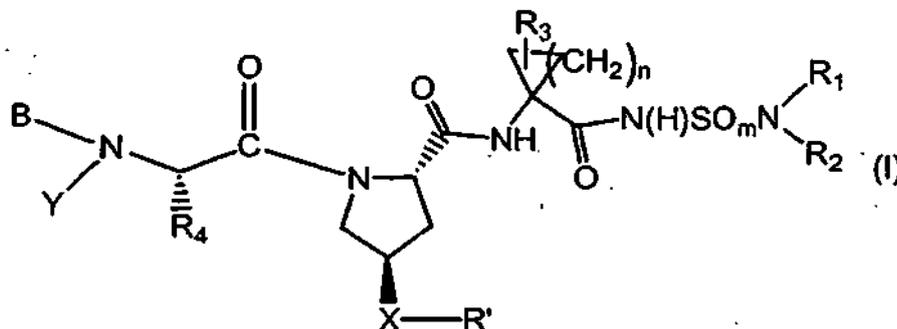
- 25 Se ha observado una considerable heterogenicidad en la secuencia de nucleótidos y aminoácidos codificados a lo largo de todo el genoma del VHC. Se han caracterizado al menos seis genotipos principales y se han descrito más de 50 subtipos. Los principales genotipos del VHC difieren en su distribución mundial y el significado clínico de la heterogenicidad genética del VHC sigue manteniéndose esquivo a pesar de los numerosos estudios realizados sobre el posible efecto de los genotipos sobre la patogénesis y el tratamiento.

- 30 El genoma del ARN monocatenario del VHC tiene una longitud de aproximadamente 9.500 nucleótidos y tiene un marco abierto de lectura (ORF) que codifica para una única poliproteína grande de aproximadamente 3.000 aminoácidos. En células infectadas, esta poliproteína es escindida en múltiples sitios por proteasas celulares y víricas produciendo las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso del VHC, la generación de proteínas maduras no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se debe a dos proteasas víricas. Se cree que la primera escinde en la unión NS2-NS3 y la segunda es una serina proteasa contenida dentro de la región N terminal de NS3 y que media todas las escisiones posteriores en dirección 3', tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para los sitios restantes NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B. La proteína NS4A parece tener múltiples funciones, actuando como un cofactor para la proteasa NS3 y contribuyendo posiblemente a la localización en la membrana de NS3 y de otros componentes de la replicasa viral. La formación del complejo entre la proteína NS3 y NS4A parece ser necesaria para los acontecimientos del procesamiento, aumentando la eficiencia proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también presenta actividades nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN implicada en la replicación del VHC.

- 45 Entre los compuestos que tienen eficacia demostrada en inhibir la replicación del VHC, como los inhibidores de la serina proteasa, se encuentran los compuestos peptídicos divulgados en la patente US-6.323.180.

**Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula



en la que:

- 5 (a)  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno de ellos independientemente alquilo  $C_{1-8}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, cicloalquil  $C_{9-14}$  arilo, alcoxi  $C_{7-14}$  arilo, cicloalcoxi  $C_{9-14}$  arilo, heteroarilo o alquil  $C_{7-14}$  heteroarilo de 5 a 7 miembros o;  $R_1$  and  $R_2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros;
- (b)  $m$  es 1 ó 2;
- (c)  $n$  es 1 ó 2;
- 10 (d)  $R_3$  es H o alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o cicloalquilo  $C_{3-7}$ , cada uno de ellos sustituido opcionalmente con halógeno;
- (e)  $R_4$  es alquilo  $C_{1-8}$  sustituido opcionalmente con halo, ciano, amino, dialquil  $C_{1-6}$  amino, arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , carboxi, hidroxilo, ariloxi, alquil  $C_{7-14}$  ariloxi, alquil  $C_{2-6}$  éster o alquil  $C_{8-15}$  ariléster; alquenilo  $C_{3-12}$ ; cicloalquilo  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, en donde el cicloalquilo o el alquilcicloalquilo están sustituidos opcionalmente con hidroxilo, alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o alcoxi  $C_{1-6}$ ; o  $R_3$  junto con el átomo de carbono al que está unido forma un grupo cicloalquilo  $C_{3-7}$  sustituido opcionalmente con alquenilo  $C_{2-6}$ ;
- 15 (f)  $Y$  es H, fenilo sustituido con nitro, piridil sustituido con nitro o alquil  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente con ciano, hidroxilo o cicloalquilo  $C_{3-7}$ , con la condición de que si  $R_5$  o  $R_6$  es H, entonces  $Y$  es H;
- (g)  $B$  es H, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $R_5-(C=O)-$ ,  $R_5O(C=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(S)-$ ,  $R_5SO_2-$ , o  $R_5-N(R_6)-SO_2-$ ;
- 20 (h)  $R_5$  es (i) alquilo  $C_{1-10}$  sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanóilo  $C_{1-6}$ , 1-3 halógeno, hidroxilo,  $-OC(O)$ alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , amido o (alquilo inferior)amido; (ii) cicloalquilo  $C_{3-7}$ , cicloalcoxi  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi  $C_{1-6}$ )carbonilo, amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , amido o (alquilo inferior) amido; (iii) arilo  $C_{6-10}$  o aril  $C_{7-16}$  alquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, nitro, hidroxilo, amido, (alquilo inferior) amido o amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ ; (iv) Het; (v) bicyclo(1.1.1)pentano o (vi)  $-C(O)O$  alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o alquinilo  $C_{2-6}$ ;
- 25 (i)  $R_6$  es H; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos o alcoxi  $C_{1-6}$  con la condición de que  $R_5$  es alquilo  $C_{1-10}$ ;
- (j)  $X$  es O, S, SO,  $SO_2$ ,  $OCH_2$ ,  $CH_2O$  o NH;
- (k)  $R'$  es Het, arilo  $C_{6-10}$  o alquil  $C_{7-14}$  arilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con  $R^a$  y
- 30 (l)  $R^3$  es alquilo  $C_{1-6}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , cicloalcoxi  $C_{3-7}$ , halo-alquilo  $C_{1-6}$ ,  $CF_3$ , mono-haloalcoxi  $C_{1-6}$  o di-halo-alcoxi  $C_{1-6}$ , ciano, halo, tioalquilo, hidroxilo, alcanóilo,  $NO_2$ , SH, amino, alquil  $C_{1-6}$  amino, dialquil ( $C_{1-6}$ ) amino, dialquil ( $C_{1-6}$ ) amida, carboxilo, carboxiéster ( $C_{1-6}$ ), alquil  $C_{1-6}$  sulfona, alquil  $C_{1-6}$  sulfonamida, di alquil ( $C_{1-6}$ ) (alcoxi)amina, arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

- 35 La presente invención también proporciona composiciones que comprenden los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de los mismos y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En particular, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas útiles para la inhibición de la NS3 del VHC que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 40 La presente invención proporciona además procedimientos para el tratamiento de pacientes infectados con el VHC, que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo. Además, la presente invención proporciona procedimientos de inhibición de la proteasa NS3 del VHC mediante la puesta en contacto de la proteasa NS3 con un compuesto de la presente invención.
- 45 En virtud de la presente invención, es ahora posible proporcionar fármacos mejorados que comprenden los compuestos de la invención, los cuales pueden ser efectivos en el tratamiento de pacientes infectados con el VHC. Específicamente, la presente invención proporciona compuestos peptídicos que pueden inhibir el funcionamiento de la proteasa NS3, por ej., en combinación con la proteasa NS4A. Además, la presente invención hace posible administrar un tratamiento de combinación a un paciente, mediante el cual un compuesto de acuerdo con la

presente invención, que es efectivo para inhibir la proteasa NS3 del VHC, se puede administrar con otro compuesto que tiene actividad anti-VHC, por ej., un compuesto que es efectivo para inhibir la función de una diana seleccionada del grupo constituido por metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC, IMPDH y un análogo nucleosídico para el tratamiento de una infección por el VHC.

### **Descripción detallada de la invención**

Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas aquí siguen generalmente el Diccionario de Términos Químicos de McGraw-Hill, S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Book Company, New York (1984) y Estereoquímica de Compuestos Orgánicos, Eliel, E. and Wilen, S., John Wiley & Sons, Inc., New York (1994). Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada. Para describir un compuesto ópticamente activo, se usan los prefijos D y L o R y S para denotar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación del plano de la luz polarizada por el compuesto, donde (-) o l significa que el compuesto es levorotatorio y (+) o d, significa que el compuesto es dextrorotatorio. Para una estructura química dada, estos compuestos, denominados estereoisómeros, son idénticos con la salvedad de que son imágenes especulares uno de otro. Un estereoisómero específico de un par de imágenes especulares puede denominarse también enantiómero y una mezcla de dichos isómeros frecuentemente se denomina también mezcla enantiomérica. Con respecto a los casos en los que se usa (R) o (S), esta designa la configuración absoluta de un sustituyente en contexto respecto al compuesto completo y no en el contexto respecto al sustituyente solo.

Salvo que no se especifique otra cosa, los términos presentados a continuación tendrán las siguientes definiciones.

Las expresiones "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovistas de actividad óptica.

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

El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen composición química idéntica, pero que difieren en cuanto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

El término "diastereoisómero" se refiere a un estereoisómero que no es un enantiómero, por ej., un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereoisómeros tienen propiedades físicas diferentes, por ej., puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades diferentes. Las mezclas de diastereoisómeros se pueden separar mediante procedimientos analíticos de alta resolución, tales como electroforesis y cromatografía.

El término "enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que no son imágenes especulares superponibles una de otra.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" pretende incluir sales no tóxicas sintetizadas a partir de un compuesto que contiene un resto básico o ácido mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido adecuados en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, p. 1445. Los compuestos de la presente invención son útiles en la forma de la base o ácido libre o en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Todas las formas están dentro del alcance de la invención.

La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad total de cada componente activo que es suficiente para mostrar un beneficio significativo para el paciente, por ej., una reducción mantenida de la carga viral. Cuando se aplica a un principio activo individual, administrado solo, el término se refiere a ese componente sólo. Cuando se aplica a una combinación, el término se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que tienen como resultado el efecto terapéutico, independientemente de si se administran en combinación, serialmente o simultáneamente.

La expresión "compuestos de la invención", y expresiones equivalentes, se pretende que abarquen los compuestos de fórmula I, y un enantiómero farmacéuticamente aceptable, sales diastereoisoméricas y solvatos, por ej. hidratos. De modo similar, se pretende que las referencias a intermedios abarquen sus sales y solvatos, donde el contexto así lo permita. Las referencias al compuesto de la invención también incluyen los compuestos preferidos, por ej., fórmula II y A-M.

El término "derivado" significa un compuesto químicamente modificado, en donde la modificación se considera rutinaria por el químico experto en la materia, tal como un grupo éster o una amida de un ácido, grupos protectores,

tales como un grupo bencilo para un alcohol o tiol y terc-butoxicarbonil para una amina.

El término "solvato" significa una asociación física de un compuesto de la presente invención con una o más moléculas de disolvente, orgánico o inorgánico. Esta asociación física incluye enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato podrá aislarse, por ejemplo cuando una o más moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino. "Solvato" abarca solvatos tanto en fase solución como aislables. Ejemplos de solvatos incluyen hidratos, etanolatos, metanolatos, y similares.

Un profármaco de un compuesto de la invención (es decir, un derivado de un compuesto de la invención que tiene un grupo químicamente o metabólicamente escindible y que se convierte mediante solvolisis o en condiciones fisiológicas, en el compuesto de la invención que es farmacéuticamente activo in vivo), se puede formar de un modo convencional con un grupo funcional de los compuestos, tales como con un grupo amino, hidroxilo o carboxilo cuando está presente. La forma derivado profármaco ofrece ventajas de solubilidad, compatibilidad con el tejido o liberación retardada en un organismo mamífero (véase, Bundgard, H., Design of Prodrugs, pp. 7-9,21-24, Elsevier, Amsterdam 1985). Los profármacos incluyen derivados de ácidos bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como, por ejemplo, ésteres preparados por la reacción del compuesto ácido original con un alcohol adecuado o amidas preparadas por reacción del compuesto ácido original con una amina adecuada.

El término "paciente" incluye tanto al ser humano como a otros mamíferos.

La expresión "composición farmacéutica" significa una composición que comprende un compuesto de la invención en combinación con al menos un vehículo farmacéutico adicional, es decir, adyuvante, excipiente o vehículo, tales como diluyentes, conservantes, agentes de relleno, agentes reguladores del flujo, agentes desintegrantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes suspensores, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes para la dispensación, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y formas farmacéuticas. Se pueden usar, por ejemplo, los elementos mencionados en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA (1999).

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se usa aquí para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del juicio médico fundamentado, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesiva u otro problema o complicación, que corresponde a una relación riesgo/beneficio razonable.

El término "tratamiento" se refiere a: (i) prevenir una enfermedad, trastorno o afección que se produce en un paciente que puede estar predispuesto a la enfermedad, trastorno y/o afección, pero que todavía no se ha diagnosticado que tenga; (ii) inhibir la enfermedad, trastorno o afección, es decir, detener su desarrollo y (iii) aliviar la enfermedad, trastorno o afección, es decir, provocar la regresión de la enfermedad, trastorno y/o afección.

El término "sustituido" como se usa en el presente documento, incluye la sustitución en desde uno al número máximo de posibles sitios de unión del núcleo, por ej., radical orgánico, al cual está unido el sustituyente, por ej., monosustituido, disustituido, trisustituido o tetrasustituido, salvo que se indique específicamente otra cosa.

La nomenclatura usada para describir radicales orgánicos, por ej., radicales orgánicos, por ej., hidrocarburos e hidrocarburos sustituidos generalmente sigue la nomenclatura conocida en la técnica, salvo que se defina específicamente otra cosa. Combinaciones de grupos, por ej., alquilalcoxiamina o arilalquilo, incluyen todas las posibles configuraciones estables, salvo que se indique específicamente otra cosa. A continuación se definen determinados radicales y combinaciones con fines ilustrativos.

El término "halo" como se usa en el presente documento, significa un sustituyente halógeno seleccionado de bromo, cloro, fluoro o yodo. El término "haloalquilo" significa un grupo alquilo que está sustituido con uno o más sustituyentes halo.

El término "alquilo" como se usa en el presente documento, significa sustituyentes alquilo de cadena lineal o ramificada, acíclicos, que tienen el número especificado de átomos de carbono e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, terc-butilo, hexilo, 1-metiletilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo, 1,1-dimetiletilo. Por lo tanto, alquilo C<sub>1-6</sub> se refiere a un grupo alquilo que tiene de uno a seis átomos de carbono. El término "alquilo inferior" significa un grupo alquilo que tiene de uno a seis, preferentemente de uno a cuatro átomos de carbono. El término "éster de alquilo" significa un grupo alquilo que contiene adicionalmente un grupo éster. En general, un intervalo de número de carbonos indicado, por ej., éster de alquilo C<sub>2-6</sub>, incluye todos los átomos de carbono del radical.

El término "alqueno" como se usa en el presente documento, significa un radical alquilo que contiene al menos un doble enlace, por ej., etenil (vinilo) y alquilo.

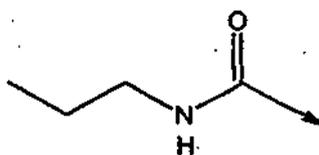
El término "alcoxi" como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo con el número indicado de átomos de carbono unidos a un átomo de oxígeno. Alcoxi incluye, por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, 1-metiletoxi, butoxi y 1,1-dimetil-etoxi. El último radical se conoce en la técnica como terc-butoxi. El término "alcoxycarbonilo" significa un grupo alcoxi que contiene adicionalmente un grupo carbonilo.

El término "cicloalquilo" como se usa en el presente documento, significa un sustituyente cicloalquilo que contiene el número indicado de átomos de carbono e incluye, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y grupos cíclicos espiro, tales como espirociclopropilo y espirociclobutilo. El término "cicloalcoxi" como se usa aquí significa un grupo cicloalquilo unido a un átomo de oxígeno, tal como, por ejemplo, ciclobutiloxi o ciclopropiloxi. El término "alquilocicloalquilo" significa un grupo cicloalquilo unido a un grupo alquilo. El intervalo de número de carbonos citados incluye el número total de carbonos en el radical, salvo que se indique específicamente otra cosa. Es decir, un alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo puede contener de 1 a 7 átomos de carbono en el grupo alquilo y de 3 a 9 átomos de carbono en el anillo, por ej., ciclopropilmetilo o ciclohexiletilo.

El término "arilo" como se usa en el presente documento, significa un resto aromático que contiene el número indicado de átomos de carbono, tal como fenilo, indanilo o naftilo. Por ejemplo, arilo C<sub>6-10</sub> se refiere a un resto aromático que tiene de seis a diez átomos de carbono, el cual puede estar en la forma de una estructura monocíclica o bicíclica. El término "haloarilo" como se usa en el presente documento, se refiere a un arilo monosustituido, disustituido o trisustituido con uno o más átomos de halógeno. Los términos "alquilarilo", "arilalquilo" y "aralalquilo" significan un grupo arilo sustituido con uno o más grupos alquilo. Salvo que se especifique el intervalo de carbonos de cada grupo, el intervalo citado se aplica a todo el sustituyente. Por lo tanto, un grupo alquil C<sub>7-14</sub> arilo puede tener de 1 a 8 átomos de carbono en el grupo alquilo para un anillo aromático monocíclico y de 1 a 4 átomos de carbono en el grupo alquilo para un anillo aromático condensado. La unión del grupo al sitio de unión de la molécula puede ser en el grupo arilo o en el grupo alquilo. Salvo que se especifique un radical arilo, por ej., flurofenilo, o que se especifique que el radical no está sustituido, los radicales arilo incluyen aquellos sustituidos con sustituyentes típicos conocidos por los expertos en la materia, por ej., halógeno, hidroxilo, carboxilo, carbonilo, nitro, sulfuro, amino, ciano, dialquilamino haloalquilo, CF<sub>3</sub>, haloalcoxi, tioalquilo, alcanóilo, SH, alquilamino, alquilamida, dialquilamida, carboxiéster, alquilsulfona, alquilsulfonamida y alquil(alcoxi)amina. Ejemplos de grupos alquilarilo incluyen bencilo, butilfenilo y 1-naftilmetilo.

El término "alcanóilo" como se usa en el presente documento, significa radicales 1-oxoalquilo, lineales o ramificados, que contienen el número indicado de átomos de carbono e incluye, por ejemplo, formilo, acetilo, 1-oxopropilo (propionilo), 2-metil-1-oxopropilo, 1-oxohexilo y similares.

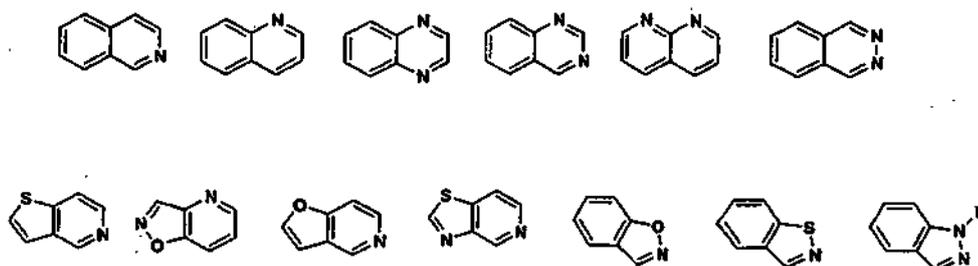
El término "alquilamida" como se usa en el presente documento, significa una amida monosustituida con un alquilo, tal como



El término "heterociclo", también denominado "Het", como se usa en el presente documento, significa heterociclos bicíclicos de 7 a 12 miembros y heterociclos monocíclicos de 5 a 7 miembros.

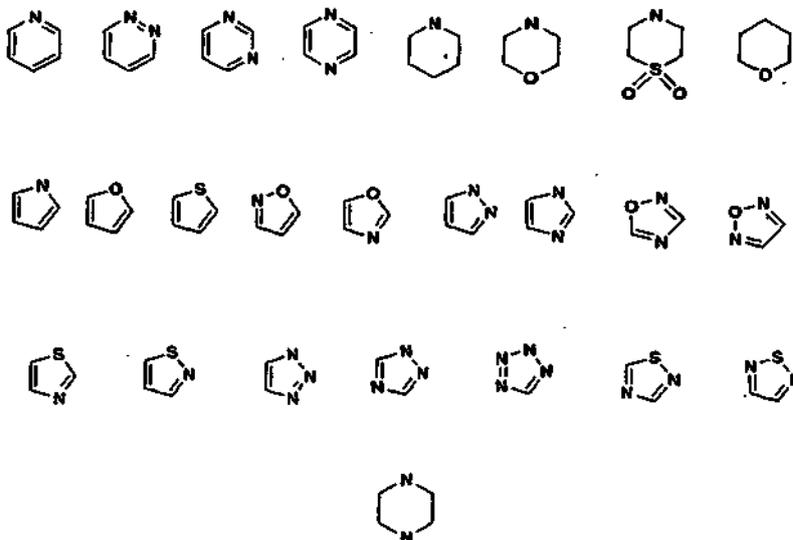
Heterociclos bicíclicos preferidos son sistemas de anillo bicíclico condensado de 7 a 12 miembros (ambos anillos comparten un par adyacente de átomos) que contienen de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde ambos anillos del heterociclo están totalmente insaturados. Los átomos heteroátomos nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados. El heterociclo bicíclico puede contener los heteroátomos en uno o en ambos anillos. Salvo que se especifique un heterociclo concreto, por ej., un heterociclo bicíclico de 7 a 12 miembros fluorado o que se especifique que el heterociclo no está sustituido, los heterociclos incluyen aquellos sustituidos con los sustituyentes típicos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, el heterociclo bicíclico puede contener también sustituyentes en cualquiera de los átomos de carbono del anillo, por ej., de uno a tres sustituyentes. Ejemplos de sustituyentes adecuados incluyen, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalcoxi C<sub>3-7</sub>, halo-alquilo C<sub>1-6</sub>, CF<sub>3</sub>, monohaloalcoxi C<sub>1-6</sub> o dihaloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, halo, tioalquilo, hidroxilo, alcanóilo, NO<sub>2</sub>, SH, amino, alquil C<sub>1-6</sub> amino, dialquil (C<sub>1-6</sub>) amino, dialquil (C<sub>1-6</sub>) amida, carboxilo, carboxiéster (C<sub>1-6</sub>), alquil C<sub>1-6</sub> sulfona, alquil C<sub>1-6</sub> sulfonamida, alquil C<sub>1-6</sub> sulfóxido, dialquil (C<sub>1-6</sub>) (alcoxi)amina, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros. Cuando dos sustituyentes están unidos a átomos de carbono vecinos del heterociclo bicíclico, estos se pueden unir para formar un anillo, por ej., un sistema de anillo de cinco, seis o siete miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados de oxígeno y nitrógeno. El heterociclo bicíclico puede unirse a la molécula, por ej., R<sub>1</sub> en la fórmula I, en cualquier átomo del anillo y preferentemente al carbono.

Ejemplos de heterociclos bicíclicos incluyen los siguientes sistemas de anillo:



5 [0042] Heterociclos monocíclicos preferidos son sistemas de anillo saturado, parcialmente saturado o totalmente insaturado (éste último subgrupo también se conoce como heteroaromático insaturado) de 5 a 7 miembros que contiene en el anillo de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde los heteroátomos azufre y nitrógeno pueden estar opcionalmente oxidados. Salvo que se especifique un heterociclo específico, por ej., un heterociclo monocíclico sustituido de 5 a 7 miembros sustituido con alcoxi C<sub>1-6</sub> o que se especifique que el heterociclo no está sustituido, los heterociclos incluyen aquellos sustituidos con sustituyentes típicos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, el heterociclo monocíclico puede contener también sustituyentes en cualquiera de los átomos del anillo, por ej., de uno a tres sustituyentes. Ejemplos de sustituyentes adecuados incluyen alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalcoxi C<sub>3-7</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, CF<sub>3</sub>, monohaloalcoxi C<sub>1-6</sub> o dihaloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, halo, tioalquilo, hidroxilo, alcanóilo, NO<sub>2</sub>, SH, amino, alquil C<sub>1-6</sub> amino, dialquil (C<sub>1-6</sub>) amino, dialquil (C<sub>1-6</sub>) amida, carboxilo, carboxiéster (C<sub>1-6</sub>), alquil C<sub>1-6</sub> sulfona, alquil C<sub>1-6</sub> sulfóxido, alquil C<sub>1-6</sub> sulfonamida, dialquil (C<sub>1-6</sub>) (alcoxi)amina, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros adicional. El heterociclo monocíclico puede unirse a la molécula, por ej., R<sub>1</sub> en la fórmula I, en cualquier átomo del anillo.

Ejemplos de heterociclos monocíclicos incluyen los siguientes (y sus tautómeros):



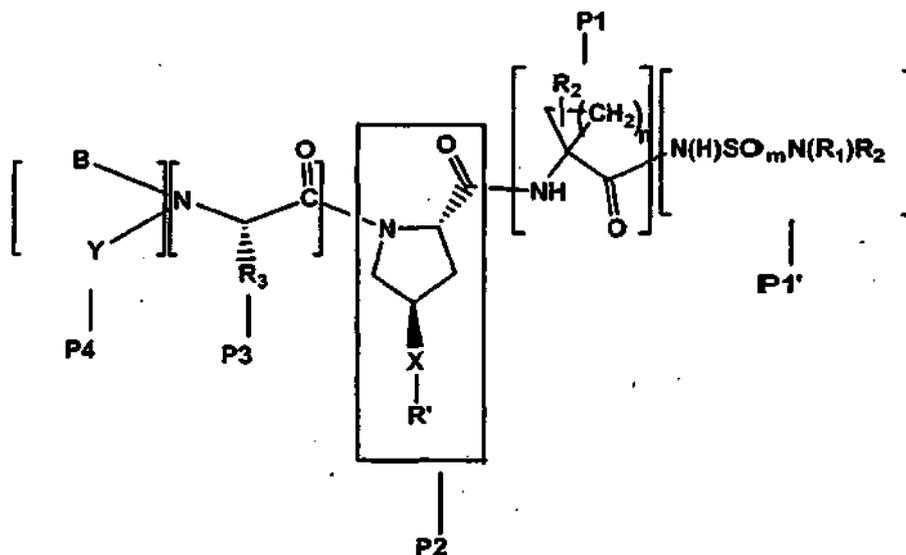
20 Los expertos en la materia reconocerán que los heterociclos usados en los compuestos de la presente invención deben ser estables. En general, compuestos estables son aquellos que se pueden sintetizar, aislar y formular usando técnicas conocidas por los expertos en la materia sin degradación del compuesto.

El término "sustituyente" en referencia a un aminoácido o derivado de aminoácido significa un radical derivado del correspondiente α-aminoácido. Por ejemplo, los sustituyentes metilo, isopropilo y fenilo representan los aminoácidos alanina, valina y fenil glicina, respectivamente.

25 Cuando se usan para denominar los compuestos de la presente invención, las denominaciones "P1", P2, P3 y P4", como se usan en el presente documento, indican las posiciones relativas de los residuos aminoácidos del sitio de unión de un inhibidor de la proteasa respecto al sustrato natural de escisión del péptido. La escisión se produce en el sustrato natural entre P1 y P1' donde las posiciones no prima designan los aminoácidos a partir del extremo C del sitio de escisión natural del péptido y que se extienden hasta el extremo N terminal, mientras que las posiciones prima parten del extremo N terminal de la denominación del sitio de escisión y se extienden hacia el extremo C terminal. Por ejemplo, P1' se refiere a la primera posición desde el extremo a mano derecha del C terminal del sitio de escisión (es decir, el extremo N terminal es la primera posición), mientras que P1 inicia la numeración desde el

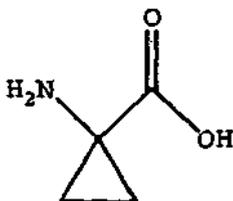
lado a mano izquierda del sitio de escisión del C terminal, P2: segunda posición desde el C terminal, etc.) (véase Berger A. & Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), B257, 249-264).

Por lo tanto, en los compuestos de fórmula I, las fracciones "P1" a P4" de la molécula se indican como se muestra a continuación:

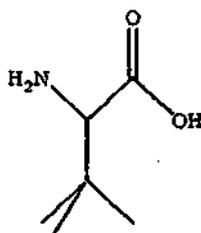


5

Como se usa en el presente documento, el término "ácido 1-aminociclopropil carboxílico" (Acca) se refiere a un compuesto de fórmula:



Como se usa en el presente documento, el término "terc-butilglicina" se refiere a un compuesto de la fórmula:



10

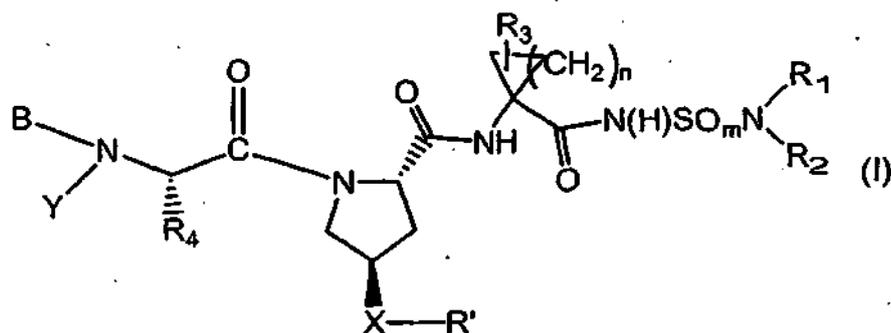
El término "residuo" en referencia a un aminoácido o derivado de aminoácido significa un radical derivado del correspondiente  $\alpha$ -aminoácido por eliminación del hidroxilo del grupo carboxi y un hidrógeno del grupo  $\alpha$ -aminoácido. Por ejemplo, los términos Gln, Ala, Gly, Ile, Arg, Asp, Phe, Ser, Leu, Cys, Asn, Sar y Tyr representa los "residuos" de L-glutamina, L-alanina, glicina, L-isoleucina, L-arginina, ácido L-aspartico, L-fenilalanina, L-serina, L-leucina, L-cisteína, L-asparagina, sarcosina y L-tirosina, respectivamente.

15

La expresión "cadena lateral" en referencia a un aminoácido o derivado de aminoácido significa un grupo unido al átomo de carbono  $\alpha$  del  $\alpha$ -aminoácido. Por ejemplo, la cadena lateral grupo R de la glicina es el hidrógeno, de la alanina el metilo, de la valina el isopropilo. Para grupos R o cadenas laterales específicas de los  $\alpha$ -aminoácidos, véase A.L. Lehninger's text on Biochemistry (véase capítulo 4).

20

Los compuestos de la presente invención tienen la estructura de la Fórmula I:



en la que:

- 5 (a)  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno de ellos independientemente alquilo  $C_{1-8}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, cicloalquil  $C_{9-14}$  arilo, alcoxi  $C_{7-14}$  arilo, cicloalcoxi  $C_{9-14}$  arilo, heteroarilo o alquil  $C_{7-14}$  heteroarilo de 5 a 7 miembros o;  $R_1$  and  $R_2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros;
- (b)  $m$  es 1 ó 2;
- (c)  $n$  es 1 ó 2;
- 10 (d)  $R_3$  es H o alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o cicloalquilo  $C_{3-7}$ , cada uno de ellos sustituido opcionalmente con halógeno;
- (e)  $R_4$  es alquilo  $C_{1-8}$  sustituido opcionalmente con halo, ciano, amino, dialquil  $C_{1-6}$  amino, arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , carboxi, hidroxilo, ariloxi, alquil  $C_{7-14}$  ariloxi, alquil  $C_{2-6}$  éster o alquil  $C_{8-15}$  ariléster; alquenilo  $C_{3-12}$ ; cicloalquilo  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, en donde el cicloalquilo o el alquilcicloalquilo están sustituidos opcionalmente con hidroxilo, alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o alcoxi  $C_{1-6}$ ; o  $R_3$  junto con el átomo de carbono al que está unido forma un grupo cicloalquilo  $C_{3-7}$  sustituido opcionalmente con alquenilo  $C_{2-6}$ ;
- 15 (f)  $Y$  es H, fenilo sustituido con nitro, piridil sustituido con nitro o alquil  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente con ciano, hidroxilo o cicloalquilo  $C_{3-7}$ , con la condición de que si  $R_5$  o  $R_6$  es H, entonces  $Y$  es H;
- (g)  $B$  es H, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $R_5-C(=O)-$ ,  $R_5O(C=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=S)-$ ,  $R_5SO_2-$ , o  $R_5-N(R_6)-SO_2-$ ;
- 20 (h)  $R_5$  es (i) alquilo  $C_{1-10}$  sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanoílo  $C_{1-6}$ , 1-3 halógeno, hidroxilo,  $-OC(O)$ alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , amido o (alquilo inferior)amido; (ii) cicloalquilo  $C_{3-7}$ , cicloalcoxi  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi  $C_{1-6}$ )carbonilo, amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , amido o (alquilo inferior) amido; (iii) arilo  $C_{6-10}$  o aril  $C_{7-16}$  alquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, nitro, hidroxilo, amido, (alquilo inferior) amido o amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ ; (iv) Het; (v) biciclo(1.1.1)pentano o (vi)  $-C(O)O$  alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o alquínilo  $C_{2-6}$ ;
- 25 (i)  $R_6$  es H; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos o alcoxi  $C_{1-6}$  con la condición de que  $R_5$  es alquilo  $C_{1-10}$ ;
- (j)  $X$  es O, S, SO,  $SO_2$ ,  $OCH_2$ ,  $CH_2O$  o NH;
- (k)  $R'$  es Het, arilo  $C_{6-10}$  o alquil  $C_{7-14}$  arilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con  $R^a$  y
- 30 (l)  $R^3$  es alquilo  $C_{1-6}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , cicloalcoxi  $C_{3-7}$ , halo-alquilo  $C_{1-6}$ ,  $CF_3$ , mono-haloalcoxi  $C_{1-6}$  o di-halo-alcoxi  $C_{1-6}$ , ciano, halo, tioalquilo, hidroxilo, alcanoílo,  $NO_2$ , SH, amino, alquil  $C_{1-6}$  amino, dialquil ( $C_{1-6}$ ) amino, dialquil ( $C_{1-6}$ ) amida, carboxilo, carboxiéster ( $C_{1-6}$ ), alquil  $C_{1-6}$  sulfona, alquil  $C_{1-6}$  sulfonamida, di alquil ( $C_{1-6}$ ) (alcoxi)amina, arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

- 35 Preferentemente,  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno de ellos independientemente alquilo  $C_{1-8}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, heteroarilo o alquil  $C_{7-14}$  heteroarilo de 5 a 7 miembros o;  $R_1$  y  $R_2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros. Más preferentemente,  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno de ellos independientemente alquilo  $C_{1-8}$ , alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, heteroarilo o alquil  $C_{7-14}$  heteroarilo de 5 a 7 miembros o;  $R_1$  y  $R_2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 5 a 6 miembros.

Preferentemente,  $R_3$  es alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{2-6}$  o cicloalquilo  $C_{3-7}$ . Más preferentemente,  $R_3$  es alquenilo  $C_{2-6}$ .

- 45 Preferentemente,  $R_4$  es alquilo  $C_{1-8}$  sustituido opcionalmente con arilo  $C_6$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , carboxi, hidroxilo, ariloxi, alquil  $C_{7-14}$  ariloxi, alquil  $C_{2-6}$  éster o alquil  $C_{8-15}$  ariléster; alquenilo  $C_{3-12}$ ; cicloalquilo  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo. Más preferentemente,  $R_4$  es alquilo  $C_{1-8}$  sustituido opcionalmente con alcoxi  $C_{1-6}$  o cicloalquilo  $C_{3-7}$ ;

Preferentemente,  $Y$  es H.

Preferentemente,  $B$  es H, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $R_5-C(=O)-$ ,  $R_5O(C=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=S)-$ ,  $R_5SO_2-$  o  $R_5-N$

(R<sub>6</sub>)-SO<sub>2</sub>-. Más preferentemente, B es R<sub>5</sub>-(C=O)-, R<sub>5</sub>O(C=O)- o R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-C(=O)-. Aún más preferentemente, B es R<sub>5</sub>O(C=O)- y R<sub>5</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>.

5 Preferentemente, R<sub>5</sub> es (i) alquilo C<sub>1-10</sub> sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanoílo C<sub>1-6</sub>, 1-3 halógeno, hidroxilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>; (ii) cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, cicloalcoxi C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo o (iii) arilo C<sub>6-10</sub> o aril C<sub>7-16</sub> alquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con alquilo C<sub>1-6</sub> o halógeno. Más preferentemente, R<sub>5</sub> es (i) alquilo C<sub>1-10</sub> sustituido opcionalmente con 1-3 halógeno o alcoxi C<sub>1-6</sub> o (ii) cicloalquilo C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo.

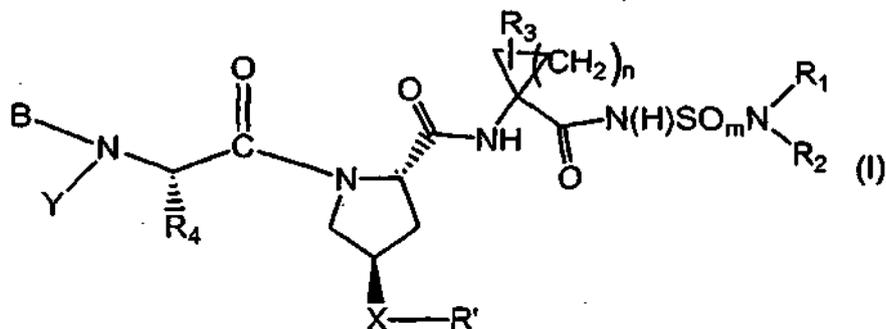
Preferentemente, R<sub>6</sub> es H o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos. Más preferentemente, R<sub>6</sub> es H.

Preferentemente, X es O o NH.

10 Preferentemente, R' es Het o arilo C<sub>6-10</sub> sustituido opcionalmente con R<sup>a</sup>. Más preferentemente, R' es Het. Aún más preferentemente, el heterociclo contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre o un átomo de oxígeno en el anillo. Preferentemente, el heterociclo está sustituido con al menos uno de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

Preferentemente, R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, halo, amino, arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

15 En un aspecto preferido de la invención, se proporciona un compuesto que tiene la fórmula



en la que:

20 (a) R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros; o R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros.

(b) m es 1 ó 2;

(c) n es 1 ó 2;

25 (d) R<sub>3</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>2-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-7</sub>;

(e) R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub> sustituido opcionalmente con arilo C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, carboxilo, hidroxilo, ariloxi, alquil C<sub>7-14</sub> ariloxi, alquil C<sub>2-6</sub> éster, alquil C<sub>8-15</sub> ariléster; alqueno C<sub>3-12</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo;

(f) B es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, R<sub>5</sub>-(C=O)-, R<sub>5</sub>O(C=O)-, R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-C(=O)-, R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-C(=S)-, R<sub>5</sub>SO<sub>2</sub>- o R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-SO<sub>2</sub>-;

30 (g) R<sub>5</sub> es (i) alquilo C<sub>1-10</sub> sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanoílo C<sub>1-6</sub>, 1-3 halógeno, hidroxilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>; (ii) cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, cicloalcoxi C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo o (iii) arilo C<sub>6-10</sub> o arilalquilo C<sub>7-16</sub>, cada uno de ellos sustituidos opcionalmente con alquilo C<sub>1-6</sub> o halógeno;

(h) R<sub>6</sub> es H o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos;

(i) X es O o NH;

(j) R' es Het o arilo C<sub>6-10</sub> sustituido opcionalmente con R<sup>a</sup>; y

35 (k) R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo-alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, amino, arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

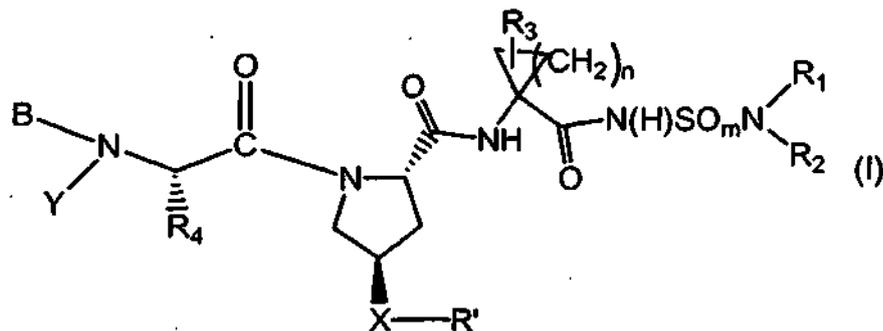
40 Preferentemente, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-8</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros o; R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 5 a 6 miembros. Más preferentemente, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-3</sub> o alcoxi C<sub>1-3</sub>.

Preferentemente, R' es un heterociclo bicíclico. Más preferentemente, el heterociclo contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre o un átomo de oxígeno en el anillo. Preferentemente, el heterociclo está sustituido con al menos uno de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6</sub> y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros. Aún más preferentemente, R' es un heterociclo bicíclico que contiene 1 átomo de nitrógeno y está

sustituido con metoxi y al menos uno de arilo C<sub>6</sub> y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

En otro aspecto preferido, R' es un heterociclo monocíclico. Preferentemente, el heterociclo contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre o un átomo de oxígeno en el anillo. Más preferentemente, el heterociclo está sustituido con al menos uno de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros. Preferentemente, R' es un heterociclo monocíclico que contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y está sustituido con metoxi y al menos uno de arilo C<sub>6</sub> y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

En otro aspecto preferido de la invención, se proporciona un compuesto que tiene la fórmula



10

en la que:

- (a) R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-8</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros o; R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 5 a 6 miembros.
- (b) m es 1 ó 2;
- (c) n es 1 ó 2;
- (d) R<sub>3</sub> es alqueno C<sub>2-6</sub>;
- (e) R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub>;
- (f) B es R<sub>5</sub>O(C=O)- o R<sub>5</sub>-NH-C(=O)-;
- (g) R<sub>5</sub> es alquilo C<sub>1-10</sub>;
- (h) R' es un heterociclo bicíclico sustituido opcionalmente con R<sup>a</sup>; y
- (i) R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros;

20

o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

Preferentemente, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-3</sub> o alcoxi C<sub>1-3</sub>. Más preferentemente, R<sub>1</sub> es metilo. Preferentemente, R<sub>2</sub> es metilo o metoxi. Preferentemente, R<sub>3</sub> es vinilo. Preferentemente, R<sub>4</sub> es t-butilo. Preferentemente, R<sub>5</sub> es t-butilo. Preferentemente, R' es quinolina o isoquinolina sustituida opcionalmente con R<sup>a</sup>.

25

Preferentemente, R<sub>1</sub> es metilo, R<sub>2</sub> es metoxi, R<sub>3</sub> es vinilo, R<sub>4</sub> es t-butilo, R<sub>5</sub> es t-butilo y R' es isoquinolina sustituida con al menos un R<sup>a</sup>. Preferentemente, R<sup>a</sup> es alcoxi C<sub>1-6</sub>. Más preferentemente, R<sup>a</sup> incluye además al menos uno de arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

Los compuestos de la presente invención, que contienen un resto básico, pueden formar sales por la adición de un ácido farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido se forman a partir de un compuesto de Fórmula I y un ácido inorgánico farmacéuticamente aceptable, incluyendo ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, fosfórico o ácido orgánico, tal como, p-toluenosulfónico, metanosulfónico, acético, benzoico, cítrico, malónico, fumárico, maleico, oxálico, succínico, sulfámico o tartárico. Por lo tanto, ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, fosfato, metanosulfonato, citrato, acetato, malonato, fumarato, sulfamato y tartrato.

35

Sales de un grupo amina pueden comprender también sales de amonio cuaternario en el cual el nitrógeno amino lleva un grupo orgánico adecuado, tal como un resto alquilo, alqueno, alquino o aralquilo.

Los compuestos de la presente invención, que están sustituidos con un grupo ácido, pueden existir como sales formadas mediante la adición de una base. Dichas sales de adición de base incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas que incluyen, por ejemplo, sales de metal alcalino (por ej., sódica y potásica), sales de metal alcalinotérreo (por ej., cálcica y magnésica), sales de aluminio y sales de amonio. Además, sales de adición de base incluyen sales de bases orgánicas fisiológicamente aceptables, tales como trimetilamina, trietilamina, morfina, piridina, piperidina, picolina, dicitclohexilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, 2-hidroxiethylamina, bis-(2-hidroxiethyl)amina,

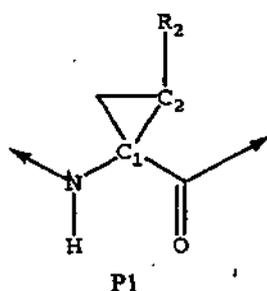
40

5 tri-(2-hidroxietil)amina, procaína, dibencilpiperidina, N-bencil-(3-fenetilamina, deshidroabietilamina, N,N'-bishidroabietilamina, glucamina, N-metilglucamina, colidina, quinina, quinolina, etilendiamina, ornitina, colina, N,N'-bencilfenetilamina, cloroprocaína, dietanolamina, dietilamina, piperazina, tris(hidroximetil)aminometano e hidróxido de tetrametilamonio y aminoácidos básicos, tales como lisina, arginina y N-metilglutamina. Estas sales se pueden preparar mediante los procedimientos conocidos por los expertos en la materia.

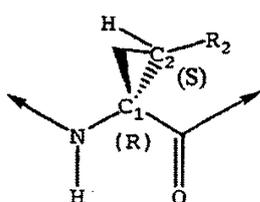
Determinados compuestos de la presente invención, y sus sales, pueden existir también en la forma de solvatos con agua, por ejemplo, hidratos o con disolventes orgánicos, tales como metanol, etanol o acetonitrilo para formar, respectivamente, un metanolato, etanolato o acetonitrilato. La presente invención incluye cada solvato y mezclas de los mismos.

10 Además, los compuestos de la presente invención, o una sal o solvato de los mismos, pueden presentar polimorfismo. La presente invención también abarca cualquier forma polimórfica.

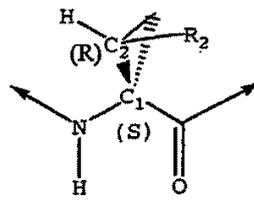
Los compuestos de la presente invención también contienen dos o más centros quirales. Por ejemplo, los compuestos pueden incluir el elemento P1 ciclopropilo de fórmula



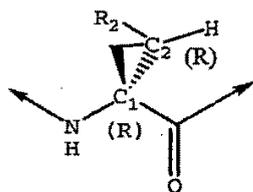
15 en la que C<sub>1</sub> y C<sub>2</sub> representan cada uno un átomo de carbono asimétrico en las posiciones 1 y 2 del anillo ciclopropilo. A pesar de otros posibles centros asimétricos en otros segmentos de los compuestos, la presencia de estos dos centros asimétricos significa que los compuestos pueden existir como mezclas racémicas de diastereoisómeros, tales como los diastereómeros en donde R<sub>2</sub> se configura en sin respecto a la amida o en sin respecto al carbonilo como se muestra a continuación



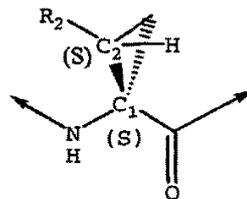
**(1R, 2S)**  
R<sub>2</sub> en sin respecto al carbonilo



**(1S, 2R)**  
R<sub>2</sub> en sin respecto al carbonilo



**(1R, 2R)**  
R<sub>2</sub> en sin respecto a la amida



**(1S, 2S)**  
R<sub>2</sub> en sin respecto a la amida

20

La presente invención incluye enantiómeros y mezclas de enantiómeros, tales como mezclas racémicas.

5 Los enantiómeros se pueden resolver mediante procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisoméricas que se pueden separar por cristalización, cromatografía gas-líquido o líquida, reacción selectiva de un enantiómero con un reactivo específico del enantiómero. Hay que señalar que cuando el enantiómero deseado se convierte en otra entidad química mediante una técnica de separación, entonces se requiere un paso adicional para formar la forma enantiomérica deseada. En otra alternativa, los enantiómeros específicos se pueden sintetizar mediante síntesis asimétrica usando reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores o disolventes o convirtiendo un enantiómero en el otro mediante transformación asimétrica.

10 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en diferentes formas conformacionales estables que se pueden separar. La asimetría torsional debido a la rotación limitada alrededor de un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo, debido a impedimento estérico o tensión del anillo, puede permitir la separación de los diferentes conformeros. La presente invención incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y mezclas de los mismos.

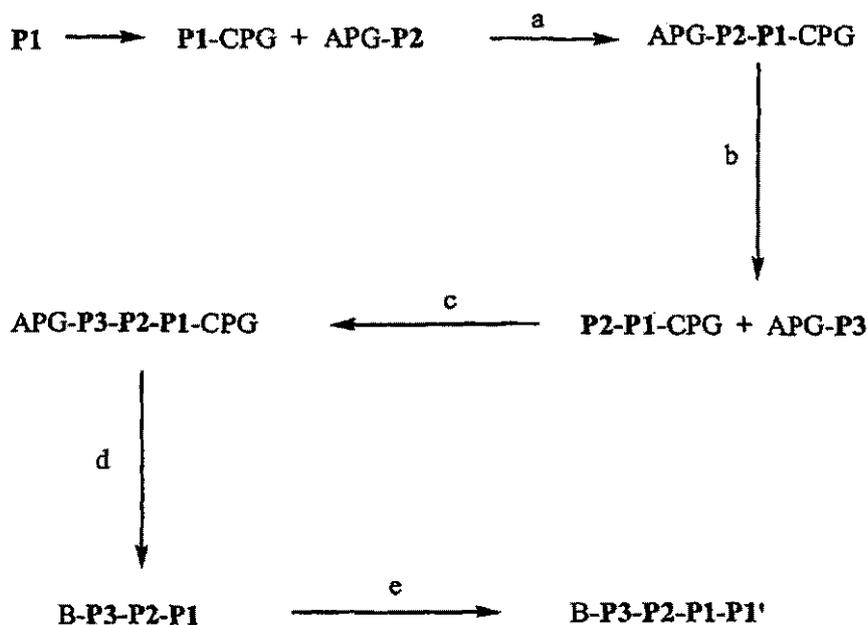
15 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en forma zwitteriónica y la presente invención incluye cada una de las formas zwitteriónicas de estos compuestos y mezclas de los mismos.

Los materiales de partida útiles para sintetizar los compuestos de la presente invención son conocidos por los expertos en la materia y se pueden fabricar fácilmente o están comercializados.

20 Los compuestos de la presente invención se pueden fabricar mediante los procedimientos conocidos por los expertos en la materia, véase por ej. la patente US-6.323.180 y la Publicación de solicitud de patente US-20020111313 A1, publicada el 15 de agosto de 2002. Los siguientes procedimientos expuestos a continuación se ofrecen con fines ilustrativos. Hay que señalar que puede preferirse o ser necesario para preparar un compuesto de este tipo, en el cual un grupo funcional se protege usando un grupo protector convencional, eliminar a continuación el grupo protector obteniéndose un compuesto de la presente invención. Los detalles relativos al uso de grupos protectores de acuerdo con la presente invención son conocidos por los expertos en la materia.

25 Los compuestos de la presente invención pueden, por ejemplo, sintetizarse de acuerdo con un procedimiento general ilustrado en el Esquema I (en donde CPG es un grupo protector de carboxilo y APG es un grupo protector de amino):

**Esquema I**



30 En resumen, P1, P2 y P3 pueden unirse mediante técnicas de acoplamiento de péptidos conocidas. Los grupos P1, P2 y P3 se pueden unir entre sí en cualquier orden, siempre y cuando el compuesto final corresponda a péptidos de la invención. Por ejemplo, P3 se puede unir a P2-P1 o P1 se puede unir a P3-P2.

Generalmente, los péptidos se elongan desprotegiendo el grupo  $\alpha$ -amino del residuo N terminal y acoplado el grupo carboxilo no protegido del siguiente aminoácido con el N protegido adecuadamente mediante un enlace peptídico usando los procedimientos descritos. Este procedimiento de desprotección y acoplamiento se repite hasta que se obtiene la secuencia deseada. Este acoplamiento se puede realizar con los aminoácidos constituyentes de forma escalonada, como se muestra en el Esquema I.

El acoplamiento entre dos aminoácidos, un aminoácido y un péptido, o dos fragmentos peptídicos se puede llevar a cabo usando procedimientos de acoplamiento convencionales, tales como el procedimiento de la azida, el procedimiento de mezcla de anhídrido de ácido carbónico-carboxílico (cloroformiato de isobutilo), procedimiento de la carbodiimida (diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbodiimida hidrosoluble), el procedimiento del éster activo (éster de p-nitrofenilo, éster imido N-hidroxisuccínico), procedimiento K del reactivo de Woodward, procedimiento del carbonildiimidazol, procedimientos de los reactivos de fósforo o de oxidación-reducción. Algunos de estos procedimientos (especialmente el procedimiento de la carbodiimida) se pueden mejorar añadiendo 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Estas reacciones de acoplamiento se pueden llevar a cabo en solución (fase líquida) o fase sólida.

Más explícitamente, el paso de acoplamiento implica el acoplamiento deshidratativo de un carboxilo libre de un reactante con el grupo amino libre de otro reactante en presencia de un agente acoplamiento para formar un enlace amida. Descripciones de dichos agentes de acoplamiento se encuentran en libros de texto generales sobre química de péptidos, por ejemplo, M. Bodanszky, "Peptide Chemistry", 2nd rev ed, Springer-Verlag, Berlin, Alemania, (1993). Ejemplos de agentes de acoplamiento adecuados son N,N'-diciclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazol en presencia de N,N'-diciclohexilcarbodiimida o N-etil-N'-[(3-dimetilamino)propil]carbodiimida. Un agente de acoplamiento práctico y útil comercializado es el tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio. Otro agente de acoplamiento práctico y útil comercializado es el hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio. La reacción de acoplamiento se lleva a cabo en un disolvente inerte, por ej., diclorometano, acetonitrilo o dimetilformamida. Se añade un exceso de una amina terciaria, por ej., diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, N-metilpirrolidina o 4-DMAP para mantener la mezcla de reacción a un pH de aproximadamente 8. La temperatura de reacción habitualmente varía entre 0 °C y 50 °C y el tiempo de reacción habitualmente varía entre 15 min y 24 h.

Los grupos funcionales de los aminoácidos constituyentes generalmente deben protegerse durante las reacciones de acoplamiento para evitar la formación de enlaces no deseados. Los grupos protectores que se pueden usar se enumeran, por ejemplo, en Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley & Sons, New York (1981) y "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", Vol. 3, Academic Press, New York (1981).

El grupo  $\alpha$ -amino de cada amino que se acopla a la cadena peptídica en crecimiento debe protegerse (APG). Se puede usar cualquier grupo protector conocido en la técnica. Ejemplos de dichos grupos incluyen: 1) grupos acilo, tales como formilo, trifluoroacetilo, ftalilo y p-toluenosulfonilo; 2) grupos carbamato aromáticos, tales como benciloxicarbonilo (Cbz o Z) y benciloxicarbonilos sustituidos y 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc); 3) grupos carbamato alifáticos, tales como terc-butiloxicarbonilo (Boc), etoxicarbonilo, diisopropilmetoxicarbonilo y aliloxicarbonilo; 4) grupos alquilcarbamato cíclicos, tales como ciclopentiloxicarbonilo y adamantiloxicarbonilo; 5) grupos alquilo, tales como trifenilmetilo y bencilo; 6) trialkilsililo, tal como trimetilsililo y 7) grupos que contienen tiol, tales como feniltiocarbonilo y ditiassuccinóilo. El grupo protector de  $\alpha$ -amino preferido es Boc o Fmoc. En el mercado existen muchos derivados de aminoácidos adecuadamente protegidos para la síntesis de péptidos.

El grupo protector de  $\alpha$ -amino del nuevo residuo de aminoácido añadido se escinde antes del acoplamiento del siguiente aminoácido. Cuando se usa el grupo Boc, los procedimientos de elección son ácido trifluoroacético, puro o en diclorometano o HCl en dioxano o en acetato de etilo. La sal de amonio resultante se neutraliza a continuación antes del acoplamiento o in situ con soluciones básicas, tales como tampones acuosos o aminas terciarias en diclorometano o acetonitrilo o dimetilformamida. Cuando se usa el grupo Fmoc, los reactivos de elección son piperidina o piperidina sustituida en dimetilformamida, aunque se puede usar cualquier amina secundaria. La desprotección se lleva a cabo a una temperatura entre 0 °C y temperatura ambiente (ta o TA), habitualmente 20-22 °C.

Cualquiera de los aminoácidos que tienen funcionalidades en la cadena lateral deben protegerse durante la preparación del péptido usando cualquiera de los grupos descritos más arriba. Los expertos en la materia apreciarán que la selección y uso de grupos protectores adecuados para estas funcionalidades en la cadena lateral depende del aminoácido y de la presencia de otros grupos protectores en el péptido. La selección de dichos grupos protectores es importante en el sentido de que el grupo no debe eliminarse durante la desprotección y acoplamiento del grupo  $\alpha$ -amino.

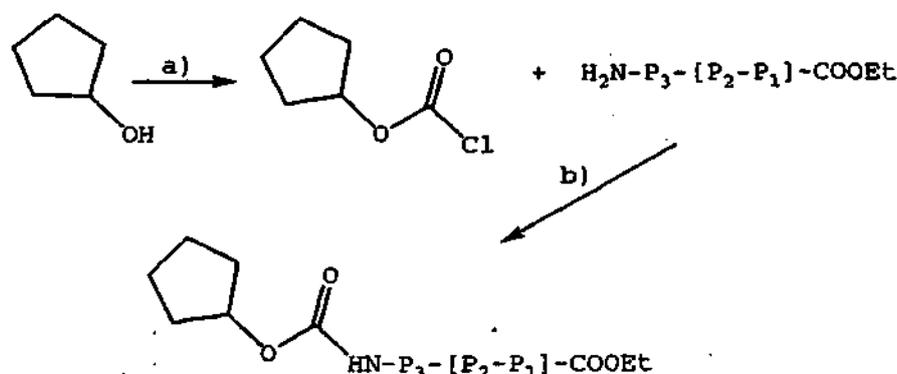
Por ejemplo, cuando se usa Boc como el grupo protector de  $\alpha$ -amino, son adecuados los siguientes grupos protectores de la cadena lateral: se pueden usar restos p-toluenosulfonilo (tosilo) para proteger la cadena lateral amino de los aminoácidos, tales como Lys y Arg; se pueden usar restos acetamidometilo, bencilo (Bn) o terc-butilsulfonilo para proteger la cadena lateral que contiene sulfuro de la cisteína; se pueden usar éteres de bencilo (Bn) para proteger las cadenas laterales de la serina, treonina o hidroxiprolina que contienen hidroxilo y éteres bencilicos para proteger las cadenas laterales del ácido aspártico y del ácido glutámico que contienen carboxilo.

Cuando se elige Fmoc para la protección del grupo  $\alpha$ -amino, habitualmente se aceptan grupos protectores de *terc*-butilo. Por ejemplo, Boc se puede usar para la lisina y la arginina, éter *terc*-butílico para la serina, treonina e hidroxiprolina y éster *terc*-butílico para el ácido aspártico y el ácido glutámico. Se puede usar el resto trifenilmetilo (Tritil) para proteger la cadena lateral de la cisteína que contiene sulfuro.

- 5 Una vez completada la elongación del péptido, se eliminan todos los grupos protectores. Cuando se usa una síntesis en fase líquida, se eliminan los grupos protectores siguiendo el procedimiento adecuado en función de los grupos protectores elegidos. Estos procedimientos son bien conocidos por los expertos en la materia.

Además, se puede seguir el siguiente esquema en la preparación de los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, para formar un compuesto donde  $R_4-C(O)-$ ,  $R_4-S(O)_2$ , se acopla un P3 protegido o el péptido completo o un segmento del péptido a un cloruro de acilo o cloruro de sulfonilo adecuados, respectivamente, o bien comercializado o cuya síntesis es bien conocida en la técnica. Cuando se prepara un compuesto donde  $R_4O-C(O)-$ , se acopla un P3 protegido o el péptido completo o un segmento del péptido a un cloroformiato adecuado, o bien comercializado o cuya síntesis es bien conocida en la materia. Para los derivados de Boc se usa  $(Boc)_2O$ .

Por ejemplo:



- 15 El ciclopentanol se trata con fosgeno para obtener el correspondiente cloroformiato. El cloroformiato se trata con el  $NH_2$ -tripéptido deseado en presencia de una base, tal como trietilamina para obtener el ciclopentilcarbamato.

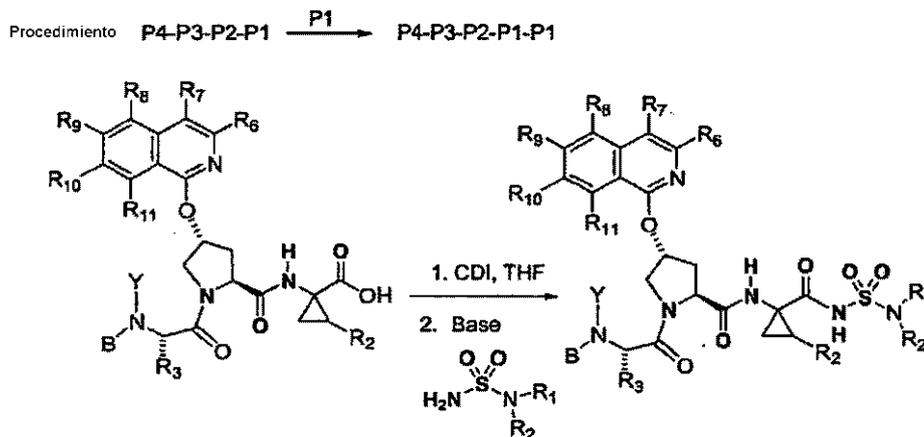
20 Para preparar un compuesto donde  $R_4-N(R_5)-C(O)-$  o  $R_4-NH-C(S)-$ , se trata un P3 protegido o el péptido completo o un segmento del péptido con fosfeno seguido de amina como se describe en SynLett. Feb 1995; (2); 142-144 o se hace reaccionar con el isocianato comercializado y una base adecuada, tal como trietilamina.

Para preparar un compuesto donde  $R_4-N(R_5)-S(O)_2$ , se trata un P3 protegido o el péptido completo o un segmento del péptido con un cloruro de sulfamilo preparado en el momento o comercializado seguido de amina como se describe en la patente alemana Ger. Offen.(1998), 84 pp. DE 19802350 o WO 98/32748.

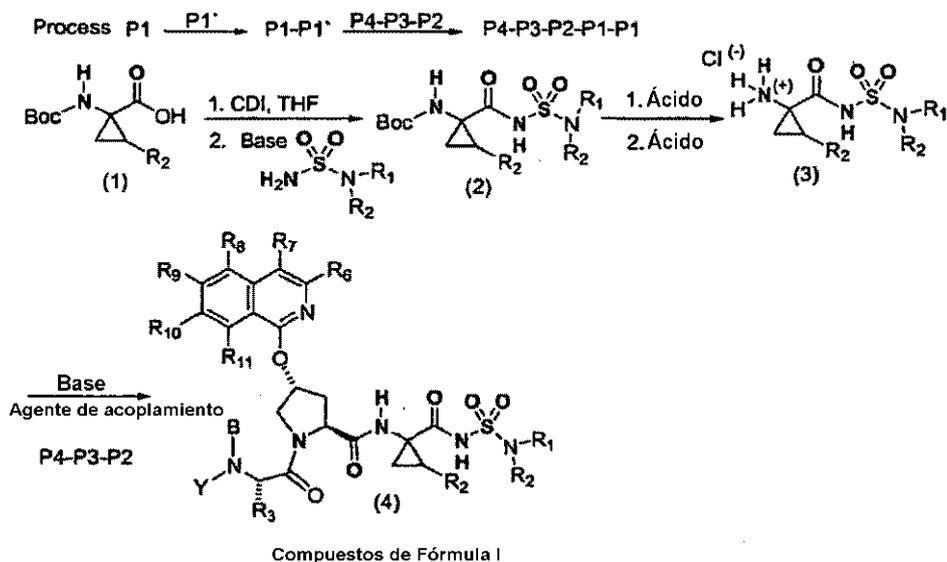
- 25 El grupo  $\alpha$ -carboxilo del residuo C terminal se protege habitualmente como un éster (CPG) que se puede escindir para dar el ácido carboxílico. Los grupos protectores que se pueden usar incluyen: 1) ésteres de alquilo, tales como metilo, trimetilsililo y t-butilo, 2) ésteres de aralquilo, tales como bencilo y bencilo sustituido o 3) ésteres que se pueden escindir mediante tratamiento con base débil o medio reductor débil, como ésteres de tricloroetilo y fenacilo.

30 El ácido  $\alpha$ -carboxílico resultante (resultante de la escisión mediante tratamiento con ácido leve, base débil o medio reductor débil) se acopla con un  $R_1(R_2)NSO_2NH_2$  [preparado como se ha descrito aquí] en presencia del agente acoplador de péptidos, tal como CDI en presencia de una base tal como LiHMDS (bis-hexametildisililamida de litio) para incorporar el resto P1', ensamblando efectivamente el tripéptido P1'-P1-P2-P3-APG.

35 El Esquema II muestra además el procedimiento general en el que los compuestos de Fórmula I se forman mediante el acoplamiento del intermedio tripéptido ácido carboxílico (1) con una P1' sulfamida. (Hay que señalar que los grupos  $R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}$  mostrados a continuación representan sustituyentes del sistema heterocíclico). Dicha reacción de acoplamiento requiere el tratamiento de ácido carboxílico (1) con un reactivo de acoplamiento, tal como el carbonil diimidazol en un disolvente, tal como THF, el cual se puede calentar hasta reflujo, seguido de la adición del derivado formado de (1), a la P1' sulfamida, en un disolvente tal como THF o cloruro de metileno en presencia de una base, tal como bishexametildisililamida de litio.

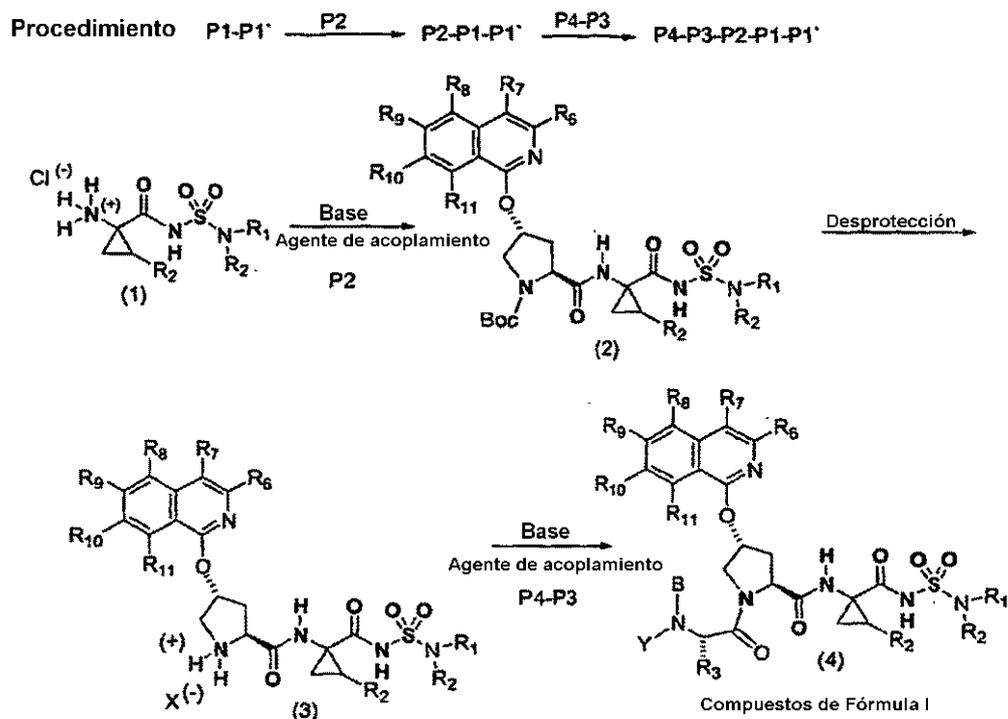
**Esquema II**

Un procedimiento alternativo para la construcción de los compuestos de Fórmula I se muestra en el Esquema III. En este, el elemento P1' sulfamida se acopla al elemento P1 usando el procedimiento empleado en el Esquema II. El resto P1-P1' restante se puede desproteger a continuación en su extremo amino terminal. En este ejemplo general, se usa un grupo protector Boc, aunque el experto en la materia sabrá que en este procedimiento se pueden emplear varios grupos protectores de amino adecuados. Dicho grupo protector Boc se puede eliminar usando ácido, tal como ácido trifluoroacético en un disolvente, tal como dicloroetano para obtener la amina desprotegida como la sal TFA. Dicha amina sal TFA se puede emplear directamente en la posterior reacción de acoplamiento y otra alternativa es convertir primero la amina sal TFA en la amina sal HCl y esta amina sal HCl se usa en dicha reacción de acoplamiento como se muestra en el Esquema III. El acoplamiento de dicha amina sal HCl (3) con el extremo carboxilo terminal de un intermedio P4-P3-P2 se puede lograr usando reactivos de acoplamiento, tales como HATU, en disolventes tales como diclorometano para obtener los compuestos de Fórmula I (4).

**Esquema III**

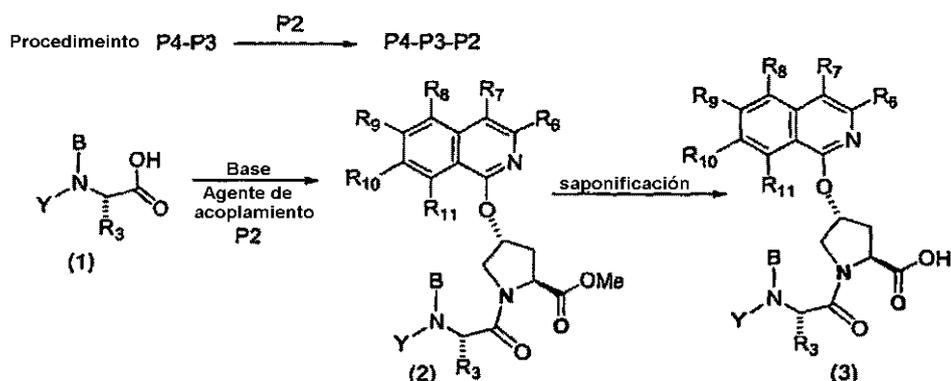
Un procedimiento alternativo para la construcción de los compuestos de Fórmula I se muestra en el Esquema IV. Aquí la sal clorhidrato de la amina P1-P1' terminal (1) se acopla al grupo carboxilo libre del elemento P2 usando agentes de acoplamiento, tales como PyBOP, en presencia de una base, como diisopropilamina y en un disolvente, tal como cloruro de metileno. El intermedio P2-P1-P1' resultante se puede convertir en los compuestos de Fórmula I en un procedimiento de dos pasos, en el que el primer paso es la desprotección del extremo P2 amina usando un ácido, tal como TFA en un disolvente, tal como cloruro de metileno. La sal ácido trifluoroacético resultante se puede acoplar con el extremo carboxilo del elemento P4-P3 usando agentes de acoplamiento convencionales como PyBop en presencia de base como diisopropilamina y usando disolventes, tales como cloruro de metileno para obtener los compuestos de Fórmula I (4).

**Esquema IV**



5 El intermedio P4-P3-P2 usado en los esquemas anteriores se puede construir como se ha descrito previamente en otra descripción de este procedimiento mostrado en el Esquema general V. Aquí, el extremo carboxilo del intermedio P4-P3 (1) se puede acoplar al extremo amino del elemento P2 para obtener el dipéptido P4-P3-P2 (2). El extremo carboxilo del intermedio P4-P3-P2 se puede desproteger mediante saponificación del grupo éster dando el P4-P3-P2 como el ácido carboxílico libre (3). Los intermedios como (3) se pueden convertir en los compuestos de Fórmula I usando los procedimientos descritos aquí.

**Esquema V**

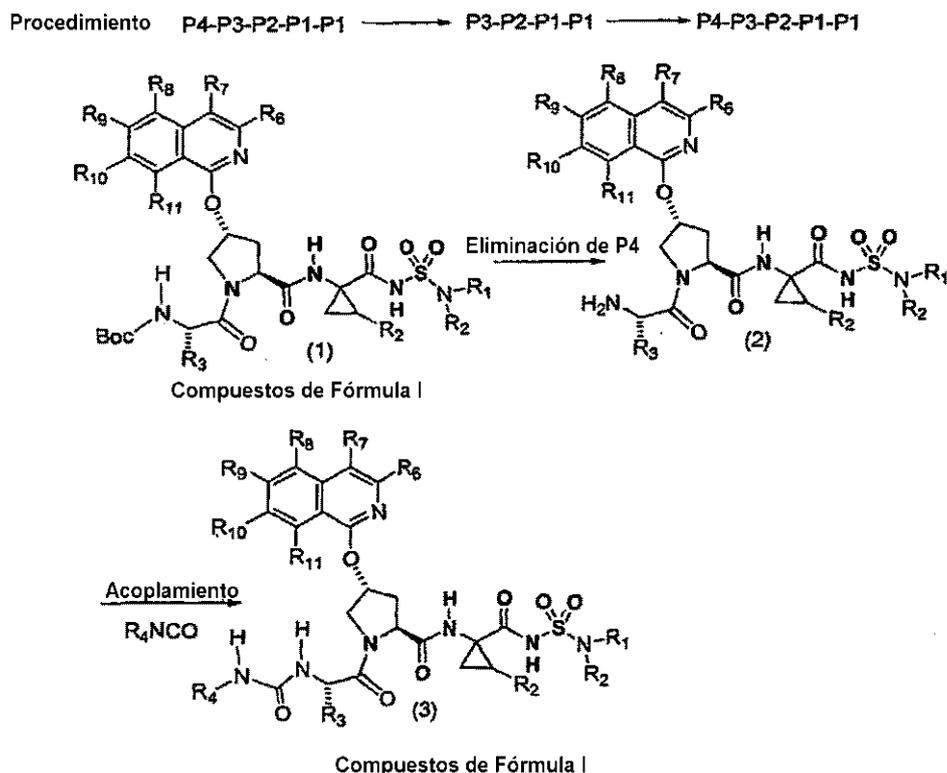


10 Los compuestos de Fórmula I también se pueden convertir en otros compuestos de Fórmula I tal como se describe aquí. Un ejemplo de un procedimiento de este tipo se muestra en el Esquema VI, en el que un compuesto de Fórmula I (1) que lleva un grupo Boc en la posición P4 se convierte en un compuesto de Fórmula I (3), en el que dicho compuesto lleva un grupo urea en la posición P4. La conversión de (1) en (3) se puede llevar a cabo en un procedimiento de dos pasos, el primero de los cuales es la conversión de (1) en la amina (2) mediante tratamiento de (1) con un ácido, tal como TFA en un disolvente, tal como cloruro de metileno. La amina resultante sal TFA se puede tratar con un isocianato en presencia de un equivalente de base obteniendo un compuesto de Fórmula I (3), en el que el resto P3 se cubre con una urea. Como ya se ha mencionado anteriormente, un experto en la materia

sabr  que el intermedio (2) se puede usar como materiales de partida para la preparación de los compuestos de Fórmula I, en la que el grupo P3 se cubre con una amida o una sulfonamida, o tiourea, o una sulfamida. La construcción de dichos compuestos de Fórmula I se puede lograr usando condiciones estándar para la formación de dichas funcionalidades P4 a partir de las aminas 3.

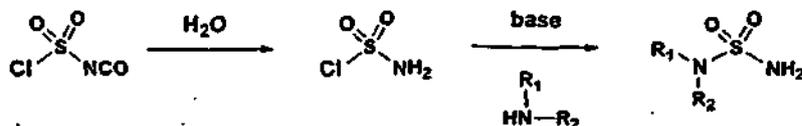
5

**Esquema VI**



En la construcción de compuestos de Fórmula I, el extremo P1' se incorpora en las moléculas usando uno de los procedimientos generales sealados anteriormente y descritos más detalladamente a continuación. Estas sulfamidas P1' se pueden preparar en un procedimiento de dos pasos usando clorosulfonilisocianato como material de partida. Dicho isocianato se puede hidrolizar en el correspondiente cloruro de clorosulfamoilo mediante tratamiento con agua en un disolvente, tal como THF. El intermedio cloruro de sulfamoilo tratado con una amina, en presencia de una base, proporciona los derivados de sulfamida deseados.

10



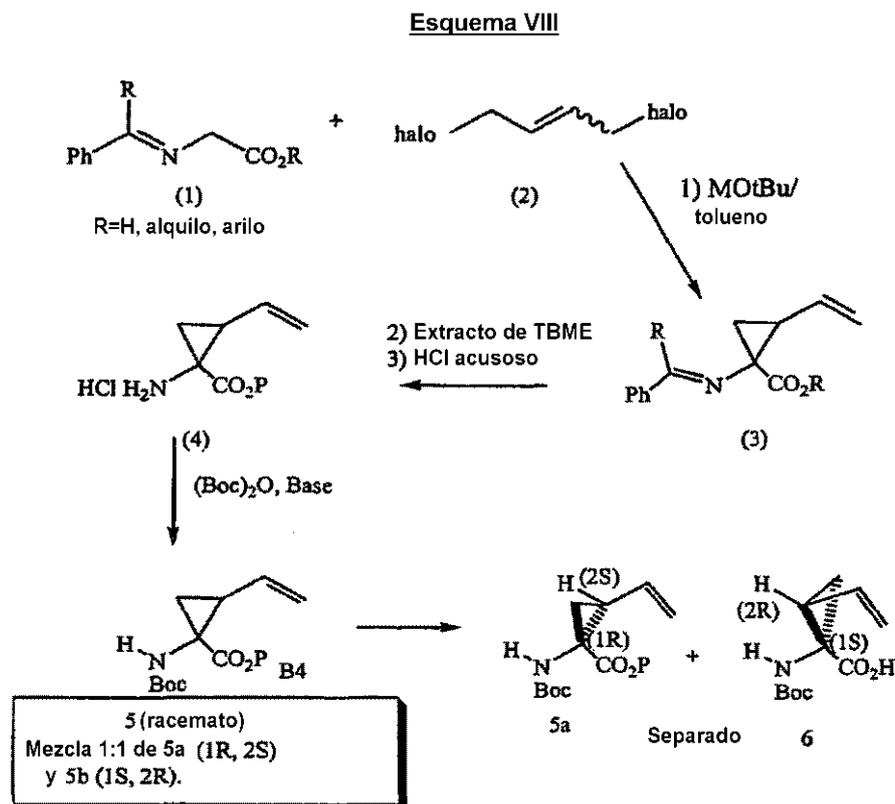
Los elementos P1 usados en la generación de los compuestos de Fórmula I están en algunos casos comercializados, pero si no es el caso, se sintetizan usando los procedimientos descritos aquí y posteriormente se incorporan en los compuestos de Fórmula I usando los procedimientos descritos aquí. Los ácidos ciclopropilamino sustituidos P1 se pueden sintetizar siguiendo el procedimiento general mostrado en el Esquema VIII.

15

El tratamiento de la imina (1) comercializada o sintetizable fácilmente con 1,4-dihalobuteno (2) en presencia de una base produce la imina (3) resultante. La hidrólisis ácida de 3 da seguidamente lugar a 4 como producto principal y el cual tiene un sustituyente alilo en sin respecto al grupo carboxilo. El resto amina de 4 se puede proteger usando un grupo Boc para proporcionar el aminoácido 5 totalmente protegido. Este intermedio es un racemato que se puede resolver mediante un procedimiento enzimático en el que el resto éster de 5 se escinde mediante una proteasa dando el correspondiente ácido carboxilico. Sin adherirse a una teoría en particular, se cree que esta reacción es selectiva en el sentido de que los enantiómeros sufre la reacción a una velocidad mucho mayor que su imagen especular, proporcionando una resolución cinética del intermedio racemato. En los ejemplos citados aquí, el estereoisómero más preferido para la integración en los compuestos de Fórmula I es 5a, el cual posee la

25

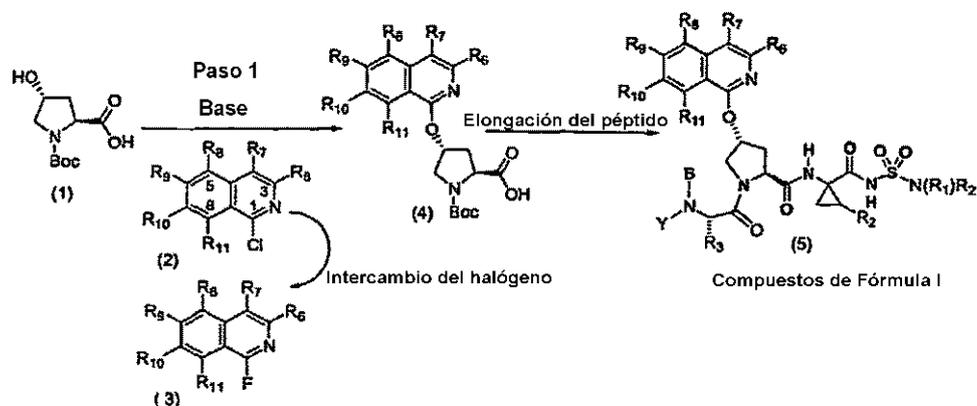
5 estereoquímica (1R, 2S). En presencia de la enzima, este enantiómero no sufre escisión del éster y de esta forma este enantiómero 5a se recupera de la mezcla de reacción. Sin embargo, el enantiómero 5b menos preferido, que posee la estereoquímica (1S, 2R) sufre la escisión del éster, es decir, hidrólisis, dando el ácido libre 6. Una vez finalizada esta reacción, el éster 5a se puede separar del producto ácido 6 mediante procedimientos rutinarios, tales como, por ejemplo, procedimientos de extracción acuosa o cromatografía.



10 Los procedimientos para la preparación de los intermedios P2 y compuestos de Fórmula I se muestran en los esquemas mostrados a continuación. Hay que señalar que en muchos casos las reacciones se muestran sólo para una posición de un intermedio. Sin embargo, se entiende que dichas reacciones se podrían usar para incorporar modificaciones a otras posiciones con este intermedio. Además, dichos intermedios, condiciones de reacción y procedimientos ofrecidos en los ejemplos específicos son en gran medida aplicables a los compuestos con otros patrones de sustitución. Los esquemas generales mostrados a continuación van seguidos de ejemplos. Por ejemplo, el núcleo isoquinolina se muestra como parte del esquema general, sin embargo, en el Esquema IX, esta vía

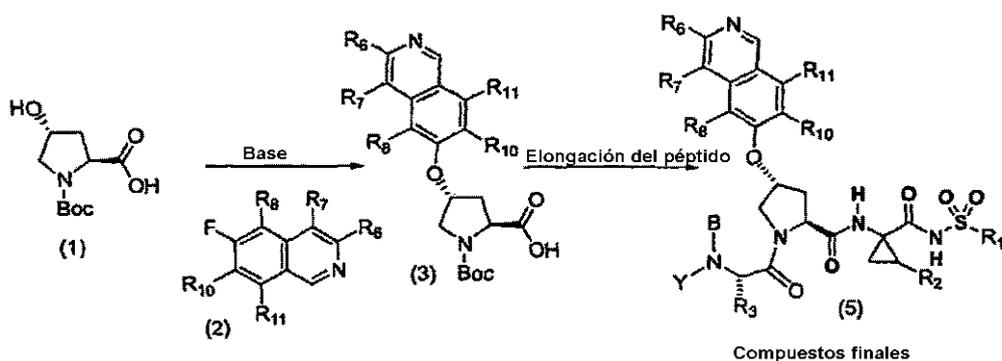
15 representa un procedimiento viable para la construcción de sustituyentes heterociclos alternativos como sustituciones para el elemento isoquinolina, tales como quinolinas o piridinas.

## Esquema IX



5  
10  
15

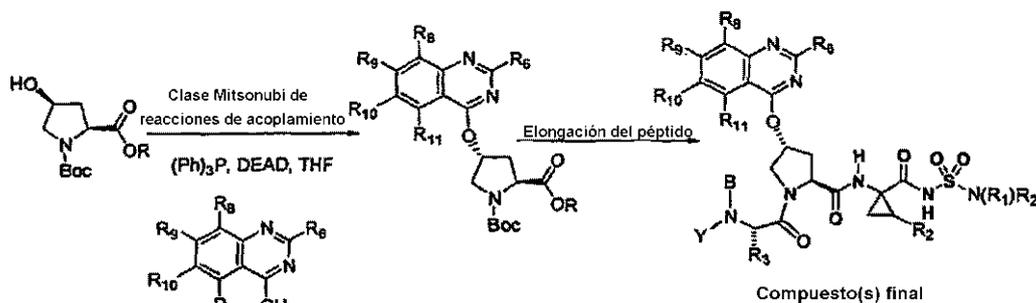
## Esquema X



20

Un procedimiento alternativo al procedimiento descrito anteriormente para el acoplamiento de la C4-hidroxiprolina a anillos aromáticos y heteroaromáticos se proporciona en la reacción de Mitsunobu como se ilustra en

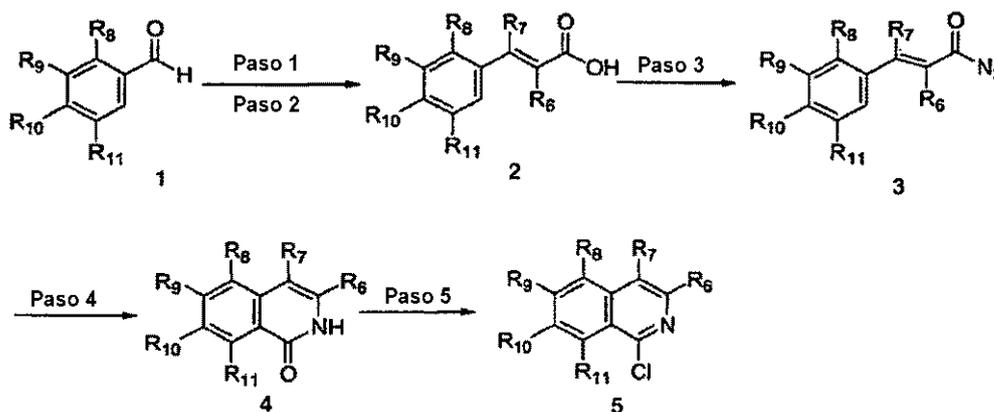
## Esquema XI



el paso 1 del Esquema XI. En este esquema de reacción general, un derivado C4-hidroxirolina se acopla a un sistema de anillo quinazolina. En esta reacción se usan reactivos, tales como trifetilfosfina y DEAD (dietilazodicarboxilato) en disolventes apróticos, tales como THF o dioxano y se puede usar para la formación de éteres de arilo y heteroarilo. Obsérvese que en el transcurso de esta reacción de acoplamiento, la estereoquímica del centro quiral C4 en el derivado C4-hidroxirolina está invertida, por lo que es necesario usar el derivado C4-hidroxirolina que posee la estereoquímica (S) en la posición C4 como material de partida (como se muestra en el Esquema XI). Hay que señalar que en la literatura se han descrito numerosas modificaciones y mejoras de la reacción de Mitsunobu y cuyas enseñanzas se incorporan en el presente documento.

En un subgrupo de ejemplos del presente documento, las isoquinolinas se incorporan en los compuestos finales y específicamente en la región P2 de dichos compuestos. El experto en la materia sabrá que existen varios procedimientos generales para la síntesis de isoquinolinas. Además, dichas isoquinolinas generadas mediante estos procedimientos se pueden incorporar fácilmente a los compuestos finales de Fórmula I usando los procedimientos descritos aquí. Una metodología general para la síntesis de isoquinolinas se muestra en el Esquema XII, en donde los derivados del ácido cinámico, mostrados en forma general como estructura (2) se

## Esquema XII



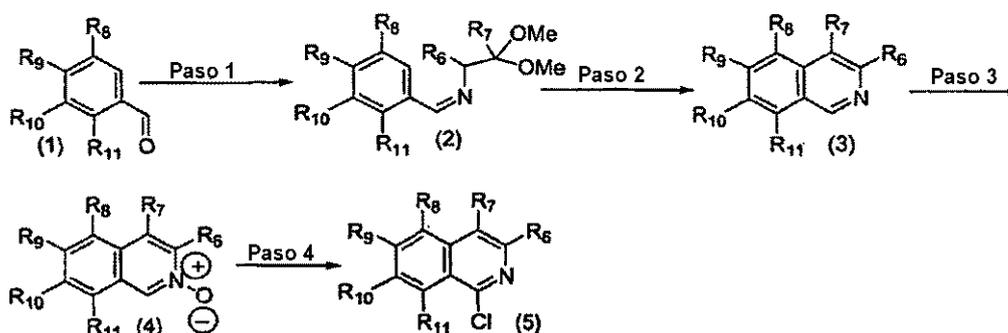
Referencia: N. Briet et al, *Tetrahedron*, 2002, 5761

convierten en 1-cloroisoquinolinas en el paso cuatro del procedimiento. Dichas cloroisoquinolinas se pueden usar posteriormente en reacciones de acoplamiento a derivados C4-hidroxirolina, como se describe aquí. La conversión de ácidos cinámicos en cloroquinolinas comienza con el tratamiento del ácido cinámico con un cloroformiato de alquilo en presencia de una base. El anhídrido resultante se trata a continuación con azida sódica, lo que da lugar a la formación de una acilazida (3) como se muestra en el esquema. Existen procedimientos alternativos para la formación de acilazidas a partir de ácidos carboxílicos, como por ejemplo, el tratamiento de dicho ácido carboxílico con difenilfosforilazida (DPPA) en un disolvente aprótico, tal como cloruro de metileno en presencia de una base. En el siguiente paso de la secuencia de reacción, la acilazida (3) se convierten en la correspondiente isoquinolona (4) como se muestra en el esquema. En este caso la acilazida se calienta a una temperatura de aproximadamente 190 grados Celsius en un disolvente de alto punto de ebullición, tal como un difenilmetano. Esta reacción es general y proporciona rendimientos moderados a buenos de la isoquinolona sustituida a partir de los correspondientes

derivados de ácido cinámico. Hay que señalar que dichos derivados de ácido cinámico están comercializados o se pueden obtener a partir del correspondiente derivado benzaldehído (1) por condensación directa con ácido malónico o derivados del mismo y también usando una reacción de Wittig. Las isoquinolonas (4) intermedias del Esquema XII se pueden convertir en la correspondiente 1-cloroisoquinolona por tratamiento con oxiclورو de fósforo. Esta reacción es general y se puede aplicar a cualquiera de las isoquinolonas, quinolonas o heterociclos adicionales, como se muestra aquí, para convertir un sustituyente hidroxilo en el correspondiente compuesto cloro cuando dicho hidroxilo está en conjugación con un átomo de nitrógeno en dichos sistemas de anillo heterocíclico.

Un procedimiento alternativo para la síntesis del sistema de anillo isoquinolina es el procedimiento de Pomeranz-Fritsch. Este procedimiento general se describe en el Esquema XIII. El procedimiento comienza con la conversión de un derivado benzaldehído (1) para dar una imina funcionalizada (2). Dicha imina se convierte a continuación en el sistema de anillo isoquinolina por tratamiento con ácido a temperatura elevada.

### Esquema XIII



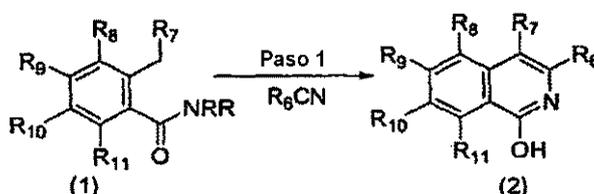
#### Síntesis de Pomeranz-Fritsch

K. Hirao, R. Tsuchiya, Y. Yano, H. Tsue, *Heterocycles* 42(1) 1996, 415-422

Esta síntesis de isoquinolina del Esquema XIII es general, y hay que señalar que este procedimiento es especialmente útil para obtener intermedios isoquinolina que están sustituidos en la posición C8 (nota: en el intermedio (3) del Esquema XIII, la posición C8 del anillo isoquinolina está sustituido con el sustituyente R<sub>11</sub>). La isoquinolininas (3) intermedias se pueden convertir en las correspondientes 1-cloroquinolininas (5) en un procedimiento de dos pasos como se muestra. El primer paso en esta secuencia es la formación del N-óxido de isoquinolina (4) por tratamiento de la isoquinolinina (3) con ácido meta-cloroperbenzoico en un disolvente aprótico, tal como diclorometano. El intermedio (4) se puede convertir en la correspondiente 1-cloroquinolinina por tratamiento con oxiclورو de fósforo en cloroformo a reflujo. Obsérvese que este procedimiento de dos pasos en general y que se puede emplear para obtener cloroisoquinolininas y cloroquinolininas a partir de las correspondientes isoquinolininas y quinolininas, respectivamente.

Otro procedimiento para la síntesis del sistema de anillo isoquinolina se muestra en el Esquema XIV. En este procedimiento, se trata un derivado orto-alquilbenzamida (1) con una base

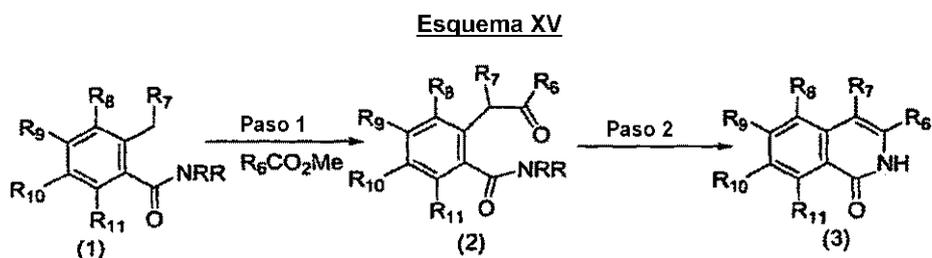
### Esquema XIV



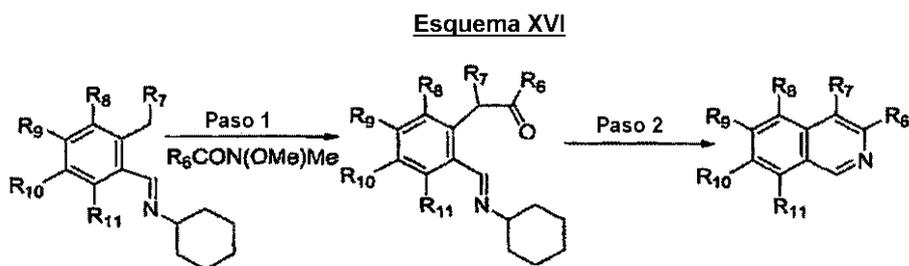
fuerte, tal como terc-butil-litio en un disolvente, tal como THF a baja temperatura. A esta mezcla de reacción se añade a continuación un derivado nitrilo, el cual sufre una reacción de adición con el anión derivado de la desprotonación de (1), dando como resultado la formación de (2). Esta reacción es general y se puede usar para la formación de isoquinolininas sustituidas. El intermedio (2) del Esquema XIV se puede convertir en la correspondiente 1-cloroquinolinina mediante los procedimientos descritos aquí. Otro procedimiento adicional para la síntesis de isoquinolininas se muestra en el Esquema XV.

La desprotonación del intermedio (1) usando terc-butil-litio se describe más arriba. Sin embargo, en el presente procedimiento, dicho anión intermedio se atrapa con un éster, dando lugar a la formación del intermedio (2) como se muestra a continuación. En una reacción posterior, la cetona (2) se condensa con acetato de amonio a temperatura

elevada dango lugar a la formación de quinolona (3). Esta reacción es general y se puede aplicar para la construcción de isoquinolonas sustituidas, las cuales se pueden convertir en las correspondientes 1-cloroisoquinolinas como se describe aquí.



- 5 Otro procedimiento adicional para la construcción de isoquinolinas es el mostrado en el Esquema XVI. En el primer paso de este procedimiento, un derivado ortoalquilárilimina, tal como (1) se somete a condiciones de desprotonación (sec-butil-litio, THF) y el anión resultante se neutraliza

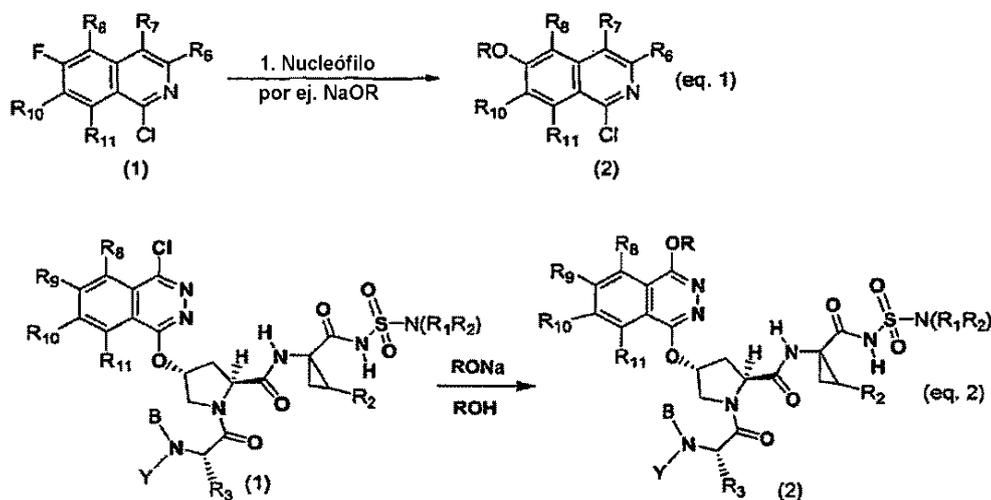


L. Flippin, J. Muchowski, *JOC*, 1993, 2631-2632

- 10 mediante la adición de un derivado ácido carboxílico activado, tal como una amida de Weinreb. La cetoimina (2) resultante se puede convertir en la correspondiente isoquinolina por condensación con acetato de amonio a temperaturas elevadas. Este procedimiento es general y se puede usar para la síntesis de isoquinolinas sustituidas. Dichas isoquinolinas se pueden convertir en la correspondiente 1-cloroquinolina mediante los procedimientos descritos aquí.

- 15 Los heterociclos descritos aquí, y que se incorporan en los compuestos de Fórmula I también se pueden funcionalizar. El experto en la materia sabrá que la funcionalización adicional de dichos heterociclos se puede hacer antes o después de la incorporación de estas funcionalidades a los compuestos de Fórmula I. Los siguientes esquemas ilustran este punto. Por ejemplo, el Esquema XVII muestra la conversión de una

## Esquema XVII

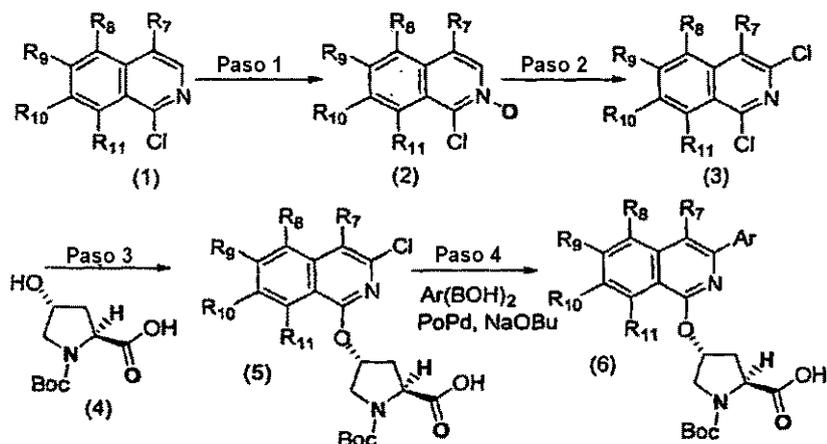


5 6-fluoro-isoquinolina en la correspondiente 1-cloro-6-alcoxi-isoquinolina por tratamiento de (1) de (ec. 1) con un alcóxido sódico o potásico en el disolvente alcohol del cual deriva el alcóxido a temperatura ambiente. En algunos casos, puede ser necesario calentar la reacción para forzar su finalización. Dicha cloroquinolina se puede incorporar en un compuesto de Fórmula I usando la técnica descrita aquí.

También se pueden hacer modificaciones de un elemento heterocíclico P2 después de su incorporación en compuestos de Fórmula I como se muestra en la (ec. 2) del Esquema VXII. Específicamente, los compuestos tales como (1) en (ec. 2) que contienen un grupo saliente en el núcleo ftalazina se pueden desplazar con un nucleófilo, tal como un alcóxido en disolventes, tales como el correspondiente alcohol del cual deriva el alcóxido. Esta reacción se puede realizar a temperatura ambiente, pero en algunos casos puede ser necesario calentar la reacción para forzar su finalización.

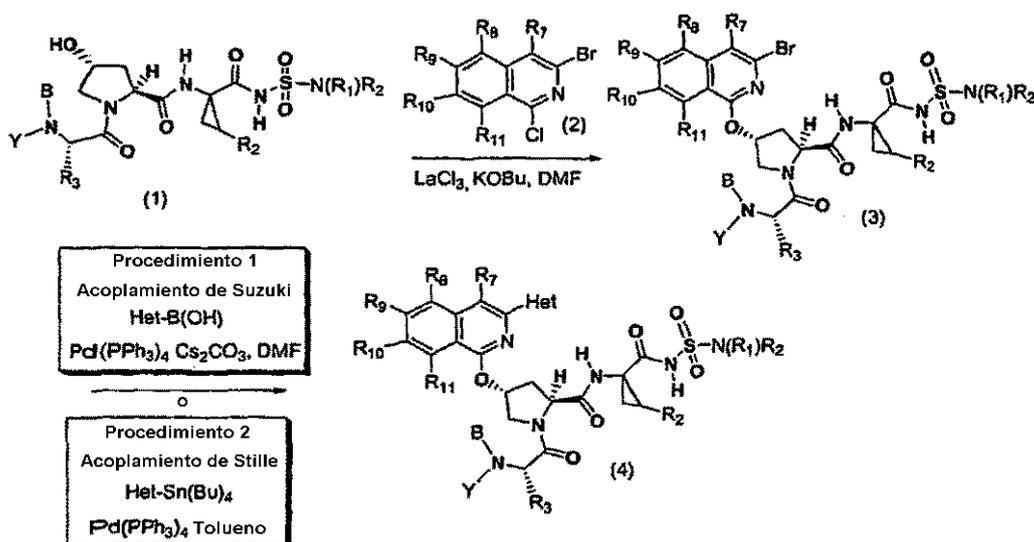
El esquema XVIII proporciona un ejemplo general para la modificación de heterociclos como se define aquí usando reacciones de acoplamiento mediadas por paladio. Dichos acoplamientos se pueden emplear para funcionalizar un heterociclo en cada posición del sistema de anillo, siempre que dicho anillo esté adecuadamente activado o funcionalizado, como por ejemplo, con un cloruro como se muestra en el esquema. Esta secuencia comienza con 1-cloroisoquinolina (1) que mediante el tratamiento con ácido metaclorperbenzoico se puede convertir en el correspondiente N-óxido (2). Dicho intermedio (2) se puede convertir en la correspondiente 1,3-dicloroisoquinolina (3) por tratamiento con oxiclورو de fósforo en cloroformo a reflujo. El intermedio (3) se puede acoplar con N-Boc-4-hidroxiprolina mediante los procedimientos descritos aquí para proporcionar el intermedio (5) como se muestra en el Esquema. El intermedio (5) puede sufrir un acoplamiento de Suzuki con un ácido arilborónico, en presencia de un reactivo de paladio y una base y en un disolvente, tal como THF o tolueno o DMF para proporcionar el intermedio C3-arilisoquinolina (6). También se pueden usar ácidos heteroarilborónicos en este procedimiento de acoplamiento mediado por Pd para proporcionar C3-heteroarilisoquinolinas. El intermedio (6) se puede convertir en los compuestos finales de Fórmula I mediante los procedimientos descritos aquí.

## Esquema XVIII

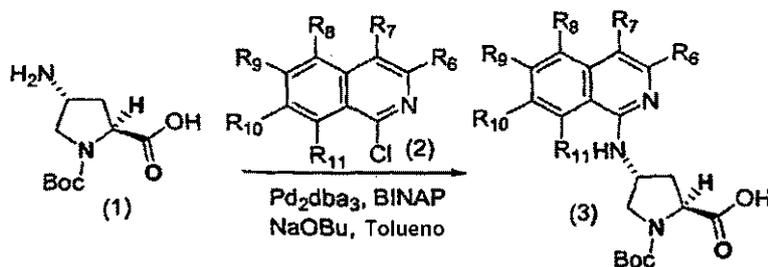


Los acoplamientos mediados por paladio de sistemas heteroarilo con elementos arilo o heteroarilo también se pueden emplear en un paso sintético posterior en la construcción de los compuestos de Fórmula I como se muestra en el Esquema IX. Aquí, el intermedio tripéptido acilsulfonamida (1) se acopla a una 1-cloro-3-bromoisquinolina (2) usando el procedimiento previamente descrito de desplazamiento de alcóxido de un resto heteroarilhalo para proporcionar el intermedio (3). El acoplamiento de (1) y (2) es más eficaz en presencia de un catalizador, tal como cloruro de lantano, como se describe aquí. El sistema anillo isoquinolina del intermedio (3) se puede funcionalizar además empleando acoplamientos de Suzuki (Procedimiento 1: se somete (3) a ácido heteroarilborónicos o arilborónicos en presencia de un catalizador de paladio, tal como tetra(trifenilfosfina) y una base, tal como carbonato de cesio en disolventes, tales como DMF) o acoplamientos de Stille (Procedimiento 2: se somete (3) a derivados de heteroarilestaño o arilestaño en presencia de un catalizador de paladio, tal como tetra(trifenilfosfina)paladio en disolventes, tales como tolueno).

## Esquema IX

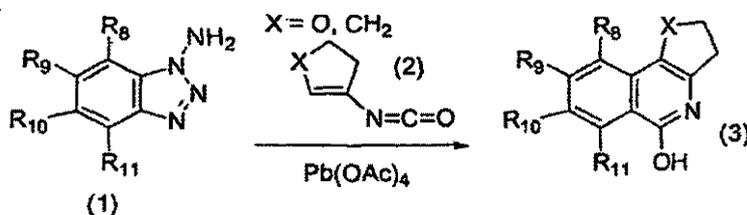


Las reacciones de paladio también se pueden emplear para acoplar elementos C4-aminoprolina con heterociclos funcionalizados. El Esquema XX muestra el acoplamiento del intermedio (1) con una isoquinolina funcionalizada en presencia de un catalizador de paladio y una base en un disolvente, tal como tolueno. Los intermedios como (3) se pueden convertir en los compuestos de Fórmula I usando los procedimientos descritos aquí.

**Esquema XX**

La construcción de sistemas de anillo de isoquinolina funcionalizados también es posible usando reacciones de cicloadición [4+2]. Por ejemplo (Esquema XXI), el uso de isocianatos de vinilo (1) en reacciones de cicloadición con precursores de benceno (2) proporciona isoquinolonas funcionalizadas (3). Dichas isoquinolinas se pueden incorporar en los compuestos de Fórmula I usando los procedimientos descritos aquí.

5

**Esquema XXI**

Los compuestos de la invención también se pueden preparar usando procedimientos conocidos por los expertos en la materia, como por ejemplo, los procedimientos descritos en la solicitud de patente WO 03/099274 publicada el 3 de diciembre de 2003. Por ejemplo, WO 03/099274 proporciona muchos ejemplos y enseñanzas para la preparación de derivados de prolina como intermedios y estos intermedios se pueden usar en la preparación de un compuesto de Fórmula 1.

10

La presente invención también proporciona composiciones que comprenden un compuesto de la presente invención, o una sal, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, con un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ej., excipiente o vehículo diluyente.

15

El ingrediente activo, es decir, el compuesto, en dichas composiciones, normalmente comprende del 0,1 por ciento en peso al 99,9 por ciento en peso de la composición, y a menudo comprende de aproximadamente el 5 al 95 por ciento en peso.

20

Por lo tanto, en un aspecto de la invención, se proporciona una composición que comprende el compuesto de fórmula 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, la composición comprende además un compuesto que tiene actividad anti-VHC. Como se usa en el presente documento, el término "actividad anti-VHC" indica que el compuesto es efectivo para inhibir la función de una diana seleccionada del grupo constituido por metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC, IMPDH y un análogo nucleosídico para el tratamiento de una infección por el VHC. Frecuentemente, el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es efectivo para inhibir la función de una diana en el ciclo de vida del VHC diferente a la serina proteasa del VHC.

25

En un aspecto preferido de la invención, el compuesto que tiene actividad anti-VHC es un interferón. Preferentemente el interferón se selecciona del grupo constituido por interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón linfoblastoide tau.

30

En otro aspecto de la invención, el compuesto que tiene actividad anti-VHC se selecciona del grupo constituido por interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que fomenta el desarrollo de una respuesta de linfocitos T cooperadores tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, Imiqimod, ribavirina, un inhibidor de la inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

35

En un aspecto preferido de la invención, la composición comprende un compuesto de la invención, un interferón y ribavirina.

En otro aspecto preferido de la invención, el compuesto que tiene actividad anti-VHC es un compuesto del tipo molécula pequeña. Como se usa en el presente documento, el término "compuesto del tipo molécula pequeña" indica un compuesto que tiene un peso molecular de menos de 1.500 dalton, preferentemente menos de 1.000 dalton. Preferentemente, el compuesto de tipo molécula pequeña es efectivo para inhibir la función de una diana seleccionada del grupo constituido por metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC, inosina monofosfato deshidrogenasa ("IMPDH") y un análogo nucleosídico del VHC para el tratamiento de una infección por el VHC.

Algunos compuestos inhibidores del VHC ilustrativos que se pueden administrar con los compuestos de la presente invención son aquellos divulgados en las siguientes publicaciones: WO 02/04425 A2 publicada el 17 de enero de 2002, WO 03/007945 A1 publicada el 30 de enero de 2003, WO 03/010141 A2 publicada el 6 de febrero de 2003, WO 03/010142 A2 publicada el 6 de febrero de 2003, WO 03/010143 A1 publicada el 6 de febrero de 2003, WO 03/000254 A1 publicada el 3 de enero de 2003, WO 01/32153 A2 publicada el 10 de mayo de 2001, WO 00/06529 publicada el 10 de febrero de 2000, WO 00/18231 publicada el 6 de abril de 2000, WO 00/10573 publicada el 2 de marzo de 2000, WO 00/13708 publicada el 16 de marzo de 2000, WO 01/85172 A1 publicada el 15 de noviembre de 2001, WO 03/037893 A1 publicada el 8 de mayo de 2003, WO 03/037894 A1 publicada el 8 de mayo de 2003, WO 03/037895 A1 publicada el 8 de mayo de 2003, WO 02/100851 A2 publicada el 19 de diciembre de 2002, WO 02/100846 A1 publicada el 19 de diciembre de 2002, EP 1256628 A2 publicada el 13 de noviembre de 2002, WO 99/01582 publicada el 14 de enero de 1999, WO 00/09543 publicada el 24 de febrero de 2000.

La Tabla 1 siguiente presenta algunos ejemplos ilustrativos de compuestos que se pueden administrar con los compuestos de esta invención. Los compuestos de la invención se pueden administrar con otros compuestos con actividad anti-VHC en un tratamiento de combinación, o bien conjuntamente o separadamente, o bien combinando los compuestos en una composición.

**TABLA 1**

<b>Nombre comercial</b>	<b>Tipo de inhibidor o diana</b>	<b>Compañía de origen</b>
Omega IFN	IFN- $\omega$	BioMedicines Inc., Emeryville, CA
BILN-2061	inhibidor de la serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Germany
Summetrel	antiviral	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA
Roferon A	IFN- $\alpha$ 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
Pegasys	IFN- $\alpha$ 2a pegilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
Pegasys and Ribavirin	IFN- $\alpha$ 2a pegilado/ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
CellCept	Inmunosupresor de IgG de VHC	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland
Wellferon	IFN- $\alpha$ 1 linfoblastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, UK
Albuferon - $\alpha$	albúmina IFN- $\alpha$ 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Levovirin	ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
IDN-6556	inhibidor de caspasa	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
IP-501	antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
Actimmune	INF- $\gamma$	InterMune Inc., Brisbane, CA
Infergen A	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
ISIS 14803	antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., New York, NY
JTK-003	inhibidor de la RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokyo, Japan
Pegasys and Ceplene	IFN- $\alpha$ 2a pegilado / inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Ceplene	inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA

(continuación)

<b>Nombre comercial</b>	<b>Tipo de inhibidor o diana</b>	<b>Compañía de origen</b>
Civacir	Inmunosupresor de IgG de VHC	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL
Intron A and Zadaxin	IFN- $\alpha$ 2b/ $\alpha$ 1-timosina	RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Levovirin	inhibidor de IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Viramidine	inhibidor de IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Heptazyme	ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
Intron A	IFN- $\alpha$ 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron	IFN- $\alpha$ 2b pegilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Rebetron	IFN- $\alpha$ 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Ribavirin	ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron / Ribavirin	IFN- $\alpha$ 2b pegilado/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Zadazim	inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Rebif	IFN- $\beta$ 1a	Serono, Geneva, Switzerland
IFN- $\beta$ and EMZ701	IFN- $\beta$ y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canada
T67	inhibidor de la $\beta$ -tubulina	Tularik Inc., South San Francisco, CA
VX-497	inhibidor de IMPDH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
VX-950/LY-570310	inhibidor de serina proteasa	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly and Co. Inc., Indianapolis, IN
Omniferon	IFN- $\alpha$ natural	Viragen Inc., Plantation, FL
XTL-002	anticuerpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd, Rehovot, Isreal

5 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral o mediante un depósito implantado. Se prefiere la administración oral o administración por inyección. En algunos casos, el pH de la formulación puede ajustarse con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables, para potenciar la estabilidad del compuesto formulado o su forma de suministro. El término parenteral, como se usa en el presente documento, incluye inyección subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intrasnovial, intraesternal, intratecal, e intralesional o técnicas de infusión.

10 Cuando se administran por vía oral, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse en cualquier forma farmacéutica aceptable por vía oral incluyendo, cápsulas, comprimidos, y suspensiones y soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los vehículos que se usan habitualmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Los agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, también se usan normalmente. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando las suspensiones acuosas se administran por vía oral, el ingrediente activo se combina con  
15 agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes y/o saborizantes y/o colorantes. Otros vehículos adecuados para las composiciones indicadas anteriormente pueden encontrarse en textos farmacéuticos convencionales, por ejemplo en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, Penn., 1995.

20 Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante procedimientos bien conocidos usando ingredientes bien conocidos y fácilmente accesibles. Las composiciones de esta invención se pueden formular para conseguir la liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo tras la administración al paciente usando procedimientos bien conocidos en la técnica. En la preparación de las composiciones de la presente invención, el principio activo se mezclará generalmente con un vehículo o se diluirá en un vehículo o se introducirá en un vehículo que puede estar  
25 en forma de una cápsula, sobre, papel u o otro envase. Cuando el vehículo actúa como diluyente, éste puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, excipiente o medio para el principio activo. Por lo tanto las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, pastillas, polvos, esferas, perlas, pastillas para

chupar, sobres, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como sólido o en un medio líquido), cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles, polvos estériles y similares. El experto en la materia conoce más detalles relativos al diseño y preparación de formas de administración adecuadas de las composiciones de la invención.

5 Los niveles de dosificación de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1000 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal por día, preferentemente entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos de la invención son típicos en una monoterapia para la prevención y tratamiento de una enfermedad mediada por VHC. Normalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administrarán de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces por día o, como alternativa, como  
10 una infusión continua. Dicha administración puede usarse como una terapia crónica o aguda. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales de soporte para producir una forma farmacéutica individual variará dependiendo del hospedador tratado y del modo de administración particular.

Como apreciará el especialista, pueden requerirse dosis menores o mayores que las citadas anteriormente. La dosificación y los regímenes de tratamiento específicos para cualquier paciente particular dependerán de diversos factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el momento de la administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad y transcurso de la infección, la disposición del paciente a la infección y el juicio del médico que lo trata. Generalmente, el tratamiento se inicia con pequeñas cantidades de dosificación, menores que la dosis óptima del péptido. Posteriormente, la dosificación se aumenta en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo según las circunstancias. En general, el compuesto se administra más deseablemente a un nivel de concentración que generalmente, dará resultados antiviralmente eficaces, sin provocar ningún efecto secundario dañino o perjudicial.  
15

20 Cuando las composiciones de la presente invención comprenden una combinación de un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional normalmente están presentes a niveles de dosificación de entre aproximadamente el 10 y el 100 %, y más preferentemente entre aproximadamente el 10 y el 80 % de la dosificación administrada normalmente en un régimen de monoterapia.  
25

30 Cuando estos compuestos o sus enantiómeros, diastereoisómeros, sales o solvatos farmacéuticamente aceptables se formulan junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, la composición resultante puede administrarse in vivo a mamíferos, tales como el hombre, para inhibir la serina proteasa del VHC o para tratar o prevenir la infección por el VHC.

Por lo tanto, otro aspecto de la presente invención proporciona procedimientos para inhibir la actividad de la serina proteasa del VHC en pacientes mediante la administración de un compuesto de la presente invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.  
35

En otro aspecto, se proporciona un compuesto para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una infección por el VHC en un paciente, que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Preferentemente, el procedimiento de administración del compuesto es efectivo para inhibir la función de la serina proteasa del VHC. En un aspecto preferido, el procedimiento comprende además la administración de otro compuesto que tiene actividad anti-VHC (como se ha descrito anteriormente) antes de, después o simultáneamente con un compuesto de la invención.  
40

Los compuestos de la invención pueden usarse también como reactivos de laboratorio. Los compuestos pueden contribuir decisivamente a la hora de proporcionar herramientas de investigación para diseñar ensayos de replicación viral, validación de sistemas de ensayo en animales y estudios de biología estructural para potenciar adicionalmente el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad por VHC. Además, los compuestos de la presente invención son útiles para establecer o determinar el sitio de unión de otros compuestos antivíricos, por ejemplo, por inhibición competitiva.  
45

Los compuestos de la presente invención pueden usarse también para tratar o prevenir la contaminación viral de los materiales y, por lo tanto, reducir el riesgo de infección viral del personal médico o del laboratorio, o de pacientes que entren en contacto con dichos materiales, por ejemplo, sangre, tejido, instrumentos y prendas quirúrgicas, instrumentos y prendas de laboratorio, y aparatos y materiales de recogida y o transfusión de sangre.  
50

Además, los compuestos y composiciones de la invención se pueden usar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección por el VHC en un paciente.

### **Ejemplos**

55 Los ejemplos específicos que se presentan a continuación ilustran la síntesis de los compuestos de la presente invención. Los procedimientos se pueden adaptar a las variaciones para producir compuestos abarcados por esta

invención, pero que no se divulgan específicamente. Además, variaciones de los procedimientos para producir los mismos compuestos en una manera algo diferente también serán evidentes para el experto en la materia.

Los porcentajes de solución expresan como relación entre el peso y el volumen y las relaciones de la solución se expresan como relación entre volumen y volumen, salvo que se especifique otra cosa. Los espectros de resonancia magnética nuclear [RMN] se registraron en un espectrómetro Bruker a 300, 400 ó 500 MHz; las desviaciones químicas ( $\delta$ ) se dan en partes por millón. La cromatografía instantánea se llevó a cabo en gel de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) de acuerdo con la técnica de cromatografía instantánea de Still (W.C. Still et al., J. Org. Chem., (1978), 43, 2923).

Todos los datos de cromatografía líquida (CL) se registraron en un cromatógrafo líquido Shimadzu LC-10AS usando datos del detector SPD-IOAV UV-Vis y los datos de la Espectrometría de masas (MS) con una plataforma Micromass para cromatografía líquida en modo electronebulización (ES+).

Salvo que se especifique otra cosa, en los siguientes ejemplos cada compuesto se analizó mediante LC/MS, usando una de siete metodologías que tienen las siguientes condiciones.

Columnas: (Procedimiento A) - YMC ODS S7 C18 3,0x50 mm  
 (Procedimiento B) - YMC ODS-A S7 C18 3,0x50 mm  
 (Procedimiento C) - YMC S7 C18 3,0x50 mm  
 (Procedimiento D) - YMC Xterra ODS S7 3,0x50 mm  
 (Procedimiento E) - YMC Xterra ODS S7 3,0x50 mm  
 (Procedimiento F) - YMC ODS-A S7 C18 3,0x50 mm  
 (Procedimiento G) - YMC C18 S5 4,6x50 mm]

Gradiente: 100 % disolvente A/0 % disolvente B a  
 0 % disolvente A/100 % disolvente B  
 Tiempo de gradiente: 2 min. (A, B, D, F, G); 8 min. (C, E)  
 Tiempo de retención: 1 min. (A, B, D, F, G); 2 min. (C, E)  
 Velocidad de flujo: 5 mililitros/min ("ml/min")  
 Longitud de onda del detector: 220 nanómetros ("nm")  
 Disolvente A: 10 % MeOH / 90 %  $\text{H}_2\text{O}$  / 0,1 % TFA  
 Disolvente B: 10 %  $\text{H}_2\text{O}$  / 90 % MeOH / 0,1 % TFA.

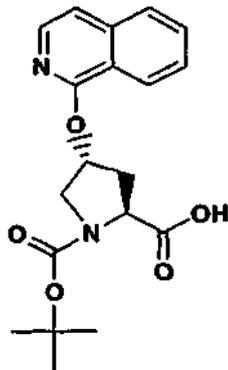
Las abreviaturas usadas en la presente solicitud, incluidas especialmente en los ejemplos ilustrativos presentados a continuación, son bien conocidas por el experto en la materia. Algunas de las abreviaturas usadas son las siguientes:

ta	temperatura ambiente
Boc	terc-butiloxycarbonilo
DMSO	dimetilsulfóxido
EtOAc	acetato de etilo
t-BuOK	t-butóxido potásico
$\text{Et}_2\text{O}$	éter dietílico
TBME	metil terc-butil éter
THF	tetrahidrofurano
CDI	carbonildiimidazol
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
TFA	ácido trifluoroacético
NMM	N-metilmorfolina
HATU	O-7-azabenzotriazol-1-ilo
HBTU	Hexafluorofosfato de O-{1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'- tetrametiluronio
HOBT	N-hidroxibenzotriazol
PyBrop	hexafluorofosfato de bromo-bis-pirrolidin-fosfonio
DMF	dimetilformamida
MeOH	metanol
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DIPEA	diisopropiletilamina
DCM	diclorometano
DCE	dicloroetano

Preparación de intermedios:

### Ejemplo 1

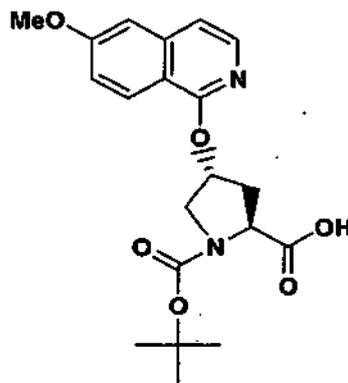
Preparación del éster 1-terc-butílico del ácido 4-(Isoquinolin-1-iloxi)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



- 5 Se enfrió en un baño de hielo una suspensión de Boc-L-4-hidroxiprolina (N-Boc (2S,4R)-hidroxiprolina) (3,85 g, 16,6 milimol ("mmol")) (CHEM-IMPEX International) en DMSO (60 ml) durante ~ 3 minutos y a continuación se añadió *t*-BuOK (4,66 g, 41,5 mmol). Se continuó agitando y enfriando en el baño de hielo durante unos pocos minutos hasta que se formó una masa sólida. En este momento, la mezcla se dejó calentar hasta ta durante 1,5 h obteniéndose una solución transparente. Se añadió en dos fracciones 1-cloroisoquinolina (3,0 g, 18,3 mmol) con una diferencia de  
10 10 min. La reacción se agitó durante 24 h a ta. La mezcla de reacción oscura se fraccionó entre éter (200 ml) y agua (600 ml). La fase acuosa se acidificó hasta pH 4 usando HCl 4N. La solución amarilla lechosa resultante se extrajo con éter (4 x 200 ml). Los extractos etéreos combinados se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron a vacío dando un aceite dorado. La cromatografía instantánea (2-4 % MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) dio 5,69 g (96 %) de éster 1-terc-butílico del ácido 4-(Isoquinolin-1-iloxi)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico como un sólido blanquecino: LC-MS  
15 (Procedimiento A, tiempo de retención: 3,06 min), MS *m/z* 359 (M<sup>+</sup>+1).

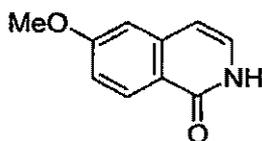
### Ejemplo 2

Preparación del éster 1-terc-butílico del ácido 4-(6-Metoxi-isoquinolin-1-iloxi)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



#### Paso 1 del Ejemplo 2

- 20 Preparación de 6-Metoxi-2H-isoquinolin-1-ona

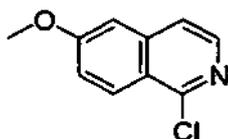


6-Metoxi-2H-isoquinolin-1-ona

5 A una solución de ácido 3-metoxi cinámico (11,04 g, 62 mmol), trietilamina (12,52 g, 124 mmol) en acetona (80 ml) se añadió gota a gota cloroformiato de etilo a 0 °C. Después de agitar a esta temperatura durante 1 h, se añadió gota a gota NaN<sub>3</sub> acuoso (6,40 g, 100 mmol en 35 ml de H<sub>2</sub>O) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h a ta. Se añadió agua (100 ml) a la mezcla y los compuestos volátiles se eliminaron en vacío. La suspensión resultante se extrajo con tolueno (3x50 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. Esta solución desecada se añadió gota a gota a una solución calentada de difenilmetano (50 ml) y tributilamina (30 ml) a 190 °C. El tolueno se destilaba a medida que se añadía. Una vez finalizada la adición, la temperatura de reacción aumentó hasta 210 °C durante 2 h. Después de enfriar, el producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con hexano (2x50 ml), se secó dando un sólido blanco (5,53 g, 51 %), MS *m/z* 176 (M<sup>+</sup>+H).

## 10 Paso 2 del Ejemplo 2

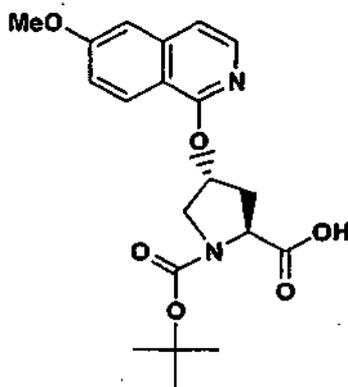
Preparación de 1-cloro-6 metoxi isoquinolina



15 Se calentó a reflujo suave 6-Metoxi-2*H*-isoquinolin-1-ona en POCl<sub>3</sub> durante 3 h, a continuación se evaporó en vacío. El residuo se vertió en agua helada (20 ml) y se neutralizó hasta pH 10 con NaOH 10 M. Se extrajo con CHCl<sub>3</sub>. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (hexano-EtOAc) obteniéndose un sólido blanco. <sup>1</sup>H-RMN (CD<sub>3</sub>OD) δ 3,98 (s, 3H), 7,34-7,38 (m, 2 H), 7,69 (d, *J*=5,5 Hz, 1H), 8,10 (d, *J*=6,0 Hz, 1H), 8,23 (d, *J*=9,5 Hz, 1H), MS *m/z* 194 (M<sup>+</sup>+H).

## Paso 3 del Ejemplo 2

Preparación del éster 1-terc-butílico del ácido 4-(6-Metoxi-isoquinolin-1-iloxi)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



20 Como se describe en el Ejemplo 1, salvo que se usó 1-cloro-6-metoxi-isoquinolina en lugar de 1-cloro-isoquinolina. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,41 (m, 9 H), 2,44 (m, 1 H), 2,75 (m, 1 H), 3,82-3,92 (m, 2 H), 3,96 (s, 3 H), 4,45 (m, 1 H), 5,50 (m, 1 H), 7,20 (m, 1 H), 7,27 (d, *J*=5,14 Hz, 1 H), 7,41 (d, *J*=2,45 Hz, 1 H), 7,48-7,59 (m, 3 H), 8,00-8,05 (m, 2 H), 8,08 (d, *J*=9,29 Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 2,140 min.), MS *m/z* 465 (MH<sup>+</sup>).

## 25 Ejemplo 3

Preparación de los elementos P1 para la incorporación en compuestos de Fórmula I

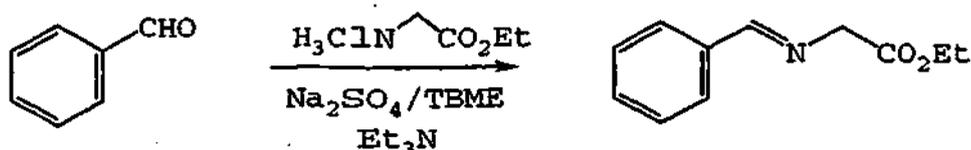
30 I. Preparación del clorhidrato del éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (Procedimiento A y Procedimiento B) y resolución quiral de este racemato para la preparación del clorhidrato del éster etílico del ácido *N*-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (Procedimiento C)



El compuesto nombrado se convirtió en racémico mediante cada uno de los siguientes procedimientos A y B. Este racemato también se pudo resolver obteniendo el éster del ácido Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropil carboxílico, el cual se desprotegió en condiciones ácidas dando el clorhidrato del éster del ácido (1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (Procedimiento C).

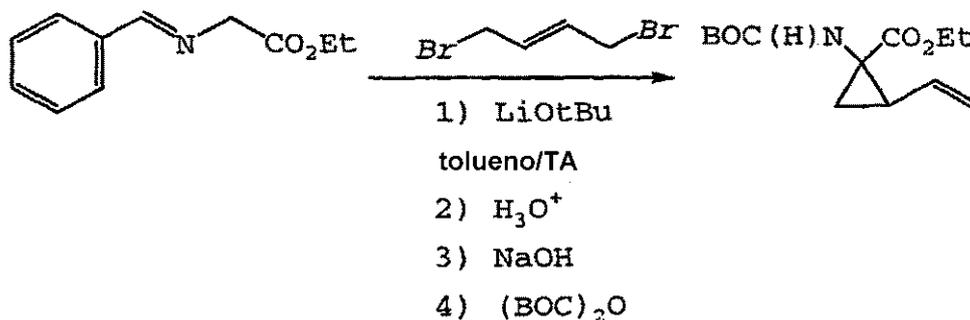
## 5 Procedimiento A

### A.1 Preparación de la *N*-Bencil-imina del éster etílico de glicina



Se suspendió clorhidrato de éster etílico de glicina (303,8 g, 2,16 mol) en éter *tert*-butilmetílico (1,6 l). Se añadieron benzaldehído (231 g, 2,16 mol) y sulfato sódico anhidro (154,6 g, 1,09 mol) y la mezcla se enfrió hasta 0 °C usando un baño de agua helada. Se añadió gota a gota trietilamina (455 ml, 3,26 mol) durante 30 min y la mezcla se agitó durante 48 h a ta. La reacción se detuvo a continuación añadiendo agua helada (1 l) y la capa orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con éter *tert*-butilmetílico (0,5 l) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con una mezcla de NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (1 l) y salmuera (1 l). La solución se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se concentró en vacío dando 392,4 g del producto *N*-bencil-imina como un aceite amarillo espeso que se usó directamente en el siguiente paso. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 1,32 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 4,24 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 4,41 (d, *J*=1,1 Hz, 2H), 7,39-7,47 (m, 3H), 7,78-7,81 (m, 2H), 8,31 (s, 1H).

### A.2 Preparación del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico



A una suspensión de *tert*-butóxido de litio (84,06 g, 1,05 mol) en tolueno seco (1,2 l), se añadió gota a gota una mezcla de *N*-bencil-imina del éster etílico de glicina (100,4 g, 0,526 mol) y *trans*-1,4-dibromo-2-buteno (107,0 g, 0,500 mol) en tolueno seco (0,6 l) durante 60 min. Una vez finalizada la adición, la mezcla roja oscura se neutralizó con la adición de agua (1 l) y éter *tert*-butilmetílico (TBME, 1 l). La fase acuosa se separó y se extrajo una segunda vez con TBME (1 l). Las fases combinadas se secaron, se añadió HCl 1 N (1 l) y la mezcla se agitó a ta durante 2 h. La fase orgánica se separó y se extrajo con agua (0,8 l). A continuación se combinaron las fases acuosas, se saturaron con sal (700 g), se añadió TBME (1 l) y la mezcla se enfrió hasta 0 °C. La mezcla agitada se alcalinizó a continuación hasta pH 14 añadiendo gota a gota NaOH 10 N, la capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con TBME (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron hasta un volumen de 1l. A esta solución de amina libre, se añadió BOC<sub>2</sub>O o di-*tert*-butildicarbonato (131,0 g, 0,6 mol) y la mezcla se agitó 4 días a temperatura ambiental. Se añadió di-*tert*-butildicarbonato (50 g, 0,23 mol) adicional a la reacción a ta, la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h y después se dejó enfriar hasta ta durante la noche. La mezcla de reacción se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró en vacío dando 80 g del material bruto. Este residuo se purificó por cromatografía instantánea (2,5 Kg de SiO<sub>2</sub>, se eluyó con MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1 % a 2 %) obteniéndose 57 g (53 %) de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico como un aceite amarillo que solidificó al estar en reposo en la nevera: <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 1,26 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 1,46 (s, 9H), 1,43-1,49 (m, 1H), 1,76-1,82 (br m, 1H), 2,14 (q, *J*=8,6 Hz, 1H), 4,18 (q, *J*=7,2 Hz, 2H), 5,12 (dd *J*=10,3, 1,7 Hz, 1H), 5,25 (br s, 1H), 5,29 (dd, *J*=17,6, 1,7 Hz, 1H), 5,77 (ddd, *J*=17,6, 10,3, 8,9 Hz, 1H); MS *m/z* 254,16 (M-1)

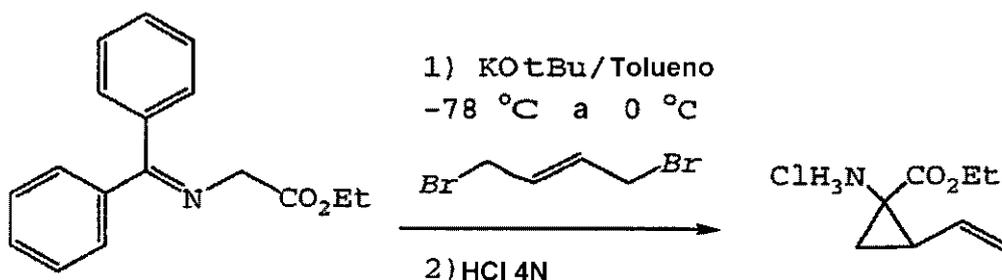
**A.3 Preparación del clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico**



5 Se disolvió éster etílico del ácido *N*-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (9,39 g, 36,8 mmol) en HCl 4 N/dioxano (90 ml, 360 mmol) y se agitó durante 2 h a ta. La mezcla de reacción se concentró dando clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico en rendimiento cuantitativo (7 g, 100 %). <sup>1</sup>H-RMN (metanol-d<sub>4</sub>) δ 1,32 (t, *J*=7,1, 3H), 1,72 (dd, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1H), 1,81 (dd, *J*=8,3, 6,6 Hz, 1H), 2,38 (q, *J*=8,3 Hz, 1H), 4,26-4,34 (m, 2H), 5,24 (dd, 10,3, 1,3 Hz; 1H) 5,40 (d, *J*=17,2, 1 H), 5,69-5,81 (m, 1H).

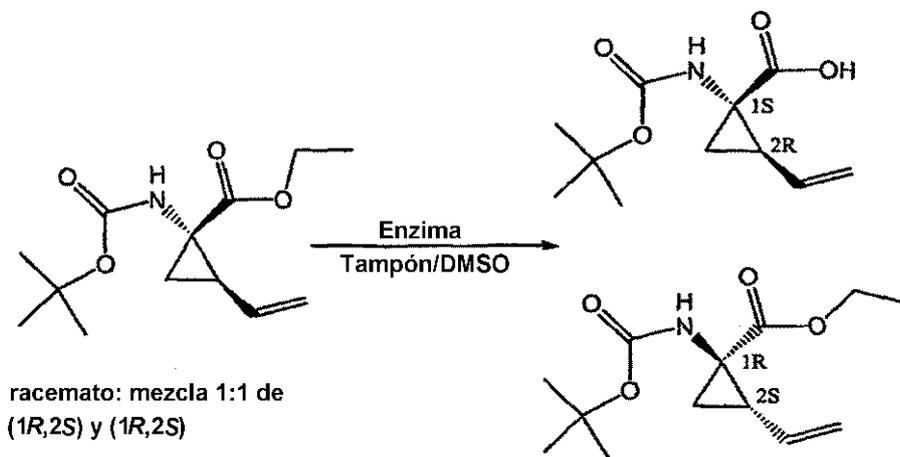
10 **Procedimiento B**

**Preparación del clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico**



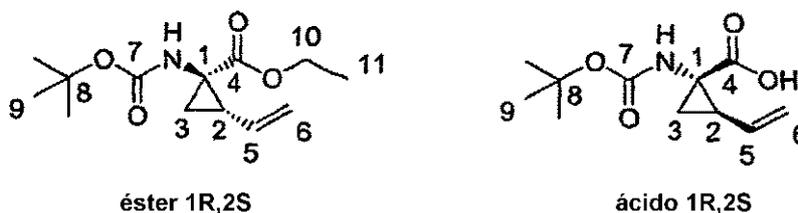
15 A una solución de *tert*-butóxido potásico (11,55 g, 102,9 mmol) en THF (450 ml) a -78 °C se añadió el éster etílico de *N,N*-dibenzil-imina comercial (25,0 g, 93,53 mmol) en THF (112 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C, se agitó durante 40 min y después se enfrió de nuevo hasta -78 °C. A esta solución se añadió *trans*-1,4-dibromo-2-buteno (20,0 g, 93,50 mmol), la mezcla se agitó durante 1 h a 0 °C y se enfrió de nuevo hasta -78 °C. Se añadió *tert*-butóxido potásico (11,55 g, 102,9 mmol), la mezcla se calentó inmediatamente hasta 0 °C y se agitó una hora más antes de concentrarla en vacío. El producto bruto se extrajo en Et<sub>2</sub>O (530 ml), se añadió una solución de HCl ac. 1N (106 ml, 106 mmol) y la mezcla bifásica resultante se agitó durante 3,5 h a ta. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con Et<sub>2</sub>O (2x) y se alcalinizó con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La amina deseada se extrajo con Et<sub>2</sub>O (3x) y el extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró en vacío obteniéndose la amina libre. Este material se trató con una solución de HCl 4N en dioxano (100 ml, 400 mmol) y se concentró dando clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico como un semisólido marrón (5,3 g, rendimiento 34 %) idéntico al material obtenido del procedimiento A, salvo por la presencia de una pequeña impureza aromática no identificada (8 %).

25

**Procedimiento C****Resolución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico****Resolución A**

- 5 A una solución acuosa de tampón fosfato sódico (0,1 M, 4,25 litro ("l"), pH 8) alojada en un reactor con camisa de 12 litros, mantenido a 39 °C, y agitado a 300 rpm, se añadieron 511 gramos de Alcalase 2,4 l (aproximadamente 425 ml) (Novozymes North America Inc.). Cuando la temperatura de la mezcla alcanzó 39 °C, el pH se ajustó hasta 8,0 añadiendo NaOH 50 % en agua. A continuación se añadió durante un período de 40 min una solución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (85g) en 850 ml de DMSO. La
- 10 temperatura de reacción se mantuvo seguidamente a 40 °C durante 24,5 h, tiempo durante el cual el pH de la mezcla se ajustó hasta 8,0 en los puntos temporales de 1,5 h y 19,5 h usando NaOH 50 % en agua. Después de 24,5 h, el exceso enantiomérico del éster determinado fue del 97,2 % y la reacción se enfrió hasta ta (26 °C) y se agitó durante la noche (16 h), después de lo cual, el exceso enantiomérico determinado del éster fue del 100 %. A
- 15 continuación, el pH de la mezcla de reacción se ajustó hasta 8,5 con NaOH 50 % y la mezcla resultante se extrajo con MTBE (2 x 2 l). El extracto de MTBE combinado se lavó a continuación con NaHCO<sub>3</sub> 5 % (3 x 100 ml), agua (3 x 100 ml) y se evaporó en vacío dando el éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico enantioméricamente puro como un sólido amarillo claro (42,55 g; pureza: 97 % a 210 nm, sin contenido de ácido; 100 % exceso enantiomérico ("ee").

- 20 La capa acuosa del procedimiento de extracción se acidificó a continuación hasta pH 2 con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50 % y se extrajo con MTBE (2 x 2 l). El extracto de MTBE se lavó con agua (3 x 100 ml) y se evaporó dando el ácido como un sólido amarillo claro (42,74 g; pureza: 99 % a 210 nm, sin contenido de éster).



## ES 2 380 934 T3

		éster		ácido	
Espectro de masas de alta resolución		(+) ESI, C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub> , [M+H] <sup>+</sup> , cal. 256,1549, hallado 256,1542		(-) ESI, C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>4</sub> , [M-H] <sup>-</sup> , cal. 226,1079, hallado 226.1089	
Desviación química observada en la RMN					
Disolvente: CDCl <sub>3</sub> (protón δ 7,24 ppm, C-13 δ 77,0 ppm) Bruker DRX-500C: protón 500,032 MHz, carbono 125,746 MHz					
Posición	Protón (patrón) ppm		C-13 ppm	Protón (patrón) ppm	
1	---		40,9	---	
2	2,10 (q, J = 9,0 Hz)		34,1	2,17 (q, J = 9,0 Hz)	
3a	1,76 (br)		23,2	1,79 (br)	
3b	1,46 (br)			1,51, (br)	
4	---		170,8	---	
5	5,74 (ddd, J = 9,0, 10,0, 17,0 Hz)		133,7	5,75 (m)	
6a	5,25(d, J=17,0Hz)	117,6	5,28 (d, J = 17,0 Hz)	118,1	
6b	5,08 (dd, J = 10,0, 1,5 Hz)		5,12 (d, J = 10,5 Hz)		
7	----	155,8	----	156,2	
8	----	80,0	----	80,6	
9	1,43 (s)	28,3	1,43 (s)	28,3	
10	4,16 (m)	61,3	----	----	
11	1,23 (t, J = 7,5 Hz)	14,2	----	----	

### Resolución B

- 5 Se añadieron a 0,5 ml de tampón Heps•Na 100 mM (pH 8,5) en un pocillo de una placa de 24 pocillos (capacidad: 10 m/pocillo), 0,1 ml de Savinase 16.0L (proteasa de *Bacillus clausii*) (Novozymes North America Inc.) y una solución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (10 mg) en 0,1 ml de DMSO. La placa se selló y se incubó a 250 rpm a 40 °C. Después de 18 h, se determinó que el exceso enantiomérico del éster era 44,3 % de la siguiente manera: se eliminó 0,1 ml de la mezcla de reacción y se mezcló bien con 1 ml de etanol; tras la centrifugación, se analizaron 10 microlitros ("µl") del sobrenadante mediante HPLC quiral.
- 10 A la mezcla de reacción restante, se añadieron 0,1 ml de DMSO y la placa se incubó durante 3 días más a 250 rpm a 40 °C, tras lo cual se añadieron al pocillo cuatro ml de etanol. Después de la centrifugación, se analizaron 10 µl del sobrenadante mediante HPLC quiral y se determinó que el exceso enantiomérico del éster era 100 %.

### Resolución C

- 15 Se añadieron a 0,5 ml de tampón Heps•Na 100 mM (pH 8,5) en un pocillo de una placa de 24 pocillos (capacidad: 10 m/pocillo), 0,1 ml de Esperase 8.0L (proteasa de *Bacillus halodurans*) (Novozymes North America Inc.) y una solución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (10 mg) en 0,1 ml de DMSO. La placa se selló y se incubó a 250 rpm a 40 °C. Después de 18 h, se determinó que el exceso enantiomérico del éster era 39,6 % de la siguiente manera: se eliminó 0,1 ml de la mezcla de reacción y se mezcló bien con 1 ml de etanol; tras la centrifugación, se analizaron 10 µl del sobrenadante con la HPLC quiral. A la mezcla de reacción restante, se añadieron 0,1 ml de DMSO y la placa se incubó durante 3 días más a 250 rpm a 40 °C, tras lo cual se añadieron al pocillo cuatro ml de etanol. Después de la centrifugación, se analizaron 10 µl del sobrenadante mediante HPLC quiral y se determinó que el exceso enantiomérico del éster era 100 %.

El análisis de las muestras se llevó a cabo de la siguiente forma:

- 1) Preparación de la muestra: Se mezclaron bien aproximadamente 0,5 ml de la mezcla de reacción con 10

volúmenes de EtOH. Después de la centrifugación, se inyectaron 10 µl del sobrenadante en la columna de HPLC.

2) Determinación de la conversión:

Columna: YMC ODS A, 4,6 x 50 mm, S-5 µm

Disolvente: A, HCl 1 milimolar ("mM") en agua; B, MeCN

Gradiente: 30 % de B durante 1 min; 30 % a 45 % de B durante 0,5 min; 45 % de B durante 1,5 min; 45 % a 30 % de B durante 0,5 min.

Velocidad de flujo: 2 ml/min

Detección UV: 210 nm

Tiempo de retención: ácido, 1,2 min; éster, 2,8 min.

3) Determinación del exceso enantiomérico para el éster:

Columna: CHIRACEL OD-RH, 4,6 x 150 mm, S-5 µm

Fase móvil: MeCN/HClO<sub>4</sub> 50 mM en agua (67/33)

Velocidad de flujo: 0,75 ml/min.

Detección UV: 210 nm.

Tiempo de retención: isómero (1S, 2R) como ácido: 5,2 min;

Racemato: 18,5 min y 20,0 min;

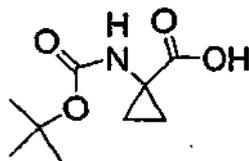
Isómero (1R, 2S) como éster: 18,5 min.

**II. Preparación del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-ciclopropilciclopropano carboxílico**

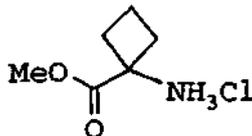


Se trató una solución de ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (255 mg, 1,0 mmol) en éter (10 ml) con acetato de paladio (5 mg, 0,022 mmol). La solución naranja/roja se colocó bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>. Se añadió gota a gota un exceso de diazometano en éter durante el transcurso de 1 h. La solución resultante se agitó a ta durante 18 h. El exceso de diazometano se eliminó usando una corriente de nitrógeno. La solución resultante se concentró por evaporación rotatoria dando el producto bruto. La cromatografía instantánea (EtOAc 10 %/hexano) proporcionó 210 mg (78 %) de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-ciclopropilciclopropano carboxílico como aceite incoloro. LC-MS (tiempo de retención: 2,13, similar al procedimiento A salvo: tiempo de gradiente 3 min, Xterra MS C18 S7 columna 3,0 x 50mm), MS m/e 270 (M<sup>+</sup>+1).

**III. El ácido 1-terc-butoxicarbonilamino-ciclopropano carboxílico está comercializado**



**IV. Preparación del clorhidrato del éster metílico del ácido 1-aminociclobutano carboxílico**



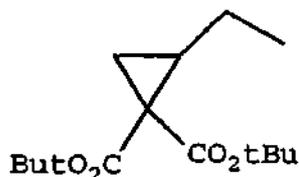
Se disolvió ácido 1-aminociclobutanocarboxílico (100 mg, 0,869 mmol) (Tocris) en 10 ml de MeOH, se burbujeó HCl gaseoso durante 2 h. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h y a continuación se concentró en vacío, obteniéndose 144 mg de un aceite amarillo. La trituración con 10 ml de éter proporcionó 100 mg del producto del título como un sólido blanco. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ 2,10-2,25 (m, 1H), 2,28-2,42 (m, 1H), 2,64-2,52 (m, 4H), 3,87 (s, 3H), 9,21 (br s, 3H).

V. Preparación del éster *terc*-butílico del ácido (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1-Amino-2-etilciclopropano carboxílico, mostrado a continuación



etil en sin respecto a carboxi

Paso 1: Preparación del éster di-*terc*-butílico del ácido 2-etilciclopropano-1,1-dicarboxílico, mostrado a continuación.

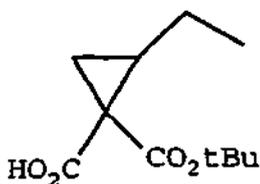


5

A una suspensión de cloruro de benciltriethylamonio (21,0 g, 92,2 mmol) en una solución acuosa de NaOH al 50 % (92,4 g en 185 ml de H<sub>2</sub>O) se añadió 1,2-dibromobutano (30,0 g, 138,9 mmol) y di-*terc*-butilmalonato (20,0 g, 92,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 18 h a ta y a continuación se añadió una mezcla de agua helada y agua. El producto bruto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x) y a continuación se lavó con agua (3x), salmuera y los extractos orgánicos se combinaron. La capa orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró en vacío. El residuo resultante se sometió a cromatografía instantánea (100 g de SiO<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O al 3 % en hexano) dando el producto del título (18,3 g, 67,8 mmol, rendimiento 73 %) el cual se usó directamente en la siguiente reacción.

10

Paso 2: Preparación del éster *terc*-butílico del ácido 2-etilciclopropano-1,1-dicarboxílico racémico, mostrado a continuación.

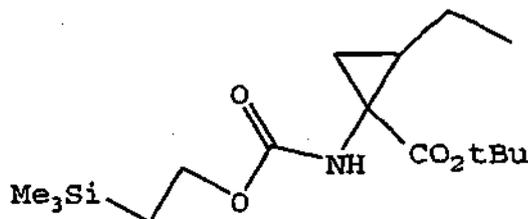


15

El producto del paso 1 (18,3 g, 67,8 mmol) se añadió a una suspensión de *terc*-butóxido potásico (33,55 g, 299,0 mmol) en éter seco (500 ml) a 0 °C, seguido de H<sub>2</sub>O (1,35 ml, 75,0 mmol) y se agitó vigorosamente durante la noche a ta. La mezcla de reacción se vertió en una mezcla de agua helada y agua y se lavó con éter (3x). La capa acuosa se acidificó con una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2x), salmuera, se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron en vacío dando el producto del título como un aceite amarillo pálido (10 g, 46,8 mmol, rendimiento 69 %).

20

Paso 3: Preparación del éster *terc*-butílico del ácido (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-2-Etil-1-(2-trimetilsilaniletoxicarbonilamino)ciclopropano carboxílico, mostrado a continuación.



25

A una suspensión del producto del paso 2 (10 g, 46,8 mmol) y 3 g de tamices moleculares de 4A preparados en el momento en benceno seco (160 ml), se añadió Et<sub>3</sub>N (7,50 ml, 53,8 mmol) y DPPA (11 ml, 10,21 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3,5 h y a continuación se añadió 2-trimetilsilil-etanol (13,5 ml, 94,2 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se filtró, se diluyó con Et<sub>2</sub>O, se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 10 %, agua, NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, agua (2x), salmuera (2X), se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró en vacío. El residuo se suspendió con 10 g de resina neutralizante de poliisocianato de Aldrich en 120 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se agitó a ta durante la noche y se filtró obteniéndose el producto del título (8 g, 24,3

30

mmol; 52 %) como un aceite amarillo pálido:  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,03 (s, 9H), 0,97 (m, 5H), 1,20 (bm, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,40-1,70 (m, 4H), 4,16 (m, 2H), 5,30 (bs, 1H).

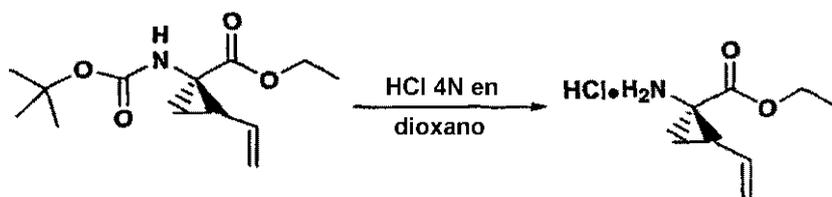
Paso 4: Preparación del éster *terc*-butilico del ácido (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1-Amino-2-etilciclopropano carboxílico racémico, mostrado a continuación.



etil en sin respecto a carboxi

5 Al producto del paso 3 (3 g, 9 mmol) se añadió una solución de TBAF 1,0 M en THF (9,3 ml, 9,3 mmol) y la mezcla se calentó hasta reflujo durante 1,5 h, se enfrió hasta ta y después se diluyó con 500 ml de EtOAc. La solución se lavó sucesivamente con agua (2x100 ml), salmuera (2x100 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se concentró en vacío dando el intermedio del título.

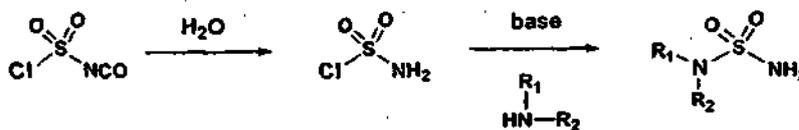
10 **VI. Preparación del clorhidrato del éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico quiral**



15 Se agitó éster etílico del ácido *N*-BOC-(1*R*, 2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (8,5 g, 33,3 mmol) en una atmósfera de  $\text{N}_2$  con 200 ml de HCl 4N/dioxano (Aldrich) a ta durante 3 h. El disolvente se eliminó a presión reducida manteniendo la temperatura por debajo de 40 °C. Esto dio 6,57 g (~100 %) del clorhidrato del éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico como un sólido de color tostado claro.  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1,31 (t,  $J=7,0$  Hz, 3 H), 1,69-1,82 (m, 2 H), 2,38 (q,  $J=8,8$  Hz, 1 H), 4,29 (q,  $J=7,0$  Hz, 2 H), 5,22 (d,  $J=10,3$  Hz, 1 H), 5,40 (d,  $J=17,2$  Hz, 1 H), 5,69-5,81 (m, 1 H). LC-MS (Procedimiento J, tiempo de retención: 0,58 min), MS  $m/z$  156 ( $\text{M}^++1$ ).

20 **Ejemplo 4**

**Procedimiento general para la preparación de sulfamidas**

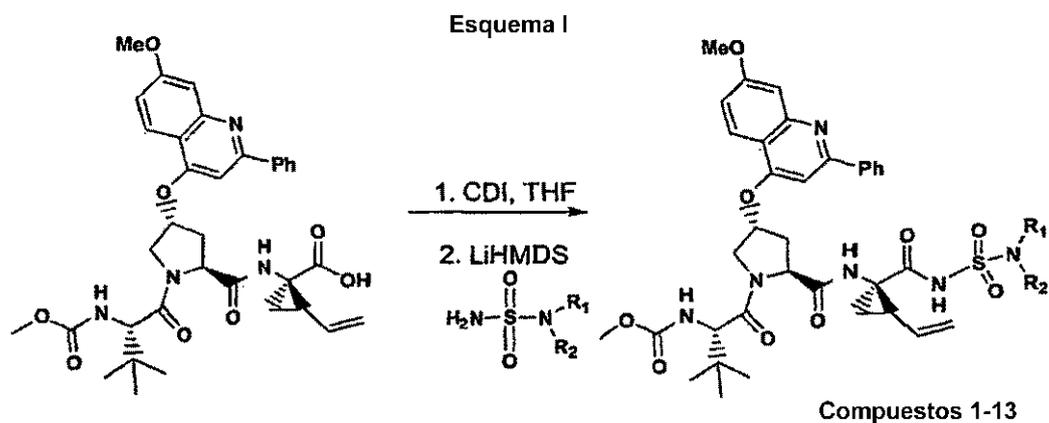


25 El intermedio cloruro de sulfamoilo se preparó mediante la adición de agua (1 equiv) en THF a una solución agitada en frío (-20 °C) de isocianato de clorosulfonylo (1 equiv) en THF y la solución resultante se dejó calentar hasta 0 °C. A esta solución se añadió  $\text{Et}_3\text{N}$  anhidro (1 equiv) seguido por una amina secundaria (1 equiv) indispensable. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente, a continuación se filtró y el filtrado se sometió a evaporación rotatoria dando las sulfamidas deseadas.

**Ejemplos 5-18**

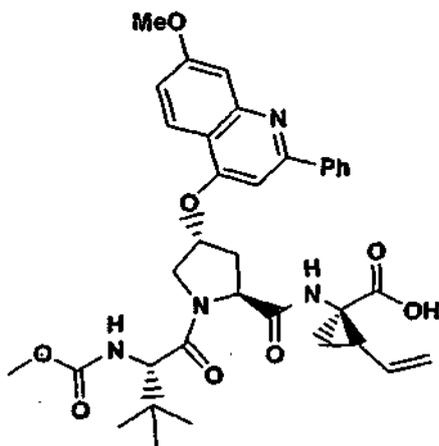
**Preparación de los Compuestos 1-13.**

30 El paso clave en la preparación de los Compuestos 1-13 es el acoplamiento de un ácido carboxílico tripéptido y una sulfamida dando el tripéptido sulfamida deseado: el esquema de reacción general de este paso clave se muestra a continuación:

**Ejemplo 5**

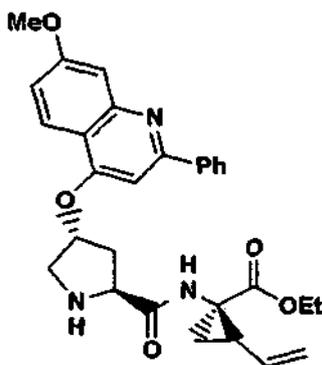
Preparación del ácido 1-[[1-(2-Metoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butiril)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico

5

**Paso 1 del Ejemplo 5**

Preparación del éter etílico del ácido 1-[[4-(7-Metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico

10

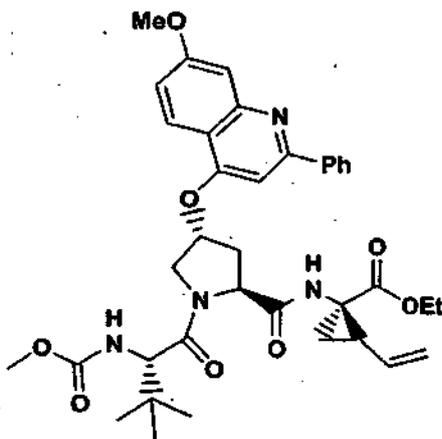


A una solución de éster 1-terc-butílico del ácido (2S,4R) 4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico (4,4 g, 9,5 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (100 ml) se añadió clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S) 1-amino-2-vinil-

ciclopropano carboxílico (2,37 g, 12,35 mmol), DIEA (8,27 ml, 47,5 mmol) y el reactivo de acoplamiento HOBt (2,18 g, 14,25 mmol) y HBTU (5,4 g, 14,25 mmol). La solución se agitó a ta durante la noche. La solución se concentró a continuación, se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentraron dando un aceite amarillento. Este se purificó mediante cromatografía instantánea (gel de sílice, 1:1 EtOAc: Hexanos) dando una espuma amarilla como producto de acoplamiento. A continuación se disolvió en HCl 4N en dioxano (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 4 h. A continuación se concentró y el producto bruto se purificó además mediante HPLC preparativa dando un sólido amarillento como sal TFA. (4,5 g, rendimiento 77 %). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,23 (t, J=7,09 Hz, 3 H), 1,46 (dd, J=9,66, 5,50 Hz, 1 H), 1,78 (dd, J=8,07, 5,38 Hz, 1 H), 2,23 (m, 1 H), 2,59 (m, 1 H), 2,95 (m, 1 H), 3,90-3,99 (m, 2 H), 4,05 (s, 3 H), 4,14 (q, J=7,09 Hz, 2 H), 4,68 (dd; J=10,27, 7,58 Hz, 1 H), 4,86(m, 1H), 5,12 (dd, J=10,27, 1,47 Hz, 1 H), 5,30 (dd, J=17,00, 1,34 Hz, 1 H), 5,76 (m, 1 H), 5,96 (s, 1 H), 7,45 (dd, J=9,29, 2,45 Hz, 1 H), 7,54 (d, J=2,20 Hz, 1 H), 7,62 (s, 1 H), 7,68-7,77 (m, 3 H), 8,05 (m, 2 H), 8,38 (d, J=9,29 Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 1,243 min.), MS m/z=502 (MH<sup>+</sup>).

### Paso 2 del Ejemplo 5

Preparación del éster etílico del ácido 1-[[1-(2-Metoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butiril)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico

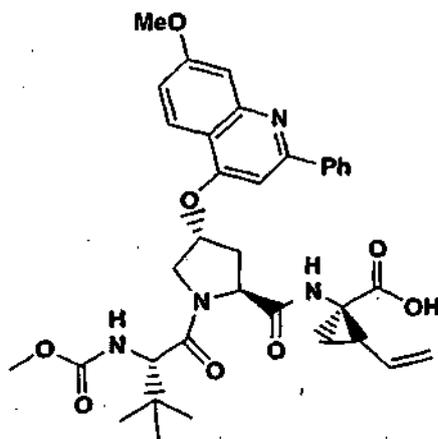


A una solución del éster etílico del ácido 1-[[4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico (600 mg, 1,115 mmol) en CH<sub>3</sub>CN (20 ml) se añadió ácido 2-metoxicarbonilamino-3,3-dimetilbutírico (317 mg, 1,673 mmol), DIEA (0,97 ml, 5,575 mmol) y el reactivo de acoplamiento HOBt (256 mg, 1,673 mmol) y HBTU (634 g, 1,673 mmol). La solución se agitó a ta durante la noche. A continuación se concentró, se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentraron dando un aceite amarillento. A continuación este se purificó en una columna de HPLC Prep. dando el producto en forma de aceite amarillento. (410 mg, rendimiento 47 %). <sup>1</sup>H-RNM (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,03 (s, 9 H), 1,22 (t, J=7,09 Hz, 3 H), 1,41 (dd, J=9,41, 5,26 Hz, 1 H), 1,71 (dd, J=8,19, 5,26 Hz, 1 H), 2,17 (m, 1 H), 2,50 (m, 1 H), 2,77 (m, 1 H), 3,33 (s, 3 H), 4,03 (s, 3 H), 4,04-4,14 (m, 3 H), 4,18 (s, 1 H), 4,61-4,69 (m, 2 H), 4,86 (m, 1H), 5,08 (dd, J=10,27, 1,71 Hz, 1 H), 5,25 (d, J=17,11 Hz, 1 H), 5,72-5,82 (m, 2 H), 7,39 (dd, J=9,29, 2,20 Hz, 1 H), 7,51 (m, 1 H), 7,63 (m, 1 H), 7,69-7,77 (m, 3 H), 8,06 (m, 2 H), 8,35 (d, J=9,29 Hz, 1 H), 8,75 (s, 1 H).

LC-MS (tiempo de retención: 2,857 min.), MS m/z 673 (MH<sup>+</sup>).

**Paso 3 del Ejemplo 5**

Preparación del ácido 1-[[1-(2-Metoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butiril)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-ilo)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico



5

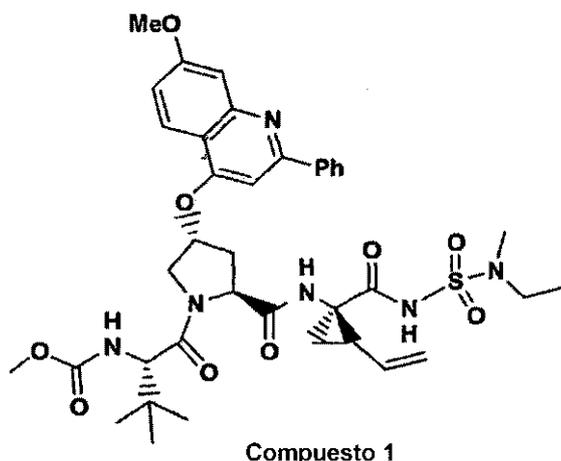
10

15

A una solución del éster etílico del ácido 1-[[1-(2-metoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butiril)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-ilo)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico (410 mg, 0,52 mmol) en una mezcla de THF (20 ml), metanol (11,5 ml) y agua (3,8 ml), se añadió monohidrato de hidróxido de litio (328 mg, 7,82 mmol). La mezcla se agitó a ta durante la noche. A continuación se acidificó con una solución de HCl 1N y se concentró. El residuo se extrajo con EtOAc dos veces y las capas orgánicas se combinaron. A continuación se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró obteniéndose un sólido blancuzco. (230 mg, rendimiento 69 %). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,02 (s, 9 H), 1,43 (dd, *J*=9,54, 5,14 Hz, 1 H), 1,68 (dd, *J*=8,07, 5,14 Hz, 1 H), 2,17 (m, 1 H), 2,57 (m, 1 H), 2,75 (m, 1 H), 3,34 (s, 3 H), 4,03 (s, 3 H), 4,06 (m, 1H), 4,18 (s, 1 H), 4,60-4,70 (m, 2 H), 4,88 (m, 1H), 5,08 (dd, *J*=10,39, 1,59 Hz, 1 H), 5,25 (dd, *J*=17,36, 1,71 Hz, 1 H), 5,77-5,87 (m, 2 H) 7,38 (dd, *J*=9,29, 2,20 Hz, 1 H), 7,50 (m, 1 H), 7,62 (m, 1 H), 7,69-7,78 (m, 3 H), 8,03-8,07 (m, 2 H), 8,36 (d, *J*=9,20 Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 2,177 min.), MS *m/z* 645 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 6**

Preparación del Compuesto 1:



20

25

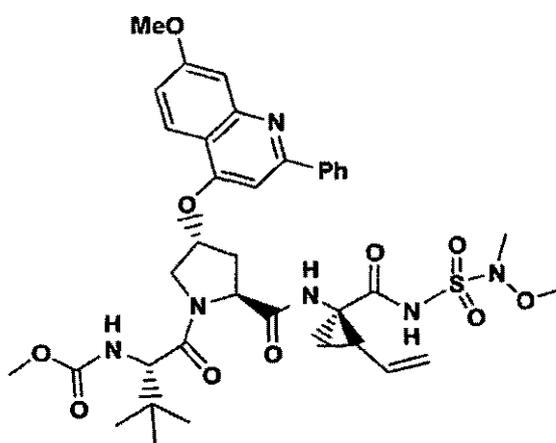
A una solución del ácido 1-[[1-(2-metoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butiril)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-ilo)-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano carboxílico (40 mg, 0,0527 mmol) en THF (5 ml), se añadió CDI (12,8 mg, 0,0791 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 45 min. En otro matraz de fondo redondo se añadió a una solución de N-etilmetilsulfamida (29 mg, 0,21 mmol) en THF (5 ml), LiHMDS (solución 1,0 M en hexanos, 0,21 ml, 0,21 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h. Se combinaron dos mezclas de

reacción y se agitaron a ta durante 2 h. Se añadió agua para neutralizar la reacción y la solución de la reacción se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación del disolvente dio el producto bruto, el cual se purificó mediante HPLC Prep. dando la N-acilsulfamida deseada (18,4 mg, rendimiento 40 %). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,03 (s, 9 H), 1,14 (t, J=7,21 Hz, 3 H), 1,37 (dd, J=9,29, 5,38 Hz, 1 H), 1,84 (dd, J=8,07, 5,62 Hz, 1 H), 2,17 (dd, J=17,36, 8,80 Hz, 1 H), 2,40 (m, 1 H), 2,72 (m, 1 H), 2,87 (s, 3 H), 3,20-3,30 (m, 2H), 3,36 (s, 3 H), 4,04 (s, 3 H), 4,11 (dd, J=12,35, 2,81 Hz, 1 H), 4,21 (s, 1 H), 4,53-4,65 (m, 2 H), 4,82 (m, 1 H), 5,11 (dd, J=10,15, 1,59 Hz, 1 H), 5,26 (d, J=16,87 Hz, 1 H), 5,70 (m, 1 H), 5,84 (s, br, 1 H), 7,41 (dd, J=9,29, 2,20 Hz, 1 H), 7,52 (d, J=2,20 Hz, 1 H), 7,64 (s, 1 H) 7,68-7,80 (m, 3 H), 8,03-8,10 (m, 2 H), 8,34 (d, J=9,29 Hz, 1 H), 9,16 (s, 1 H).

10 LC-MS (tiempo de retención: 2,333 min.), MS m/z 765 (MH<sup>+</sup>).

### Ejemplo 7

#### **Preparación del Compuesto 2**



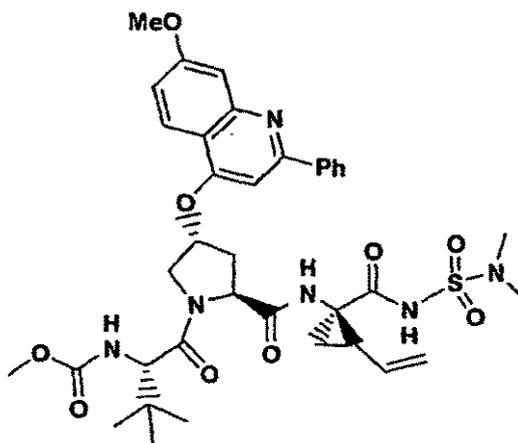
**Compuesto 2**

15 El compuesto 2 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 2, se sintetizó la acilsulfamida empleada usando metoximetilamina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,070 min.), MS m/z 767 (MH<sup>+</sup>).

### Ejemplo 8

#### **Preparación del Compuesto 3:**

20



**Compuesto 3**

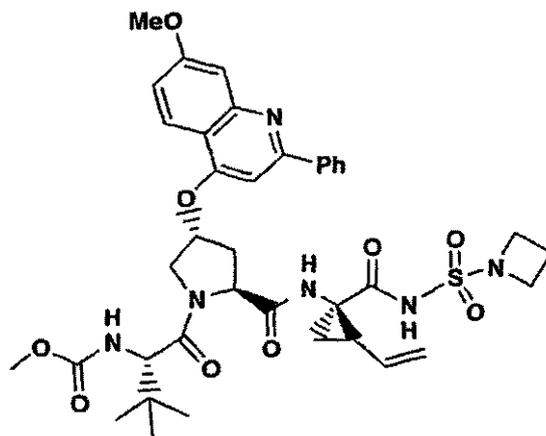
El compuesto 3 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el

Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 3, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando dimetilamina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,243 min.), MS m/z 751 (MH<sup>+</sup>).

### Ejemplo 9

#### Preparación del Compuesto 4:

5

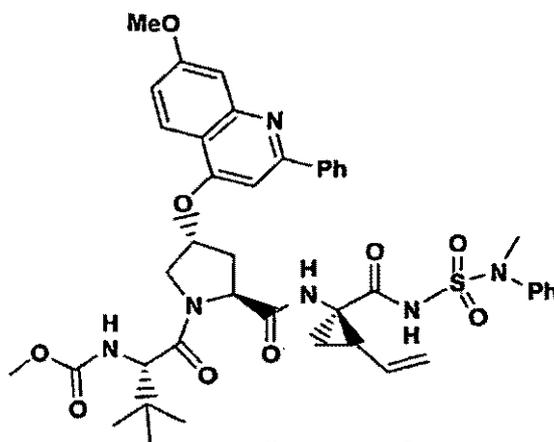


Compuesto 4

El compuesto 4 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 4, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando azetidina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,223 min.), MS m/z 763 (MH<sup>+</sup>).

### 10 Ejemplo 10

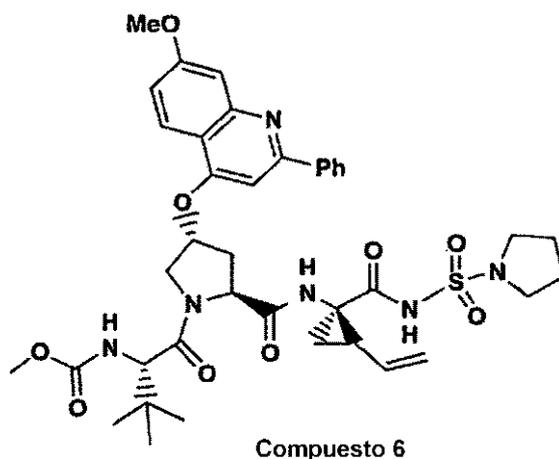
#### Preparación del Compuesto 5:



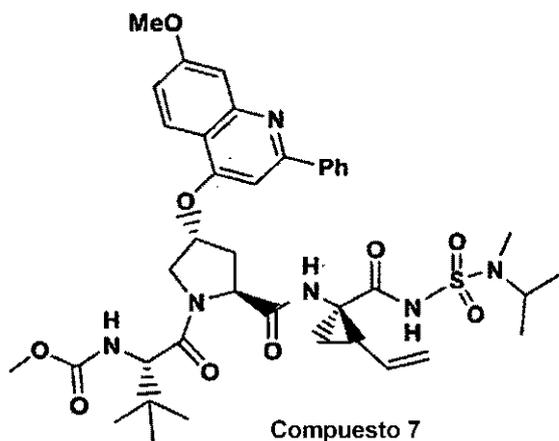
Compuesto 5

El compuesto 5 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 5, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando N-metilnilina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,503 min.), MS m/z 813 (MH<sup>+</sup>).

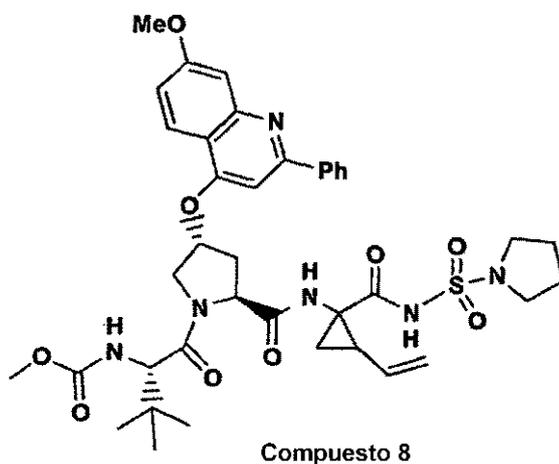
15

**Ejemplo 11****Preparación del Compuesto 6:**

- 5 El compuesto 6 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 6, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando pirrolidina en lugar de metiletilamina.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1,02 (s, 9 H), 1,37 (dd,  $J=9,3$  Hz, 5,1 Hz, 1 H), 1,82-1,90 (m, 5 H), 2,19 (m, 1 H), 2,40 (m, 1 H), 2,74 (m, 1 H), 3,31-3,49 (m, 7 H), 4,04 (s, 3 H), 4,11 (m, 1 H), 4,21 (s, 1 H), 4,54-4,64 (m, 2 H), 4,85 (m, 1 H), 5,11 (d,  $J=10,3$  Hz, 1 H), 5,28 (d,  $J=17,1$  Hz, 1 H), 5,69 (m, 1 H), 5,84 (s, br, 1 H), 7,41 (dd,  $J=9,3$  Hz, 1,9 Hz, 1 H), 7,52 (d,  $J=2,4$  Hz, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,68-7,77 (m, 3 H), 8,06 (m, 2 H), 8,34 (d,  $J=9,3$  Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 2,340 min.), MS  $m/z$  777  $\text{MH}^+$ .
- 10

**Ejemplo 12****Preparación del Compuesto 7**

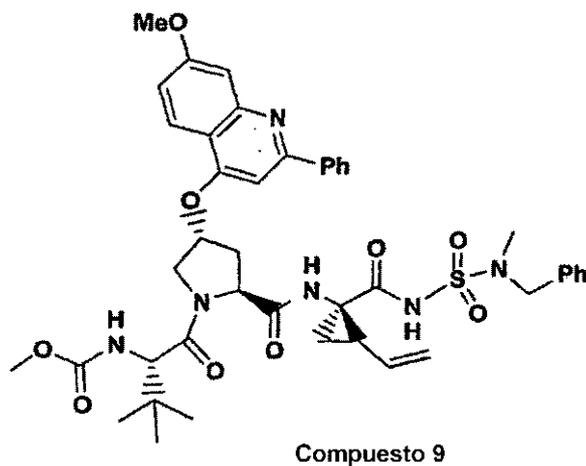
- 15 El compuesto 7 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 7, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando isopropilmetilamina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,420 min.), MS  $m/z$  779 ( $\text{MH}^+$ ).

**Ejemplo 13****Preparación del Compuesto 8**

- 5 El compuesto 8 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 8, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando pirrolidina en lugar de metiletilamina y un elemento racémico. MS m/z 777 (MH<sup>+</sup>).

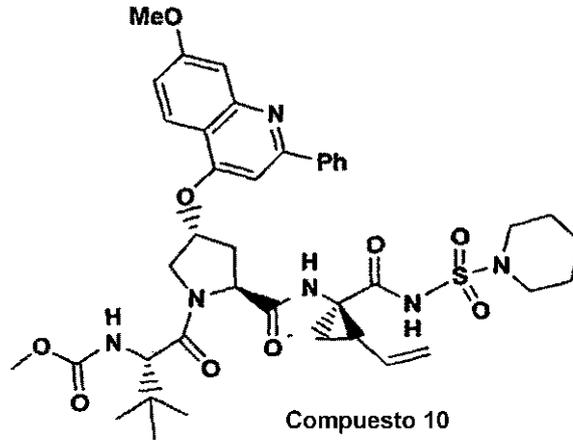
**Ejemplo 14****Preparación del Compuesto 9**

10

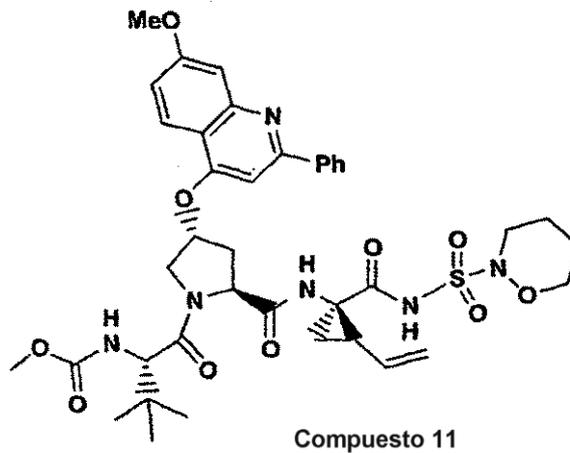


El compuesto 9 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 9, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando metilbencilamina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,430 min.), MS m/z 827 (MH<sup>+</sup>).

15

**Ejemplo 15****Preparación del Compuesto 10**

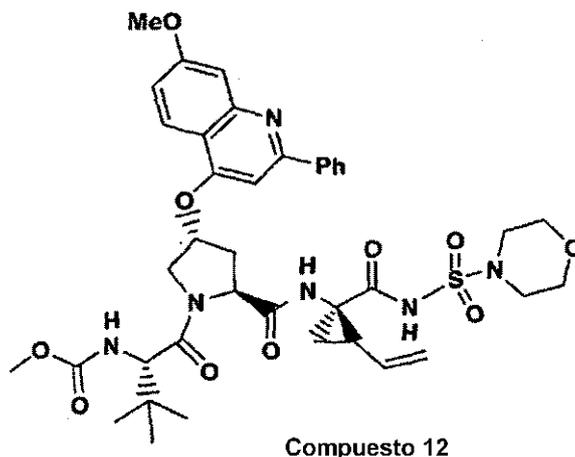
5 El compuesto 10 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 10, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando piperidina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,453 min.), MS m/z 791 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 16****Preparación del Compuesto 11**

10

El compuesto 11 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 11, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando tetrahydro-2H-1,2-oxazina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,317 min.), MS m/z 793 (MH<sup>+</sup>).

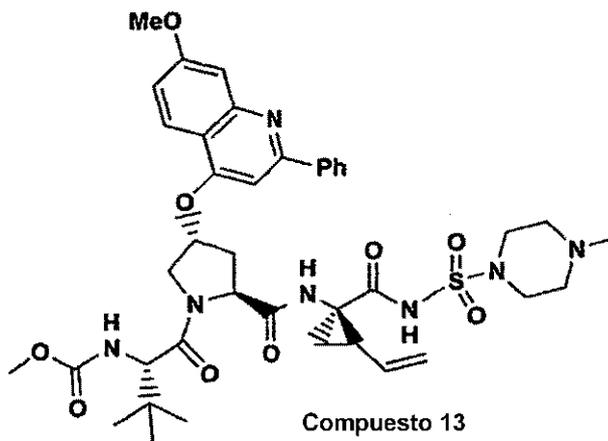
15

**Ejemplo 17****Preparación del Compuesto 12**

5 El compuesto 12 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 12, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando morfolina en lugar de metiletilamina. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,02 (s, 9 H), 1,38 (dd, J=9,1 Hz, 5,6 Hz, 1 H), 1,88 (dd, J=8,1 Hz, 5,6 Hz, 1 H), 2,21 (m, 1 H), 2,40 (m, 1 H), 2,75 (m, 1 H), 3,36 (s, 3 H), 3,66 (m, 4 H), 4,04 (s, 3 H), 4,10 (dd, J=12,5 Hz, 2,9 Hz, 1 H), 4,21 (s, 1 H), 4,55-4,65 (m, 2 H), 4,85 (m, 5 H), 5,15 (dd, J=10,3 Hz, 1,5 Hz, 1 H), 5,29 (dd, J=17,1 Hz, 1,5 Hz, 1 H), 5,70 (m, 1 H), 5,83 (s, br, 1 H), 7,41 (dd, J=9,3 Hz, 2,2 Hz, 1 H), 7,52 (d, J=2,2 Hz, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,69-7,79 (m, 3 H), 8,07 (m, 2 H), 8,34 (d, J=9,3 Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 2,210 min.), MS m/z 793 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 18****Preparación del Compuesto 13**

15



El compuesto 13 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 1 del Ejemplo 5 y como se describe para el Compuesto 1 del Ejemplo 6. Sin embargo, en el caso del Compuesto 13, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando N-metil-piperazina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 1,923 min.), MS m/z 806 (MH<sup>+</sup>).

20

**Ejemplos 19-27**

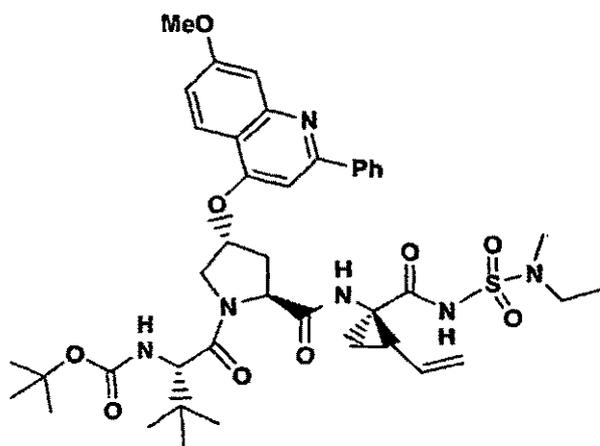
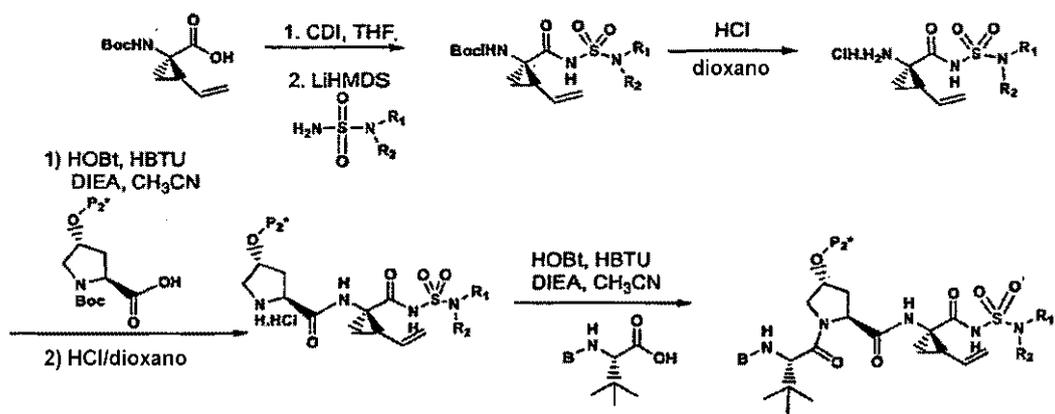
Preparación de los Compuestos 14-22.

**Ejemplo 19**

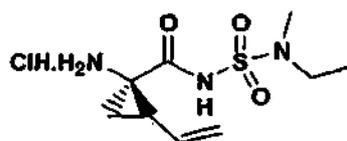
Esquema general para la preparación de los Compuestos 14-22

5

Esquema 2



Compuesto 14

**Paso 1 del Ejemplo 19**

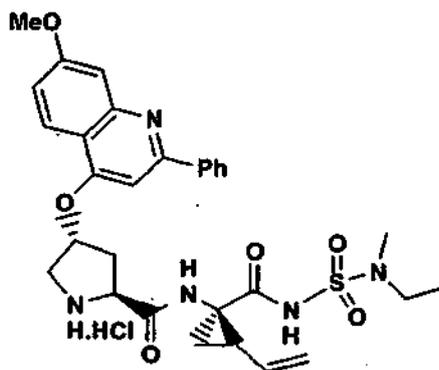
10

15

A una solución de ácido (1R,2S) 1-terc-butoxicarbonilamino-2-vinil-ciclopropano carboxílico (217 mg, 1,194 mmol) en THF (5 ml), se añadió CDI (290 mg, 1,791 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 45 min. En otro matraz de fondo redondo se añadió a una solución de N-etilmetilsulfamida (330 mg, 2,388 mmol) en THF (5 ml), LiHMDS (solución 1,0 M en hexanos, 2,4 ml, 2,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h. Se combinaron dos mezclas de reacción y se agitaron a ta durante 2 h. Se añadió agua para neutralizar la reacción y la solución de la reacción se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación

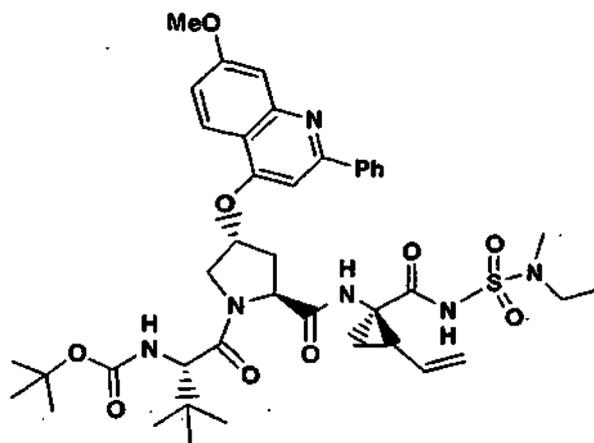
del disolvente dio el producto bruto, el cual se purificó mediante HPLC Prep. dando la N-acilsulfamida deseada. La N-acilamidasulfamida se disolvió a continuación en una solución de HCl 4N en dioxano (2 ml) y se agitó a ta durante 4 h. La evaporación de la solución dio un aceite parduzco en forma de sal HCl. (112 mg, rendimiento 33 %).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1,16 (t,  $J=7,21$  Hz, 3 H), 1,68 (dd,  $J=10,03, 7,83$  Hz, 1 H), 2,15 (m, 1 H), 2,37 (m, 1 H), 2,89 (s, 3 H), 3,30 (m, 2 H), 5,31 (d,  $J=10,27$  Hz, 1 H), 5,42 (d,  $J=17,12$  Hz, 3 H), 5,68 (m, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 0,883 min.), MS  $m/z$  270 ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ).

### Paso 2 del Ejemplo 19



10 A una solución del éster terc-butílico del ácido (2S,4R)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico (62,5 mg, 0,135 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (10 ml) se añadió el acilsulfamida-P1-aminoácido (42 mg, 0,148 mmol), DIEA (0,12 ml, 0,675 mmol) y el reactivo de acoplamiento HOBt (31 mg, 0,203 mmol) y HBTU (77 mg, 0,203 mmol). La solución se agitó a ta durante la noche. A continuación se concentró, se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentraron dando un aceite amarillo. Este se purificó en una columna de HPLC Prep. dando un aceite espeso incoloro que se disolvió a continuación en HCl 4N en dioxano (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante la noche. La evaporación del disolvente dio el producto deseado en forma de sal clorhidrato. 62 mg, aceite amarillento, rendimiento 68 %.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1,14 (t,  $J=7,21$  Hz, 3 H), 1,32 (dd,  $J=9,78, 5,62$  Hz, 1 H), 1,90 (dd,  $J=7,58, 5,62$  Hz, 1 H), 2,31 (m, 1 H), 2,51 (m, 1 H), 2,86 (s, 3 H), 3,06 (m, 1 H), 3,20-3,30 (m, 2 H), 3,56 (m, 1 H), 3,72 (m, 2 H), 3,96 (m, 1 H), 4,06 (s, 3 H), 4,80 (m, 1H), 5,13 (d,  $J=10,52$  Hz, 1 H), 5,29 (d,  $J=16,87$  Hz, 1 H), 5,60 (m, 1 H), 5,97 (s, 1 H), 7,49 (dd,  $J=9,29, 1,96$  Hz, 1 H), 7,57 (d,  $J=1,96$  Hz, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,68-7,79 (m, 3 H), 8,08 (m, 2 H), 8,50 (d,  $J=9,29$  Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 1,810 min.), MS  $m/z$  594 ( $\text{MH}^+$ ).

### Paso 3 del Ejemplo 19



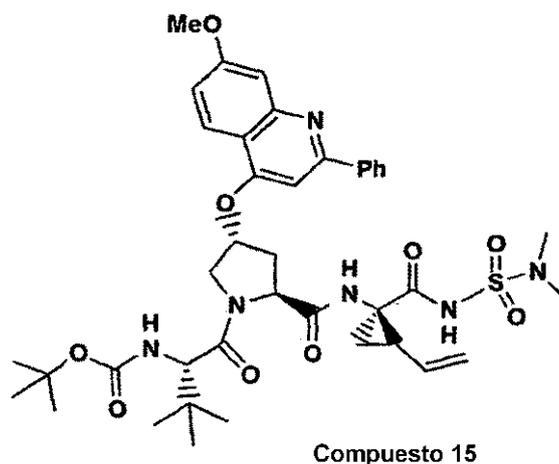
25  
Compuesto 14

30 A una solución del dipéptido sulfamida (producto del paso 2 del Ejemplo 19, 14 mg, 0,021 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5 ml) se añadió N-boc-L-t-leucina (7,3 mg, 0,0315 mmol), DIEA (0,022 ml, 0,126 mmol) y el reactivo de acoplamiento HOBt (4,8 mg, 0,0315 mmol) y HBTU (12 mg, 0,0315 mmol). La solución se agitó a ta durante la noche. A continuación esta se concentró, se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las capas orgánicas combinadas se

lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentraron dando un aceite amarillo. Este se purificó en una columna de HPLC Prep. dando un sólido blanco como producto final. (9,0 mg, rendimiento 53 %).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1,02 (s, 9 H), 1,13 (t,  $J=7,09$  Hz, 3 H), 1,25 (s, 9 H), 1,37 (m, 1 H), 1,82 (m, 1 H), 2,15 (m, 1 H), 2,30 (m, 1 H), 2,64 (m, 1 H), 2,87 (s, 3 H), 3,20-3,30 (m, 2 H), 3,94 (s, 3H), 4,07 (m, 1 H), 4,25 (m, 1 H), 4,47-4,63 (m, 3 H), 5,09 (d,  $J=10,51$  Hz, 1 H), 5,25 (d,  $J=17,37$  Hz, 1 H), 5,56 (s, br, 1 H), 5,71 (m, 1 H), 6,66 (d,  $J=9,05$  Hz, 1 H), 7,07 (m, 1 H), 7,24 (s, 1 H), 7,38 (d,  $J=1,96$  Hz, 1 H), 7,46-7,56 (m, 3 H), 8,01-8,09 (m, 3 H). LC-MS (tiempo de retención: 2,563 min.), MS  $m/z$  807 ( $\text{MH}^+$ ).

### Ejemplo 20

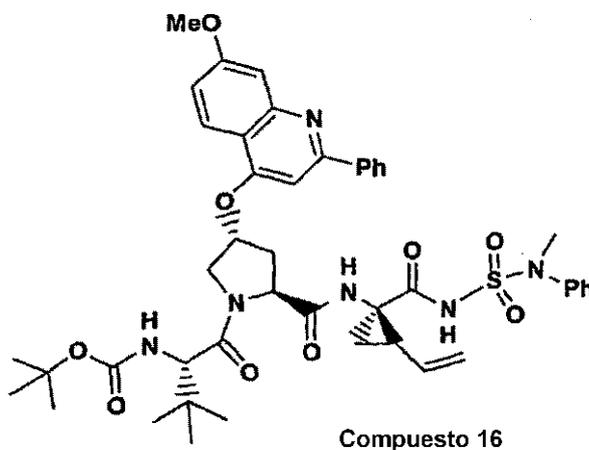
#### Preparación del Compuesto 15



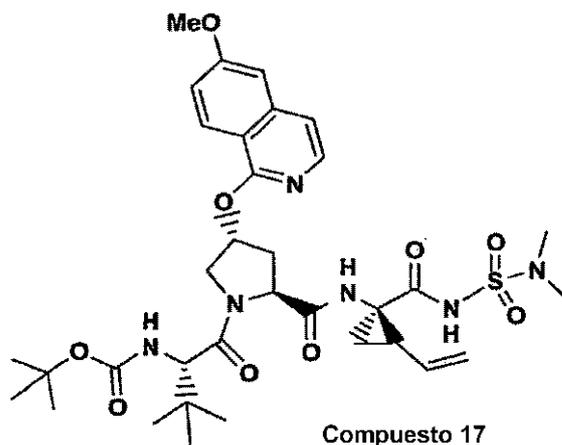
El compuesto 15 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 15, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando dimetilamina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,463 min.), MS  $m/z$  793 ( $\text{MH}^+$ ).

### Ejemplo 21

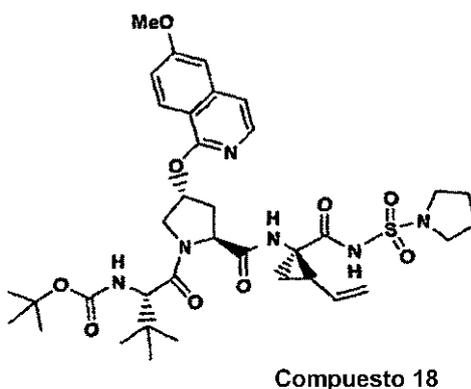
#### Preparación del Compuesto 16



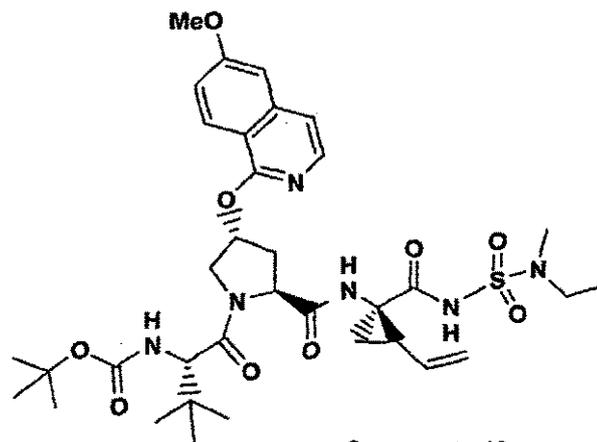
El compuesto 16 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 16, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando N-metilnilina en lugar de metiletilamina. LC-MS (tiempo de retención: 2,723 min.), MS  $m/z$  856 ( $\text{MH}^+$ ).

**Ejemplo 22****Preparación del Compuesto 17**

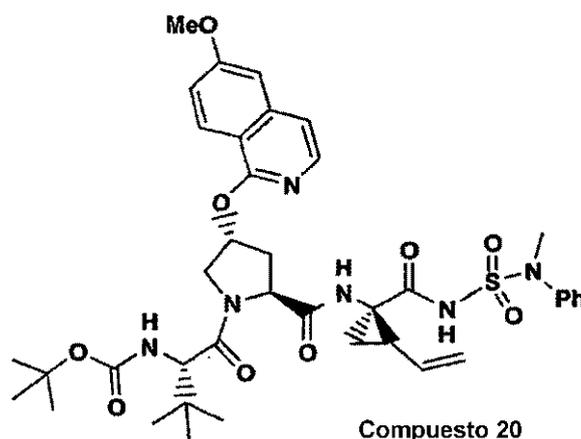
- 5 El compuesto 17 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 17, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando dimetilalanina en lugar de metiletilamina y 6-metoxi-1-cloroisoquinolina en lugar de 2-fenil-4-cloro-7-metoxiquinolona. LC-MS (tiempo de retención: 2,807 min.), MS m/z 717 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 23****10 Preparación del Compuesto 18**

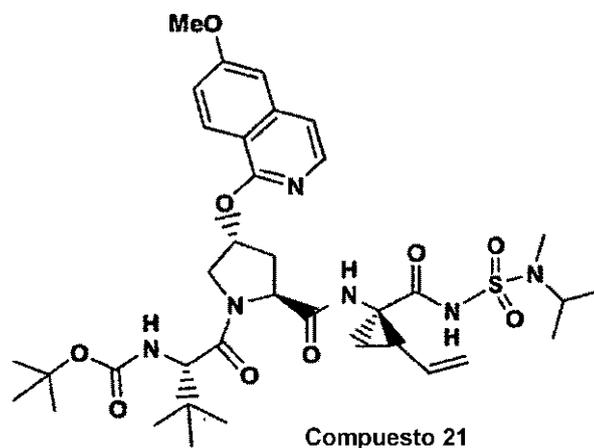
- 15 El compuesto 18 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 18, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando pirrolidina en lugar de metiletilamina y 6-metoxi-1-cloroisoquinolina en lugar de 2-fenil-4-cloro-7-metoxiquinolona. LC-MS (tiempo de retención: 2,927 min.), MS m/z 743 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 24****Preparación del Compuesto 19****Compuesto 19**

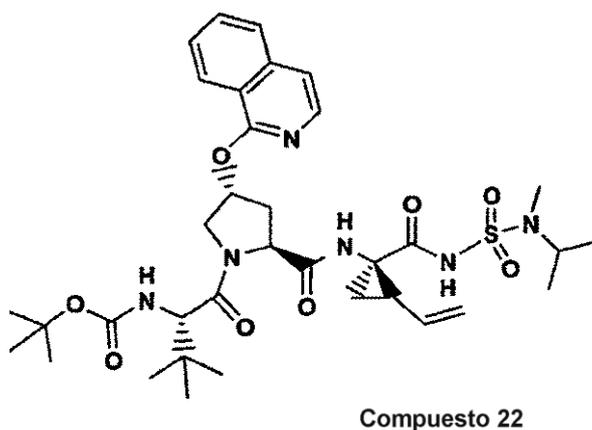
- 5 El compuesto 19 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 19, se usó 6-metoxi-1-cloroisoquinolina en lugar de 2-fenil-4-cloro-7-metoxiquinolona. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 1,02 (s, 9 H), 1,14 (t, *J*=7,21 Hz, 3 H), 1,25 (s, 9 H), 1,37 (m, 1 H), 1,81 (m, 1 H), 2,13-2,30 (m, 2 H), 2,57 (m, 1 H), 2,87 (s, 3 H), 3,20-3,30 (m, 2 H), 3,90 (s, 3 H), 4,04 (m, 1 H), 4,23 (m, 1H), 4,42 (d, *J*=12,22 Hz, 1 H), 4,46-4,60 (m, 2H), 5,11 (d, *J*=10,27 Hz, 1 H), 5,29 (d, *J*=16,87 Hz, 1 H), 5,70 (m, 1 H), 5,81 (s, br, 1 H), 6,60 (d, *J*=8,56 Hz, 1 H), 7,08 (d, *J*=8,07 Hz, 1 H), 7,16 (d, *J*=2,45 Hz, 1 H), 7,23 (d, *J*=5,87 Hz, 1 H), 7,87 (d, *J*=5,87 Hz, 1 H), 8,06 (d, *J*=9,05 Hz, 1H). LC-MS (tiempo de retención: 2,910 min.), MS m/z 731 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 25****15 Preparación del Compuesto 20****Compuesto 20**

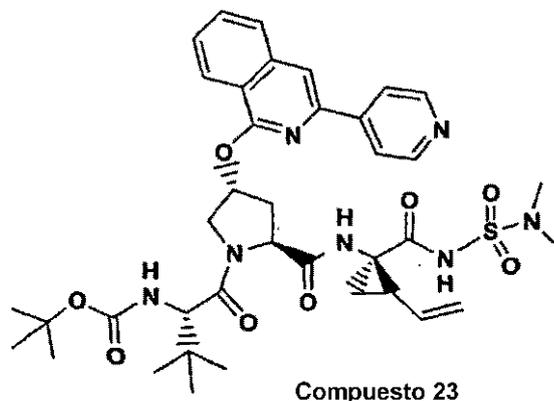
- 20 El compuesto 20 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 20, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando N-metil-anilina en lugar de metiletilamina y 6-metoxi-1-cloroisoquinolina en lugar de 2-fenil-4-cloro-7-metoxiquinolona. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 0,95 (s, 9 H), 1,26 (s, 9 H), 1,41 (m, 1 H), 1,87 (m, 1 H), 2,12-2,25 (m, 2 H), 2,50 (dd, *J*=13,94, 7,09 Hz, 1 H), 3,39 (s, 3 H), 3,89 (s, 3 H), 4,02 (m, 1 H), 4,19 (d, *J*=9,29 Hz, 1 H), 4,31-4,47 (m, 2 H), 4,57 (s, 1 H), 5,17 (d, *J*=10,27 Hz, 1 H), 5,31 (d, *J*=16,63 Hz, 1 H), 5,73-5,90 (m, 2 H), 6,56 (d, *J*=9,29 Hz, 1 H), 7,04 (d, *J*=8,56 Hz, 1 H), 7,15 (d, *J*=1,96 Hz, 1 H), 7,22 (d, *J*=5,87 Hz, 1 H), 7,24-7,40 (m, 5 H), 7,86 (d, *J*=5,87 Hz, 1 H), 8,03 (d, *J*=9,05 Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 3,017 min.), MS m/z 779 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 26****Preparación del Compuesto 21**

- 5 El compuesto 21 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 21, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando metil-isopropilamina en lugar de metiletilamina y 6-metoxi-1-cloroisoquinolina en lugar de 2-fenil-4-cloro-7-metoxiquinolona. LC-MS (tiempo de retención: 2,963 min.), MS m/z 768 (M+Na<sup>+</sup>).

**Ejemplo 27****10 Preparación del Compuesto 22**

- 15 El compuesto 22 se preparó mediante la ruta mostrada en el Esquema 2 del Ejemplo 19 y como se describe para el Compuesto 14 del Ejemplo 19. Sin embargo, en el caso del Compuesto 22, la acilsulfamida empleada se sintetizó usando metilisopropilamina en lugar de metiletilamina y 1-cloroisoquinolina en lugar de 2-fenil-4-cloro-7-metoxiquinolona. LC-MS (tiempo de retención: 2,993 min.), MS m/z 737 (M+Na<sup>+</sup>).

**Ejemplo 28****Compuesto 23**

- 5 El compuesto 23 se puede preparar mediante los procedimientos de síntesis descritos aquí.

**Ejemplo 29****Estudios biológicos****Ensayo del péptido FRET del complejo de la proteasa NS3/4A del VHC recombinante**

- 10 El objetivo de este ensayo in vitro era medir la inhibición de los complejos de la proteasa NS3 del VHC derivados de la cepa de BMS, la cepa H77 o la cepa J416S, tal y como se describe a continuación, mediante los compuestos de la presente invención. Este ensayo ofrece información sobre el grado de eficacia que tendrían los compuestos de la invención en inhibir la actividad proteolítica del VHC.

- 15 Se obtuvo suero de un paciente infectado con el VHC del Dr. T. Wright, San Francisco Hospital. Se construyó un molde de ADNc (ácido desoxirribonucleico complementario) de longitud total mediante ingeniería genética del genoma del VHC (cepa de BMS) a partir de fragmentos de ADN obtenidos mediante PCR con transcripción inversa (RT-PCR) del ARN (ácido ribonucleico) de suero y usando cebadores seleccionados basándose en la homología entre otras cepas de genotipo 1a. A partir de la determinación de la secuencia entera del genoma, se asignó un genotipo 1a al aislado del VHC de acuerdo con la clasificación de Simmonds et al. (See P Simmonds, KA Rose, S Graham, SW Chan, F McOmish, BC Dow, EA Follett, PL Yap and H Marsden, J. Clin. Microbiol., 31(6), 1493-1503 (1993)). La secuencia de aminoácidos de la región no estructural, NS2-5B, demostró ser >97 % idéntica a la del VHC de genotipo 1a (H77) y 87 % idéntica a la del genotipo 1b (J4L6S). Los clones infecciosos, H77 (genotipo 1a) y J4L6S (genotipo 1b) se obtuvieron de R. Purcell (NIH) y las secuencias están publicadas en Genbank (AAB67036, véase Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U. and Bukh, J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94(16), 8738-8743 (1997); AF054247, véase Yanagi, M., St Claire, M., Shapiro, M., Emerson, S.U., Purcell, R.H. and Bukh, J. Virology 244 (1), 161-172. (1998)).

- 25 Se usaron las cepas H77 y J4L6S para la producción de complejos de la proteasa NS3/4A recombinantes. El ADN que codifica para el complejo de la proteasa NS3/4A del VHC recombinante (aminoácidos 1027 a 1711) en estas cepas, se manipuló como se describe en P. Gallinari et al. (véase Gallinari P, Paolini C, Brennan D, Nardi C, Steinkuhler C, De Francesco R. Biochemistry. 38(17):5620-32, (1999)). Brevemente, se añadió una cola solubilizante de tres lisinas al extremo 3' de la región codificadora de NS4A. La cisteína de la posición P1 del sitio de escisión NS4A-NS4B (aminoácido 1711) se cambió por una glicina para evitar la escisión proteolítica del marcador de lisina. Además, se introdujo una cisteína en la mutación de serina mediante PCR en la posición de aminoácido 1454 para evitar la escisión autolítica en el dominio de la helicasa NS3. El fragmento de ADN variante se clonó en el vector de expresión bacteriano pET21b (Novagen) y el complejo US3/4A se expresó en *Escherichia coli* cepa BL21 (DE3) (Invitrogen) siguiendo el protocolo descrito por P. Gallinari et al. (véase Gallinari P, Brennan D, Nardi C, Brunetti M, Tomei L, Steinkuhler C, De Francesco R., J Virol. 72(8):6758-69 (1998)) con modificaciones. Resumiendo, la expresión del complejo de la proteasa NS3/4A se indujo con isopropil p-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) 0,5 milimolar (mM) durante 22 horas (h) a 20 °C. Una fermentación típica (1 litro (l)) dio aproximadamente 10 gramos (g) de pasta celular húmeda. Las células se resuspendieron en tampón de lisis (10 ml/g) consistente en ácido N-(2-Hidroxietil)Piperazin-N'-(2-Etanosulfónico (HEPES) 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, cloruro sódico (NaCl) 500 mM, Triton X-100 0,5 %, lisozima 1 microgramo/mililitro ("µg/ml"), cloruro magnésico (MgCl<sub>2</sub>) 5 mM, 1 µg/ml DnaseI, p-

5 Mercaptoetanol ( $\beta$ ME) 5 mM, inhibidor de la proteasa – ácido etilendiamina tetraacético (EDTA) libre (Roche), se homogeneizaron y se incubaron durante 20 minutos (min) a 4 °C. El homogeneizado se sonicó y se clarificó por ultracentrifugación a 235.000 g durante 1 h a 4 °C. Se añadió imidazol al sobrenadante hasta una concentración final de 15 mM y el pH se ajustó hasta 8,0. El extracto proteico bruto se cargó en una columna de Níquel – Ácido nitrilotriacético (Ni-NTA) preequilibrada con tampón B (25 mM HEPES, pH 8,0, 20 % glicerol, NaCl 500 mM, Triton X-100 0,5 %, imidazol 15 mM, 5 mM ( $\beta$ ME). La muestra se cargó a una velocidad de flujo de 1 ml/min. La columna se lavó con 15 volúmenes de columna de tampón C (igual que el tampón B salvo Triton X-100 0,2 %). La proteína se eluyó con 5 volúmenes de columna de tampón D (igual que el tampón C salvo con imidazol 200 mM).

10 Se combinaron las fracciones que contenían complejo proteasa NS3/4A y se cargaron en una columna de desalinización Superdex-S200 preequilibrada con tampón D (HEPES 25mM, pH 7,5, glicerol 20 %, NaCl 300 mM, Triton X-100 0,2 %, ( $\beta$ ME) 10 mM. La muestra se cargó a una velocidad de flujo de 1 ml/min. Las fracciones que contenían el complejo de la proteasa NS3/4A se combinaron y se concentraron hasta aproximadamente 0,5 mg/ml. La pureza de los complejos proteasa NS3/4A, derivados de las cepas H77 y J4L6S de BMS era superior al 90 % determinada mediante análisis SDS-PAGE y espectrometría de masas.

15 La enzima se conservó a -80 °C, se descongeló en hielo y se diluyó antes de su uso en un tampón de ensayo. El sustrato usado para el ensayo de la proteasa NS3/4A fue RET S 1 (Resonance Energy Transfer Depsipeptide Substrate; AnaSpec, Inc. N° cat.22991) (péptido FRET), descrito por Taliani et al. en Anal. Biochem. 240(2):60-67 (1996). La secuencia de este péptido se basa aproximadamente en el sitio de escisión natural de NS4A/NS4B de la proteasa NS3 del VHC, salvo que existe un enlace éster en lugar de un enlace amida en el sitio de escisión. El sustrato péptido se incubó con uno de los tres complejos de la proteasa NS3/4A recombinantes, en ausencia o presencia de un compuesto de la presente invención, y se siguió en tiempo real el producto de reacción fluorescente usando un Cytofluor Serie 4000.

Los reactivos fueron los siguientes: HEPES y Glicerol (ultrapuro) se obtuvieron de GIBCO-BRL. El dimetilsulfóxido (DMSO) se obtuvo de Sigma. El p-Mercaptoetanol se obtuvo de Bio Rad.

25 Tampón de ensayo: HEPES 50 mM, pH 7,5; NaCl 0,15 M; Triton 0,1 %; Glicerol 15 %;  $\beta$ ME 10 mM. Sustrato: concentración final 2  $\mu$ M (de una solución madre 2 mM en DMSO conservada a -20 °C). Proteasa NS3/4A del VHC tipo 1a (1b), concentración final 2-3 nM (de una solución madre 5  $\mu$ M en HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol 20 %, NaCl 300 mM, Triton-X100 0,2 %,  $\beta$ ME 10 mM. Para los compuestos con potencias cercanas al límite del ensayo, el ensayo se hizo más sensible añadiendo seroalbúmina sérica (Sigma) 50  $\mu$ g/ml al tampón de ensayo y reduciendo la concentración final de la proteasa hasta 300 pM.

30 El ensayo se llevó a cabo en un placa negra de poliestireno de 96 pocillos de Falcon. Cada pocillo contenía 25  $\mu$ l de complejo proteasa NS3/4A en tampón de ensayo, 50  $\mu$ l de un compuesto de la presente invención en DMSO 10 %/tampón de ensayo y 25  $\mu$ l de sustrato en tampón de ensayo. También se preparó un control (no es un compuesto) en la misma placa de ensayo. El complejo de enzima se mezcló con el compuesto o con una solución control durante 1 min antes de iniciar la reacción enzimática mediante la adición de sustrato. La placa de ensayo se leyó inmediatamente usando el Cytofluor Serie 4000 (Perspective Biosystems). El instrumento se ajustó para leer a una emisión de 340 nm y una excitación de 490 nm a 25 °C. Las reacciones se siguieron durante aproximadamente 15 min.

El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$40 \quad 100 - [(\delta F_{\text{inb}}/\delta F_{\text{con}}) \times 100]$$

donde  $\delta$  es el cambio en la fluorescencia a lo largo del intervalo lineal de la curva. Se aplicó un ajuste no lineal de la curva a los datos de inhibición-concentración y se calculó la concentración efectiva del 50 % ( $CI_{50}$ ) usando el software XI-fit y usando la ecuación,  $y=A+((B-A)/(1+(C/x)^D))$ .

45 Se determinó que todos los compuestos analizados inhibían la actividad del complejo proteasa NS3/4A con unas  $CI_{50}$  de 1,2  $\mu$ M o menos. Además, se determinó que los compuestos de la presente invención, que se ensayaron frente a más de un tipo de complejo NS3/4A, tienen propiedades inhibitorias similares aunque los compuestos demostraron tener sistemáticamente una mayor potencia frente a las cepas 1b en comparación con las cepas 1a.

#### Ensayos de especificidad

50 Los ensayos de especificidad se realizaron para demostrar la selectividad *in vitro* de los compuestos de la presente invención para inhibir el complejo proteasa NS3/4A del VHC en comparación con otras serina o cisteína proteasas.

55 Las especificidades de los compuestos de la presente invención se determinaron frente a diferentes serina proteasas: neutrófilo elastasa humana (HNE), elastasa pancreática porcina (PPE) y quimiotripsina pancreática humana y una cisteína proteasa: catepsina B hepática humana B. En todos los casos, se usó un protocolo de formato de placa de 96 pocillos usando sustrato colorimétrico de p-nitroanilina (pNA) específico de cada enzima como se ha descrito previamente (Solicitud de patente PCT N° WO 00/09543) con algunas modificaciones en los

ensayos de la serina proteasa. Todas las enzimas se adquirieron en Sigma mientras que los sustratos eran de Bachem.

5 Cada ensayo incluía una preincubación del inhibidor enzimático de 2 h a temperatura ambiente seguido de la adición de sustrato e hidrólisis hasta que se producía una conversión ~30 %, medida en un lector de microplacas Spectramax Pro. Las concentraciones del compuesto variaban desde 100 hasta 0,4  $\mu$ M dependiendo de su potencia.

Las condiciones finales de cada ensayo fueron las siguientes:

Clorhidrato de Tris(hidroximetil)aminometano (Tris-HCl) 50 mM, pH 8,

Sulfato sódico ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 0,5 M, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, DMSO 3 %,

Tween-20 0,01 % con:

10 succ-AAA-pNA 133  $\mu$ M y HNE 20 nM o PPE 8 nM; succ-AAPF-pNA 100  $\mu$ M y quimiotripsina 250 pM.

NaHPO<sub>4</sub> (hidrógenofosfato sódico) 100 mM pH 6, EDTA 0,1 mM, DMSO 3 %, TCEP (Tris(2-carboxietil)fosfina clorhidrato) 1 mM, Tween-20 0,01 %, Z-FR-pNA 30  $\mu$ M y catepsina B 5 nM (solución madre de enzima activada en tampón que contiene TCEP 20 mM antes de usar).

[0266] El porcentaje de inhibición se calculó usando la fórmula:

$$[1 - ((UV_{inh} - UV_{blank}) / (UV_{ctl} - UV_{blank}))] \times 100$$

15 Se aplicó un ajuste no lineal de la curva a los datos de inhibición-concentración y se calculó la concentración efectiva del 50 % ( $CI_{50}$ ) usando el software Excel XI-fit.

#### Ensayo en células del replicón del VHC

20 Se estableció un sistema celular completo de replicón de VHC como se describe en Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R., Science 285(5424): 110-3 (1999). Este sistema permitió a los inventores evaluar los efectos de nuestros compuestos proteasa del VHC sobre la replicación del ARN de VHC. Brevemente, usando la secuencia 1b de la cepa de VHC descrita en la publicación de Lohmann (Número de acceso: AJ23879), se generó un ADNc de VHC que codificaba el sitio de entrada al ribosoma interno 5' (IRES), el gen de resistencia a neomicina, el VEMC (virus de la encefalomiocarditis)-IRES y las proteínas no estructurales del VHC, NS3-NS5B, y la región 3' no traducida (RNT). Las transcripciones in vitro del ADNc se transfectaron en la línea celular de hepatoma humano, Huh7. La selección de las células que expresan constitutivamente el replicón de VHC se consiguió en presencia del marcador seleccionable, neomicina (G418). Las líneas celulares resultantes se caracterizaron para la producción de ARN de cadena positiva y negativa y la producción de proteínas a lo largo del tiempo.

30 Las células Huh7, que expresan constitutivamente el replicón de VHC, se cultivaron en Medio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía suero de ternera fetal al 10 % (FCS) y 1 mg/ml de G418 (Gibco-BRL). Las células se sembraron la noche anterior (1,5 x 10<sup>4</sup> células/pocillo) en placas estériles de cultivo tisular de 96 pocillos. El compuesto y los controles sin compuesto se prepararon en DMEM que contenía FCS al 4 %, penicilina / estreptomycin 1:100, L-glutamina 1:100 y DMSO al 5 % en la placa de dilución (concentración final de DMSO en el ensayo 0,5 %). Las mezclas de compuesto / DMSO se añadieron a las células y se incubaron durante 4 días a 37 °C. Después de 4 días, las placas se enjuagaron minuciosamente con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (3 veces 150  $\mu$ l). Las células se lisaron con 25  $\mu$ l de un reactivo de ensayo de lisis que contenía el péptido FRET (RET S1, como se ha descrito para el ensayo de enzima in vitro). El reactivo de ensayo de lisis se preparó a partir de reactivo de lisis de cultivo celular de luciferasa 5X células (Promega N° E153A) diluido a 1X con agua destilada, se añadió NaCl a una concentración final de 150 mM, el péptido FRET se diluyó a una concentración final de 10  $\mu$ M a partir de una solución madre 2 mM en DMSO al 100 %. La placa se situó después en el instrumento Cytofluor 4000, que se había ajustado a 340 nm de excitación / 490 nm de emisión, en modo automático durante 21 ciclos y se hizo una lectura de la placa en modo cinético. Las determinaciones de  $CE_{50}$  se realizaron como se ha descrito para las determinaciones de  $CI_{50}$ .

45 Se usaron dos ensayos secundarios diferentes para confirmar las determinaciones  $CE_{50}$  del ensayo del replicón FRET. Estos fueron un ensayo de ARN cuantitativo y un ensayo de indicador de luciferasa. Para el ensayo de ARN cuantitativo se incubó en compuesto / controles sin compuesto con las células tal como se ha descrito para el ensayo del replicón FRET. Al cabo de 4 días, las células se lisaron usando el kit Rneasy (Qiagen). El ARN total purificado se normalizó usando RiboGreen (Jones LJ, Yue ST, Cheung CY, Singer VL, Anal. Chem., 265(2):368-74 (1998)) y la cuantificación relativa de la expresión del ARN del VHC se determinó usando el procedimiento Taqman (Kolykhalov AA, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM, Journal of Virology 74, 2046-2051 (2000)) y el kit Platinum Quantitative RT-PCR ThermoScript One-Step (Invitrogen N° cat.11731-015). Brevemente, se añadió ARN hasta un volumen de 5  $\mu$ l ( $\leq$  1 ng) a 20  $\mu$ l de mezcla Ready que contenía lo siguiente: mezcla de reacción ThermoScript 1,25X

(que contenía sulfato de magnesio y 2-desoxinucleósido 5'-trifosfatos (dNTPs)), dNTPs 3 mM, cebador hacia delante 200 nM (secuencia: 5'-gggagagccatagtggtctgc-3'), cebador inverso 600 nM (5'-cccaaatctccaggcattga-3'), sonda 100 nM (5'-6-FAM-cggaattgccaggacgaccgg-BHQ-1-3') (FAM: fluoresceínaaminohehexil amidada; BHQ: Black Hole Quencher), colorante de referencia Rox 1 µM (Invitrogen N° cat. 12223-012) y mezcla de polimerasa Thermoscript Plus Platinum Taq. Todos los cebadores se diseñaron con el programa ABI Prism 7700 y se obtuvieron de Biosearch Technologies, Novato, CA. Las muestras que contenían concentraciones conocidas de transcripción de ARN de VHC se tomaron como patrones. Usando el siguiente protocolo cíclico (50 °C, 30 min; 95 °C, 5 min; 40 ciclos de 95 °C, 15 s, 60 °C, 1 min), se cuantificó la expresión del ARN del VHC, como se describe en el manual de Perkin Elmer, usando el detector de secuencias ABI Prism 7700.

El ensayo de informador de luciferasa se usó también para confirmar la potencia del compuesto en el replicón. El uso de un ensayo de informador de luciferasa de replicón fue descrito por primera vez por Krieger et al (Krieger N, Lohmann V, y Bartenschlager R, J. Virol. 75(10): 4614-4624 (2001)). La construcción de replicón descrita para nuestro ensayo de FRET se modificó reemplazando el gen de resistencia de neomicina por el gen de resistencia de blasticidina, condensado al extremo N-terminal de la forma humanizada de luciferasa renilla (sitios de restricción Ascl/Pmel usados para la subclonación). Se introdujo también la mutación adaptativa en la posición 1179 (serina a iso-leucina) (Blight KJ, Kolykhalov, AA, Rice, CM, Science 290(5498): 1972-1974). El ensayo de informador de luciferasa se realizó sembrando células huh7 la noche anterior a una densidad de 2 x 10<sup>6</sup> células por matraz T75. Las células se lavaron el siguiente día con 7,5 ml de Opti-MEM. Siguiendo el protocolo de Invitrogen, se agitaron 40 µl de DMRIE-C vorticialmente con 5 ml de Opti-MEM antes de añadir 5 µg de ARN de replicón informador de VHC. La mezcla se añadió a las células huh7 lavadas y se dejó durante 4 horas a 37 °C. Mientras tanto, se prepararon diluciones en serie del compuesto y controles sin compuesto en DMEM que contenía FCS al 10 % y DMSO al 5 % en la placa de dilución (concentración final de DMSO en el ensayo 0,5 %). Las mezclas de compuesto / DMSO se añadieron a cada pocillo de una placa de 24 pocillos. Después de 4 horas, la mezcla de transfección se aspiró, y las células se lavaron con 5 ml de Opti-MEM antes de la tripsinización. Las células tripsinizadas se resuspendieron en DMEM al 10 % y se sembraron a 2 x 10<sup>4</sup> células/pocillo en las placas de 24 pocillos que contenían el compuesto o los controles sin compuesto. Las placas se incubaron durante 4 días. Después de 4 días, el medio se retiró y las células se lavaron con PBS. Se añadieron inmediatamente 100 µl de tampón de lisis de luciferasa renilla 1 x (Promega) a cada pocillo y las placas se congelaron a -80 °C para su análisis posterior, o se ensayaron después de 15 min de lisis. El lisado (40 µl) de cada pocillo se transfirió a una placa negra de 96 pocillos (fondo transparente) seguido de 200 µl de sustrato de ensayo de luciferasa renilla 1x. Las placas se leyeron inmediatamente en un Packard TopCount NXT, usando un programa de luminiscencia.

El porcentaje de inhibición se calculó usando la fórmula siguiente:

$$\% \text{ control} = \frac{\text{señal de luciferasa media en pocillos experimentales (compuesto +)}}{\text{señal de luciferasa media en pocillos de control DMSO (compuesto -)}}$$

señal de luciferasa media en pocillos de control DMSO (compuesto -)

Los valores se representaron gráficamente y se analizaron usando XLFit para obtener el valor de CE<sub>50</sub>.

#### Ejemplos biológicos

Los compuestos representativos de la invención se evaluaron en el ensayo de células de replicón del VHC y/o en varios de los ensayos de especificidad descritos anteriormente. Por ejemplo, se observó que el Compuesto 9 tenía una CI<sub>50</sub> de 128 nM frente a la cepa BMS del complejo proteasa NS3/4A en el ensayo enzimático descrito anteriormente. Se obtuvieron valores de potencia similares con las cepas publicadas H77 (CI<sub>50</sub> de 62 nM) y J4L6S (CI<sub>50</sub> de 41 nM). El valor de CE<sub>50</sub> en el ensayo de replicón fue de 403 nM. En los ensayos de especificidad, se observó que el Compuesto 9 tenía la siguiente actividad: HNE = 46 µM; PPE > 200 µM; quimi tripsina > 200 µM; catepsina B > 50 µM (ensayo de interferencia a concentraciones más altas). Estos resultados indican que esta familia de compuestos son altamente específicos para la proteasa NS3 y que tienen utilidad para inhibir la replicación del replicón de VHC.

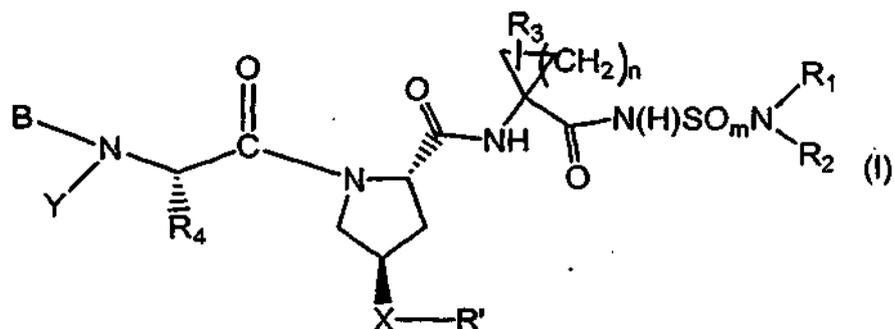
**[0275]** Los compuestos inhibidos presentados a continuación se ensayaron para determinar la actividad biológica de acuerdo con el ensayo celular del replicón de VHC descrito más arriba y se determinó que tenían las actividades presentadas en la siguiente Tabla 2. Los intervalos de actividad se clasificaron en los siguientes grupos: para CI<sub>50</sub> y CE<sub>50</sub>, A (menos activo) >1,5 µM; B 0,15-1,5 µM; C (más activo) < 0,15 µM. Preferentemente, los valores CI<sub>50</sub> son de aproximadamente 0,001-1 µM y más preferentemente menos de 0,1 µM. Preferentemente, los valores CE<sub>50</sub> son desde aproximadamente 0,001 a 25 µM, más preferentemente desde aproximadamente 0,001-1 µM y más preferentemente menos de aproximadamente 0,1 M.

ES 2 380 934 T3

Comp.	Intervalo de actividad CI50	Intervalo de actividad CE50	
1	C	C	
2	C	B	
3	C	C	
4	C	B	
5	C	C	
6	C	B	
7	C	B	
8	C	B	
9	C	B	
10	C	B	
11	B	A	
12	B		
13	B	A	
14	C	C	
15	C	C	
16	C	C	
17	C	B	
18	C	C	
19	C	C	
20	C	C	
21	B	B	
22	B		
23	C	C	

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula



en la que:

- 5 (a)  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno de ellos independientemente alquilo  $C_{1-8}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, cicloalquil  $C_{9-14}$  arilo, alcoxi  $C_{7-14}$  arilo, cicloalcoxi  $C_{9-14}$  arilo, heteroarilo o alquil  $C_{7-14}$  heteroarilo de 5 a 7 miembros; o  $R_1$  y  $R_2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros;
- 10 (b)  $m$  es 1 ó 2;
- (c)  $n$  es 1 ó 2;
- (d)  $R_3$  es H o alquilo  $C_{1-6}$ , alqueno  $C_{2-6}$  o cicloalquilo  $C_{3-7}$ , cada uno de ellos sustituido opcionalmente con halógeno; o  $R_3$  junto con el átomo de carbono al que está unido forma un grupo cicloalquilo  $C_{3-7}$  sustituido opcionalmente con alqueno  $C_{2-6}$ ;
- 15 (e)  $R_4$  es alquilo  $C_{1-8}$  sustituido opcionalmente con halo, ciano, amino, dialquil  $C_{1-6}$  amino, arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , carboxi, hidroxilo, ariloxi, alquil  $C_{7-14}$  ariloxi, alquil  $C_{2-6}$  éster o alquil  $C_{8-15}$  ariléster; alqueno  $C_{3-12}$ ; cicloalquilo  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, en donde el cicloalquilo o el alquilocicloalquilo están sustituidos opcionalmente con hidroxilo, alquilo  $C_{1-6}$ , alqueno  $C_{2-6}$  o alcoxi  $C_{1-6}$ ;
- (f)  $Y$  es H, fenilo sustituido con nitro, piridil sustituido con nitro o alquil  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente con ciano, hidroxilo o cicloalquilo  $C_{3-7}$ , con la condición de que si  $R_5$  o  $R_6$  es H, entonces  $Y$  es H;
- 20 (g)  $B$  es H, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $R_5-C(=O)-$ ,  $R_5O(C=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=O)-$ ,  $R_5-N(R_6)-C(=S)-$ ,  $R_5SO_2-$  o  $R_5-N(R_6)-SO_2-$ ;
- (h)  $R_5$  es (i) alquilo  $C_{1-10}$  sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanilo  $C_{1-6}$ , 1-3 halógeno, hidroxilo, -OC(O)alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , amido o (alquilo inferior)amido; (ii) cicloalquilo  $C_{3-7}$ , cicloalcoxi  $C_{3-7}$  o alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi  $C_{1-6}$ )carbonilo, amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , amido o (alquilo inferior) amido; (iii)
- 25 arilo  $C_{6-10}$  o aril  $C_{7-16}$  alquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, nitro, hidroxilo, amido, (alquilo inferior) amido o amino sustituido opcionalmente con alquilo  $C_{1-6}$ ; (iv) Het; (v) biciclo(1.1.1)pentano o (vi) -C(O)O alquilo  $C_{1-6}$ , alqueno  $C_{2-6}$  o alquinilo  $C_{2-6}$ ;
- (i)  $R_6$  es H; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos o alcoxi  $C_{1-6}$  con la condición de que  $R_5$  es alquilo  $C_{1-10}$ ;
- 30 (j)  $X$  es O, S, SO, SO<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>O o NH;
- (k)  $R'$  es Het, arilo  $C_{6-10}$  o alquil  $C_{7-14}$  arilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con  $R^a$  y
- (l)  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , cicloalcoxi  $C_{3-7}$ , halo-alquilo  $C_{1-6}$ , CF<sub>3</sub>, mono-haloalcoxi  $C_{1-6}$  o di-halo-alcoxi  $C_{1-6}$ , ciano, halo, tioalquilo, hidroxilo, alcanilo, NO<sub>2</sub>, SH, amino, alquil  $C_{1-6}$  amino, dialquil (C<sub>1-6</sub>) amino, dialquil (C<sub>1-6</sub>) amida, carboxilo, carboxiéster (C<sub>1-6</sub>), alquil  $C_{1-6}$  sulfona, alquil  $C_{1-6}$  sulfonamida, dialquil (C<sub>1-6</sub>)
- 35 (alcoxi)amina, arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros;
- en la que

"sustituido" es sustitución en de uno al máximo número de sitios de unión posibles del núcleo, por ejemplo,

monosustituido, disustituido, trisustituido o tetrasustituido;

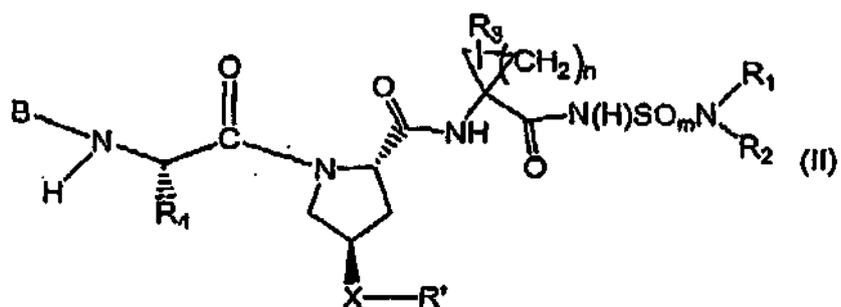
"alquilo inferior" es un grupo alquilo que tiene de uno a seis átomos de carbono y

- 40 "heterociclo", también denominado "Het", es heterociclos bicíclicos de 7 a 12 miembros y heterociclos monocíclicos de 5 a 7 miembros;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno de ellos independientemente alquilo  $C_{1-8}$ , cicloalquilo  $C_{3-7}$ , alquil  $C_{4-10}$  cicloalquilo, alcoxi  $C_{1-6}$ , arilo  $C_{6-10}$ , alquil  $C_{7-14}$  arilo, heteroarilo o alquil  $C_{7-14}$  heteroarilo de 5 a 7 miembros o;  $R_1$  y  $R_2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros.
- 45

3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-8</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros o; R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 5 a 6 miembros.
- 5 4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sub>3</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>2-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-7</sub>.
5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que R<sub>3</sub> es alqueno C<sub>2-6</sub>.
6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub> sustituido opcionalmente con arilo C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, carboxi, hidroxilo, ariloxi, alquil C<sub>7-14</sub> ariloxi, alquil C<sub>2-6</sub> éster o alquil C<sub>8-15</sub> ariléster; alqueno C<sub>3-12</sub>; cicloalquilo C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo.
- 10 7. El compuesto de la reivindicación 6, en el que R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub> sustituido opcionalmente con alcoxi C<sub>1-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-7</sub>.
8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que Y es H.
9. El compuesto de la reivindicación 1, en el que B es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, R<sub>5</sub>-(C=O)-, R<sub>5</sub>O(C=O)-, R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-C(=O)-, R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-C(=S)-, R<sub>5</sub>SO<sub>2</sub>-, o R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-SO<sub>2</sub>-.
- 15 10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que B es R<sub>5</sub>-(C=O)-, R<sub>5</sub>O(C=O)- o R<sub>5</sub>-N(R<sub>6</sub>)-C(=O)-.
11. El compuesto de la reivindicación 10, en el que B es R<sub>5</sub>O(C=O)- y R<sub>5</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>.
12. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sub>5</sub> es (i) alquilo C<sub>1-10</sub> sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanoilo C<sub>1-6</sub>, 1-3 halógeno, hidroxilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>; (ii) cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, cicloalcoxi C<sub>1-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo o (iii) arilo C<sub>6-10</sub> o aril C<sub>7-16</sub> alquilo, cada uno de ellos sustituido opcionalmente con alquilo C<sub>1-6</sub> o halógeno.
- 20 13. El compuesto de la reivindicación 12, en el que R<sub>5</sub> es (i) alquilo C<sub>1-10</sub> sustituido opcionalmente con 1-3 halógeno o alcoxi C<sub>1-6</sub> o (ii) cicloalquilo C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo.
14. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sub>6</sub> es H o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos.
15. El compuesto de la reivindicación 14, en el que R<sub>6</sub> es H.
- 25 16. El compuesto de la reivindicación 1, en el que X es O o NH.
17. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R' es Het o arilo C<sub>6-10</sub> sustituido opcionalmente con R<sup>a</sup>.
18. El compuesto de la reivindicación 17, en el que R' es Het.
19. El compuesto de la reivindicación 18, en el que el heterociclo contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre o un átomo de oxígeno en el anillo.
- 30 20. El compuesto de la reivindicación 19, en el que el heterociclo está sustituido con al menos uno de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.
21. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo-alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, amino, arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.
22. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula



35 en la que:

(a) R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-8</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros o; R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de

nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 4 a 8 miembros.

(d) R<sub>3</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>2-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-7</sub>;

(e) R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub> sustituido opcionalmente con arilo C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, carboxi, hidroxilo, arilo, alquil 7-14 arilo, alquil C<sub>2-6</sub> éster, alquil C<sub>8-15</sub> ariléster; alqueno C<sub>3-12</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo;

5 (g) R<sub>5</sub> es (i) alquilo C<sub>1-10</sub> sustituido opcionalmente con fenilo, carboxilo, alcanoilo C<sub>1-6</sub>, 1-3 halógeno, hidroxilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>; (ii) cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, cicloalcoxi C<sub>3-7</sub> o alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo o (iii) arilo C<sub>6-10</sub> o arilalquilo C<sub>7-16</sub>, cada uno de ellos sustituidos opcionalmente con alquilo C<sub>1-6</sub> o halógeno;

(h) R<sub>6</sub> es H o arilo C<sub>1-6</sub> sustituido opcionalmente con 1-3 halógenos;

(i) X es O o NH;

10 (j) R' es Het o arilo C<sub>6-10</sub> sustituido opcionalmente con R<sup>a</sup>; y

(k) R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo-alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, amino, arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

15 23. El compuesto de la reivindicación 22, en el que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-8</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros; o R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 5 a 6 miembros.

24. El compuesto de la reivindicación 23, en el que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-3</sub> o alcoxi C<sub>1-3</sub>.

20 25. El compuesto de la reivindicación 22, en el que R' es un heterociclo bicíclico.

26. El compuesto de la reivindicación 25, en el que el heterociclo contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre o un átomo de oxígeno en el anillo.

27. El compuesto de la reivindicación 25, en el que el heterociclo está sustituido con al menos uno de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6</sub> y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

25 28. El compuesto de la reivindicación 22, en el que R' es un heterociclo bicíclico que contiene 1 átomo de nitrógeno y está sustituido con metoxi y al menos uno de arilo C<sub>6</sub> y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

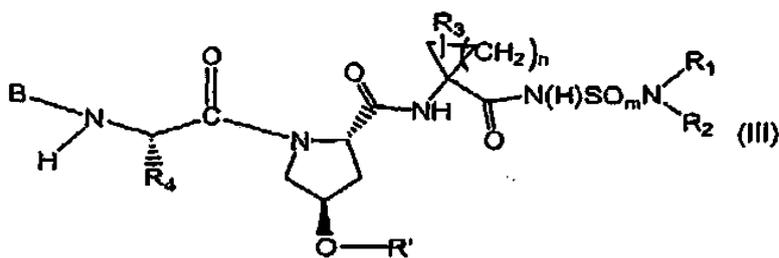
29. El compuesto de la reivindicación 22, en el que R' es un heterociclo monocíclico.

30. El compuesto de la reivindicación 29, en el que el heterociclo contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre o un átomo de oxígeno en el anillo.

30 31. El compuesto de la reivindicación 29, en el que el heterociclo está sustituido con al menos uno de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

32. El compuesto de la reivindicación 22, en el que R' es un heterociclo monocíclico que contiene 1 ó 2 átomos de nitrógeno y está sustituido con metoxi y al menos uno de arilo C<sub>6</sub> y un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.

33. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula



35 en la que:

(a) R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-8</sub>, alquil C<sub>4-10</sub> cicloalquilo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, arilo C<sub>6-10</sub>, alquil C<sub>7-14</sub> arilo, heteroarilo o alquil C<sub>7-14</sub> heteroarilo de 5 a 7 miembros o; R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, se unen para formar un heterociclo monocíclico de 5 a 6 miembros.

40 (d) R<sub>3</sub> es alqueno C<sub>2-6</sub>;

(e) R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1-8</sub>;

(f) B es R<sub>5</sub>O(C=O)- o R<sub>5</sub>-NH-C(=O)-;

(g) R<sub>5</sub> es alquilo C<sub>1-10</sub>;

(h) R' es un heterociclo bicíclico sustituido opcionalmente con R<sup>a</sup>; y

45 (i) R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, halo, arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros; o una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo.

34. El compuesto de la reivindicación 33, en el que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de ellos independientemente alquilo C<sub>1-3</sub> o alcoxi C<sub>1-3</sub>.
35. El compuesto de la reivindicación 34, en el que R<sub>1</sub> es metilo.
36. El compuesto de la reivindicación 34, en el que R<sub>2</sub> es metilo o metoxi.
- 5 37. El compuesto de la reivindicación 33, en el que R<sub>3</sub> es vinilo.
38. El compuesto de la reivindicación 33, en el que R<sub>4</sub> es t-butilo.
39. El compuesto de la reivindicación 33, en el que R<sub>5</sub> es t-butilo.
40. El compuesto de la reivindicación 33, en el que R' es quinolina o isoquinolina sustituida opcionalmente con R<sup>a</sup>.
- 10 41. El compuesto de la reivindicación 31, en el que R<sub>1</sub> es metilo, R<sub>2</sub> es metoxi, R<sub>3</sub> es vinilo, R<sub>4</sub> es t-butilo, R<sub>5</sub> es t-butilo y R' es isoquinolina sustituida con al menos un R<sup>a</sup>.
42. El compuesto de la reivindicación 41, en el que R<sup>a</sup> es alcoxi C<sub>1-6</sub>.
43. El compuesto de la reivindicación 42, en el que R<sup>a</sup> incluye además al menos uno de arilo C<sub>6</sub> o un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros.
- 15 44. Una composición que comprende el compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
45. La composición de acuerdo con la reivindicación 44 que comprende además otro compuesto que tiene actividad anti-VHC.
46. La composición de acuerdo con la reivindicación 44 que comprende además un interferón y ribavirina.
- 20 47. Uso del compuesto de la reivindicación 1, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección por el VHC en un paciente.
48. El uso de acuerdo con la reivindicación 47, en el que el compuesto es efectivo para inhibir el funcionamiento de la serina proteasa del VHC.
- 25 49. El uso de acuerdo con la reivindicación 47, en el que el medicamento comprende además otro compuesto que tiene actividad anti-VHC para la administración antes, después o simultáneamente con el compuesto de la reivindicación 1.
50. La composición de acuerdo con la reivindicación 45 o el uso de acuerdo con la reivindicación 49, en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es un interferón.
- 30 51. La composición o el uso de acuerdo con la reivindicación 50, en el que el interferón se selecciona del grupo constituido por interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón tau linfoblastoide.
- 35 52. La composición de acuerdo con la reivindicación 45 o el uso de acuerdo con la reivindicación 49, en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC se selecciona del grupo constituido por interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que fomenta el desarrollo de una respuesta de linfocitos T cooperadores tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, Imiqimod, ribavirina, un inhibidor de la inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
53. La composición de acuerdo con la reivindicación 45 o el uso de acuerdo con la reivindicación 49, en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es una molécula pequeña.
- 40 54. La composición o el uso de acuerdo con la reivindicación 53, en el que el compuesto que tiene actividad anti-VHC es efectiva para inhibir el funcionamiento de una diana seleccionada del grupo constituido por metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC, IMPDH y un nucleósido del VHC.
55. La composición o el uso de acuerdo con la reivindicación 53, en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es efectivo para inhibir el funcionamiento de la diana en el ciclo de vida del VHC distinto a la serina proteasa del VHC.
- 45 56. Uso de la composición de la reivindicación 44 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección por el VHC en un paciente.