

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 054**

51 Int. Cl.:
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06734492 .9**
96 Fecha de presentación: **07.02.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1863793**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.12.2007**

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

30 Prioridad:
08.02.2005 US 650798 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.10.2012

73 Titular/es:
**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
ROUTE 206 AND PROVINCE LINE ROAD
PRINCETON NJ 08543-4000, US**

72 Inventor/es:
**SIN, NY;
GOOD, ANDREW;
VENABLES, BRIAN;
SCOLA, PAUL y
MEANWELL, NICHOLAS**

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 389 054 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 de virus de hepatitis C

La presente invención divulga de manera general compuestos antivíricos, y de manera más específica está destinada a compuestos que inhiben la función de la proteasa NS3 (también denominada en el presente documento "proteasa de serina") codificada por el virus de la Hepatitis C (HCV), composiciones que comprenden dichos compuestos, y procedimientos para inhibir la función de la proteasa NS3.

HCV es un patógeno humano principal, que infecta a una población estimada de 170 millones de personas en todo el mundo - aproximadamente cinco veces el número infectado por el virus de inmunodeficiencia humana de tipo 1. Una fracción sustancial de los presentes individuos infectados por HCV desarrollan enfermedades hepáticas con evolución grave, incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular (Lauer, G.M.; Walker, B. D.N. Engl. J. Med. 2001, 345, 41-52).

En la actualidad la terapia de HCV más eficaz emplea una combinación de alfa-interferón y ribavirina, que conduce a una eficacia sostenida en el 40 % de los pacientes. (Poynard, T. y col. Lancet 1998, 352, 1426-1432). Resultados clínicos recientes demuestran que el alfa-interferón pegilado resulta superior al alfa-interferón no modificado desde el punto de vista de monoterapia (Zeuzem, S. y col. N. Engl. J. Med. 2000, 343, 1666-1672). No obstante, incluso con regímenes terapéuticos experimentales que implican combinaciones de alfa-interferón pegilado y ribavirina, una fracción sustancial de pacientes no presentan una reducción sostenida de la carga vírica. De este modo, existe una necesidad clara y no satisfecha de desarrollar sustancias terapéuticas eficaces para el tratamiento de la infección por HCV.

HCV es un virus de ARN catenario positivo. En base a una comparación de la secuencia de aminoácidos deducida y la similitud extensiva en la región 5' no sometida a traslación, HCV ha sido clasificado como un gen separado de la familia Flaviviridae. Todos los miembros de la familia Flaviviridae presentan viriones con envoltura que contienen un genoma de ARN catenario positivo que codifica todas las proteínas conocidas específicas del virus por medio de traslación de un marco de lectura único, abierto y no interrumpido.

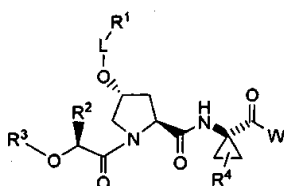
Se encuentra heterogeneidad considerable dentro del nucleótido y de la secuencia de aminoácidos codificada a lo largo de todo el genoma de HCV. Se han caracterizado seis genotipos principales, y se han descrito más de cincuenta subtipos. Los genotipos principales de HCV difieren en su distribución en todo el mundo, y la importancia clínica de la heterogeneidad genética de HCV sigue siendo difícil de conseguir a pesar de los numerosos estudios del posible efecto de los genotipos sobre la patogénesis y la terapia.

El genoma de ARN de HCV de cadena sencilla presenta una longitud de aproximadamente 9500 nucleótidos y tiene un marco de lectura abierto y único (ORF) que codifica una poliproteína grande sencilla de aproximadamente 3000 aminoácidos. En células infectadas, la presente poliproteína se encuentra escindida en múltiples sitios por medio de las proteasas celulares y víricas, para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso de HCV, la generación de proteínas no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se lleva a cabo por parte de dos proteasas víricas. La primera provoca escisión en la unión NS2-NS3; la segunda es una proteasa de serina presente en el interior de la región N-terminal de NS3 y actúa como mediador en todas las escisiones posteriores aguas abajo de NS3, tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para los restantes sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B. Parece que la proteína NS4A sirve para múltiples funciones, actuando como cofactor para la proteasa NS3 y posiblemente contribuyendo en la localización de membrana de NS3 y otros componentes de la replicasa vírica. La formación compleja de la proteína NS3 con la NS4A resulta esencial para el procesado eficaz de poliproteína, mejorando la escisión proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también exhibe actividades de nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B es una ARN polimerasa que depende de ARN que se encuentra implicada en la replicación de HCV.

En J. Met. Chem. 2004, 47, 6584-6594 se divulgan compuestos de tripéptido que son inhibidores potentes y específicos de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C. Se ha comprobado que los inhibidores que contienen un resto de urea N terminal se unen de la manera más eficaz a la enzima.

El documento de EE.UU. 2002/0111313 divulga compuestos de tripéptido que son inhibidores del virus de la hepatitis C mientras que el documento WO 2006/007700 divulga dipéptidos inhibidores de hepatitis C.

Un primer aspecto de la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I)



o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, en la que
L se encuentra ausente o -C(O)-;

R¹ es heteroarilo o heterociclo en el que heteroarilo y heterociclilo se encuentran sustituidos de manera opcional con uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxilo, mercapto, -NR^aR^b, (NR^aR^b)alquilo y (NR^cR^d)carbonilo;

R² es seleccionado entre hidrógeno, alqueno, alcoxialquilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo, alquilaminoalquilo, aminoalquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo; dialquilaminoalquilo, haloalcoxialquilo, haloalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclilo y heterocicilalquilo;

R³ es R⁵-NH-C(O)-;

R⁴ es seleccionado entre hidrógeno, alqueno, alquilo, cicloalquilo, haloalqueno y haloalquilo;

R⁵ es seleccionado entre alquilo, arilo, arilalquilo, carboxialquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalcoxialquilo, haloalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclilo y heterocicilalquilo;

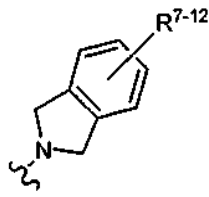
uno de R^a y R^b es seleccionado entre hidrógeno, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, arilalquilo, arilcarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, formilo y (NR^cR^d)carbonilo y el otro es seleccionado entre hidrógeno, alquilo y cicloalquilo;

R^c y R^d están seleccionados cada uno de forma independiente entre hidrógeno y alquilo; y

W es -NH-SO_n-R⁶, en la que N es 1 ó 2 y R⁶ es seleccionado entre alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heteroarilo, heterociclilo y NR^aR^b.

En una realización del primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) en la que R³ es R⁵-NH-C(O)-; W es -NH-SO_n-R⁶, y L es -C(O)-.

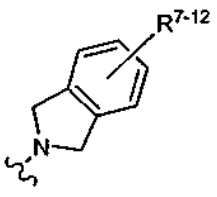
En otra realización del primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) en la que R³ es R⁵-NH-C(O)-; W es -NH-SO_n-R⁶, L es -C(O)-; y R¹ es



en la que

R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxilo, mercapto, -NR^aR^b, (NR^aR^b)alquilo y (NR^cR^d)carbonilo.

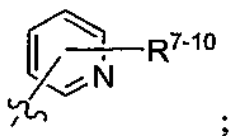
En otra realización del primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) en la que R³ es R⁵-NH-C(O)-; W es -NH-SO_n-R⁶, L es -C(O)-; y R¹ es



en la que uno de R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² es halo y el resto son hidrógeno.

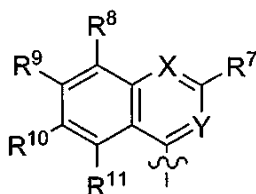
En otra realización del primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) en la que R³ es R⁵-NH-C(O)-; W es -NH-SO_n-R⁶, L se encuentra ausente.

En otra realización del primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) en la que R³ es R⁵-NH-C(O)-; W es -NH-SO_n-R⁶; L se encuentra ausente y R¹ es



5 en la que R^7 , R^8 , R^9 y R^{10} son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxí, mercapto, NR^aR^b , (NR^aR^b) alquilo y (NR^cR^d) carbonilo.

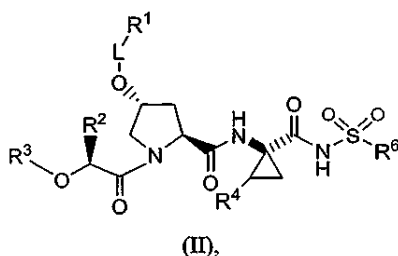
En otra realización del primer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) en la que R^3 es $R^5-NH-C(O)-$; W es $-NH-SO_n-R^6$, L es $-C(O)-$; y R^1 es



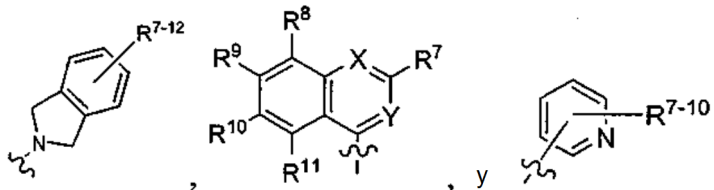
10 en la que
 X es seleccionado entre N y CR^{12} ;
 Y es seleccionado entre N y CH ; y

15 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} y R^{12} son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxí, mercapto, $-NR^aR^b$, (NR^aR^b) alquilo y (NR^cR^d) carbonilo.

Un segundo aspecto de la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (II)



o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, en la que R^1 es seleccionado entre



20 L se encuentra ausente o $-C(O)-$;
 X es seleccionado entre N y CR^{12} ;
 Y es seleccionado entre N y CH ; y
 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} y R^{12} son seleccionados cada uno de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, arilo, halo y heteroarilo;
 R^2 es seleccionado entre alcoxialquilo, alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo y heteroarilalquilo;
 R^3 es $R^5-NH-C(O)-$;
 R^4 es alquenilo o alquilo;
 R^5 es seleccionado entre alquenilo, alquilo, arilo, cicloalquilo y heteroarilalquilo;
 R^6 es seleccionado entre arilo, cicloalquilo, heteroarilo y $-NR^aR^b$; y
 R^a y R^b son alquilo.

- En un tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente y un vehículo aceptable farmacéuticamente.
- 5 En otra realización del tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente y un vehículo aceptable farmacéuticamente, un interferón y ribavirina.
- En otra realización del tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, un vehículo aceptable farmacéuticamente y un segundo compuesto que presenta actividad anti-HCV.
- 10 En otra realización del tercer aspecto el segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV es un interferón.
- En otra realización del tercer aspecto el interferón es seleccionado entre interferón alfa 2B, interferón pegilado alfa, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón linfoblástoide tau.
- 15 En otra realización del tercer aspecto el segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV es seleccionado entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de un agente de ayuda de respuesta celular T de tipo 1, ARN interferente, ARN de antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosin 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- En un cuarto aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula I o II para su uso en un procedimiento de inhibición de la función de serina proteasa HCV que comprende poner en contacto la Serina proteasa HCV con un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente.
- 20 En un quinto aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula I o II para su uso en un procedimiento de tratamiento de la infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz terapéuticamente de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente.
- En una realización del quinto aspecto el compuesto resulta eficaz para inhibir la función de la Serina proteasa HCV.
- 25 En otra realización del quinto aspecto el compuesto además comprende usar un segundo compuesto que presenta actividad anti-HCV antes de, después de o de forma simultánea con el compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente.
- En otra realización del sexto aspecto el segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV es un interferón.
- 30 En otra realización del sexto aspecto el interferón es seleccionado entre interferón alfa 2B, interferón pegilado alfa, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón de linfoblástoide tau.
- En otra realización del sexto aspecto el procedimiento además comprende administrar un segundo compuesto que presenta actividad anti-HCV antes de, después de o de manera simultánea con el compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, en el que el segundo compuesto que presenta actividad anti-HCV es seleccionado entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de un agente de ayuda de respuesta celular T de tipo 1, ARN interferente, ARN de antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosin 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 35 En un séptimo aspecto la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección por HCV en un paciente.
- 40 En un octavo aspecto la presente divulgación proporciona el uso de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, y un vehículo aceptable farmacéuticamente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección por HCV en un paciente.
- A menos que se especifique lo contrario en el presente documento los términos que se explican a continuación presentan las siguientes definiciones.
- Según se usa en el presente documento las formas singulares "un", "una", "el" y "ella" incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.
- 45 El término "alqueniilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de cadena lineal o ramificada de dos a ocho átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono.
- El término "alcoxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de oxígeno.
- 50 El término "alcoxialquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos alcoxi.

- El término "alcoxicarbonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi unido al resto molecular padre a través de un grupo carbonilo.
- El término "alcoxicarbonilalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos alcoxicarbonilo.
- 5 El término "alcoxicarboniloxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxicarbonilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de oxígeno.
- El término "alquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo procedente de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a ocho átomos de carbono.
- 10 El término "alquilamino", según se usa en el presente documento, se refiere a $-NR^xR^y$, en la que R^x y R^y es hidrógeno y el otro es un grupo alquilo.
- El término "alquilaminoalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos alquilamino.
- El término "alquilcarbonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular padre a través de un grupo carbonilo.
- 15 El término "alquilsulfanilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de azufre.
- El término "alquilsulfonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular padre a través de un grupo sulfonilo.
- El término "amino", según se usa en el presente documento, se refiere a $-NH_2$.
- 20 El término "aminoalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos amino.
- El término "arilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo, o un sistema de anillo condensado en el que uno o ambos anillos es un grupo fenilo. Los sistemas de anillo bicíclicos condensados consisten en un grupo fenilo condensado a un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros. Los grupos arilo de la presente divulgación pueden estar unidos al resto molecular padre a través de cualquier átomo de carbono apto para sustitución en el grupo. Ejemplos representativos de grupos arilo incluyen, pero sin limitarse a, indanilo, indenilo, naftilo, fenilo y tetrahidronaftilo. Los grupos arilo de la presente divulgación pueden estar sustituidos de manera opcional con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alquilo, un segundo arilo, carboxi, carboxialcoxi, carboxialquilo, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heterociclilo, hidroxí, hidroxialquilo, nitro, $-NR^aR^b$, (NR^aR^b) alcoxi, (NR^aR^b) alquilo, (NR^cR^d) carbonilo y oxo; en el que el segundo grupo arilo, el heteroarilo y el heterociclilo pueden estar sustituidos además de manera opcional con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi y nitro.
- 25 El término "arilalcoxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilalquilo unido al resto molécula padre a través de un átomo de oxígeno.
- 30 El término "arilalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos arilo.
- El término "arilcarbonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo unido al resto molecular padre a través de un grupo carbonilo.
- 40 El término "arilsulfonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo unido al resto molecular padre a través de un grupo sulfonilo.
- El término "carbonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)-$.
- El término "carboxi", según se usa en el presente documento, se refiere a $-CO_2H$.
- 45 El término "carboxialcoxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo carboxialquilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de oxígeno.
- El término "carboxialquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos carboxi.
- El término "ciano", según se usa en el presente documento, se refiere a $-CN$.
- El término "cicloalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo de hidrocarburo

monocíclico, bicíclico o tricíclico, saturado que tiene de tres a siete átomos de carbono y cero heteroátomos. Ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitarse a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y biciclo[3.1.1]heptilo. Los grupos cicloalquilo de la presente divulgación pueden estar sustituidos de manera opcional con uno o dos grupos (cicloalquil)alquilo no sustituidos o un grupo haloalquilo.

5 El término "(cicloalquil)alquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos cicloalquilo.

El término "dialquilamino", según se usa en el presente documento, se refiere a NR^xR^y en los que R^x y R^y son grupos alquilo iguales o diferentes.

10 El término "dialquilaminoalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo sustituido con uno, dos o tres grupos dialquilamino.

El término "formilo", según se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)H$.

El término "halo", según se usa en el presente documento, se refiere a F, Cl, Br o I.

El término "haloalqueno", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alqueno sustituido con uno, dos, tres o cuatro átomos de halógeno.

15 El término "haloalcoxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de oxígeno.

El término "haloalcoxialquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos haloalcoxi.

20 El término "haloalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos, tres o cuatro átomos de halógeno.

25 El término "heteroarilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un anillo aromático de cinco o seis miembros en el que al menos un átomo es seleccionado entre N, O y S y el resto de átomos son carbono. El término "heteroarilo" también incluye sistemas bicíclicos en los que un anillo heteroarilo está condensado a un anillo aromático o no aromático de cuatro a seis miembros que contiene cero, uno o dos heteroátomos adicionales seleccionados entre N, O y S. Los grupos heteroarilo se encuentran unidos al resto molecular padre a través de cualquier átomo de carbono o nitrógeno del grupo. Ejemplos representativos de grupos heteroarilo incluyen, pero sin limitarse a, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, furanilo, imidazolilo, indolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, oxazolilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridinilo, pirimidinilo, pirrolilo, quinolinilo, tiazolilo, tienilo y triazolilo. A menos que se especifique lo contrario, los grupos heteroarilo de la presente divulgación pueden estar sustituidos de manera opcional con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilo, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo, un heteroarilo secundario, heterociclilo, nitro, $-NR^aR^b$ y oxo: en el que el arilo, el segundo heteroarilo y el heterociclilo pueden además estar sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalquilo, haloalcoxi y nitro.

35 El término "heteroarilalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos heteroarilo.

El término "heteroarilcarbonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heteroarilo unido al resto molecular padre a través de un grupo carbonilo.

40 El término "heteroariloxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heteroarilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de oxígeno.

45 El término "heterociclilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo de tres, cuatro, cinco, seis o siete miembros, saturado o parcialmente insaturado, no aromático y cíclico en el que al menos un átomo es seleccionado entre oxígeno, nitrógeno y azufre. El término "heterociclilo" también incluye sistemas bicíclicos en los que el anillo heterociclilo está condensado a un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros o un sistema de anillo no aromático de cuatro a seis miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los grupos heterociclilo de la divulgación se encuentran unidos al grupo molecular padre a través de cualquier átomo de carbono o nitrógeno apto para sustitución del grupo. Ejemplos representativos de grupos heterociclilo incluyen, pero sin limitarse a, azetidínilo, benzodioxolilo, benzotiazolilo, diazepínilo, dihidrobenzodioxínilo, dihidrobenzofuranilo, dihidroindolilo, dihidropiridinilo, 1,3-dioxanilo, 1,4-dioxanilo, morfolinilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidroisoquinolinilo y tiomorfolinilo. A menos que se especifique lo contrario, los grupos heterociclilo de la presente divulgación pueden estar sustituidos de manera opcional con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alquilo, arilo, arilalcoxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, un segundo heterociclilo, hidroxilo, nitro- NR^aR^b y oxo; en el que el arilo, la parte de arilo del

arilalcoxi, el heteroarilo y el segundo heterociclilo pueden además estar sustituidos de manera opcional con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo y nitro.

5 El término "heterociclilalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos heterociclilo.

El término "hidroxi", según se usa en el presente documento, se refiere a -OH.

El término "hidroxialquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos hidroxi.

El término "mercapto", según se usa en el presente documento, se refiere a -SH.

10 El término "nitro", según se usa en el presente documento, se refiere a -NO₂.

El término "-NR^aR^b", según se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^a y R^b que se encuentran unidos al resto molecular padre a través de un átomo de nitrógeno. R^a y R^b son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alilsulfonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, formilo y (NR^cR^d)carbonilo.

15 El término "(NR^aR^b)alcoxi", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo (NR^aR^b)alquilo unido al resto molecular padre a través de un átomo de oxígeno.

El término "(NR^aR^b)alquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos NR^aR^b.

20 El término "-NR^cR^d", según se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^c y R^d, que se encuentran unidos al resto molecular padre a través de un átomo de nitrógeno. R^c y R^d son seleccionados cada uno de forma independiente entre hidrógeno y alquilo. +

El término "(NR^cR^d)carbonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -NR^cR^d unido al resto molecular padre a través de un grupo carbonilo.

El término "oxo", según se usa en el presente documento, se refiere a (=O).

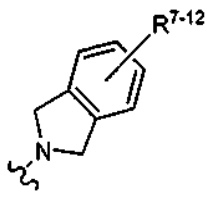
25 El término "sulfonilo", según se usa en el presente documento, se refiere a -SO₂-.

La descripción de la divulgación del presente documento debe entenderse en congruencia con la normativa y principios de la unión química. Por ejemplo, puede resultar necesario retirar un átomo de hidrógeno con el fin de acomodar un sustituyente en cualquier ubicación dada.

30 De manera adicional, se entiende que las estructuras mostradas en la presente divulgación adoptan la valencia apropiada para todos los átomos. Por ejemplo, se entiende que la siguiente estructura muestra el compuesto dimetilamina, aunque no se muestren los átomos de hidrógeno:



De igual forma, cuando se muestra una estructura de la siguiente forma:



35 debería entenderse que los sustituyentes, es decir, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² pueden estar unidos a cualquier átomo apto para sustitución en cualquier anillo del sistema bicíclico.

Debería entenderse que cualquier sustituyente se puede unir en cualquiera y en todos los puntos de unión del sustituyente, a menos que se especifique lo contrario.

40 Debería entenderse que los compuestos englobados por la presente divulgación son los que son químicamente estables.

Los compuestos de la presente divulgación pueden existir en forma de sales aceptables farmacéuticamente. La expresión "sal aceptable farmacéuticamente", según se usa en el presente documento, representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente divulgación que son solubles o dispersables en agua o en aceite, que se encuentran, dentro del alcance del juicio médico, apropiados para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación que corresponde a una proporción de riesgo/beneficio razonable, y son eficaces para el uso pretendido. Las sales se pueden preparar durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos o, por separado, haciendo reaccionar un átomo de nitrógeno apropiado con un ácido adecuado. Sales de adición ácidas representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metanosulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalensulfonato, oxalato, palmato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succionato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluensulfonato y undecanoato. Ejemplos de ácidos que se pueden emplear para formar sales de adición aceptables farmacéuticamente incluyen ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico y ácidos orgánicos tales como oxálico, maleico, succínico y cítrico.

Se pueden preparar sales de adición básica durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos haciendo reaccionar un grupo carboxi con una base apropiada tal como hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico o con amoniaco o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Los cationes de sales aceptables farmacéuticamente incluyen litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, así como también cationes de amina cuaternaria no tóxicos tales como amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, dietilamina, etiamina, tributilamina, piridina, N,N-dimetilanilina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dicitclohexilamina, procaína, dibencilamina, N,N-dibencilfenetilamina y N,N'-dibenciletildiamina. Otras aminas orgánicas representativas útiles en la formación de sales de adición básicas incluyen etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina y piperazina.

Según se usa en el presente documento, la expresión "actividad anti-HCV" significa que el compuesto es un análogo de nucleósido y/o resulta eficaz para inhibir la función de una o más dianas seleccionadas entre HCV metaloproteasa, Serina proteasa HCV, HCV polimerasa, HCV helicasa, proteína NS4B de HCV, entrada de HCV, ensamblaje de HCV, salida de HCV, proteína NS5A de HCV y IMPDH.

La expresión "compuestos de la divulgación" y expresiones equivalentes, se entiende que engloba los compuestos de fórmula (I), y enantiómeros, diastereoisómeros y sus sales aceptables farmacéuticamente. De manera similar, se entiende que las referencias a los intermedios engloban sus sales donde el contexto así lo permita.

El término "paciente" incluye tanto seres humanos como otros mamíferos.

La expresión "composición farmacéutica" significa una composición que comprende un compuesto de la divulgación en combinación con al menos un vehículo farmacéutico adicional, es decir, un adyuvante, excipiente o vehículo, tal como diluyentes, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes anti-bacterianos, agentes anti-fúngicos, agentes lubricantes y agentes dispersantes, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y de las formas de dosificación. Se pueden usar, por ejemplo, los ingredientes incluidos en el listado de Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing Company, Easton, PA (1999).

La expresión "aceptable farmacéuticamente" se emplea en el presente documento para hacer referencia a esos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, apropiados para su uso en contacto con los tejidos de pacientes sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación que corresponde con una proporción de riesgo/beneficio razonable.

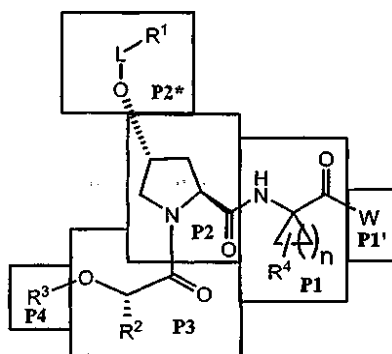
El término "tratar" se refiere a: (i) evitar que ocurra la enfermedad, trastorno o condición en un paciente que puede presentar pre-disposición a la enfermedad, trastorno y/o condición pero que aún no se ha diagnosticada que la presente; (ii) inhibir la enfermedad, trastorno o condición, es decir, detener su desarrollo; y/o (iii) aliviar la enfermedad, trastorno o condición, es decir, provocar la regresión de la enfermedad, trastorno y/o condición.

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

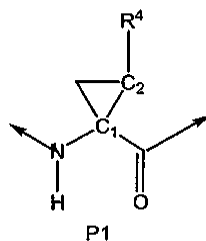
La expresión "cadena lateral" con referencia al amino ácido o residuo de amino ácido significa un grupo unido al átomo de carbono α del amino ácido α . Por ejemplo, la cadena lateral del grupo R para glicina es hidrógeno, para alanina es metilo, para valina es isopropilo. Para los grupos R específicos o cadenas laterales de los amino ácidos α se hace referencia al texto de A.L. Lehninger sobre Bioquímica (véase capítulo 4).

5 Cuando se usan en la nomenclatura de los compuestos de la presente divulgación, las designaciones P1', P1, P2, P2*, P3 y P4, según se usan en el presente documento, indican las posiciones relativas de los residuos de amino ácido de un inhibidor de proteasa que se une con respecto a la unión del sustrato natural de escisión de péptido. La escisión tiene lugar en el sustrato natural entre P1 y P1', donde las posiciones que no tienen prima indican amino ácidos que comienzan en el extremo C-terminal del sitio de escisión natural del péptido extendiéndose hacia el N-terminal; mientras que las posiciones que tienen prima emanan desde el extremo N-terminal de la designación del sitio de escisión y se extienden hacia el 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, posición primera N-terminal); mientras que P1 comienza la numeración desde el lado a mano izquierda del sitio de escisión C-terminal, P2: segunda posición desde el C-terminal, etc.). (véase Berger A & Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), 10 B257, 249-264

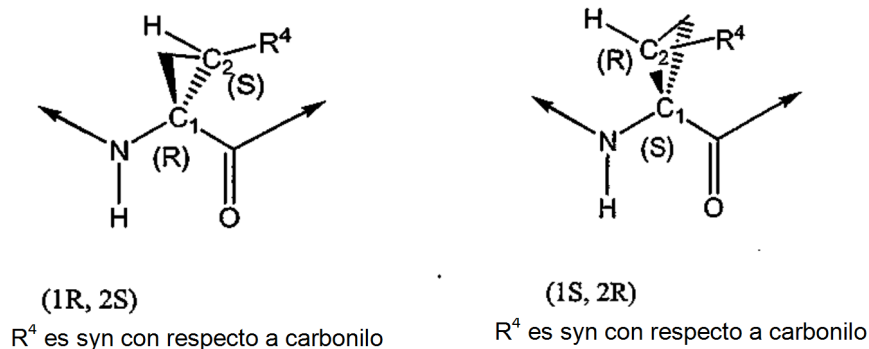
La siguiente figura muestra las designaciones para los compuestos de la presente divulgación.

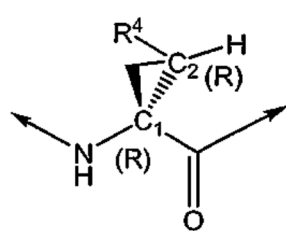


15 Existen centros asimétricos en los compuestos de la presente divulgación. Por ejemplo, los compuestos pueden incluir un elemento P1 ciclopropilo de fórmula

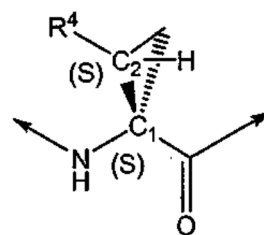


20 en el que C₁ y C₂ representan cada uno un átomo de carbono asimétrico en las posiciones 1 y 2 del anillo ciclopropilo. No soportando otros centros asimétricos posibles en otros segmentos de los compuestos, la presencia de estos dos centros asimétricos significa que los compuestos puede existir en forma de mezclas racémicas de diastereoisómeros, tal como los diastereoisómeros en los que R⁴ se encuentra configurado bien syn con respecto a al amida o sin con respecto al carbonilo como se muestra a continuación.





(1R, 2R)

R⁴ es syn con respecto a amida

(1S, 2S)

R⁴ es syn con respecto a amida

- 5 Debe entenderse que la divulgación engloba todas las formas isoméricas estereoquímicas, o sus mezclas, que poseen la capacidad de inhibir la proteasa de HCV. Los estereoisómeros individuales de los compuestos se pueden preparar de forma sintética a partir de materiales de partida disponibles comercialmente que contienen centros quirales o mediante la preparación de mezclas de productos enantioméricos seguido de separación tal como conversión en una mezcla de diastereoisómeros seguido de separación o recristalización, técnicas cromatográficas, o separación directa de enantiómeros en columnas cromatográficas quirales. Los compuestos de partida de estereoquímica particular se encuentran disponibles comercialmente o se pueden preparar y resolver por medio de técnicas conocidas en la técnica.
- 10 Determinados compuestos de la presente divulgación pueden también existir en diferentes formas conformacionales estables que se pueden separar. La asimetría torsional debida a la rotación restringida alrededor de un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo debido a impedimento estérico o tensión de anillo, puede permitir la separación de los diferentes conformeros. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de los presentes compuestos y sus mezclas.
- 15 Determinados compuestos de la presente divulgación pueden existir en forma zwitteriónica y la presente divulgación incluye cada forma zwitteriónica de los presentes compuestos y sus mezclas.

20 Cuando es posible que, para su uso en terapia, se puedan administrar cantidades terapéuticamente eficaces de un compuesto de fórmula (I), así como también de sus sales aceptables farmacéuticamente, en forma de materia prima, es posible presentar el principio activo en forma de composición farmacéutica. Por consiguiente, la divulgación además proporciona composiciones farmacéuticas, que incluyen cantidades eficaces terapéuticamente de compuestos de fórmula (I) o sus sales aceptables farmacéuticamente, y uno o más vehículos diluyente o excipientes, aceptables farmacéuticamente. La expresión "cantidad eficaz terapéuticamente", según se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad total de cada componente activo que resulta suficiente para mostrar un beneficio valioso en el paciente, por ejemplo, una reducción sostenida de la carga vírica. Cuando se aplica a un principio activo particular, administrado solo, la expresión se refiere a ese principio solo. Cuando se aplica a una combinación, la expresión se refiere a las cantidades combinadas de los principios activos que dan lugar al efecto terapéutico deseado, tanto si se administra en combinación, en serie, o de forma simultánea. Los compuestos de fórmula (I) y sus sales aceptables farmacéuticamente, son como se han descrito anteriormente. El(los) vehículo(s), diluyente(s) o excipiente(s) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para su receptor. De acuerdo con otro aspecto de la divulgación, también se proporciona un procedimiento para la preparación de una formulación farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, con uno o más vehículos diluyente o excipientes, aceptables farmacéuticamente.

35 Las formulaciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosificación unitaria que contienen una cantidad pre-determinada de principio activo por dosificación unitaria. Los niveles de dosificación entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 250 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal y día, preferentemente entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal y día de los compuestos de la divulgación resultan típicos en una monoterapia para la prevención y tratamiento de una enfermedad mediada por HCV. Típicamente, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se administran desde aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces al día o de manera alternativa, en forma de infusión continua. Dicha administración se puede usar como terapia crónica o aguda. La cantidad de principio activo que se puede combinar con los materiales de vehículo para producir una forma de dosificación sencilla depende de la enfermedad objeto de tratamiento, la gravedad de la enfermedad, el tiempo de administración, la ruta de administración, la tasa de eliminación del compuesto empleado, la duración del tratamiento y la edad, sexo, peso y estado del paciente. Formulaciones preferidas de dosificación unitaria son las que contienen una dosificación diaria o sub-dosificación, como se ha comentado anteriormente en el presente documento, o una de sus fracciones apropiadas, de un principio activo. De manera general, el tratamiento se comienza con dosificaciones pequeñas sustancialmente menores que la dosificación óptima del compuesto. Posteriormente, se aumenta la dosificación en pequeños incrementos hasta alcanzar el efecto óptimo bajo las circunstancias. En general, de la manera más deseable, los compuestos se

administran a una concentración que, generalmente, permite obtener resultados antiviricos eficaces sin provocar ningún efecto secundario perjudicial o nocivo.

5 Cuando las composiciones de la presente divulgación comprenden una combinación de un compuesto de la divulgación y uno o más agentes terapéuticos adicionales o profilácticos, normalmente, tanto el compuesto como el agente adicional se encuentran presentes en niveles de dosificación de entre aproximadamente 10 a 150 %, y más preferentemente entre aproximadamente 10 y 80 % de la dosificación que normalmente se administra en régimen de monoterapia.

10 Las formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para administración por medio de cualquier ruta apropiada, por ejemplo, por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intracutánea, intramuscular, intra-articular, intrasinovial, intrasternal, intratecal, intralesional, intravenosa o inyecciones intradérmicas o infusiones). Dichas formulaciones se pueden preparar por medio de cualquier procedimiento conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo asociando el principio activo con el(los) vehículo(s) o excipiente(s).

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral se pueden presentar en forma de unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o natas; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite.

20 Por ejemplo, para administración oral en forma de comprimido o cápsula, el principio activo del fármaco se puede combinar con un vehículo inerte, aceptable farmacéuticamente, no tóxico y oral tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino apropiado y mezclando con un vehículo farmacéutico triturado de forma similar tal como carbohidrato comestible, tal como por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

25 Las cápsulas se fabrican preparando una mezcla de polvo, como se ha descrito anteriormente, y rellenando envolturas conformadas de gelatina. Se pueden añadir sustancias de deslizamiento y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla de polvo antes de la operación de llenado. También se puede añadir un agente desintegrante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio con el fin de mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

30 Además, cuando se desea o resulta necesario, también se pueden incorporar aglutinantes apropiados, lubricantes, agentes desintegrantes y agentes colorantes a la mezcla. Los aglutinantes apropiados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa y o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas sintéticas y naturales tales como goma arábiga, tragacanto y alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, cloruro de sodio y similares. Desintegrantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantán y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvo, sometiendo a granulado o precompresión, añadiendo un lubricante o desintegrantes y sometiendo los comprimidos a compresión. Se prepara una mezcla de polvo mezclando el compuesto, triturando de forma apropiada, con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente, y de manera opcional, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, un agente de formación de gel, o polivinilpirrolidona, un retardador de solución tal como parafina, un acelerador de reabsorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. Se puede granular la mezcla en forma de polvo por medio de humectación con un aglutinante tal como un jarabe, una pasta de almidón, un mucílago de acacia, o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y haciéndolo pasar a través de un tamiz. Como alternativa al granulado, se puede hacer pasar la mezcla en forma de polvo a través de una máquina de comprimidos y el resultado son lingotes conformados de manera imperfecta rotos para dar lugar a gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar la adherencia a los troqueles de formación de comprimido por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato o aceite mineral. Posteriormente, se somete a compresión la mezcla lubricada para dar lugar a comprimidos. Los compuestos de la presente divulgación también se pueden combinar con un vehículo inerte que fluye libremente y se pueden someter a compresión para dar lugar a comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulado o pre-compresión. Se puede proporcionar un revestimiento protector transparente u opaco que consiste en un revestimiento de sellado de shalac, un revestimiento de azúcar o material polimérico, y un revestimiento de pulido de cera. Se pueden añadir colorantes a los presentes revestimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

55 Se pueden preparar fluidos orales tales como solución, jarabes y elixires en una forma de dosificación unitaria de manera que una cantidad concreta contenga una cantidad pre-determinada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto en una solución acuosa aromatizada de manera apropiada, mientras que los elixires se preparan por medio del uso de un vehículo no tóxico. También se pueden usar agentes de solubilización y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de sorbitol de polioxietileno, conservantes, aditivos de aroma tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

Cuando resulta apropiado, se pueden micro-encapsular formulaciones unitarias de dosificación para administración oral. También se puede preparar la formulación con el fin de prolongar la liberación, como por ejemplo por medio de revestimiento o intercalado del material en forma de partículas en polímeros, ceras o similares.

5 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales aceptables farmacéuticamente también se pueden administrar en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas uni-lamelares pequeñas, vesículas uni-lamelares grandes y vesículas multi-lamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estarilamina o fosfatidilcolinas.

10 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales aceptables farmacéuticamente también se pueden administrar por medio del uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los cuales se acoplan las moléculas del compuesto. Los compuestos también se pueden acoplar con polímeros solubles como vehículos de fármaco aptos para diana. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxi propilmetacrilamidafenol, polihidroxi etilaspirtamidafenol o polietilenoóxido-polilisina sustituida con residuos de palitoilo. Además, los compuestos se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada del fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliepsilon caprolactona, ácido polihidroxi butírico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, policianoacrilatos, y copolímeros de bloques anfifáticos de hidrogeles.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica se pueden presentar en forma de parches discretos que se pretende que permanezcan en estrecho contacto con la epidermis del receptor durante un período prolongado de tiempo. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede administrar a partir del parche por medio de iontoforésis como se describe de forma general en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

25 Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, preferentemente las formulaciones se aplican en forma de pomada tópica o crema. Cuando se formula en una pomada, el principio activo se puede emplear con una base de pomada bien parafínica o bien miscible con agua. De manera alternativa, el principio activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica al ojo incluyen colirios en las que el principio activo se encuentra disuelto o suspendido en un vehículo apropiado, especialmente un disolvente acuoso.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar, pastillas y lavados bucales.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal se pueden presentar en forma de supositorios o de enemas.

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo basto que tienen un tamaño de partícula por ejemplo dentro del intervalo de 20 a 500 micrómetros que se administra de forma que se capta por medio de inhalación, es decir, por medio de inhalación rápida a través del conducto nasal a partir de un recipiente del polvo que se coloca en las proximidades de la nariz. Formulaciones apropiadas en las que el vehículo es líquido, para administración en forma de pulverización nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas o de aceite del principio activo.

40 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración por medio de inhalación de polvos finos de partículas o mixturas, que se pueden generar por medio de varios tipos de aerosoles presurizados de dosificación controlada, nebulizadores o insufladores.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal se pueden presentar en forma de óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

45 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones estériles para inyección acuosas y no acuosas que pueden contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostáticos y rutas que dan lugar a la formulación isotónica en la sangre del paciente objeto de tratamiento; y suspensiones estériles no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosificación unitaria o de dosificación múltiple, por ejemplo en ampollas selladas y viales, y se puede almacenar en estado congelado-seco (liofilizado) que requiere únicamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para las inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

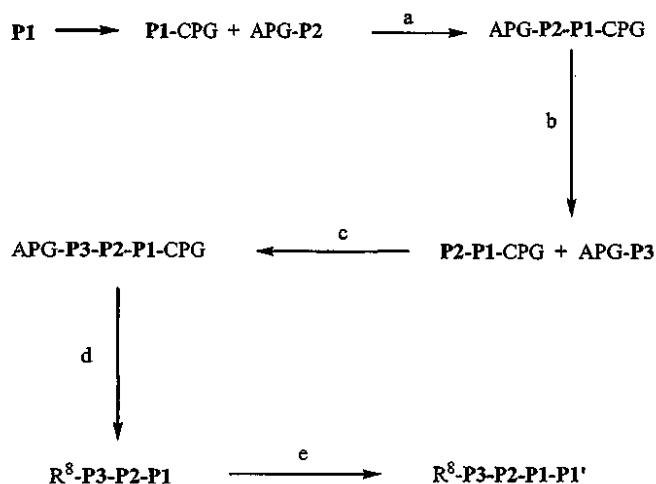
55 Debe entenderse que además de los ingredientes mencionados anteriormente de forma particular, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que presentan relación con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los apropiados para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

Las abreviaturas usadas en la presente solicitud, incluyendo en particular en los Esquemas y en los Ejemplos siguientes, resultan bien conocidas por los expertos en la técnica. Algunas abreviaturas usadas son las siguientes: Acca para ácido 1-aminociclopropilcarboxílico; BINAP para 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo; Boc, BOC, o boc para terc-butoxicarbonilo; BOC-HYP-OH para trans-N-(terc-butoxicarbonil)-4-hidroxi-L-prolina; CDI para 1,1'-carbonildiimidazol; dba para dibencilidenacetona; DBU para 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno; DCE para 1,2-dicloroetano; DCM para diclorometano; DEAD para azodicarboxilato de dietilo; DIEA para diisopropiletilamina; DMAP para 4-dimetilaminopiridin; DMF para N,N-dimetilformamida; DMSO para dimetilsulfóxido; Fmoc para 9-fluorenilmetiloxycarbonilo; DPPA para difenilfosforilazida; Et para etilo; EtOAc para acetato de etilo; Et₃N para trietilamina; Et₂O para éter dietílico; HATU para hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; HBTU para hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio; HOAt para 1-hidroxi-7-azabenzotriazol; HOBT o HOBt para 1-hidroxibenzotriazol hidratado; LiHMDS para hexametildisilazida de litio; Me para metilo; MeOH para metanol; NMM para N-metilmorfolina; OAc para acetato; Ph para fenilo; Ph₃PO para óxido de trifenilfosfina; PoPd ó POPd para (terbutil)₂POH)₂-PdCl₂; PyBOP para hexafluorofosfato de benzotriazol-1-yloxitripirrolidinofosfonio; PyBrop para hexafluorofosfato de bromotrispirrolidinofosfonio; TBAF para fluoruro de tetrabutilamonio; TBME o MTBE para éter metílico y terc-butílico; tBu para terc-butilo; TFA para ácido trifluoroacético; y THF para tetrahidrofurano.

Los compuestos de la presente divulgación se pueden fabricar por medio de procedimientos conocidos por los expertos en la técnica, véase, por ejemplo, el documento de patente de EE.UU. N^o. 6.323.180 y la solicitud de patente de EE.UU. 20020111313 A1. Se proporcionan los siguientes procedimientos explicados a continuación con fines ilustrativos y no se pretende que limiten el alcance de las reivindicaciones. Se reconocerá que puede resultar preferido o necesario preparar un compuesto tal que un grupo funcional se encuentre protegido por medio del uso de un grupo protector convencional, posteriormente retirar el grupo protector para proporcionar el compuesto de la presente divulgación. Los detalles relativos al uso de grupos protectores de acuerdo con la presente divulgación resultan conocidos en la técnica.

Los compuestos de la presente divulgación se pueden sintetizar, por ejemplo, de acuerdo con el procedimiento general que se ilustra en el Esquema I (en el que CPG es un grupo protector carboxi y APG es un grupo protector amino).

Esquema I



Brevemente, los P1, P2 y P3 pueden estar unidos por medio de técnicas bien conocidas de acoplamiento de péptido. Los grupos P1, P2 y P3 pueden estar unidos juntos en cualquier orden con tal de que el compuesto final corresponda a los péptidos de la divulgación. Por ejemplo, P3 puede estar unido a P2-P1, o P1 unido a P3-P2.

De manera general, los péptidos se estiran por medio de des-protección del grupo amino α del residuo N-terminal y acoplamiento del grupo carboxi desprotegido del siguiente amino ácido N-protégido de forma apropiada a través de un engarce de péptido, usando los procedimientos descritos. El procedimiento de desprotección y acoplamiento se repite hasta que se obtenga la secuencia deseada. Este acoplamiento se puede llevar a cabo con los amino ácidos constituyentes por partes, como se muestra en el Esquema I.

El acoplamiento entre dos amino ácidos, un amino ácido y un péptido, o dos fragmentos de péptido se puede llevar a cabo usando procedimientos estándar de acoplamiento tales como el procedimiento de azida, procedimiento mixto de anhídrido de ácido carboxílico-carbónico (cloroformiato de isobutilo), procedimiento de carbodiimida (diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbodiimida soluble en agua), el procedimiento de éster activo

(éster p-nitrofenílico, imido éster N-hidroxisuccínico), el procedimiento de reactivo K de Woodward, procedimiento de carbonildiimidazol, reactivos fosforosos o procedimiento de oxidación-reducción. Algunos de los presentes procedimientos (especialmente el procedimiento de carbodiimida) se pueden mejorar por medio de la adición de 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Las presentes reacciones de acoplamiento se pueden llevar a cabo en solución (fase líquida) o en fase sólida.

De manera más explícita, la etapa de acoplamiento implica el acoplamiento deshidratado de un carboxi libre de un reactivo con el grupo amino libre del otro reactivo en presencia de un agente de acoplamiento para formar un enlace de amida de unión. Las descripciones de dichos agentes de acoplamiento se encuentran en los libros de texto generales sobre química de péptidos, por ejemplo, M. Bodanszky, "Peptide Chemistry" 2ª ed. rev., Springer-Verlag, Berlín, Alemania (1993). Ejemplos de agentes de acoplamiento apropiados 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 es 1-hidroxibenzotriazol o hexafluorofosfato de tris-(dimetilamino)fosfonio disponibles comercialmente, bien por sí mismos o en presencia de 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Otro agente de acoplamiento práctico y útil es comercialmente disponible tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio. Otro agente de acoplamiento práctico y útil es el comercialmente disponible 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 ejemplo, diclorometano, acetonitrilo o dimetilformamida. Se añade un exceso de amina terciaria, por ejemplo diisopropiltilamina, N-metilmorfolina, N-metilpirrolidina o 4-DMAP para mantener la mezcla de reacción con un pH de aproximadamente 8. Normalmente, la temperatura de reacción varía entre 0 °C y 50 °C y el tiempo de reacción normalmente varía entre 15 minutos y 24 horas.

De manera general, los grupos funcionales de los constituyentes de amino ácidos se deben proteger durante las reacciones de acoplamiento con el fin de evitar la formación de los enlaces no deseados. Los grupos protectores que se pueden usar se listan, por ejemplo, en Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley & Sons, Nueva York (1981) y "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", Vol. 3, Academic Press, Nueva York (1981).

Se debe proteger el grupo amino- α de cada amino ácido que se ha de acoplar a la cadena de péptido en desarrollo (APG). Se pueden usar cualquier grupo protector en la técnica. Ejemplos de dichos grupos incluyen; 1) grupos acilo tales como formilo, trifluoroacetilo, ftalilo y p-toluensulfonilo; 2) grupos carbamato aromáticos tales como benciloxycarbonilo (Cbz o Z) y benciloxycarbonilos sustituidos, y 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc); 3) grupos carbamato aromáticos tales como terc-butiloxycarbonilo (Boc), etoxycarbonilo, diisopropilmetoxycarbonilo y aliloxycarbonilo; 4) grupos de carbamato de alquilo cíclico tales como ciclopentiloxycarbonilo y adamantiloxycarbonilo; 5) grupos alquilo tales como trifenilmetilo y bencilo; 6) alquilquilsililo tales como trimetilsililo; y 7) grupos que contienen tiol tales como feniltiocarbonilo y ditasuccinoilo. En determinadas realizaciones el grupo protector de amino- α es bien Boc o bien Fmoc. Muchos derivados de amino ácido protegido de forma apropiada para síntesis de péptido se encuentran comercialmente disponibles.

El grupo protector amino- α del residuo de amino ácido recién añadido es escindido antes del acoplamiento del siguiente amino ácido. 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. Posteriormente, se neutraliza la sal de amonio resultante bien 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, pero se pueden usar cualquiera amina secundaria. La desprotección se lleva a cabo a una temperatura entre 0 °C y temperatura ambiente (rt o RT), normalmente entre 20-22 °C.

Se debe proteger cualquiera de los amino ácidos que presenten funcionalidades de cadena lateral durante la preparación del péptido usando cualquiera de los grupos descritos anteriormente. Los expertos en la técnica apreciarán que la selección y uso de los grupos protectores apropiados para las presentes funcionalidades de cadena lateral dependen del amino ácido y de la presencia de otros grupos protectores en el péptido. La selección de dichos grupos protectores resulta importante ya que el grupo no debe ser retirado durante la desprotección y el acoplamiento del grupo amino- α .

Por ejemplo, cuando se usa Boc como grupo protector de amino- α , los siguientes grupos protectores de cadena lateral resultan apropiados: se pueden usar restos de p-toluensulfonilo (tosilo) para proteger la cadena lateral amino de los amino ácidos tales como Lys y Arg; acetamidobencilo, bencilo (Bn) o se pueden usar restos terc-butilsulfonilo para proteger la cadena lateral de cisteína que contiene sulfuro; se pueden usar éteres bencilicos (Bn) para proteger a las cadenas laterales de serina que contienen hidróxido, treonina o hidroxiprolina; y se pueden ésteres bencilicos para proteger las cadenas laterales de ácido aspártico y ácido glutámico que contienen carboxi.

Cuando se escoge Fmoc para la protección de amino- α , normalmente los grupos protectores basados en terc-butilo resultan aceptables. Por ejemplo, se puede usar Boc para lisina y arginina, éter terc-butílico para serina, treonina e hidroxiprolina, y éster terc-butílico para ácido aspártico y ácido glutámico. Se puede usar el resto de trifenilmetilo (Tritilo) para proteger la cadena lateral de cisteína que contiene sulfuro.

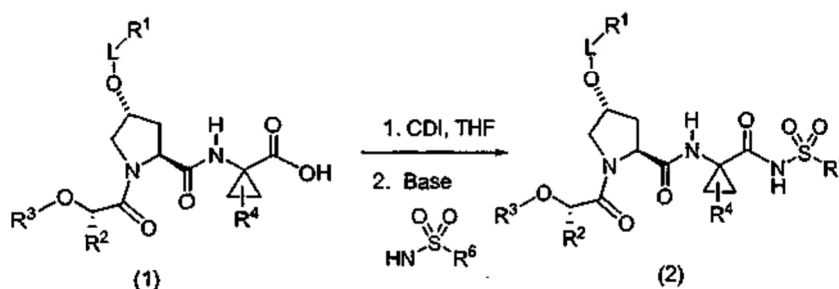
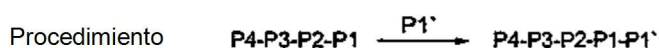
Una vez que el estiramiento del péptido se ha completado se retiran todos los grupos protectores. Cuando se usa síntesis en fase líquida, se retiran los grupos protectores de cualquier forma dictada por la elección de los grupos protectores. Estos procedimientos resultan bien conocidos por parte de los expertos en la técnica.

5 Normalmente, el grupo carboxi- α del residuo C-terminal se encuentra protegido en forma de éster (CPG) que se pueden escindir para dar el ácido carboxílico. Los grupos protectores que se pueden usar incluyen: 1) ésteres alquílicos tales como metilo, trimetilsiletilo y terc-butilo, 2) ésteres arilalquílicos tales como bencilo y bencilo sustituido, o 3) ésteres que se puedan escindir por medio de tratamiento con una base suave o un medio reductor suave tal como tricloroetilo y ésteres fenacílicos. El ácido carboxílico- α resultante se acopla con $R^6SO_2NH_2$ en presencia de un agente de acoplamiento de péptido.

10 Los compuestos de la presente divulgación se pueden preparar por medio de muchos procedimientos incluyendo los descritos en los ejemplos siguientes como se describe en la patente de EE.UU. N^o. 6.323.180 y la solicitud de patente de EE.UU. publicada 20020111313 A1.

15 El Esquema II muestra además el procedimiento general en el que los compuestos de Fórmula (1) (2) están formados por medio de acoplamiento del intermedio (1) de ácido carboxílico de tripéptido con una sulfonamida $P1'$. Dicha reacción de acoplamiento requiere el tratamiento de un ácido carboxílico (1) con un reactivo de acoplamiento tal como carbonil diimidazol en un disolvente tal como THF, que se puede calentar a reflujo, seguido de la adición del derivado formado de (1), hasta la sulfonamida $P1'$, un disolvente tal como THF o cloruro de metileno en presencia de una base tal como DBU.

Esquema II

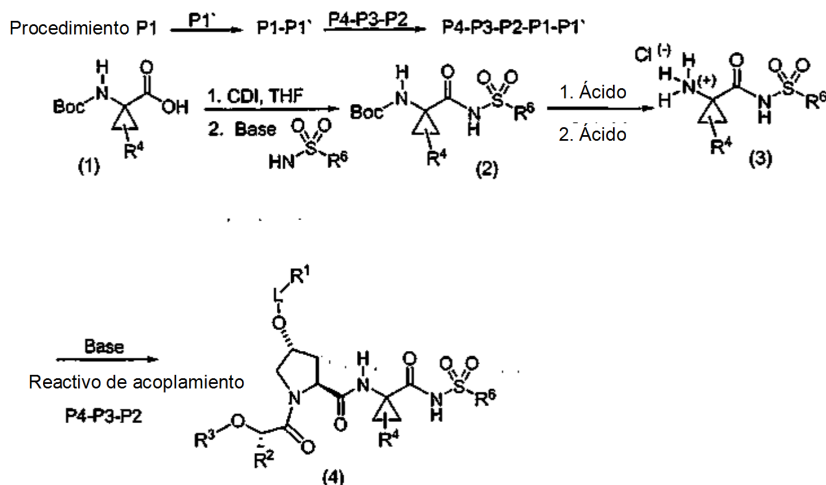


20 El Esquema III muestra un procedimiento alternativo para la construcción de la Fórmula (1). En el mismo, el elemento de sulfonamida $P1'$ se acopla con el elemento $P1$ usando el procedimiento empleado en el Esquema I. Posteriormente, el resto $P1-P1'$ resultante se somete a desprotección en su término amino. En el presente ejemplo general se emplea un grupo protector Boc, aunque el experto en la técnica reconocerá que, en el presente procedimiento, se puede emplear un número apropiado de grupos protectores amino apropiados. Dicho grupo protector Boc se puede retirar usando un ácido tal como ácido trifluoroacético en un disolvente tal como dicloroetano para proporcionar la amina desprotegida en forma de sal de TFA. Dicha sal de amina TFA se puede emplear directamente en la posterior reacción de acoplamiento o como alternativa, la sal de TFA se puede convertir primero en sal de amina de HCl, y esta sal de amina de HCl se usa en dicha reacción de acoplamiento como se muestra en el Esquema III. El acoplamiento de dicha sal de amina de HCl (3) con el intermedio $P4-P3-P2$ de terminación carboxi se puede conseguir usando reactivos de acoplamiento, tales como HATU, en disolventes tales como diclorometano para proporcionar los compuestos de fórmula (4).

25

30

Esquema III



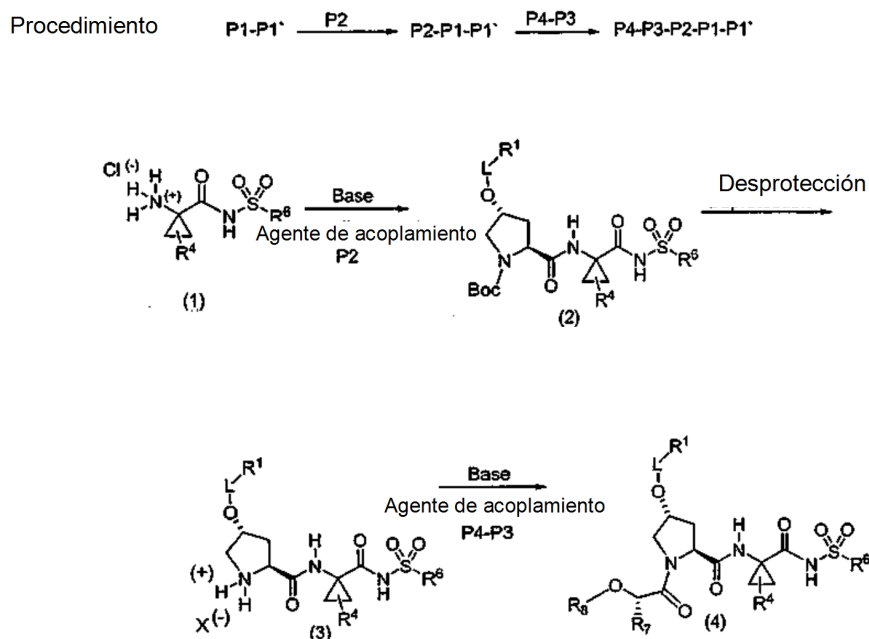
Un procedimiento alternativo para la construcción de los compuestos de Fórmula (I) se muestra en el Esquema IV. En el presente, se acopla la sal de hidrocloreto de la amina terminal P1-P1' (1) al grupo carboxi libre del elemento P2 usando agentes de acoplamiento tales como PyBOP, en presencia de una base tal como diisopropilamina, y en un disolvente tal como cloruro de metileno. El intermedio resultante P2-P1-P1' se puede convertir en los compuestos de fórmula (I) (4) por medio de un procedimiento de dos etapas en el que la primera etapa es desprotección del término de amina P2 usando un ácido tal como TFA en un disolvente tal como cloruro de metileno.

5

La sal de ácido trifluoroacético resultante se puede acoplar con el término carboxi del elemento P4-P3 usando agentes de acoplamiento estándar tal como PyBop en presencia de una base tal como diisopropilamina, y usando disolventes tales como cloruro de metileno para proporcionar los compuestos de fórmula (a):

10

Esquema IV

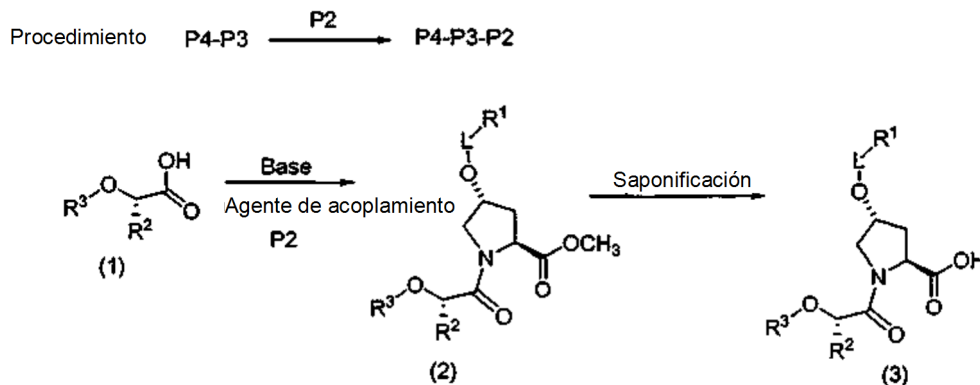


El intermedio P4-P3-P2 utilizado en los esquemas anteriores se puede construir como se ha descrito previamente con una descripción adicional del presente procedimiento mostrado en el Esquema V general. En el mismo, el término carboxi libre del intermedio P4-P3 (1) se puede acoplar al término amino del elemento P2 con el fin de proporcionar el dipéptido P4-P3-P2 (2). El término carboxi del intermedio P4-P3-P2 se puede desproteger por medio de saponificación del grupo éster para proporcionar P4-P3-P2 en forma de ácido carboxílico libre (3). Intermedios similares a (3) se pueden convertir en compuesto de Fórmula (I) usando los procedimientos descritos en el presente documento.

15

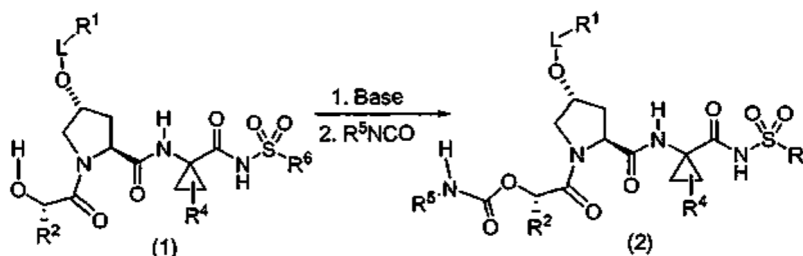
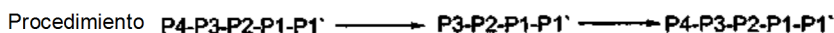
20

Esquema V



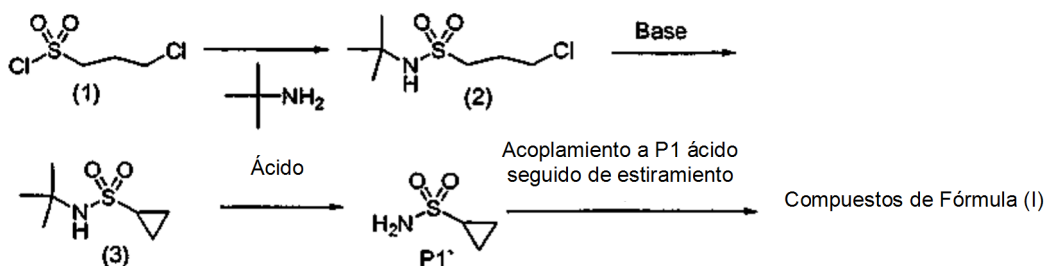
También se pueden convertir los compuestos de Fórmula (I) en otros compuestos de Fórmula (I) como se ha descrito en el presente documento. Un ejemplo de tal procedimiento se muestra en el Esquema VI, en el que un compuesto de fórmula (1) que porta un grupo hidroxilo en la posición P4 es convertido en un compuesto de fórmula (2) en el que dicho compuesto porta un grupo carbamato en la posición P4. La conversión de (1) en (2) se puede llevar a cabo tratando (1) con una base tal como hidruro de sodio en un disolvente tal como THF, seguido de la adición de un reactivo de isocianato para proporcionar (2). Como se ha comentado previamente, el experto en la técnica reconocerá que se puede usar el intermedio (1) como material de partida para la preparación de otros compuestos de Fórmula (I).

Esquema VI



En las construcción de los compuestos de Fórmula (I), el término P1' se incorpora en la molécula usando uno de los procedimientos generales marcados anteriormente y descrito con más detalla a continuación. En algunos ejemplos, los elementos P1', que es cicloalquilo o alquilsulfonamidas, se encuentran disponibles comercialmente o se pueden preparar a partir de los correspondientes alquilo o cloruro de cicloalquilsulfonilo por medio del tratamiento de dicho cloruro de sulfonilo con amoníaco. De manera alternativa, estas sulfonamidas se pueden sintetizar usando el procedimiento general descrito en el Esquema VII. En el mismo, se convierte cloruro de 3-cloropropilsulfonilo (1) disponible comercialmente en una sulfonamida protegida apropiada como por ejemplo mediante tratamiento con terc-butilamina. Posteriormente, se convierte la sulfonamida obtenida (2) en la correspondiente cicloalquilsulfonamida por medio de tratamiento con dos equivalentes de una base tal como butilitio en un disolvente tal como THF a baja temperatura. La cicloalquilsulfonamida resultante se puede desproteger por medio de tratamiento con un ácido para proporcionar la cicloalquilsulfonamida no protegida deseada.

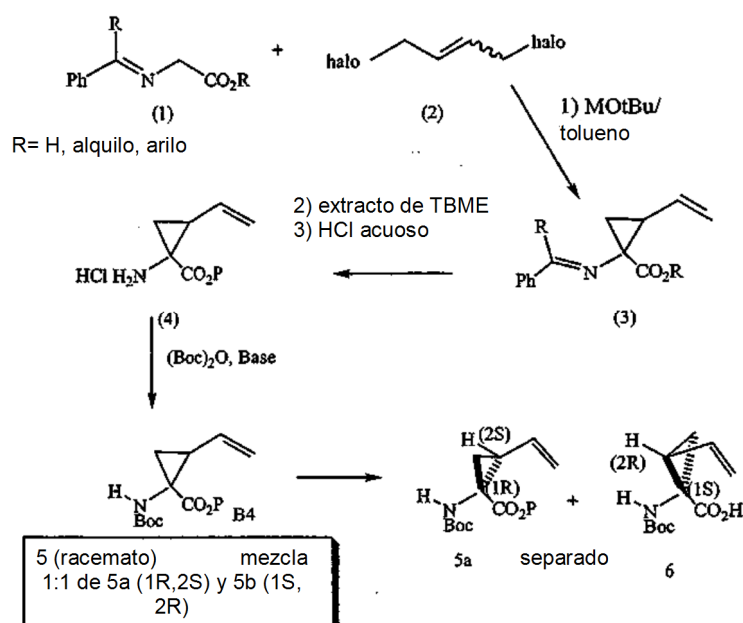
Esquema VII



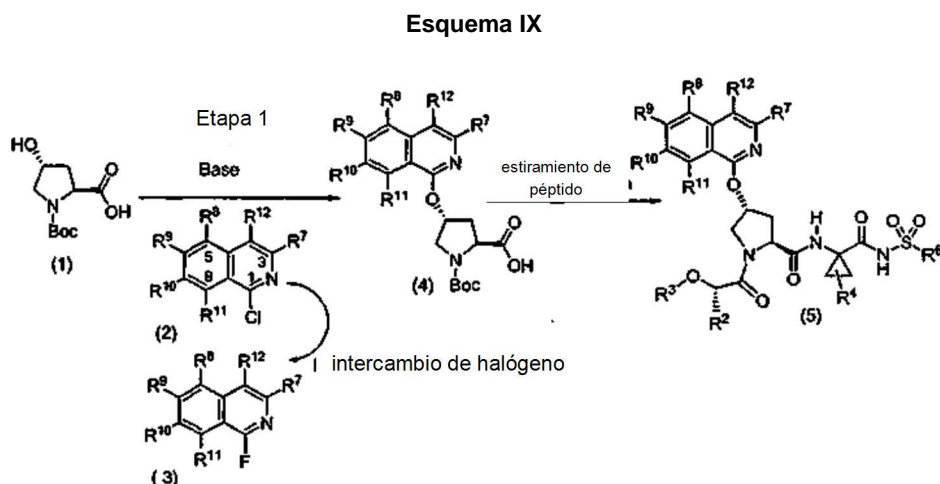
Los elementos P1 utilizados en la generación de los compuestos de Fórmula (I) se encuentran, en algunos casos, disponibles comercialmente, pero por otro lado son sintetizados usando los procedimientos descritos en el presente documento y posteriormente son incorporados en los compuestos de Fórmula (I) usando los procedimientos descritos en el presente documento. Los ciclopropilamino ácidos P1 sustituidos se pueden sintetizar a través del procedimiento general marcado en el Esquema VIII.

El tratamiento de imina (1) disponible comercialmente o fácilmente sintetizada con 1,4-dihalobuteno (2) en presencia de una base proporcionar la imina resultante (3). Posteriormente, la hidrólisis de (3) proporciona (4), que presenta un sustituyente alilo en posición syn con respecto al grupo carboxi, como producto principal. El resto amina de (4) se puede proteger usando un grupo Boc para proporcionar el amino ácido (5) completamente protegido. El presente intermedio es un racemato que se puede resolver por medio de un procedimiento enzimático en el que el resto éster de (5) es sometido a escisión por medio de la proteasa para proporcionar el correspondiente ácido carboxílico. Sin pretender quedar avalado por teoría alguna, se piensa que la presente reacción es selectiva ya que uno de los enantiómeros experimenta la reacción a una velocidad mucho mayor que su imagen especular, proporcionando una resolución cinética del racemato de intermedio. En los ejemplos citados en el presente documento, el estereoisómeros más preferido para la integración en los compuestos de Fórmula (I) es (5a) que alberga la estereoquímica (1R, 2S). En presencia de la enzima, el presente enantiómero no experimenta escisión de éster y por tanto el enantiómero (5a) es recuperado de la mezcla de reacción. No obstante, el enantiómero menos preferido (5b), que alberga la estereoquímica (1S, 2R) experimenta escisión de éster, es decir, hidrólisis, para proporcionar el ácido libre (6). Tras completar la presente reacción, el éster (5a) se puede separar a partir del producto ácido (6) por medio de procedimientos rutinarios tales como, por ejemplo, procedimientos de extracción acuosa o cromatografía.

Esquema VIII



Los procedimientos para la preparación de intermedios P2 y los compuestos de Fórmula (I) se muestran en los esquemas siguientes. Debe notarse que en muchos casos las reacciones se muestran para solo una posición de un intermedio. No obstante, debe entenderse que dichas reacciones se podrían usar para conferir modificaciones en las otras posiciones dentro del presente intermedio. Además, dichos intermedios, condiciones de reacción y procedimientos proporcionados en los ejemplos específicos son ampliamente aplicables a compuestos con otros patrones de sustitución. Los esquemas generales marcados a continuación se siguen con los ejemplos del presente documento. Tanto los ejemplos generales como los específicos son no limitantes, como por ejemplo se muestra el núcleo de isoquinolina como parte del esquema general, Esquema IX, sin embargo, este mecanismo representa un procedimiento viable para la construcción de sustituyentes de heterociclo alternativos, como sustitutos para el elemento de isoquinolina, tal como quinolinas o quinazolininas.

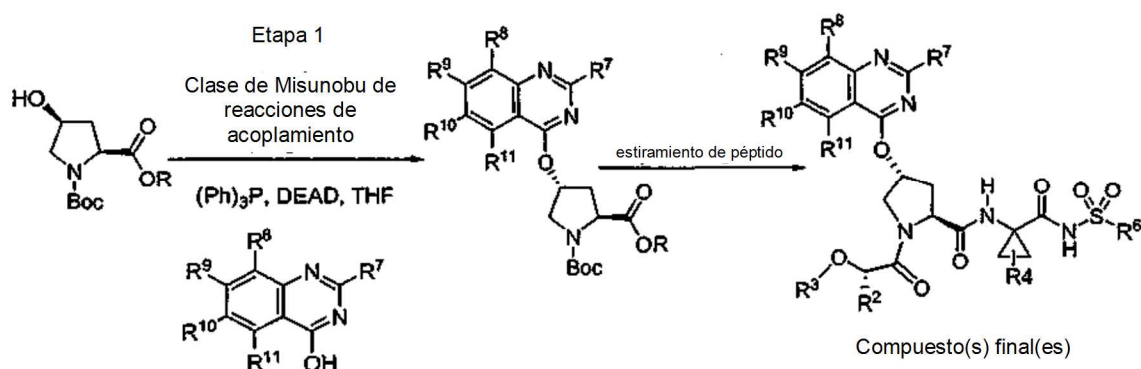


El Esquema IX muestra el acoplamiento de un resto de C4-hidroxirolina N-prottegido con un heterociclo para forma el intermedio (4) y la posterior modificación de dicho intermedio (4) hasta un compuesto de Fórmula (I) (5) por medio del procedimiento de estiramiento de péptido descrito en el presente documento. Debe notarse que en la primera etapa, el acoplamiento del grupo de C4-hidroxirolina con el elemento de heteroarilo, se usa una base. El experto en la técnica reconocería que el presente acoplamiento se puede llevar a cabo usando bases tales como t-butóxido de potasio o hidruro de sodio en un disolvente tal como DMF o DMSO o THF. El presente acoplamiento al sistema de anillo de isoquinolina ocurre en la posición C1 (numeración para el sistema de anillo de isoquinolina mostrada en el intermedio 2 del Esquema IX) y es dirigido por el grupo cloro que se desplaza en el procedimiento. Debe notarse que se pueden utilizar grupos salientes alternativos en la presente posición tal como un grupo saliente de fluoruro como se muestra en el intermedio (3). Dichos intermedios de fluoro (3) se encuentran disponibles a partir del correspondiente compuesto de cloro usando los procedimientos de la bibliografía descritos en el presente documento.

Debe notarse además que la posición del heteroátomo(s) de anillo en los intermedios tales como (2) del Esquema IX es también variable, como se define por medio del heterociclo descrito en el presente documento.

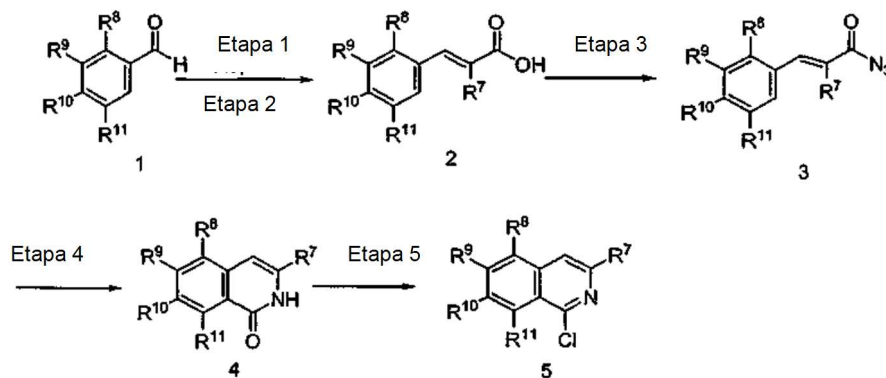
Una alternativa al procedimiento descrito anteriormente para el acoplamiento de C4-hidroxirolina a los aromáticos y heteroaromáticos se proporciona en la reacción de Mitsunobu como se muestra en la etapa 1 del Esquema X. En el presente esquema de reacción general se acopla un derivado de C4-hidroxirolina al sistema de anillo de quinazolinina. La presente reacción hace uso de reactivos tales como trifenílfosfina y DEAD (dietilazodicarboxilato) en disolventes apróticos tales como THF o dioxano y se pueden usar en la formación de éteres de arilo o heteroarilo. Nótese que en el curso de la presente reacción de acoplamiento, la estereoquímica del centro quiral C4 del derivado de C4-hidroxirolina se invierte y por tanto es necesario usar el derivado de C4-hidroxirolina que alberga la estereoquímica (S) en la posición C4 como material de partida. Debe notarse que se han descrito numerosas modificaciones y mejoras de la reacción de Mitsunobu en la bibliografía.

Esquema X



En un subgrupo de ejemplos del presente documento, se incorporan isoquinolinas en los compuestos finales y de manera específica en la región P2 de dichos compuestos. El experto en la técnica reconocerá que un número de procedimientos generales se encuentra disponible para la síntesis de isoquinolinas. Además, dichas isoquinolinas generados por medio de los presentes procedimientos se pueden incorporar de forma sencilla en los compuestos finales de Fórmula (I) usando los procedimientos descritos en el presente documento. Un metodología general para la síntesis de isoquinolinas se muestra en el Esquema XI, en el que los derivados de ácido cinámico, mostrados de forma general como estructura (2) son convertidos en 1-cloroisoquinolinas en un procedimiento de cuatro etapas. dichos cloroisoquinolinas se pueden usar posteriormente en reacciones de acoplamiento a derivados de C4-hidroxiprolina como se ha descrito anteriormente. La conversión de ácidos cinámicos en cloroisoquinolinas comienza con el tratamiento de ácido cinámico con una alquilcloroformiato en presencia de una base. A continuación, el anhídrido resultante se trata con azida de sodio lo que da lugar a la formación de una acilazida (3) como se muestra en el esquema. Existen procedimientos alternativos disponibles para la formación de acilazidas a partir de ácidos carboxílicos como, por ejemplo, se puede tratar dicho ácido carboxílico con difenilfosforilazida (DPPA) en un disolvente aprótico tal como cloruro de metileno en presencia de una base. En la siguiente etapa de la secuencia de reacción la acilazida (3) es convertida en la correspondiente isoquinolina (4) como se muestra en el esquema. La acilazida se calienta hasta una temperatura de aproximadamente 190 °C en un disolvente de alto punto de ebullición tal como un difenilmetano. La presente reacción es general y proporciona rendimientos de moderados a buenos de isoquinolinas sustituidas a partir de los correspondientes derivados de ácido cinámico. Debería notarse que dichos derivados de ácido cinámico se encuentran disponibles comercialmente o se pueden obtener a partir del correspondiente derivado de benzaldehído (1) por medio de condensación directa con ácido malónico o sus derivados y también mediante el empleo de una reacción de Wittig. Las isoquinolinas intermedias (4) del Esquema XI se pueden convertir en la correspondiente 1-cloroisoquinolina por medio de tratamiento con oxiclورو fosforoso. Esta reacción es general y se puede aplicar a cualquiera de las isoquinolonas, quinolonas o heterociclos adicionales como se muestra en el presente documento para convertir el sustituyente hidroxí en el correspondiente compuesto de cloro cuando dicho hidroxí está en conjugación con un átomo de nitrógeno en dichos sistemas de anillo heterocíclicos.

Esquema XI

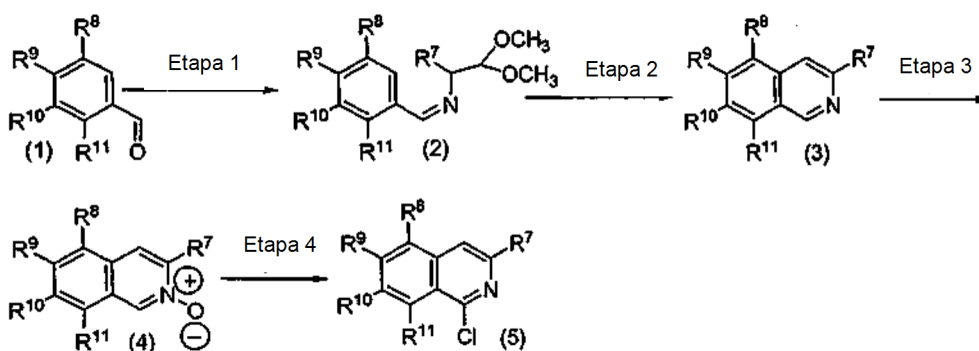


30

Referencia: N. Briet at al, Tetrahedron, 2002, 5761.

Un procedimiento alternativo para la síntesis del sistema de anillo de isoquinolina es el procedimiento de Pomeranz-Fish. El procedimiento general es el que se muestra en el Esquema XII. El procedimiento comienza con la conversión de un derivado de benzaldehído (1) hasta una imina funcionalizada (2). Posteriormente, se convierte dicha imina en el sistema de anillo de isoquinolina por medio de tratamiento con un ácido a temperatura elevada. La presente síntesis de isoquinolina del Esquema XII es general, y debe notarse que el presente procedimiento es particularmente útil para obtener intermedios de isoquinolina que están sustituidos en la posición C8. Las isoquinolinas intermedias (3) se pueden convertir en las correspondientes 1-cloroisoquinolinas (5) en un procedimiento de dos etapas como se muestra. La primera etapa de la presente secuencia es la formación del N-óxido de isoquinolina (4) mediante el tratamiento de la isoquinolina (3) con ácido meta-cloroperbenzoico en un disolvente aprótico tal como diclorometano. Se puede convertir el intermedio (4) en la correspondiente 1-cloroisoquinolina por medio de tratamiento con oxiclورو de fósforo en cloroformo a reflujo. Nótese que el presente procedimiento de dos etapas es general y se puede emplear para obtener cloroisoquinolinas y quinolinas a partir de las correspondientes isoquinolinas y quinolinas respectivamente.

Esquema XII



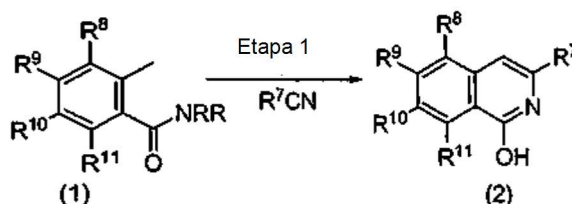
15

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

Otro procedimiento para la síntesis del sistema de anillo de isoquinolina se muestra en el Esquema XIII. En el presente procedimiento se trata un derivado de orto-alquilbenzamida (1) con una base fuerte tal como terc-butillitio en un disolvente tal como THF a baja temperatura. Sobre la presente mezcla de reacción, se añade posteriormente un derivado de nitrilo, que experimenta una reacción de adición con el anión procedente de la desprotonación de (1), dando lugar a la formación de (2). La presente reacción es general, y se puede usar para la formación de isoquinolinas sustituidas. Se puede convertir el intermedio (2) del Esquema XIII en la correspondiente 1-cloroquinolina por medio de los procedimientos descritos en el presente documento.

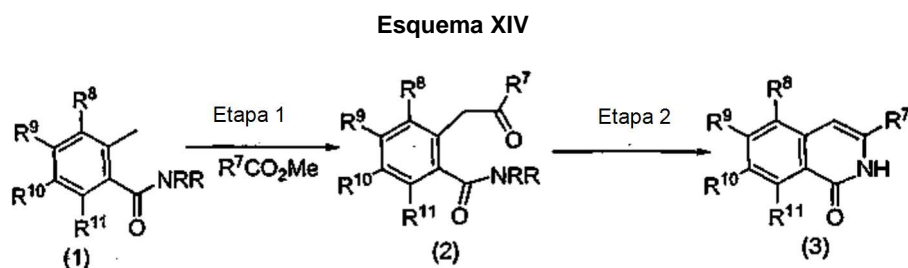
25

Esquema XIII

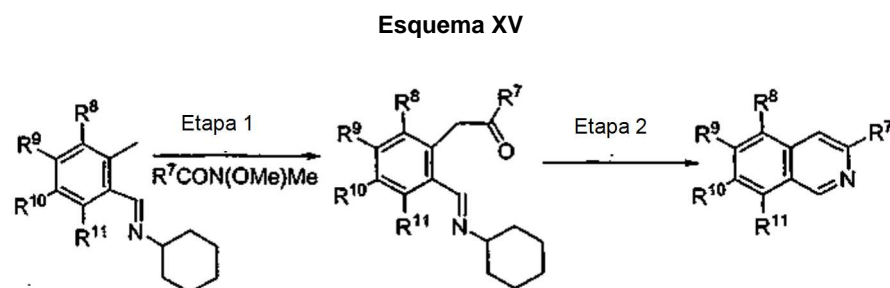


El Esquema XIV muestra un procedimiento adicional para la síntesis de isoquinolinas. La desprotonación del intermedio (1) usando terc-butillitio se describe anteriormente. No obstante, en el presente procedimiento, dicho anión intermedio queda atrapado por un éster que tiene como resultado la formación del intermedio (2) como muestra a continuación. En una reacción posterior, se condensa la cetona (2) con acetato de amonio a temperatura elevada proporcionando la formación de la quinolona (3). La presente reacción es general y se puede aplicar para la construcción de isoquinolonas sustituidas, que se pueden convertir en las correspondientes 1-cloroisoquinolinas como se describe en el presente documento.

30

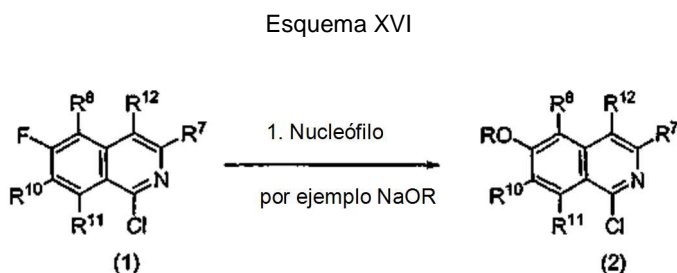


Otro procedimiento para la construcción de isoquinolinas se encuentra en el Esquema XV. En la primera etapa del presente procedimiento, se someten derivados de orto-alquilarioamina tal como (1) a condiciones de desprotonación (sec-butillitio, THF) y el anión resultante se inactiva por medio de la adición de un derivado activado de ácido carboxílico tal como una amida de Weinreb. La ceto imina (2) resultante se puede convertir en la correspondiente isoquinolina por medio de condensación con acetato de amonio a temperaturas elevadas. El presente procedimiento es general y se puede usar para la síntesis de isoquinolinas sustituidas. Dichas isoquinolinas se pueden convertir en la correspondiente 1-cloroisoquinolina por medio de los procedimientos descritos en el presente documento.



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

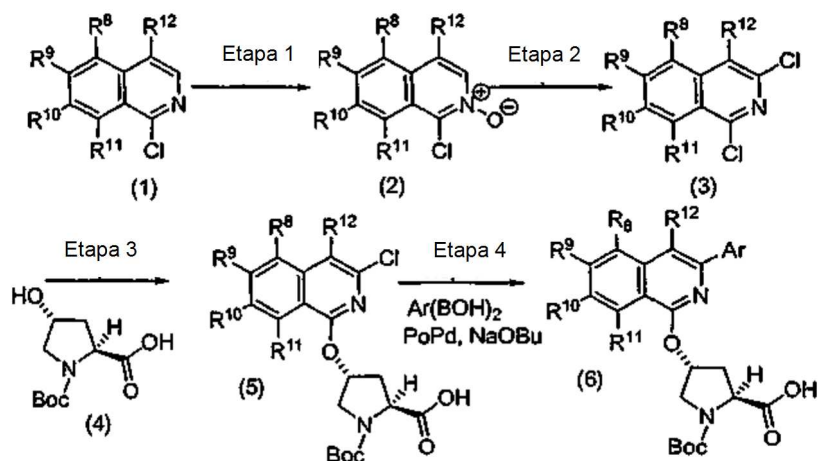
Los heterociclos descritos en el presente documento, y que se incorporan en los compuestos de Fórmula (I), se pueden funcionalizar más. Resulta obvio para el experto en la técnica que la funcionalización adicional de dichos heterociclos se puede llevar a cabo antes o después de la incorporación de las presentes funcionalidades en los compuestos de Fórmula (I). Los siguientes esquemas ilustran el presente punto. Por ejemplo, el Esquema XVI muestra la conversión de 1-cloro-6-fluoroisoquinolina en las correspondientes especies de 1-cloro-6-alcóxiisoquinolina, por medio del tratamiento de (1) con especies de alcóxidos de sodio o de potasio en el disolvente de alcohol a partir del cual se deriva el alcóxido a temperatura ambiente. En algunos casos, puede resultar necesario calentar la reacción para llevarla hasta la finalización. Se puede incorporar dicha cloroisoquinolina en un compuesto de Fórmula (I) usando la técnica descrita en el presente documento.



El Esquema XVII proporciona un ejemplo general para la modificación de los heterociclos como se define en el presente documento mediante el empleo de reacciones de acoplamiento mediadas con paladio. Se pueden emplear dichos acoplamientos para funcionalizar un heterociclo en cada posición del sistema de anillo con la condición de que dicho anillo se encuentre activado o funcionalizado de forma apropiada, como por ejemplo con cloruro como se muestra en el esquema. La presente secuencia comienza con 1-cloroisoquinolina (1) que, tras tratamiento con ácido metacloroperbenzoico, se puede convertir en el correspondiente N-óxido (2). Dicho intermedio (2) se puede convertir en la correspondiente 1,3-dicloroisoquinolina (3) por medio de tratamiento con oxicluroso fosforoso en cloroformo a reflujo. Se puede acoplar el intermedio (3) con N-Boc-4-hidroxirolina por medio de los procedimientos descritos en el presente documento para proporcionar el intermedio (5), como se muestra en el esquema. El intermedio (5) puede experimentar un acoplamiento de Suzuki con un ácido aril borónico, en presencia de un reactivo de paladio y una base, y en un disolvente tal como THF o tolueno o DMF para proporcionar un intermedio de C3-arilisoquinolina (6). También se pueden emplear ácidos heteroarilborónicos en el presente procedimiento de acoplamiento con mediación de Pd para proporcionar C3-heteroarilisoquinolinas. Se puede convertir el intermedio (6) en compuestos

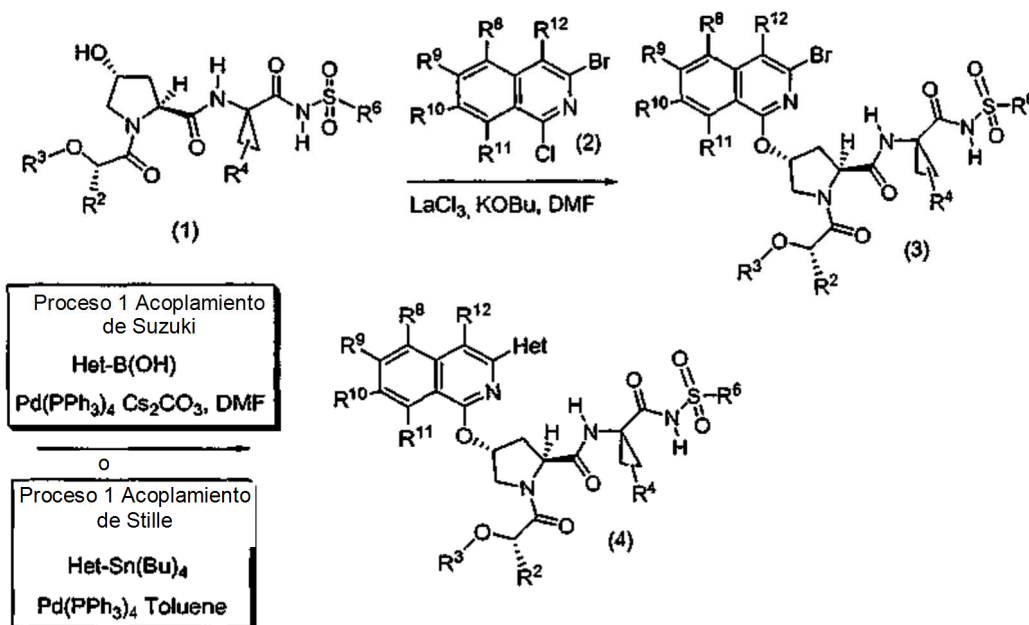
finales de Fórmula (I) por medio de los procedimientos descritos en el presente documento.

Esquema XVII

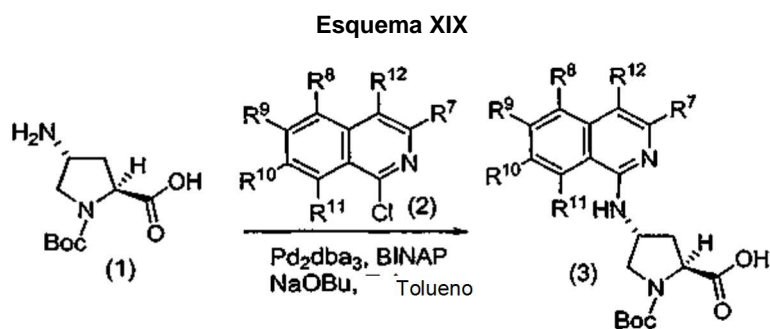


También se pueden emplear los acoplamientos con mediación de paladio de sistemas de heteroarilo con elementos de arilo o heteroarilo en una etapa sintética posterior en la construcción de compuestos de Fórmula (I) como se muestra en el Esquema XVIII. En el mismo, se acopla el intermedio (1) de acilsulfonamida de tripéptido a una 1-cloro-3-bromoisoquinolina (2) usando el procedimiento descrito previamente de desplazamiento de alcóxido de un resto heteroarilhalo para proporcionar el intermedio (3). El acoplamiento de (1) y (2) es el más eficaz en presencia de un catalizador tal como cloruro de lantano como se describe en el presente documento. El sistema de anillo de isoquinolina del intermedio (3) se puede funcionalizar más mediante el empleo bien de acoplamientos de Suzuki (Procedimiento 1: sometiendo (3) a ácidos heteroaril o aril borónicos en presencia de un catalizador de paladio tal como paladio tetra(trifenilfosfina) y una base tal como carbonato de cesio en disolventes tales como DMF) o acoplamientos de Stille (Procedimiento 2: someter (3) a derivados de heteroaril o aril estaño en presencia de un catalizador de paladio tal como paladio tetra(trifenilfosfina) en disolventes tales como tolueno).

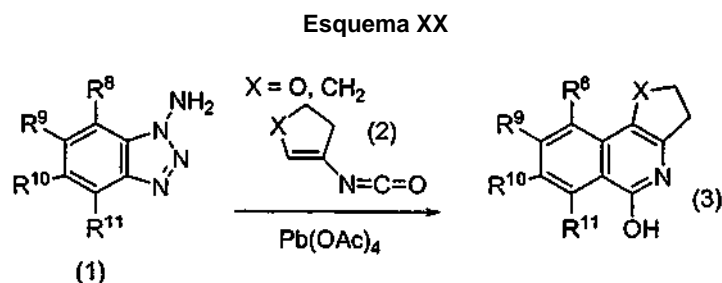
Esquema XVIII



También se pueden emplear las reacciones de paladio para acoplar elementos de C4-amino prolina 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. Se pueden convertir los intermedios tales como (3) en compuestos de Fórmula (I) usando los procedimientos que se describen en el presente documento.



5 La construcción de sistemas de anillo de isoquinolina funcionalizada también es posible empleando reacciones de cicloadición [4+2]. Por ejemplo, como se muestra en el Esquema XX, el uso de isocianato de vinilo (1) en reacciones de cicloadición con compuestos de fórmula (2) proporciona isoquinolonas funcionalizadas (3). Dichas isoquinolonas se pueden incorporar a los compuestos de Fórmula (I) usando los procedimientos que se describen en el presente documento.



10 Ejemplos

A continuación, se describe la presente divulgación en conexión con determinadas realizaciones que no se pretende que limiten su alcance. Por el contrario, la presente divulgación cubre todas las alternativas, modificaciones y equivalentes que se pueden incluir dentro del alcance de las reivindicaciones. De este modo, los siguientes ejemplos ilustran una práctica de la presente divulgación, entendiéndose que los ejemplos son para los fines de ilustración de determinadas realizaciones y se presentan para proporcionar los que se piensa que es la descripción más útil y fácilmente comprensible de sus procedimientos y aspectos conceptuales.

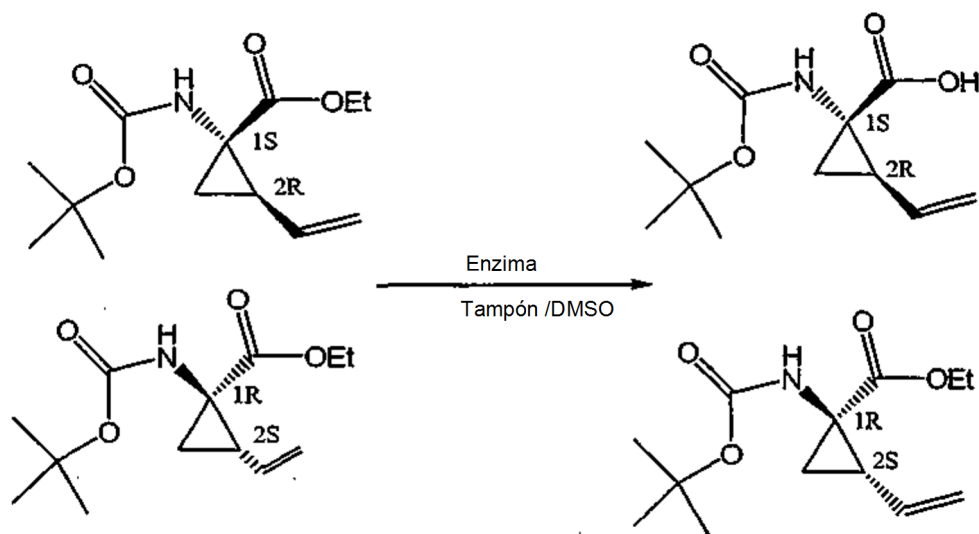
20 Los porcentajes de solución expresan una relación de peso con respecto a volumen, y las proporciones en solución expresan una relación volumen con respecto a volumen, a menos que se especifique lo contrario. Se registraron los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) en un espectrómetro de Bruker a 300, 400 ó 500 MHz; se presentan los cambios químicos (δ) en partes por millón. Se llevó a cabo la cromatografía instantánea sobre gel de sílice (SiO_2) por medio de procedimientos evidentes para el experto en la técnica (véase J. Org. Chem. 1978, 43, 2923).

25 Se prepararon los compuestos y los intermedios químicos de la presente invención, descritos en los siguientes ejemplos, de acuerdo con los procedimientos siguientes. Los números de ejemplo y los números de compuesto no son contiguos a lo largo de toda la parte de los Ejemplos de la solicitud.

Sección A

I. Preparación de intermedios P1:

2. Resolución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico

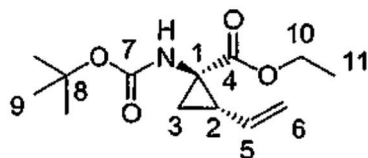


racemato : mezcla 1:1 de (1R, 2S) y (1S, 2R).

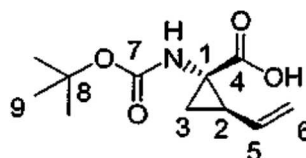
Resolución A

5 Se añadieron 511 gramos de Alcalase 2,4 I (aproximadamente 425 ml) (Novozymes North America Inc.) a una solución acuosa de tampón de fosfato de sodio (0,1 M, 4,25 l, pH 8) albergada en un reactor con camisa de 12 litros, mantenido a 39 °C y agitado a 300 rpm. Cuando la temperatura de la mezcla alcanzó 39 °C, se ajustó el pH hasta 8,0 mediante la adición de NaOH de 50 % en agua. Posteriormente, se añadió una solución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (85 g) en 850 ml de DMSO durante un período de 40 minutos. A continuación, se mantuvo la temperatura de reacción en 40 °C durante 24,5 horas, tiempo durante el cual se ajustó el pH de la mezcla en 8,0 y los puntos de tiempo de 1,5 horas y 19,5 horas usando NaOH de 50 % en agua. Transcurridas 24,5 horas, se determinó que el exceso de enantio del éster era de 97,2 %, y se enfrió la reacción a temperatura ambiente (26 °C) y se agitó durante la noche (16 horas), después de lo cual se determinó que el exceso de enantio del éster era de 100 %. A continuación, se ajustó el pH de la mezcla de reacción en un valor de 8,5 con NaOH de 50 % y se sometió a extracción la mezcla resultante con MTBE (2 x 2 l). Posteriormente, se lavó el extracto de MTBE combinado con NaHCO₃ de 5 % (3 x 100 ml), agua (3 x 100 ml) y se concentró a vacío para dar el éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico enantioméricamente puro en forma de sólido de color amarillo claro (42,55 g; pureza: 97 % @ 210 nm, no contenía ácido; exceso enantiomérico de 100 % ("ee").

20 Posteriormente se acidificó la capa acuosa a partir del procedimiento de extracción hasta pH 2 con H₂SO₄ de 50 % y se sometió a extracción con MTBE (2 x 2 l). Se lavó el extracto de MTBE con agua (3 x 100 ml) y se concentró para dar el ácido en forma de sólido de color amarillo claro (42,74 g; pureza: 99 % @ 210 nm, no contenía éster).



1R, 2S - éster



1S, 2R - ácido

ES 2 389 054 T3

	éster		ácido	
Espec. Masa de Alta Resolución	(+) ESI, C ₁₃ H ₂₂ N ₀ ₄ , [M+H] ⁺ , calculado. 256,1549, encontrado 256,1542		(-) ESI, C ₁₁ H ₁₆ N ₀ ₄ , [M-H] ⁻ , calculado. 226,1079, encontrado 226,1089	
Cambio químico observado por RMN				
Disolvente: CDCl ₃ (proton δ 7,24, C-13 δ 77,0)				
Bruker DRX-500C: proton 500,032 MHz, carbono 125,746 MHz				
Posición	Protón (patrón) ppm	C-13 ppm	Protón (patrón) ppm	C-13 ppm
1	—	40,9	—	40,7
2	2,10(q,J=9,0Hz)	34,1	2,17 (q, J = 9,0 Hz)	35,0
3a	1,76 (br)	23,2	1,79 (br)	23,4
3b	1,46 (br)		1,51, (br)	
4	—	170,8	—	175,8
5	5,74 (ddd, J = 9,0, 10,0, 17,0 Hz)	133,7	5,75 (m)	133,4
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 0,1 ml de Savinase 16,0 l (proteasa de Bacillus clausii) (Novozymes North America Inc.) y una solución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (10 mg) en 0,1 ml de DMSO sobre 0,5 ml de tampón de Heps.Na 100 mM (pH 8,5) en un pocillo de una placa de 24 pocillos (capacidad: 10 ml/pocillo). Se selló la placa y se incubó a 250 rpm a 40 °C. Trascurridas 18 horas, se determinó que el exceso enantio del éster fue de 44,3 %, como se muestra a continuación: se retiró 0,1 ml de la mezcla de reacción y se mezclaron bien con 1 ml de etanol; tras centrifugación, se añadieron 0,1 ml de DMSO y se incubó la placa durante 3 días adicionales a 250 rpm a 40 °C, después de lo cual se añadieron al pocillo 4 ml de etanol. Tras centrifugación, se analizaron 10 µl de sobrenadante con HPLC quiral y se determinó que el exceso enantio del éster fue de 100 %.

Resolución C

- 15 Se añadieron 0,1 ml de Esperase 8,0 l (proteasa de Bacillus halodurans) (Novozymes North America Inc.) y una solución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (10 mg) en 0,1 ml de DMSO sobre 0,5 ml de tampón de Heps.Na 100 mM (pH 8,5) en un pocillo de una placa de 24 pocillos (capacidad: 10 ml/pocillo). Se selló la placa y se incubó a 250 rpm a 40 °C. Trascurridas 18 horas, se determinó que el exceso enantio del éster fue de 39,6 %, como se muestra a continuación: se retiró 0,1 ml de la mezcla de reacción y se mezclaron bien con 1 ml de etanol; tras centrifugación, se analizaron 10 µl de sobrenadante con HPLC quiral. Al resto de la mezcla, se añadieron 0,1 ml de DMSO y se incubó la placa durante 3 días adicionales a 250 rpm a 40 °C, después de lo cual se añadieron 4 ml de etanol al pocillo. Tras centrifugación, se analizaron 10 µl de sobrenadante

con HPLC quiral y se determinó que el exceso enantio del éster fue de 100 %.

Se llevaron a cabo los análisis de las muestras de la siguiente forma:

1) Preparación de muestra: se mezclaron aproximadamente 0,5 ml de la mezcla de reacción con 10 volúmenes de etanol. Tras centrifugación, se inyectaron 10 µl del sobrenadante en la columna de HPLC.

5 2) Determinación de la conversión:

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

Disolvente: A, HCl 1 mM en agua, B, acetonitrilo

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

10 Caudal: 2 ml/min

Detección UV: 210 nm

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

3) Determinación de exceso enantio del éster:

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

Fase móvil: acetonitrilo, HClO₄ 50 nM en agua (67/33)

Caudal: 0,75 ml/min

Detección UV: 210 nm

Tiempo de retención:

20 ácido (1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico 5,2 minutos; racemato éster etílico de ácido (1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico 18,5 minutos y 20,0 minutos; éster etílico de ácido (1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico 18,5 minutos.

Resolución D

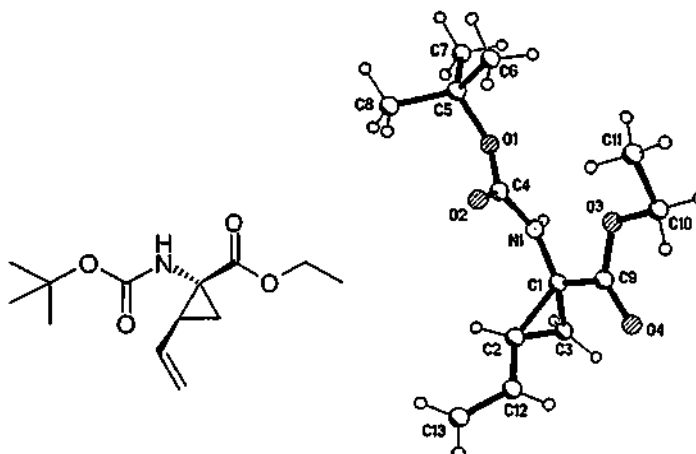
Se mantuvieron 5 l de un tampón de fosfato de sodio 0,3 M (pH 8) a 38 °C en un reactor con camisa de 20 l, se agitó a 30 rpm. Se añadieron al reactor cuatro litros de Alcalase 2,4 l (Novozymes North America Inc.) y 1 l de agua DI. Cuando la temperatura de la mezcla se encontraba próxima a 38 °C, se ajustó el pH a 7,8 con NaOH 10N. Se añadió al reactor una solución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (500 g) en 5 litros de DMSO durante un período de 1 hora por medio de un embudo de adición. Posteriormente, se ajustó la temperatura de reacción a 48 °C. Trascurridas 21 horas, el exceso de enantio del éster alcanzó 99,3 %. Se detuvo el calentamiento a las 24 horas y se enfrió lentamente la reacción hasta temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y se agitó durante la noche. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción hasta 8,5, con NaOH 10N y se sometió a extracción la mezcla con MTBE (2 x 4 l). Se lavó el extracto de MTBE combinado con NaHCO₃ 5% (3 x 400 ml) y agua (3 x 400 ml) y se concentró para dar éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico enantioméricamente puro en forma de cristal de color amarillo claro (259 g; pureza: 96,9 % @ 210 nm, no contenía ácido, 100 % ee).

Resolución E

Se mantuvieron 10 l de un tampón de fosfato de sodio 0,1 M (pH 8) a 40 °C en un reactor con camisa de 20 l, se agitó a 360 rpm. Se añadieron al reactor 1,5 l de Alcalase 2,4 l (Novozymes North America Inc.). Cuando la temperatura de la mezcla se encontraba próxima a 38 °C, se ajustó el pH a 8,0 con NaOH 10N. Se añadió al reactor una solución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (200 g) en 2 litros de DMSO durante un período de 1 hora por medio de un embudo de adición. Posteriormente, se ajustó la temperatura de reacción a 40 °C. Trascurridas 3 horas, se ajustó el pH a 8,0 con NaOH 10N. Trascurridas 21 horas, se enfrió la reacción hasta 25 °C. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción en 8,5 con NaOH 10N y se sometió a extracción la mezcla con MTBE (2 x 5 l). Se lavó el extracto de MTBE combinado con NaHCO₃ 5% (3 x 400 ml) y agua (3 x 200 ml) y se concentró para dar 110 g de un aceite de color amarillo. Se fijó el aceite a temperatura ambiente bajo vacío y el resultado fue la obtención de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico enantioméricamente puro en forma de cristales de varillas grandes incoloros (101 g; pureza: 97,9 % @ 210 nm, no contenía ácido, 100 % ee).

La estructura de cristal del éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico enantioméricamente puro se caracterizó por medio de análisis de cristal sencillo (rayos-X, NB#: 52795-093, código de referencia: 634592N). No se establece la configuración absoluta para la pérdida de un centro quiral o un átomo(s) más pesado. La estructura de cadena a lo largo del eje α cristalográfico está formada por medio de unión de hidrógeno intramolecular entre el grupo amida y el átomos de oxígeno de carbonilo (N...O 3,159 Or).

Estructura de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico:



Datos de cristal:

Fórmula Química: C₁₃H₂₁N₁O₄

Sistema de cristal: Ortorrómbico

5 Grupo espacial: *P*2₁2₁

a = 5,2902(1) Å *a* = 90°

b = 13,8946(2) Å *β* = 90°

c = 19,9768(3) Å *γ* = 90°

V = 1468,40(4) Å³

10 *Z* = 4 *d_x* = 1,155 g cm⁻³

Nº de reflex. parámetros de la red cristalina: 6817

Intervalo *θ* paramt. red cristalina (°): 2,2-65,2

Coefficiente de absorción (mm⁻¹): 0,700

Experimental:

Cristalización

Fuente de cristal: MTBE

Descripción del cristal: Varilla incolora

Tamaño del cristal (mm): 0,12 X 0,26 X 0,30

Recogida de Datos

Temperatura (K): 293

*θ*_{max} (°): 65,2 (Cu K α)

Nº de reflexiones medidas: 7518

Nº de reflexiones independientes: 2390 (*R*_{int} = 0,0776)

Nº de reflexiones observadas (*I* ≥ 2 σ): 2284

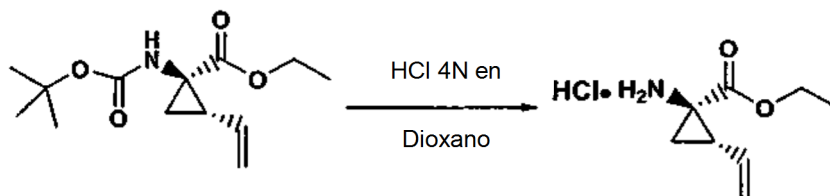
Corrección de absorción (*T*_{min}-*T*_{max}): 0,688-1,000

Resolución F

15 Se mantuvieron 5 l de un tampón de borato de sodio 0,1 M (pH 9) a 45 °C en un reactor con camisa de 20 l y se agitó a 400 rpm. Se añadieron al reactor 3 l de agua DI y 4 l de Savinase 16 l (Novozymes North America Inc.). Cuando la temperatura de la mezcla se encontraba próxima a 45 °C, se ajustó el pH a 8,5 con NaOH 10N. Se añadió al reactor una solución de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico racémico (200 g) en 2 litros de DMSO durante un período de 40 minutos por medio de un embudo de adición.

20 Posteriormente, se ajustó la temperatura de reacción a 48 °C. Trascurridas 2 horas, se ajustó el pH a 9,0 con NaOH 10N. Trascurridas 18 horas, el exceso enantio del éster alcanzó 72 % y se ajustó el pH a 9,0 con NaOH 10N. A las 24 horas, se rebajó la temperatura hasta 35 °C. A las 42 horas, se aumentó la temperatura hasta 48 °C y se ajustó el pH en 9,0 con NaOH 10N. Se detuvo el calentamiento a las 48 horas y se enfrió lentamente la reacción hasta temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y se agitó durante la noche. A las 66 horas, el pH de la mezcla de reacción fue de 8,6. Se sometió a extracción la mezcla con MTBE (2 x 4 l). Se lavó el extracto de MTBE combinado con NaHCO₃ 5% (6 x 300 ml) y agua (3 x 300 ml) y se concentró para dar éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico enantioméricamente puro en forma de cristales de color amarillo claro (101A g; pureza: 95,9 % @ 210 nm, no contenía ácido, 98,6 % ee).

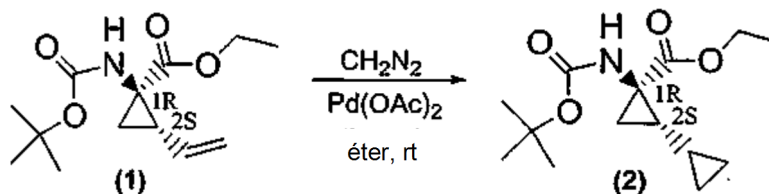
3. Preparación de hidrocloreto de éster etílico de ácido (1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico quiral



30 Se agitó éster etílico de ácido N-BOC-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (8,5 g, 33,3 mmol) bajo atmósfera de N₂ con 200 ml de HCl 4N/dioxano (Aldrich) a temperatura ambiente durante 3 horas. Se retiró el disolvente a presión reducida manteniendo la temperatura por debajo de 40 °C. Esto dio 6,57 g (\approx 100 %) de hidrocloreto de éster etílico de ácido (1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico en forma de sólido de color castaño claro.

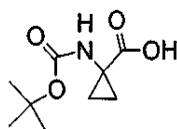
35 ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,31 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,69-1,82 (m, 2H), 2,38 (q, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,29 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 5,22 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 5,40 (d, *J* = 17,2 Hz, 1H), 5,69-5,81 (m, 1H). MS *m/z* 156 (*M*⁺ + 1).

4. Preparación de éster etílico de ácido (1R, 2S)-1-amino-2-ciclopropilpropano carboxílico

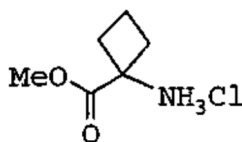


5 Se trató una solución de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (255 mg, 1,0 mmol) en éter (10 ml) con acetato de paladio (5 mg, 0,022 mmol). Se colocó la solución naranja/roja bajo una atmósfera de N_2 . Se añadió un exceso de diazometano en éter gota a gota durante el curso de 1 hora. Se agitó la solución resultante a temperatura ambiente durante 18 horas. Se retiró el exceso de diazometano usando una corriente de nitrógeno. Se concentró la solución resultante por medio de evaporación rotatoria para dar un producto bruto. La cromatografía instantánea (acetato de etilo 10 %/hexano) proporcionó 210 mg (78 %) de éster etílico de ácido N-Boc-(1R, 2S)-1-amino-2-ciclopropilciclopropano carboxílico en forma de aceite incoloro. LC-MS (tiempo de retención: 2,13, similar al procedimiento A excepto: tiempo de gradiente 3 minutos, columna Xterra MS C18 S7 3,0 x 50 mm) MS m/e 270 (M^++1).

5. El ácido 1-t-butoxicarbonilamino-ciclopropano carboxílico se encuentra comercialmente disponible

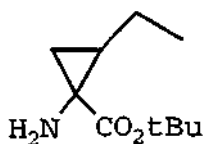


15 6. Preparación de hidrocloreto de éster metílico de ácido 1-aminociclobutanocarboxílico

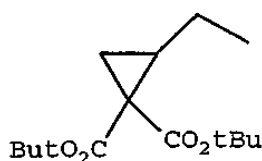


20 Se disolvió ácido 1-aminociclobutanocarboxílico (100 mg, 0,869 mmo) (Tocris) en 10 ml de metanol. Se borboteó gas de HCl en el interior durante 2 horas. Se agitó la mezcla de reacción durante 18 horas, y posteriormente se concentró a vacío para dar 144 mg de un aceite de color amarillo. La trituración con 10 ml de éter dietílico proporcionó 100 mg del producto del título en forma de sólido de color blanco. ^1H RMN (CDCl_3) δ 2,10-2,25 (m, 1H), 2,28-2,42 (m, 1H), 2,64-2,82 (m, 4H), 3,87 (s, 3H), 9,21 (br, s, 3H).

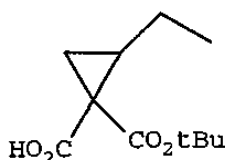
7. Preparación de éster terc-butílico de ácido (1R, 2R)/(1S, 2S)-1-amino-2-etilciclopropanocarboxílico racémico



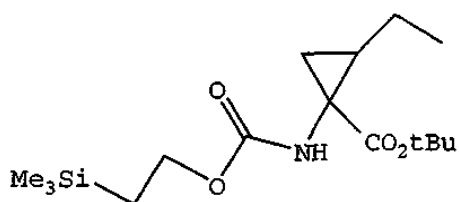
etilo en syn con respecto a carboxi

Etapa 1: Preparación de éster di-terc-butílico de ácido 2-etilciclopropano-1,1-dicarboxílico, mostrado a continuación

5 Se añadieron 1,2 dibromobutano (30,0 g, 138,9 mmol) y di-terc-butilmalonato (20,0 g, 92,5 mmol) a una suspensión de cloruro de benciltriethylamonio (21,0 g, 92,2 mmol) en una solución acuosa de NaOH de 50 % (92,4 g en 185 ml de H₂O). Se agitó intensamente la mezcla de reacción durante 18 horas a temperatura ambiente, y posteriormente se añadió una mezcla de hielo y agua. Se sometió a extracción el producto bruto con diclorometano (3x) y se lavó de manera secuencial con agua (3x), salmuera y se combinaron los extractos orgánicos. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) se filtró y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía instantánea (100 g de SiO₂, éter dietílico de 3 % en hexano) el residuo resultante para permitir la obtención del compuesto del título (18,3 g, 67,8 mmol, 73 % de rendimiento) que se usó directamente en la siguiente reacción.

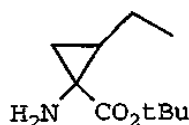
Etapa 2: Preparación de éster terc-butílico de ácido 2-etilciclopropano-1,1-dicarboxílico racémico, mostrado a continuación

15 Se añadió el producto de la Etapa 1 (18,3 g, 67,8 mmol) a una suspensión de terc-butóxido de potasio (33,55 g, 299,0 mmol) y éter seco (500 ml) a 0 °C, seguido de H₂O (1,35 ml, 75,0 mmol) y se agitó intensamente durante la noche a temperatura ambiente. Se vertió la mezcla de reacción en una mezcla de hielo y agua y se lavó con éter dietílico (3x). Se acidificó la fase acuosa con una solución acuosa de ácido cítrico de 10 % a 0 °C y se sometió a extracción con acetato de etilo (3x). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua (2x), salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para permitir la obtención del producto del título en forma de aceite e color amarillo claro (10 g, 46,8 mmol, 69 % rendimiento).

Etapa 3. Preparación de éster terc-butílico de ácido (1R, 2R/(1S, 2S)-2-etil-1-(2-trimetilsilaniletotoxicarbonilamino)ciclopropan-carboxílico, que se muestra a continuación

25 Se añadió trietilamina (7,50 ml, 53,8 mmol) y DPPA (11 ml, 10,21 mmol) a una suspensión del producto de la Etapa 2 (10 g, 46,8 mmol) y 3 g de tamices moleculares de 4 angstroms recién activados en benceno seco (160 ml). Se colocó a reflujo la mezcla de reacción durante 3,5 horas, posteriormente se añadió 2-trimetilsilil-etanol (13,5 ml, 94,2 mmol) y se colocó la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se filtró la mezcla de reacción, se diluyó con éter dietílico, se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico de 10 %, agua, NaHCO₃ acuoso saturado, agua (2x), salmuera (2x), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío. Se suspendió el residuo con 10 g de resina de neutralizante de poliisocianato de Aldrich en 120 ml de diclorometano, se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se filtró para permitir la obtención del compuesto del título (8 g, 24,3 mmol; 52 %) en forma de aceite de color amarillo claro: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,03 (s, 9H), 0,97 (m, 5H), 1,20 (br m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,40-1,70 (m, 4H), 4,16 (m, 2H), 5,30 (s a, 1H).

Etapa 4. Preparación de éster terc-butílico de ácido (1R, 2R)/(1S, 2S)-1-amino-2-etilciclopropanocarboxílico, que se muestra a continuación



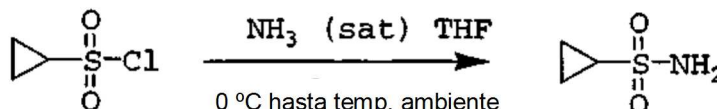
etilo en syn con respecto a carboxi

- 5 Se añadió una solución de TBAF 1,0 M en THF (9,3 ml, 9,3 mmol) sobre el producto de la Etapa 3 (3g, 9 mmol) y se calentó la mezcla a reflujo durante 1,5 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y posteriormente se diluyó con 500 ml de acetato de etilo. Se lavó sucesivamente la solución con agua (2x 100 ml), salmuera (2x100 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar el intermedio del título.

II. Preparación del intermedio P1'

10 1. Preparación de ciclopropilsulfonamida

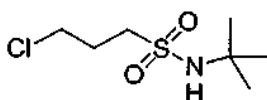
Procedimiento 1 (de 2):



- 15 Se borboteó amoníaco gaseoso en una solución de 100 ml de THF enfriada a 0 °C hasta alcanzar saturación. Se añadió una solución de 5 g (28,45 mmol) de cloruro de ciclopropilsulfonilo (adquirido en Array Biopharma) en 50 ml de THF, se calentó la solución hasta temperatura ambiente durante la noche y se agitó un día adicional. Se concentró la mezcla hasta que quedó 1-2 ml de disolvente, se aplicó sobre 30 g de SiO₂ (se acetato de etilo de 30 % a 60 %/hexanos) para permitir la obtención de 3,45 g (100 %) de ciclopropil sulfonamida en forma de sólido de color blanco. ¹H RMN (metanol-d₄) δ 0,94-1,07 (m, 4H), 2,52-2,60 (m, 1H); ¹³C RMN (metanol-d₄) δ 5,92, 33,01.

Procedimiento 2 (de 2):

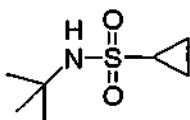
20 Etapa 1: Preparación de N-terc-butil-(3-cloro)propilsulfonamida



- 25 Se disolvió terc-butilamina (3,0 mol, 315,3 ml) en THF (2,5 l). Se enfrió la solución hasta -20 °C. Se añadió lentamente cloruro de 3-cloropropanosulfonilo (1,5 mol, 182,4 ml). Se dejó que la mezcla de reacción se calentase hasta temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas. Se filtró la mezcla, y se concentró el filtrado a vacío. Se disolvió el residuo en diclorometano (2,0 l). Se lavó la solución resultante con HCl 1N (1,0 l), agua (1,0 l), salmuera (1,0 l) y se secó sobre Na₂SO₄. Se filtró y se concentró a vacío para dar un sólido de color amarillo claro, que se cristalizó a partir de hexano para permitir la obtención del producto en forma de sólido de color blanco (316,0 g, 99 %). ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,38 (s, 9H), 2,30-2,27 (m, 2H), 3,22 (t, J=7,35 MHz, 2H), 3,68 (t, J=6,2 Hz, 2H), 4,35 (br, 1H).

Etapa 2: Preparación de terc-butilamida de ácido ciclopropanosulfónico

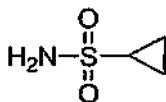
30



Se añadió n-butilitio (2,5 M en hexano, 8,0 ml, 20,0 mmol) a -78 °C a una solución de N-terc-butil-(3-cloro)propilsulfonamida (2,14 g, 10,0 mmol) en THF (100 ml). Se dejó calentar la mezcla hasta temperatura ambiente durante un período de 1 hora. Se retiraron los volátiles a vacío. Se separó el residuo entre acetato de etilo y agua

(200ml, 200 ml). La fase orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío. Se recristalizó el residuo en hexano para dar lugar al producto deseado en forma de sólido de color blanco (1,0 g, 56 %). ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,98-1,00 (m, 2H), 1,18-1,19 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 2,48-2,51 (m, 1H), 4,19 (br, 1H).

Etapa 3: Preparación de ciclopropilsulfonamida

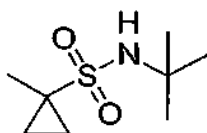


5

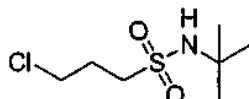
Se agitó una solución de terc-butilamida de ácido ciclopropanosulfónico (110,0 g, 0,62 mmol) en TFA (500 ml) a temperatura ambiente durante 16 horas. Se retiraron los volátiles a vacío. Se recristalizó el residuo a partir de acetato de etilo/hexano (60 ml, 240 ml) para dar lugar al producto deseado en forma de sólido blanco (68,5 g, 91 %). ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 0,84-0,88 (m, 2H), 0,95-0,98 (m, 2H), 2,41-2,58 (m, 1H), 6,56 (br, 2H).

10 2. Preparación de ciclopropilsulfonamidas C1-sustituidas

2a. Preparación de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropil-sulfonamida

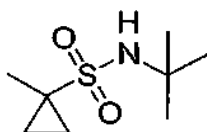


Etapa 1. Preparación de N-terc-butil-(3-cloro)propilsulfonamida



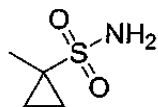
15 Preparada como se ha descrito anteriormente.

Etapa 2. Preparación de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropil-sulfonamida

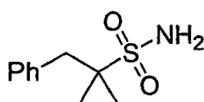


20 Se disolvió una solución de N-terc-butil-(3-cloro)propilsulfonamida (4,3 g, 20 mmol) en THF seco (100 ml) y se enfrió hasta -78 °C. Se añadió n-butilitio (17,6 ml, 44 mmol, 2,5 M en hexano) a esta solución de forma lenta. Se retiró el baño de hielo seco y se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente durante un período de 1,5 horas. Posteriormente se enfrió la mezcla hasta -78 °C, y se añadió una solución de n-butilitio (20 mmol, 8 ml, 2,5 M en hexano). Se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente, se re-enfrió hasta -78 °C durante un período de 2 horas y se añadió una solución pura de yoduro de metilo (5,68 g, 40 mmol). Se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente la noche, posteriormente se inactivó con NH₄Cl saturado (100 ml) a temperatura ambiente. Se sometió a extracción con acetato de etilo (100 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera (100 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para dar un aceite de color amarillo que se cristalizó a partir de hexano para permitir la obtención del producto en forma de sólido de color amarillo claro (3,1 g, 81 %): ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,79 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 1,52 (m, 2H), 1,62 (s, 3H), 4,10 (s a, 1H).

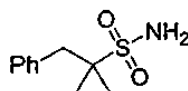
25

Etapa 3. Preparación de 1-metilciclopropilsulfonamida

5 Se disolvió una solución de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida (1,91 g, 10 mmol) en TFA (30 ml) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 horas. Se retiró el disolvente a vacío para dar lugar a un aceite de color amarillo que se cristalizó a partir de acetato de etilo/hexano (1:4, 40 ml) para dar lugar al Ejemplo 3, 1-metilciclopropilsulfonamida, en forma de sólido de color blanco (1,25 g, 96 %). ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,84 (m, 2H), 1,41 (m, 2H), 1,58 (s, 3H), 4,65 (s a, 2H). Anal. Calcd. Para C₄H₉NO₂S: C, 35,54; H, 6,71; N, 10,36. Encontrado: C, 35,67; H, 6,80; N, 10,40.

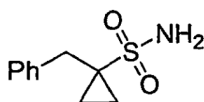
2b. Preparación de 1-Bencilciclopropilsulfonamida

10

Etapa 1. Preparación de N-terc-butil-(1-bencil)ciclopropil-sulfonamida

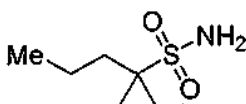
15

Se obtuvo el presente compuesto con 60 % de rendimiento usando el procedimiento descrito para la síntesis de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida excepto que se usaron 1,05 equivalentes de bromuro de bencilo, seguido de trituración con acetato de etilo 10 % en hexano: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,92 (m, 2H), 1,36 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 3,25 (s, 2H), 4,62 (s a, 1H), 7,29-7,36 (m, 5H).

Etapa 2: Preparación de 1-bencilciclopropilsulfonamida

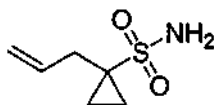
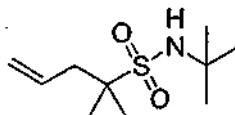
20

Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 66 % a partir de N-terc-butil-(1-bencil)ciclopropilsulfonamida usando el procedimiento descrito para la síntesis de 1-metilciclopropilsulfonamida, seguido de recristalización a partir de la cantidad mínima de acetato de etilo de 10 % en hexano: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,90 (m, 2H), 1,42 (m, 2H), 3,25 (s, 2H), 4,05 (s, 2H), 7,29 (m, 3H), 7,34 (m, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 11,1, 36,8, 41,9, 127,4, 128,8, 129,9, 136,5.

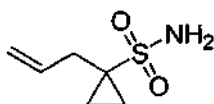
Etapa 2c. Preparación de 1-propilciclopropilsulfonamida

25

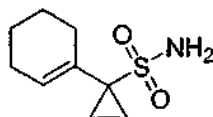
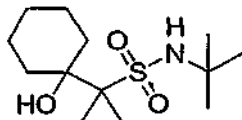
Se preparó el presente compuesto usando el procedimiento descrito para la preparación de 1-metilciclopropilsulfonamida excepto que se utilizó haluro de propilo en lugar de yoduro de metilo en la segunda etapa del presente procedimiento.

2d. Preparación de 1-aliilciclopropilsulfonamidaEtapa 1: Preparación de N-terc-butil-(1-aliil)ciclopropilsulfonamida

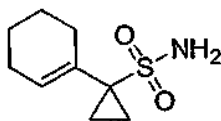
- 5 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 97,5 de acuerdo con el procedimiento descrito en la síntesis de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida excepto que se usaron 1,25 equivalentes de bromuro de alilo como electrófilo. Se llevó directamente el compuesto a la siguiente reacción sin purificación: $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0,83 (m, 2H), 1,34 (s, 9H), 1,37 (m, 2H), 2,64 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 4,25 (s a, 1H), 5,07-5,10 (m, 2H), 6,70-6,85 (m, 1H).

Etapa 2: Preparación de 1-aliilciclopropilsulfonamida

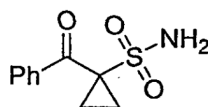
- 10 El presente compuesto, 1-aliilciclopropilsulfonamida, se obtuvo con un 40 % de rendimiento a partir de N-terc-butil-(1-aliil)ciclopropilsulfonamida de acuerdo con el procedimiento descrito en la síntesis de 1-metilciclopropilsulfonamida. Se purificó el compuesto por medio de cromatografía en columna sobre SiO_2 usando 2 % de metanol en diclorometano como eluyente: $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 0,88 (m, 2H), 1,37 (m, 2H), 2,66 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 4,80 (s, 2H), 5,16 (m, 2H), 5,82 (m, 1H); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ 11,2, 35,6, 40,7, 119,0, 133,6.
- 15

2e. Preparación de 1-(1-ciclohexenil)ciclopropil-sulfonamidaEtapa 1: Preparación de N-terc-butil-[1-(1-hidroxil)ciclohexil]:ciclopropilsulfonamida

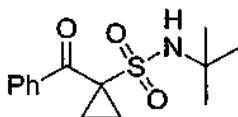
- 20 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 84 % usando el procedimiento descrito para la síntesis de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropil-sulfonamida excepto que se usaron 1,30 equivalentes de ciclohexanona, seguido de recristalización a partir de la cantidad mínima de acetato de etilo de 20 % en hexano: $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 1,05 (m, 4H), 1,26 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,57-1,59 (m, 6H), 1,97 (m, 2H), 2,87 (s a, 1H), 4,55 (s a, 1H).

Etapa 2: Preparación de 1-(1-ciclohexenil)ciclopropil-sulfonamida

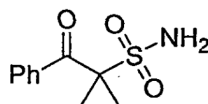
- 5 Se obtuvo el presente compuesto, 1-(1-ciclohexenil)-ciclopropilsulfonamida con un rendimiento de 85 % a partir de N-terc-butil-[1-(1-hidroxi)ciclohexil]-ciclopropilsulfonamida usando el procedimiento descrito para la síntesis de 1-metilciclopropilsulfonamida, seguido de recristalización a partir de la cantidad mínima de acetato de etilo en hexano: ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 0,82 (m, 2H), 1,28 (m, 2H), 1,51 (m, 2H), 1,55 (m, 2H), 2,01 (s, 2H), 2,16 (s, 2H), 5,89 (s, 1H), 6,46 (s, 2H); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) 11,6, 21,5, 22,3, 25,0, 27,2, 46,9, 131,6, 132,2; LR-MS (ESI): 200 (M^+ -1).

2f. Preparación de 1-benzoilciclo-propilsulfonamida

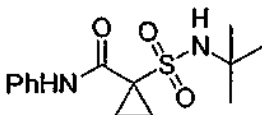
- 10 Etapa 1: Preparación de N-terc-butil-(1-benzoil)ciclopropil-sulfonamida



- 15 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 66 % usando el procedimiento descrito para la síntesis de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida excepto que se usaron 1,2 equivalentes de benzoato de metilo como electrófilo. Se purificó el compuesto por medio de cromatografía en columna sobre SiO_2 usando diclorometano de 30 % a 100 % en hexano. : ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,31 (s, 9H), 1,52 (m, 2H), 1,81 (m, 2H), 4,16 (s a, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,57 (m, 1H), 8,05 (d, J = 8,5 Hz, 2H).

Etapa 2: Preparación de 1-benzoilciclo-propilsulfonamida

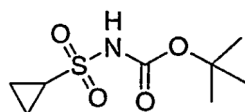
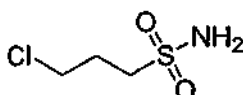
- 20 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento del 87 % a partir de N-terc-butil(1-benzoil)ciclopropil-sulfonamida usando el procedimiento descrito para la síntesis de 1-metilciclopropilsulfonamida, seguido de recristalización a partir de la mínima cantidad de acetato de etilo en hexano: ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 1,39 (m, 2H), 1,61 (m, 2H), 7,22 (s, 2H), 7,53 (t, J=7,6 Hz, 2H), 7,65 (t, J=7,6 Hz, 1H), 8,06 (d, J=8,2 Hz, 2H); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ 12,3, 48,4, 128,1, 130,0, 133,4, 135,3, 192,0.

2g. Preparación de N-tert-butil-(1-fenilaminocarboxi)-ciclopropilsulfonamida

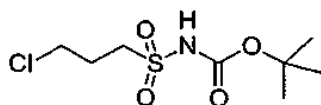
- 25 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 42 % usando el procedimiento descrito para la síntesis de N-terc-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida usando 1 equivalente de fenilisocianato, seguido de recristalización a partir de la cantidad mínima de acetato de etilo en hexano. ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,38 (s, 9H), 1,67-1,71 (m, 4H), 4,30 (s a, 1H), 7,10 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,34 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,53 (t, J = 7,5 Hz, 2H).

- 30 3. Preparación de Ciclopropanosulfonamidas C1-Sustituidas. El uso de un grupo protector N-Boc

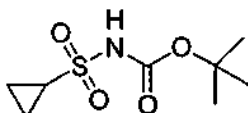
3a. Preparación de terc-butil carbamato de ciclopropilsulfonilamina, un intermedio clave en la preparación de

ciclopropilsulfonamidas C1-sustituidasEtapa 1: Preparación de 3-cloropropilsulfonamida

- 5 Se disolvió un solución de cloruro de 3-cloropropanosulfonilo (55 g, 310,7 mmol) en THF (200 ml) y se añadió gota a gota durante 30 minutos a una solución de NH₄OH (200 ml) enfriado a 0 °C. Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora, y se separó la fase acuosa varias veces con diclorometano (4 x 500 ml). Se lavó la fase de diclorometano combinada con HCl 1N (150 ml), agua (150 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío. Se recristalizó el sólido bruto a partir de la cantidad mínima de diclorometano en hexanos para permitir la obtención de 3-cloropropilsulfonamida en forma de sólido de color blanco (45,3 g, 93 %). ¹H RMN (CDCl₃) δ 2,34 (m, 2H), 3,32 (t, J=7,3 Hz, 2H), 3,70 (t, J=6,2 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 27,10, 42,63, 52,57.

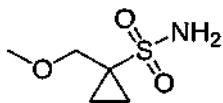
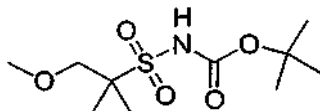
Etapa 2: Preparación de terc-butilcarbamato de 3-cloropropilsulfonamida

- 15 Se añadió lentamente y gota a gota una solución de di-terc-butildicarbonato (47,2 g, 216,9 mmol) en diclorometano (250 ml) durante 30 minutos sobre una solución de 3-cloropropilsulfonamida (30,2 g, 191,5 mmol), trietilamina (30,2 ml, 217,0 mmol) y 4-DMAP (2,40 g, 19,6 mmol) en diclorometano (350 ml) enfriado a 0 °C. Se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, se agitó durante 3 horas adicionales y se separó con HCl 1N (300 ml), agua (300 ml), salmuera (300 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para permitir la obtención de un producto bruto. Se trituró el presente material con 70 ml de diclorometano de 5 % en hexanos para permitir la obtención de terc-butilcarbamato de 3-cloropropilsulfonamida en forma de sólido de color blanquecino (47,2 g, 96 %). ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,51 (s, 9H), 2,33 (m, 2H), 3,60 (t, J=7,3 Hz, 2H), 3,68 (t, J=6,21 Hz, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 26,50, 27,95, 42,37, 50,40, 84,76, 149,53.

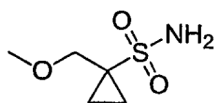
Etapa 3. Preparación de terc-butil carbamato de ciclopropilsulfonilamida

- 30 Se disolvió un solución de n-butillitio (74,7 ml, 119,5 mmol, 1,6 M en hexano) en THF seco (105 ml) y se enfrió hasta -78 °C bajo atmósfera de argón. Se añadió una solución de terc-butilcarbamato de 3-cloropropilsulfonilamina (14 g, 54,3 mmol) en THF seco (105 ml) a la presente solución durante 20-30 minutos. Se retiró el baño de hielo seco y se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente durante un período de 2 horas. Se inactivó la mezcla de reacción con ácido acético glacial (3,4 ml), se concentró a vacío, y se separó entre diclorometano (100 ml) y agua (100 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera (100 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para permitir la obtención de terc-butilcarbamato de ciclopropilsulfonilamina en forma de sólido de color blanquecino (12,08 g, 100 %). ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,10 (m, 2H), 1,34 (m, 2H), 1,50 (s, 9H), 2,88 (m, 1H), 7,43 (s, 1H). ¹³C RMN (CDCl₃) δ 6,21, 28,00, 31,13, 84,07, 149,82.

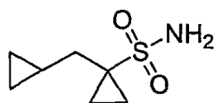
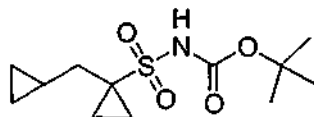
35

3b. Preparación de 1-metoxi-metilciclopropil-sulfonamidaEtapa 1. Preparación de terc-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina

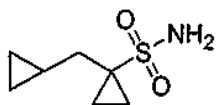
- 5 Se añadió n-butilitio (6,4 ml, 10,2 mmol, 1,6 M en hexano) a una solución de terc-butil carbamato de ciclopropilsulfonilamina (1,0 g, 4,5 mmol) disuelto en THF (30 ml) enfriado a -78 °C y se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora. Se añadió un solución pura de éter clorometílico y metílico (0,40 ml, 5,24 mmol) a la presente solución y se dejó la mezcla calentar lentamente a temperatura ambiente durante la noche. Se ajustó el pH de la solución hasta 3 usando HCl acuoso 1N y posteriormente se sometió a extracción con acetato de etilo (partes de 4 x 10 50 ml). Se secaron los extractos combinados (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para permitir la obtención de terc-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina, en forma de sólido céreo (1,20 g, 100 %) que se llevó directamente a la siguiente reacción sin purificación adicional: ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,03 (m, 2H), 1,52 (s, 9H), 1,66 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,68 (s, 2H), 7,54 (s, 1H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 11,37, 28,29, 40,38, 58,94, 73,43, 83,61, 149,57.

Etapa 2. Preparación de 1- metoximetilciclopropilsulfonamida

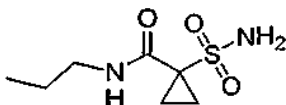
- 15 Se disolvió una solución de terc-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina (1,14 g, 4,30 mmol) en una solución de 50 % de TFA/diclorometano (30 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Se retiró el disolvente a vacío y se sometió el residuo a cromatografía sobre 80 g de SiO₂ (eluyendo con acetato de etilo/hexanos de 0 % 60 %) hasta obtener 1-metoximetilciclopropilsulfonamida en forma de sólido de color blanco (0,55 g, 77 % en total en dos etapas): ¹H RMN (GDCI₃) δ 0,95 (m, 2H), 1,44 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 4,85 (s, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 11,17, 40,87, 59,23, 74,80; LRMS m/z 183 (M⁺+NH₄).
- 20

3c. Preparación de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonamidaEtapa 1: Preparación de terc-butilcarbamato de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonamida

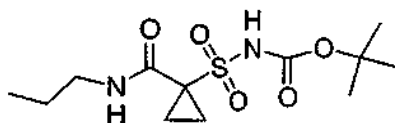
- 25 Se obtuvo terc-butilcarbamato de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonamida con 92 % de rendimiento de acuerdo con el procedimiento descrito en la síntesis de terc-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina, excepto que se usaron 1,10 equivalentes de bromuro de ciclopropilmetilo como electrófilo. El compuesto se llevó directamente a la siguiente reacción sin purificación: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,10 (m, 2H), 0,51 (m, 2H), 0,67 (m, 1H), 1,10 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,62 (m, 2H), 1,87 (d, J=7,0 Hz, 2H).
- 30

Etapa 2: Preparación de 1-ciclopropilmetil-ciclopropilsulfonamida

5 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 65 % a partir de ter-butilcarbamato de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonilamina de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamida. Se purificó el compuesto por medio de cromatografía en columna sobre SiO₂ usando acetato de etilo de 0 % a 60 % en hexanos como eluyente: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,5 (m, 2H), 0,51 (m, 2H), 1,01 (m, 2H), 1,34 (m, 3H), 1,86 (d, J=7,0 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 4,65, 7,74, 11,26, 35,62, 41,21; LRMS m/z 193 (M⁺+NH₄).

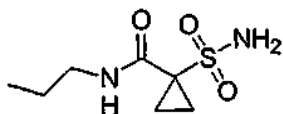
3d. Preparación de 1-propilcarbamoilciclopropano-sulfonamida

10

Etapa 1. Preparación de terc-butylcarbamato de 1-propilcarbamoilciclopropanosulfonamida

15

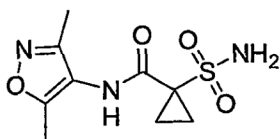
Se obtuvo el presente compuesto en bruto con un rendimiento de 100 % de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de terc-butylcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina excepto que se usaron 1,10 equivalentes de isocianato de n-propilo como electrófilo. Se llevó directamente el compuesto a la siguiente reacción sin purificación: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,10 (m, 2H), 0,51 (m, 2H), 0,67 (m, 1H), 1,10 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,62 (m, 2H), 1,87 (d, J=7,0 Hz, 2H).

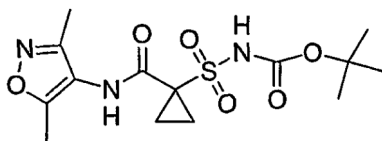
Etapa 2: Preparación de 1-propilcarbamoilciclopropano-sulfonamida

20

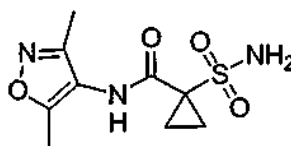
Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento optimizado de 50 % a partir de terc-butylcarbamato de 1-propilcarbamoilciclopropanosulfonamida de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de 1-metoxiciclopropilsulfonamida, excepto que no se usó cromatografía a medida que el material se recristalizó a partir de una cantidad mínima de diclorometano/hexanos: ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,15 (m, 2H), 0,51 (m, 2H), 1,01 (m, 2H), 1,34 (m, 3H), 1,86 (d, J=7,0 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 4,65, 7,74, 11,26, 35,62, 41,21; LRMS m/z 193 (M⁺+NH₄).

25

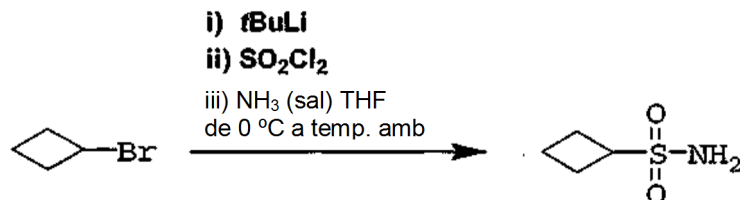
3e. Preparación de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4il)carbamoilciclopropanosulfonamida.

Etapa 1: Preparación de terc-butilcarbamato de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclopropanosulfonamida

- 5 Se obtuvo el presente compuesto en bruto con un rendimiento de 100 % de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de ter-butyl-carbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina excepto que se usaron 1,20 equivalentes de 3,5-dimetilisoxazol-4-isocianato como electrófilo. El compuesto se llevó directamente a la siguiente reacción sin purificación.

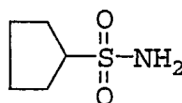
Etapa 2: Preparación de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclopropanosulfonamida

- 10 Se obtuvo el presente compuesto con un rendimiento de 50 % (580 mg) a partir de 1,62 g (4,52 mmol) de terc-butylcarbamato de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclo-propanosulfonamida usando 30 ml (120 mmol) de HCl 4N/dioxanos, agitando durante la noche, concentración y cromatografía sobre una columna Biotage 40M (eluyendo con metanol/diclorometano de 0 % a 5 %: ^1H RMN (metanol- d_4) δ 1,57 (m, 2H), 1,61 (m 2H), 2,15 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 4,84 (s, 3H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 9,65, 10,94, 15,01, 46,11, 114,82, 159,45, 165,55, 168,15; LRMS m/z 260 ($M^+ + H$).

15 4. Preparación de cicloalquilsulfonamidas a partir de cicloalilbromuros4a. Preparación de ciclobutilsulfonamida a partir de bromuro de ciclobutilo

- 20 Se añadieron 44 ml (74,8 mmol) de terc-butillitio 1,7 M en pentanos a una solución de 5,0 g (37,0 mmol) de bromuro de ciclobutilo en 30 ml de éter dietílico anhidro (éter dietílico) enfriado a -78 °C y se calentó lentamente la solución hasta -35 °C durante 1,5 horas. Se introdujo la presente mezcla con una cánula en el interior de una solución de 5,0 g (37,0 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado en 100 ml de hexanos enfriados hasta -40 °C, se calentó hasta 0 °C durante 1 hora y se concentró a vacío con precaución. Se re-disolvió la mezcla en éter dietílico, se lavó una vez con algo de hielo-agua fría, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró con precaución. Se redisolvió la mezcla en 20 ml de THF, se añadieron gota a gota 500 ml de NH₃ saturado en THF y se dejó en agitación durante la noche. Se concentró la mezcla a vacío hasta obtener un sólido de color amarillo y se recrystalizó a partir de una cantidad mínima de diclorometanos en hexanos con 1-2 gotas de metanol para permitir la obtención de 1,90 g (38 %) de ciclobutilsulfonamida en forma de sólido de color blanco.

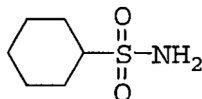
^1H RMN (CDCl₃) δ 1,95-2,06 (m, 2H), 2,30-2,54 (m, 4H), 3,86 (p, $J=8$ Hz, 1H), 4,75 (sa, 2H); ^{13}C RMN (CDCl₃) δ 16,43, 23,93, 56,29. HRMS m/z (M-H) calcd para C₄H₈NSO₂: 134,0276, encontrado 134,0282.

30 4b. Preparación de ciclopentilsulfonamida

- 35 Se añadió gota a gota una solución de 18,5 ml (37,0 mmol) de cloruro de ciclopentilmagnesio 2M en éter a una solución de 3,0 ml (37,0 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado (obtenido de Aldrich) en 100 ml de hexanos enfriados hasta -78 °C. Se calentó la mezcla hasta 0 °C durante 1 hora y posteriormente se concentró a vacío con precaución. Se redisolvió la presente mezcla en éter dietílico (200 ml), se lavó una vez con algo de hielo-agua fría

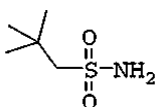
(200 ml), se secó (MgSO₄), se filtró, y se concentró con precaución. Se redisolvió la presente mezcla en 35 ml de THF, se añadieron gota a gota 500 ml de NH₃ saturado en THF y se dejó en agitación durante la noche. Se concentró la mezcla a vacío hasta obtener un sólido bruto de color amarillo, se filtró el residuo a través de 50 g de gel de sílice usando acetato de etilo de 70 %-hexanos como eluyente y posteriormente se concentró la solución. Se recristalizó el residuo a partir de la cantidad mínima de diclorometano en hexanos con 1-2 gotas de metanol para permitir la obtención de 2,49 g (41 %) de ciclohexilsulfonamida en forma de sólido de color blanco. ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,58-1,72 (m, 2H), 1,74-1,88 (m, 2H), 1,94-2,14 (m, 4H), 3,48-3,59 (m, 1H), 4,80 (s a, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 25,90, 28,33, 63,54; MS m/e 148 (M-H).

4c. Preparación de ciclohexilsulfonamida



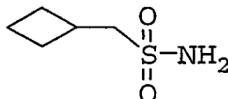
Se añadió gota a gota una solución de 18,5 ml (37,0 mmol) de cloruro de ciclohexilmagnesio 2M (TCI Americas) en éter dietílico a una solución de 3,0 ml (37,0 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado en 100 ml de hexanos enfriados hasta -78 °C. Se calentó la mezcla hasta 0 °C durante 1 hora y posteriormente se concentró a vacío con precaución. Se redisolvió la presente mezcla en éter dietílico (200 ml), se lavó una vez con algo de hielo-agua fría (200 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró con precaución. Se redisolvió la presente mezcla en 35 ml de THF, se añadieron gota a gota 500 ml de NH₃ saturado en THF y se dejó en agitación durante la noche. Se concentró la mezcla a vacío hasta obtener un sólido bruto de color amarillo, se filtró el residuo a través de 50 g de gel de sílice usando acetato de etilo de 70 %-hexanos como eluyente y se concentró. Se recristalizó el residuo a partir de la cantidad mínima de diclorometano en hexanos con 1-2 gotas de metanol para permitir la obtención de 1,66 g (30 %) de ciclohexil-sulfonamida en forma de sólido de color blanco: ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,11-1,37 (m, 3H), 1,43-1,56 (m, 2H), 1,67-1,76 (m, 1H), 1,86-1,96 (m, 2H), 2,18-2,28 (m, 2H), 2,91 (tt, J=12, 3,5 Hz, 1H), 4,70 (s a, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 25,04, 25,04, 26,56, 62,74; MS m/e 162 (M-1).

4d. Preparación de neopentilsulfonamida



Siguiendo el procedimiento para la preparación de ciclohexilsulfonamida, se convirtieron 49 ml (37 mmol) de cloruro de neopentilmagnesio 0,75M (Alfa) en éter dietílico hasta obtener 1,52 (27 %) de neopentilsulfonamida en forma de sólido de color blanco. ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,17 (s, 9H), 3,12 (s, 2H), 4,74 (sa, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 29,46, 31,51, 67,38; MS m/e 150 (M-1).

4e. Preparación de ciclobutilcarbinilsulfonamida

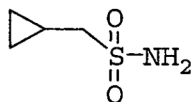


Se colocó a reflujo una solución de 12,3 g (83 mmol) de bromuro de ciclobutilcarbinilo (Aldrich) y 13,7 g (91 mmol) de yoduro de sodio en 150 ml de acetona, durante la noche y se enfrió hasta temperatura ambiente. Se filtraron los sólidos inorgánicos y se destiló la acetona y el yoduro de ciclopropilcarbinilo (8,41 g, 46 %) a 150 torr y 80 °C, respectivamente.

Se introdujo con una cánula una solución de 4,0 g (21,98 mmol) de yoduro de ciclobutilo y carbinilo en 30 ml de éter dietílico anhidro (éter dietílico) enfriado hasta -78 °C en una solución de 17 ml (21,98 mmol) de sec-butillitio 1,3 M en ciclohexanos y se agitó la solución durante 5 minutos. Se introdujo con una cánula, en la presente mezcla, una solución de 3,0 g (21,98 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado en 110 ml de hexanos enfriados hasta -78 °C, se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente durante 1 hora y posteriormente se concentró a vacío con precaución. Se redisolvió la mezcla en éter dietílico, se lavó una vez con algo de hielo-agua fría, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró con precaución. Se redisolvió la presente mezcla en 30 ml de THF, se añadió gota a gota sobre 500 ml de NH₃ saturado en THF y se dejó en agitación durante la noche. Se concentró la mezcla a vacío hasta obtener un sólido de color amarillo y se recristalizó a partir de la cantidad mínima de diclorometano en hexanos con 1-2 gotas de metanol para permitir la obtención de 1,38 g (42 %) de ciclobutil carbinilsulfonamida en

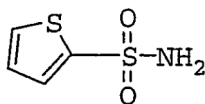
forma de sólido de color blanco. ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,81-2,03 (m, 4H), 2,14-2,28 (m, 2H), 2,81-2,92 (m, 1H), 3,22 (d, $J=7$ Hz, 2H), 4,74 (sa, 2H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 19,10, 28,21, 30,64, 60,93; MS m/e 148 (M^-). tiempo: 1,73, procedimiento B), 818 (M^++H).

4f. Preparación de ciclopropilcarbinilsulfonamida



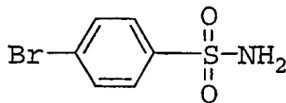
5 Por medio del uso del procedimiento empleado para la preparación de ciclobutilcabinilsulfonamida, se preparó ciclopropilcarbinilsulfonamida a partir de bromuro de ciclopropilcarbinilo (Aldrich) (véase también JACS 1981, p.442-445). ^1H RMN (CDCl_3) δ 0,39-0,44 (m, 2H), 0,67-0,76 (m, 2H), 1,13-1,27 (m, 1H), 3,03 (d, $J=7,3$ Hz, 2H), 4,74 (sa, 2H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 4,33, 5,61, 59,93; MS m/e 134 (M^-).

10 4g. Preparación de 2-tiofensulfonamida



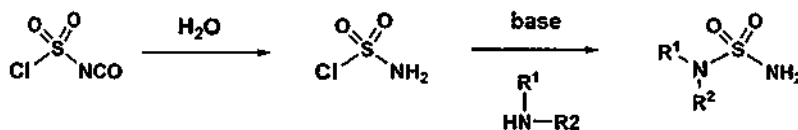
Preparado a partir de cloruro de 2-tiofenensulfonilo (adquirido en Aldrich) usando el procedimiento de Justus Liebigs Ann., Chem., 501, p. 174-182.

4h. Preparación de 4-bromobenzenosulfonamida



15 Se preparó 4-bromofenilsulfonamida por medio de tratamiento de cloruro de 4-bromosulfonilo disponible comercialmente con amoníaco saturado en THF.

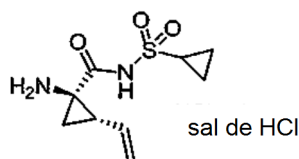
5. Procedimiento general para la preparación de sulfonamidas

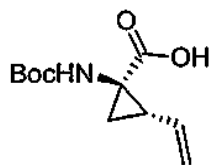


20 Se preparó el cloruro de sulfamoilo intermedio por medio de adición de agua (1 equivalente) en THF sobre una solución agitada y fría (-20 °C) de isocianato de clorosulfonilo (1 equivalente) en THF y se dejó calentar la solución resultante hasta 0 °C. Se añadió trietilamina anhidra (1 equivalente) a la presente solución seguido de un requisito de aminas secundaria (1 equivalente). Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, posteriormente se filtró y se concentró el filtrado para permitir la obtención de las sulfamidas deseadas.

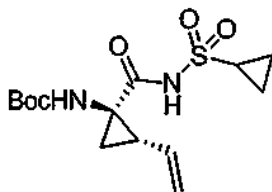
25 III. Preparación de intermedios P1'-P1

1a. Preparación de sal de HCl de ácido de (1-(R)-amino-2-(S)-vinil-ciclopropanocarbonil)amida de ácido ciclopropopano sulfónico.

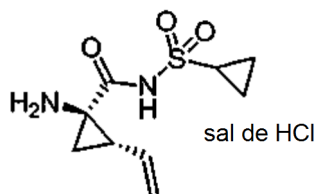


Etapa 1: Preparación de ácido 1(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico

Se añadió una suspensión de LiOH (1,27 g, 53,0 mmol) en agua (14 ml) a una solución de éster etílico de ácido 1(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico (3,28 g, 13,2 mmol) en THF (7 ml) y metanol (7 ml).
 5 Se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente y se inactivó con NaOH 1N (15 ml) y agua (20 ml). Se lavó la mezcla resultante con acetato de etilo (20 ml) y se sometió a extracción la fase orgánica con 20 ml de NaOH 0,5N. Se acidificaron las fases acuosas combinadas con HCl 1N hasta pH 4 y se sometieron a extracción con acetato de etilo (3x40 ml) Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera, se secaron (MgSO₄) se filtraron y se concentraron para dar lugar al compuesto del título en forma de sólido de color blanco (2,62 g, 87 %).
 10 ¹H RMN: (DMSO-d₆) δ 1,22-1,26 (m, 1H), 1,37 (s, 9H), 1,50-1,52 (m, 1H), 2,05 (q, J=9 Hz, 1H), 5,04 (d, J=10 Hz, 1H), 5,22 (d, J=17 Hz, 1H), 5,64-5,71 (m, 1H), 7,18, 7,53 (s, NH (rotámeros), 12,4 (s a, 1H)); LC-MS (tiempo de retención: 1,67 minutos, procedimiento B), MS m/z 228 (M⁺+H).

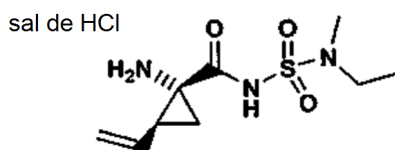
Etapa 2: Preparación de (1-(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-2-(S)-vinilciclopropanocarbonil)-amida de ácido ciclopropanosulfónico

Se calentó a reflujo una solución del producto de la Etapa 1 (2,62 g, 11,5 mmol) y CDI (2,43 g, 15,0 mmol) en THF (40 ml) durante 50 minutos bajo nitrógeno. Se enfrió la solución a temperatura ambiente y se transfirió mediante una cánula a una solución de ciclopropilsulfonamida (1,82 g, 15,0 mmol) en THF (10 ml). Se añadió DBU (2,40 ml, 16,1 mmol) a la solución resultante y la agitación continuó durante 20 horas. Se inactivó la mezcla con HCl 1N hasta pH 1 y se concentró THF a vacío. Se sometió a extracción la suspensión con acetato de etilo (2 x 50 ml) y se secaron los extractos orgánicos combinados (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. La purificación por medio de recristalización a partir de hexanos-acetato de etilo (1:1) permitió la obtención del compuesto del título (2,4 g) en forma de sólido de color blanco. Se purificó el licor madre por medio de una columna de Biotage 40S (se eluyó con acetona de 9 % en diclorometano) para dar lugar a un segundo lote del compuesto del título (1,1 g). Se combinaron ambos lotes (rendimiento total de 92 %). ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 0,96-1,10 (m, 4H), 1,22 (dd, J=5,5, 9,5 Hz, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,70 (t, J=5,5 Hz, 1H), 2,19-2,24 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 5,08 (d, J=10 Hz, 1H), 5,23 (d, J=17 Hz, 1H), 5,45 (m, 1H), 6,85, 7,22 (s, NH (rotámeros) ; LC-MS (tiempo de retención: 1,70 minutos, procedimiento B), MS m/z 331 (M⁺+H).

Etapa 3: Preparación de sal de HCl de (1-(R)-amino-2-(S)-vinil-ciclopropanocarbonil)amida de ácido ciclopropanosulfónico

Se agitó una solución del producto de la Etapa 2 (3,5 g, 10,6 mmol) en diclorometano (35 ml) y TFA (32 ml) a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se retiraron los volátiles a vacío y se suspendió el residuo en HCl 1N en éter dietílico (20 ml) y se concentró a vacío. Se repitió el presente procedimiento una vez. Se trituró la mezcla resultante a partir de pentano y se filtró para dar el compuesto del título en forma de sólido blanquecino higroscópico (2,60 g, 92 %). ¹H RMN: (DMSO-d₆) δ 1,01-1,15 (m, 4H), 1,69-1,73 (m, 1H), 1,99-2,02 (m, 1H), 2,38 (q, J=9 Hz, 1H), 2,92-2,97 (m, 1H), 5,20 (d, J=11 Hz, 1H), 5,33 (d, J=17 Hz, 1H), 5,52-5,59 (m, 1H), 9,17 (s a, 3H); LC-MS (tiempo de retención: 0,24 minutos, procedimiento B), MS m/z 231 (M⁺+H).

1b. Preparación de derivado de sulfamida P1-P1'

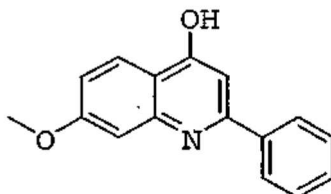
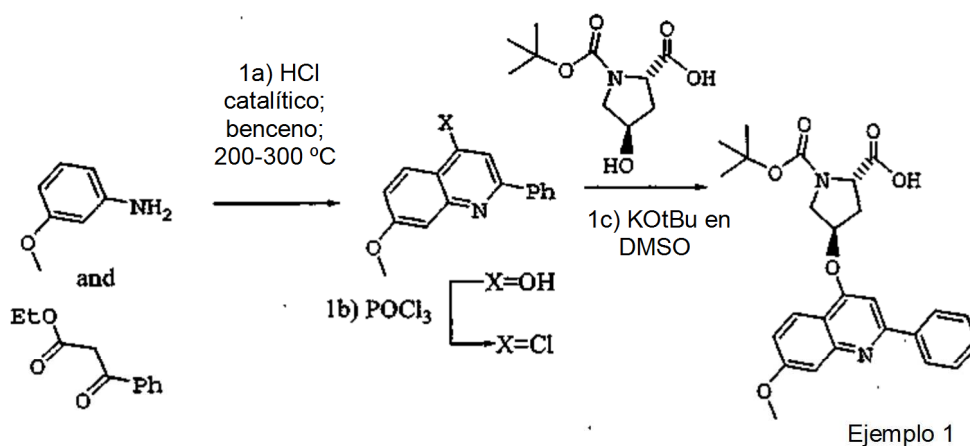


Se añadió CDI (290 mg, 1,791 mmol) a una solución de ácido (1R, 1S) 1-terc-butoxicarbonilamino-2-vinilciclopropanocarboxílico (217 mg, 1,194 mmol) en THF (5 ml) y se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante 45 minutos. En otro matraz de fondo redondo, se añadió LiHMDS (solución 1,0 M en hexanos, 2,4 ml, 2,4 mmol) a una solución de N-etilmetilsulfamida (330 mg, 2,388 mmol) en THF (5 ml) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron las dos mezclas de reacción juntas y se agitaron a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió agua para inactivar la reacción y se sometió a extracción la solución de reacción con acetato de etilo. Se separó la fase orgánica y se secó sobre MgSO₄. La filtración y la concentración del disolvente dio lugar al producto bruto que se purificó por medio de HPLC de preparación para permitir la obtención de N-acilsulfamida con protección de N-Boc. Posteriormente, se retiró el grupo protector Boc a medida que el compuesto se disolvía en una solución de HCl 4N en dioxano (2 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La evaporación de la solución dio lugar a un aceite de color marrón como sal de HCl (112 mg, rendimiento de 33 %). ¹H RMN (400Mz, CD₃OD) δ 1,16 (t, J=7,21 Hz, 3H), 1,68 (dd, J=10,03, 7,83 Hz, 1H), 2,15 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,89 (s, 3H), 3,30 (m, 2H), 5,31 (d, J=10,27 Hz, 1H), 5,42 (d, J=17,12 Hz, 3H), 5,68 (m, 1H). LC-MS (tiempo de retención: 0,883 minutos.), MS m/z 270 (M+Na⁺).

Sección B:

Preparación de los Compuestos y los Ejemplos de Fórmula I

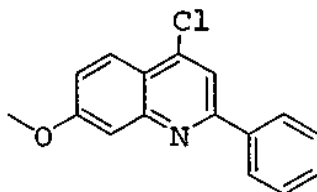
Ejemplo 1



Etapa 1a

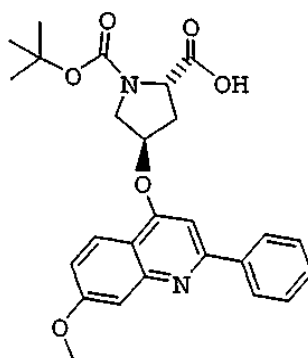
Se añadió HCl (4,0N en dioxano, 12,2 ml, 48,8 mmol) a una solución de m-anisidna (300 g, 2,44 mol) y benzoilacetato de etilo (243,2 g, 1,22 mol) en tolueno (2,0 l). Se sometió a reflujo la solución resultante durante 6,5 horas usando un aparato de Dean-Stark (se recogieron aproximadamente 56 ml de solución acuosa). Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se separó varias veces con HCl acuoso (10 %, 3 x 500 ml), NaOH acuoso (1,0N, 2 x 200 ml), agua (3x200 ml) y se secó la fase orgánica (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para suministrar un residuo oleoso (329,5 g). Se calentó el producto bruto en un baño de aceite (280 °C) durante 80 minutos usando un aparato de Dean-Stark (se recogieron aproximadamente 85 ml de líquido). Se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, se trituro el sólido con CH₂Cl₂ (400 ml), se filtró la suspensión resultante y se lavó la torta filtrante con más CH₂Cl₂ (2x150 ml). Se secó el sólido resultante a vacío (50 °C; 1 torr, 1 día).

5 permitiendo la obtención de un producto analíticamente puro en forma de sólido de color marrón claro (60,7 g, 20 % total). ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 3,86 (s, 3H), 6,26 (s, 1H), 6,94 (dd, $J=9,0, 2,4$ Hz, 1H), 7,21 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,55-7,62 (m, 3H), 7,80-7,84 (m, 2H), 8,00 (d, $J=9,0$ Hz, 1H), 11,54 (s, 1H); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ 55,38, 99,69, 107,07, 113,18, 119,22, 126,52, 127,17, 128,97, 130,34, 134,17, 142,27, 149,53, 161,92, 176,48. LC-MS (MS m/z 252 (M^++1)).



Etapa 1b

10 Se suspendió el producto de la Etapa 1a (21,7 g, 86,4 mmol) en POCl_3 (240 ml). Se sometió a reflujo la suspensión durante 2 horas. Tras la retirada de POCl_3 a vacío, se separó el residuo entre acetato de etilo (1 l) y NaOH acuoso frío (generado a partir de 200 ml de NaOH 1,0N y 20 ml de NaOH 10,0N) y se agitó durante 15 minutos. Se lavó la fase orgánica con agua (2x200 ml), salmuera (200 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró a vacío para suministrar el producto deseado (21,0 g, 90 %) en forma de sólido de color marrón claro. ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 3,97 (s, 3H), 7,36 dd, $J=9,2, 2,6$ Hz, 1H), 7,49-7,59 (m, 4H), 8,08 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,26-8,30 (m, 2H); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) δ 55,72, 108,00, 116,51, 119,52, 120,48, 124,74, 127,26, 128,81, 130,00, 137,58, 141,98, 150,20, 156,65, 161,30. LC-MS (MS m/z 270 (M^++1)).

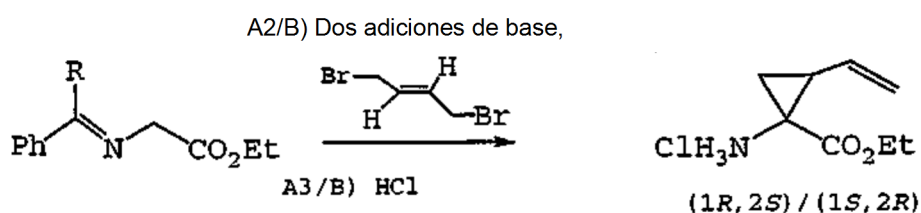
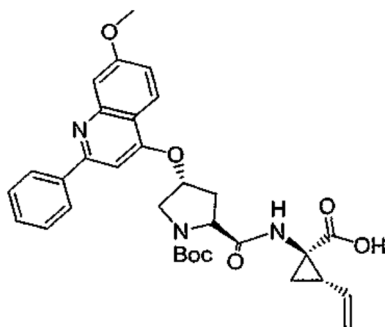


Etapa 1c

20 Se añadió t-BuOK (19,93 g, 177,6 mmol) de una suspensión de Boc-4R-hidroxirolina (16,44 g, 71,1 mmol) en DMSO (250 ml) a 0 °C. Se agitó la mezcla generada durante 1,5 horas y posteriormente se añadió el producto de la Etapa 1b (21,02 g, 77,9 mmol) en tres partes durante 1 horas. Se agitó la reacción durante un día, se vertió en agua fría (1,5 l) y se lavó con éter dietílico (4 x 200 ml). Se acidificó la solución acuosa hasta pH 4,6, se filtró para obtener un sólido de color blanco y se secó a vacío para proporcionar el producto (32,5 g, 98 %). ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 1,32, 1,35 (dos s (rotámeros) 9H), 2,30-2,42 (m, 1H), 2,62-2,73 (m, 1H), 3,76 (m, 2H), 3,91 (s, 3H), 4,33-4,40 (m, 1H), 5,55 (m, 1H), 7,15 (dd, $J=9,2, 2,6$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J=2,6$ Hz, 1H), 7,42-7,56 (m, 4H), 7,94-7,99 (m, 1H), 8,25, 8,28 (2s, 2H), 12,53 (sa, 1H); LC-MS, MS m/z 465 (M^++1)).

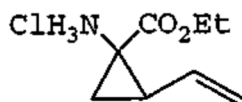
25

Ejemplo 2



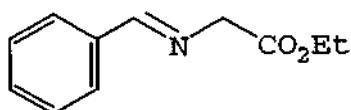
Procedimiento A: R=H (de la etapa A1)
Procedimiento B: R=Ph (Aldrich)

Etapa 2a (Preparación total)
A partir del procedimiento A (etapas A1-A3) o
Procedimiento B (procedimiento de un recipiente)



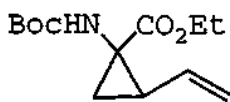
Etapa 2a

Se preparó el producto deseado por medio de cada uno de los siguientes procedimientos:

5 **Procedimiento A**

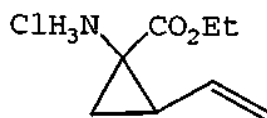
Etapa A1

Se suspendió éster etílico de glicina (303,8 g, 2,16 mol) en éter terc-butílico (1,6 l). Se añadieron benzaldehído (231 g, 2,16 mol) y sulfato de sodio anhidro (154,6 g, 1,09 mol) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C usando un baño de hielo-agua. Se añadió gota a gota trietilamina (455 ml, 3,26 mol) durante 30 minutos y se agitó la mezcla durante 48 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se inactivó la reacción por medio de la adición de hielo-agua fría (1l) y se separó la fase orgánica. Se sometió a extracción la fase acuosa con éter terc-butílico (0,5 l) y se lavaron las fases orgánicas combinadas con una mezcla de NaHCO₃ saturado (1l) y salmuera (1 l). Se secó la solución sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para permitir la obtención de 392,4 g del producto deseado en forma de aceite espeso de color amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa. ¹H RMN (CDCl₃, 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).



Etapa A2

Se añadió gota a gota una mezcla del producto de la Etapa A1 (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) sobre una suspensión de terc-butóxido de litio (84,06 g, 1,05 mol) en tolueno seco (1,2 l) durante 60 minutos. Tras completar la adición, se inactivó la mezcla de color rojo intenso por medio de la adición de agua (1 l) y éter terc-butilmetílico (TBME, 1l). Se separó la fase acuosa y se sometió a extracción una segunda vez con TBME (1l) Se combinaron las fases orgánicas, se añadió HCl 1N (1l), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se separó la fase orgánica y se sometió a extracción con agua (0,8 l). Posteriormente se combinaron las fases acuosas, se saturaron con sal (700 g.), se añadió TBME (1l) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C. A continuación, se basificó la mezcla agitada hasta pH 14 mediante la adición gota a gota de NaOH 10N, se separó la fase orgánica, y se sometió a extracción la fase acuosa con TBME (2 x 500 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados (MgSO₄), se filtraron y se concentraron hasta un volumen de 1 l. Se añadió di-terc-butilcarbonato (131,0 g, 0,6 mol) a esta solución y se agitó la mezcla 4 días a temperatura ambiente. Se añadió di-terc-butildicarbonato adicional (50 g, 0,23 mol) a la reacción, se sometió la mezcla a reflujo durante 3 horas y posteriormente se enfrió hasta temperatura ambiente durante la noche. Se secó la mezcla de reacción sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para permitir la obtención de 80 g de material bruto. Se purificó el presente residuo por cromatografía instantánea (2,5 kg de SiO₂, se eluyó con CH₃OH/CH₂Cl₂ de 1 % a 2%) para permitir la obtención de 57 g (53 %) de producto racémico en forma de aceite de color amarillo que solidificó al introducirlo en el frigorífico. ¹H RMN (CDCl₃, 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 (s a, 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).



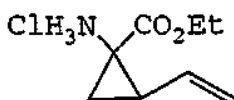
20

Etapa A3

Se disolvió el producto de la Etapa A2 (9,39 g, 3,8 mmol) en HCl 4N/dioxano (90 ml, 360 mmol) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla de reacción para proporcionar el producto deseado con un rendimiento cuantitativo (7 g, 100 %). ¹H RMN (CD₃OD) 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, 1H), 5,69-5,81 (m, 1H).

25

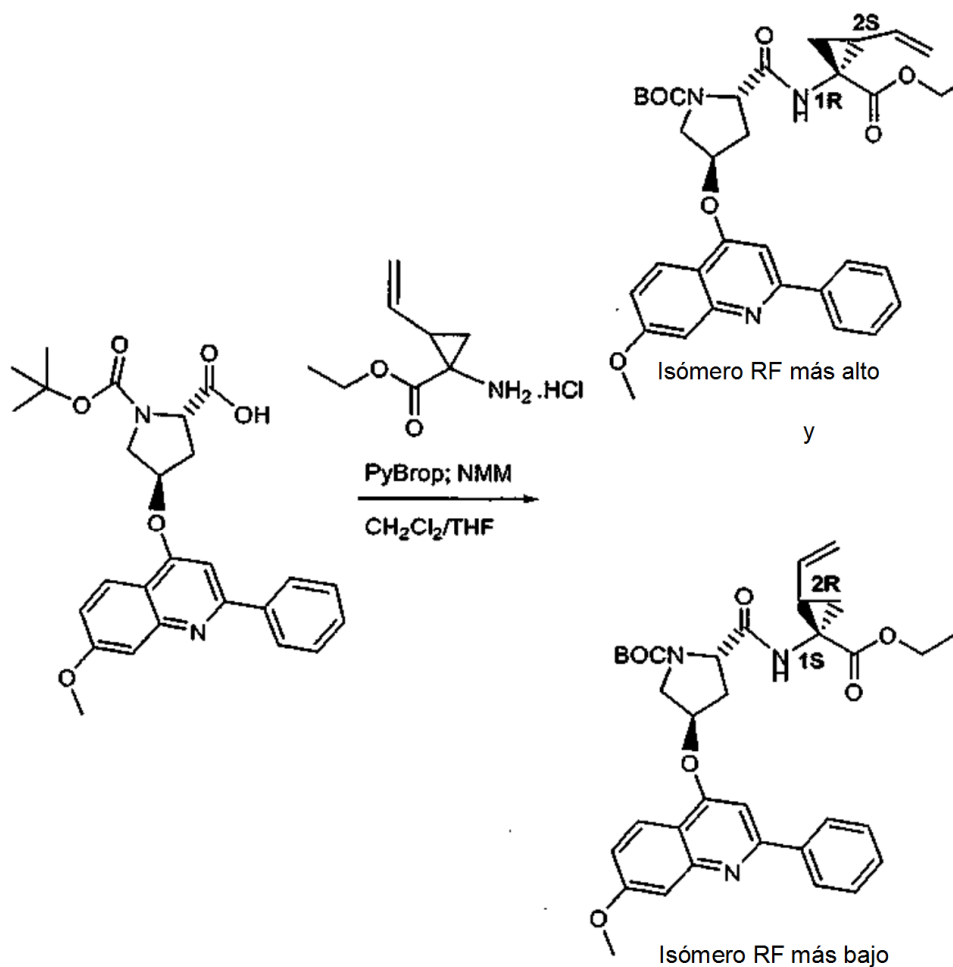
Procedimiento B



Se añadió N,N-dibencilimina de éster etílico de glicina (25,0 g, 93,53 mmol) en THF (112 ml) a una solución de terc-butóxido de potasio (11,55 g, 102,9 mmol) en THF (450 ml) a -78 °C. Se calentó la mezcla de reacción hasta 0 °C, se agitó durante 40 minutos, y posteriormente se enfrió hasta -78 °C. Se añadió trans-1,4-dibromo-2-buteno (20, g, 93,50 mmol) a la presente solución. Se agitó la mezcla durante 1 hora a 0 °C, y se enfrió a -78 °C. Se añadió terc-butóxido de potasio (11,55 g, 102,9 mmol), se calentó la mezcla de forma inmediata hasta 0 °C y se agitó una hora más antes de concentrar a vacío. Se disolvió el producto bruto en éter dietílico (530 ml). Se añadió una solución de HCl acuoso 1N (106 ml, 106 mmol) y se agitó la mezcla bifásica resultante durante 3,5 horas a temperatura ambiente. Se separaron las fases y se lavó la fase acuosa con éter dietílico (2x) y se basificó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. Se sometió a extracción la solución acuosa con éter dietílico (3x) y se lavaron los extractos combinados con salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a vacío para obtener la amina libre. Se trató el presente material con una solución de HCl 4N en dioxano (100 ml, 400 mmol) y se concentró para proporcionar el producto deseado en forma de semisólido de color marrón (5,3 g, rendimiento de 34 %) idéntico al material obtenido a partir del procedimiento A, excepto por la presencia de una pequeña impureza aromática no identificada (8 %).

35

40

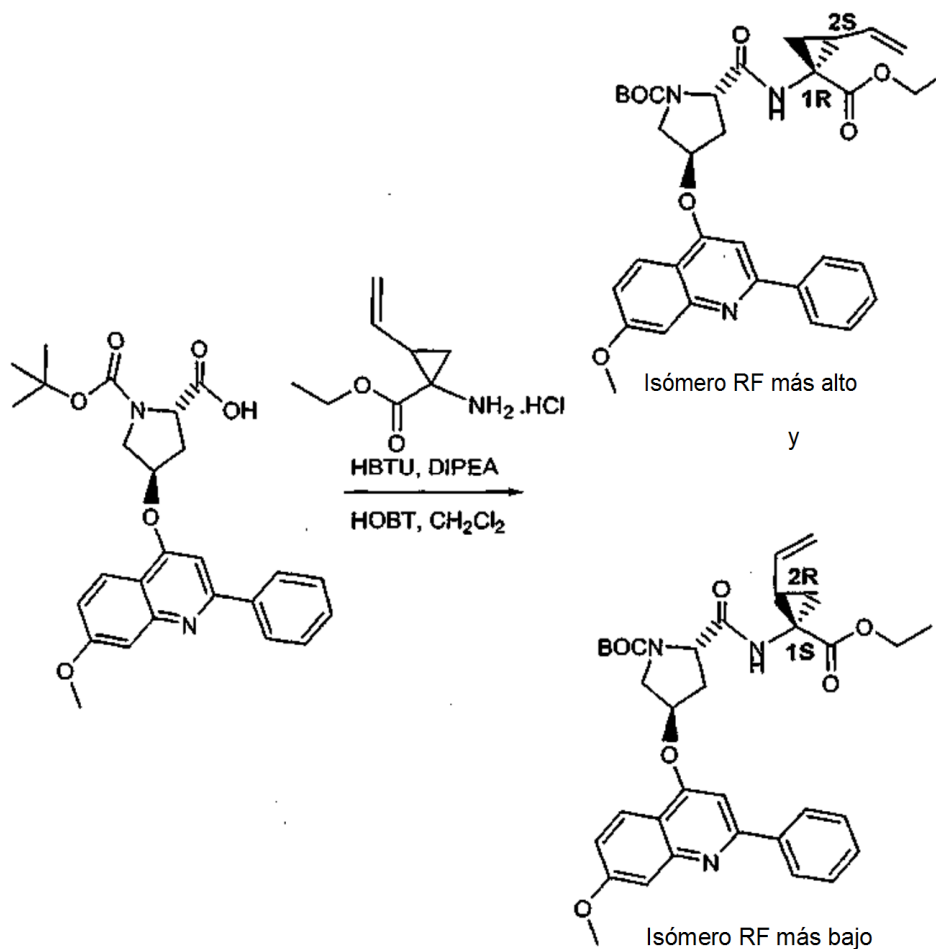


Etapa 2b

Se añadió el reactivo de acoplamiento hexafluorofosfato de bromotrispirrolidino fosfonio (Pybrop) (16,0 g, 34,3 mmol), en tres partes en 10 minutos a 0 °C, sobre una solución del producto de la Etapa 1c (11,0 g, 23,7 mmol), el producto de la Etapa 2a (5,40 g, 28,2 mmol) y NMM (20,8 ml; 18,9 mmol) en 500 ml de CH₂Cl₂/THF. Se agitó la solución a temperatura ambiente durante un día y posteriormente se lavó con un tampón de pH 4,0 (4 x 50 ml). Se lavó la fase orgánica con NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml), se sometió a extracción el lavado acuoso con acetato de etilo (150 ml) y se retro-lavó la fase orgánica con un tampón de pH 4,0 (50 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml). Se secó la solución orgánica (MgSO₄), se filtró, se concentró y se purificó usando una columna de Biotage 65M (se eluyó con 50 % de acetato de etilo/hexanos) para proporcionar alrededor de 7,5 g de una mezcla de isómeros P1 1:1 (1R, 2S) y (1S, 2R) del producto deseado (50 % total) o, de manera alternativa, se eluyó sobre una columna de Biotage 65M usando un gradiente lento de acetato de etilo de 15 % a 60 % en hexanos para proporcionar 3,54 g (25 %) de isómero de P1 (1R, 2S) eluido de elevado valor de R_f y 3,54 g (25 %) de isómero P1 (1S, 2R) eluido de bajo valor de R_f.

Datos para isómero P1 (1R,2S): ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,21 (t, J=7 Hz, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,47-1,57 (m, 1H), 1,88 (m, 1H), 2,05-2,19 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,88 (m, 1H), 3,71-3,98 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 4,04-4,24 (m, 2H), 4,55 (m, 1H), 5,13 (d, J=10 Hz, 1H), 5,22-5,40 (m, 1H), 5,29 (d, J=17 Hz, 1H), 5,69-5,81 (m, 1H), 7,02 (sa, 1H), 7,09 (dd, J=9, 2 Hz, 1H), 7,41-7,52 (m, 4H), 7,95 (d, J=9 Hz, 1H), 8,03, 8,05 (2s, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ: 14,22; 22,83, 28,25, 33,14, 33,58, 39,92, 51,84, 55,47, 58,32, 61,30, 75,86, 81,27, 98,14, 107,42, 115,00, 117,84, 118,27, 122,63, 123,03, 127,50, 128,72, 129,26, 133,39, 140,06, 151,23, 159,16, 160,34, 161,35, 169,78, 171,68. LC-MS (MS m/z 602 (M⁺+1))

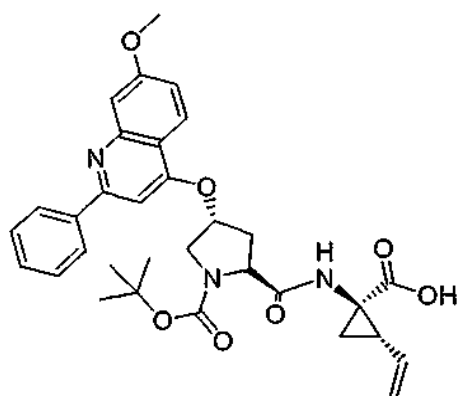
Datos para el isómero P1 (1S,2R): ¹H RMN δ 1,25 (t, J=7 Hz, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,46-1,52 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 2,12-2,21 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 3,82 (m, 2H), 3,97 (s, 3H), 4,05-4,17 (m, 2H), 4,58 (m, 1H), 5,15 (d, J=10,8 Hz, 1H), 5,33 (d, J=17 Hz, 1H), 5,30-5,43 (m, 1H), 5,72-5,85 (m, 1H), 7,05 (s, 1H), 7,13 (dd, J=9, 2 Hz, 1H), 7,46-7,60 (m, 4H), 7,98 (d, J=9, 1H), 8,06-8,10 (m, 2H). LC-MS MS m/z 602 (M⁺+1).



Etapa 2b alternativa

- Se combinó el producto de la Etapa 2a (7,5 g, 39,1 mmol) con diisopropiletilamina (32,5 ml, 186 mmol) en diclorometano (150 ml). Se añadió HBTU hidratada (6,85 g, 44,7 mmol) a la mezcla resultante y producto de la Etapa 1c (17,3 g, 37,3 mmol) seguido de DIPEA (16,96 g, 44,7 mmol). Tuvo lugar una exoterma de forma inmediata, y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente se concentró la mezcla a vacío y se redisolvió en acetato de etilo (600 ml). Se lavó la solución con agua (2x200 ml), posteriormente con bicarbonato de sodio acuoso de 10 % (2x200 ml), a continuación con agua (150 ml) y finalmente con salmuera (150 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró, y se concentró el filtrado a vacío hasta obtener un sólido brillante de color beige. La purificación se llevó a cabo en lotes múltiples (7 g cada uno) por medio de cromatografía instantánea en un cartucho de Biotage Flash 75 M (hexanos/acetato de etilo 65 %) para proporcionar el isómero P1 (1R, 2S) como el isómero eluido inicial (9,86 g en total, 44,0 % de rendimiento) seguido de la elución del isómero P1 (1S, 2R) como segundo isómero eluido (10,43 g en total, 46,5 % de rendimiento). Se recuperaron un total de 1,97 g de las fracciones mixtas para dar una conversión total de 99,3 % de los dos diastereoisómeros.
- 15 Datos para el isómero P1 (1R,2S): ¹H RMN (metanol-d₄) δ 1,23 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,4 (s, 4H), 1,45 (s, 6H), 1,73 (dd, J=7,9, 1,5 Hz, 0,4H), 1,79 (dd, J=7,8, 2,4 Hz, 0,6H), 2,21 (q, J=8,2 Hz, 1H), 2,44-2,49 (m, 1H), 2,66-2,72 (m, 0,4H), 2,73-2,78 (m, 0,6H), 3,93-3,95 (m, 2H), 3,96 (s, 3H), 4,10-4,17 (m, 2H), 4,44 (q, J=7,8 Hz, 1H), 5,13 (d, J=10,7 Hz, 1H), 5,31 (d, J=17,7 Hz, 0,4H), 5,32 (d, J=17,4 Hz, 0,6H), 5,49 (sa, 1H), 5,66-5,82 (m, 1H), 7,16 (dd, J=9,2, 2,5 Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,42 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,48-7,55 (m, 3H), 8,02-8,05 (m, 3H); LC-MS (MS m/z 602 (M⁺+1));
- 20 Datos para el isómero P1 (1S,2R): ¹H RMN (metanol-d₄) δ 1,23 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,40 (s, 3,5H), 1,43 (s, 6,5H), 1,8 (dd, J=7,2, 5,3 Hz, 0,4H), 1,87 (dd, J=7,8, 5,7 Hz, 0,6H), 2,16 (q, J=8,9 Hz, 0,6H), 2,23 (q, J=8,85 Hz, 0,4H), 2,42-2,50 (m, 1H), 2,67-2,82 (m, 1H), 3,87-3,95 (m, 2H), 3,96 (s, 3H), 4,07-4,19 (m, 3H), 4,41-4,47 (m, 1H), 5,09-5,13 (m, 1H), 5,30 (dd, J=17,09, 0,92 Hz, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,70-5,77 (m, 1H), 7,15 (dd, J=9,16, 2,44 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,41 (d, J=2,14 Hz, 1H), 7,48-7,55 (m, 3H), 8,02-8,05 (m, 3H); LC-MS (MS m/z 602 (M⁺+1)).

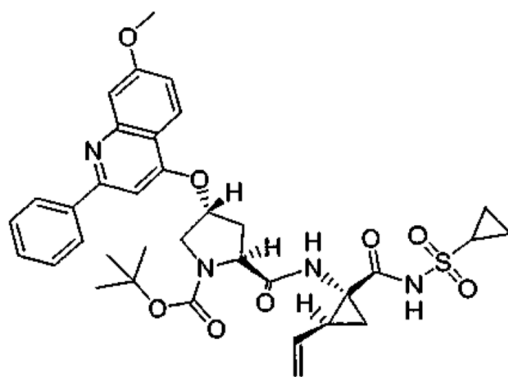
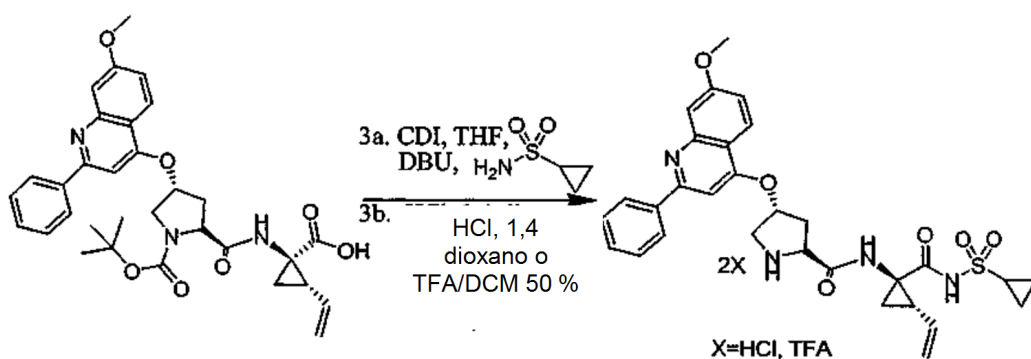
25



Etapa 2c

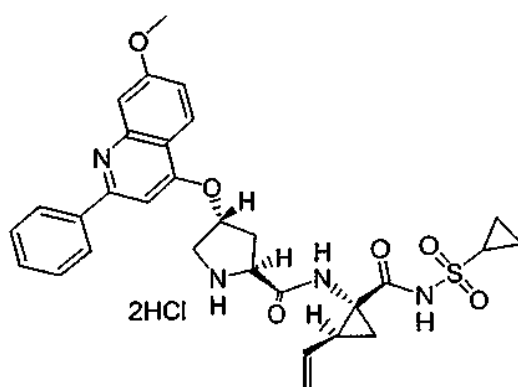
Se trató el isómero P1 (1R, 2S) de la Etapa 2b (9,86 g, 16,4 mmol) con NaOH 1N (50 ml, 50 mmol) en una mezcla de THF (150 ml) y metanol (80 ml) durante 12 horas. Se concentró la mezcla a vacío hasta que únicamente permaneció la fase acuosa. Se añadió agua (100 ml) y se añadió HCl 1N lentamente hasta que se consiguió un pH de 3. Posteriormente, se sometió a extracción la mezcla con acetato de etilo (3x200 ml) y se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. Se concentró el filtrado a vacío para dar el producto deseado en forma de polvo blanco (9,2 g, 98 % de rendimiento). ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,41 (s, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,77 (dd, J=7,9, 5,5 Hz, 1H), 2,16-2,21 (m, 1H), 2,44-2,51 (m, 1H), 2,74-2,79 (m, 1H), 3,93-3,96 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 4,44 (t, J=7,9 Hz, 1H), 5,11 (d, J=9,5 Hz, 1H), 5,30 (d, J=17,1 Hz, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,79-5,86 (m, 1H), 7,22 (dd, J=9,16, 2,14 Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,43 (d, J=2,14 Hz, 1H), 7,54-7,60 (m, 3H), 8,04 (dd, J=7,8, 1,4 Hz, 2H), 8,08 (d, J=9,1 Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 574 (M⁺+1)).

Ejemplo 3



Etapa 3a

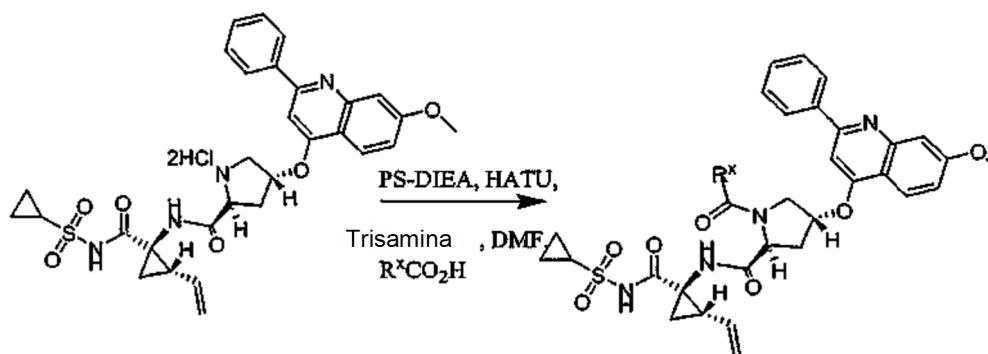
Se combinó el producto de la Etapa 2c (7,54 g, 13,14 mmol) con CDI (3,19 g, 19,7 mmol) y DMAP (2,41 g, 19,7 mmol) en THF anhidro y se calentó la mezcla resultante a reflujo durante 45 minutos. Se dejó enfriar la mezcla ligeramente opaca hasta temperatura ambiente y, se añadió ciclopropilsulfonamida (1,91 g, 15,8 g) a la misma. Tras la adición de DBU (5,9 ml, 39,4 mmol), la mezcla se volvió transparente. Se agitó la solución de color marrón durante la noche. Posteriormente, se concentró a vacío la mezcla hasta obtener un aceite y se redisolvió en acetato de etilo (500 ml). Se lavó la solución con un tampón de pH 4 (3x200 ml) y los lavados de tampón combinados se sometieron a retro-extracción con acetato de etilo (200 ml). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera (150 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. La concentración del filtrado a vacío dio lugar a un sólido de color beige. Se purificó el producto final por medio de cromatografía instantánea en un cartucho de Biotage Flash 75M (hexanos/acetato de etilo de 25 %) para dar lugar al producto deseado (5,85 g, rendimiento de 66 %). ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,03-1,09 (m, 2H), 1,15-1,28 (m, 2H), 1,40-1,44 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,87 (dd, J=8,1, 5,6 Hz, 1H), 2,21-2,27 (m, 1H), 2,36-2,42 (m, 1H), 2,65 (dd, J=13,7, 6,7 Hz, 1H), 2,93-2,97 (m, 1H), 3,90-3,96 (m, 2H), 4,00 (s, 3H), 4,40 (dd, J=9,5, 7,0 Hz, 1H), 5,12 (d, J= 10,4 Hz, 1H), 5,31 (d, J=17,4 Hz, 1H), 5,64 (s, 1H), 5,73-5,80 (m, 1H), 7,30 (dd, J=9,2, 2,1 Hz, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,61-7,63 (m, 3H), 8,04-8,05 (m, 2H), 8,15 (d, J=9,5 Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 677 (M⁺+1)).



Etapa 3b

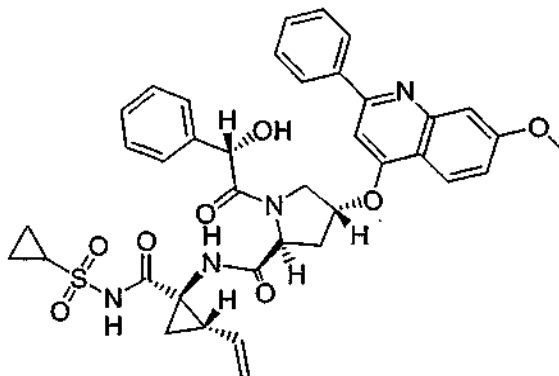
Se trató el producto de la Etapa 3a (5,78 g, 8,54 mmol) con HCl 4,0 M en 1,4-dioxano (50 ml, 200 mmol) durante la noche. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se colocó en un horno de vacío a 50 °C durante varios días. Se obtuvo el producto deseado en forma de polvo de color beige (5,85 g, cuantitativo). ¹H RMN (metanol-d₄) δ 1,03-1,18 (m, 3H), 1,26-1,30 (m, 1H), 1,36-1,40 (m, 2H), 1,95 (dd, J=8,2, 5,8 Hz, 1H), 2,37 (q, J=8,9 Hz, 1H), 2,51-2,57 (m, 1H), 2,94-2,98 (m, 1H), 3,09 (dd, J= 14,6, 7,3 Hz, 1H), 3,98 (d, J=3,7 Hz, 1H), 3,99 (s, 1H), 4,08 (s, 3H), 4,80 (dd, J= 10,7, 7,6 Hz, 1H), 5,15 (dd, J=10,2, 1,4 Hz, 1H), 5,32 (dd, J=17,1, 1,2 Hz, 1H), 5,61-5,69 (m, 1H), 5,99 (t, J=3,7 Hz, 1H), 7,51 (dd, J=9,3, 2,3 Hz, 1H), 7,59 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,72-7,79 (m, 3H), 8,09 (dd, J=7,0, 1,5 Hz, 2H), 8,53 (d, J=9,2 Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 577 (M⁺+1)).

Ejemplo 4



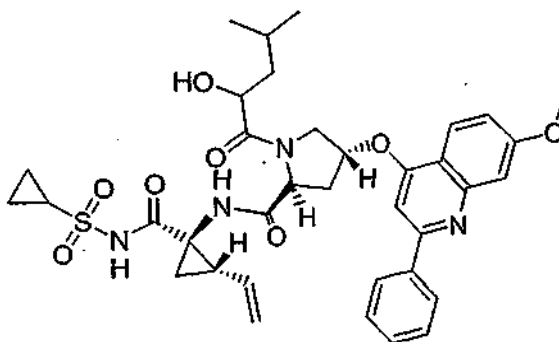
Se añadió una solución del ácido carboxílico sustituido de forma apropiada (como se indica a continuación) (0,044 mmol) en DMF (0,25 ml) a un recipiente de reacción que contenía resina de PS-DIEA (Argonaut Technologies, 0,047 g, 0,175 mmol), seguido de la adición de una solución del producto de la Etapa 3b (0,020 g, 0,029 mmol) en DMF (0,50 ml), seguido de la adición de una solución de HATU (0,017 g, 0,044 mmol) en DMF (0,25 ml). Se agitó la mezcla durante 3 días a temperatura ambiente. Se añadió resina de PS-triamina (Argonaut Technologies, 0,025 g, 0,086 mmol) a la reacción y se agitó la mezcla durante 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró el filtrado a vacío para dar el producto bruto, que se purificó por medio de HPLC de

preparación con el fin de obtener el producto deseado en forma de sal de ácido trifluoroacético.



Ejemplo 4, Compuesto 1

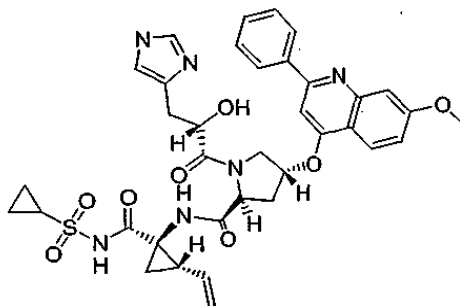
5 Purificado por medio de HPLC de preparación y aislado como la sal de ácido mono-trifluoroacético: ^1H RMN (CD_3OD) δ 1,06-1,14 (m, 2H), 1,18-1,23 (m, 1H), 1,26-1,32 (m, 1H), 1,46 (dd, $J=9,5, 5,2$ Hz, 1H), 1,96 (dd, $J=7,9,5,2$ Hz, 1H), 2,33 (q, $J=8,5$ Hz, 1H), 2,40-2,46 (m, 1H), 2,69 (s, 1H), 2,69-2,72 (m, 1H), 3,86 (d, $J=12,5$ Hz, 1H), 3,93 (dd, $J=12,5, 2,1$ Hz, 1H), 4,09 (s, 3H), 4,69 (dd, $J=9,5, 7,6$ Hz, 1H), 5,17-5,19 (m, 2H), 5,35-5,39 (dd, $J=17,1, 0,9$ Hz, 1H), 5,63 (s, 1H), 5,74-5,81 (m, 1H), 6,73-6,81 (m, 3H), 7,18 (d, $J=7,0$ Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,51 (d, $J=2,1$ Hz, 1H), 7,72-7,77 (m, 3H), 7,84 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 7,98-7,99 (m, 3H); LC-MS (MS m/z 711 (M^++1)).



10

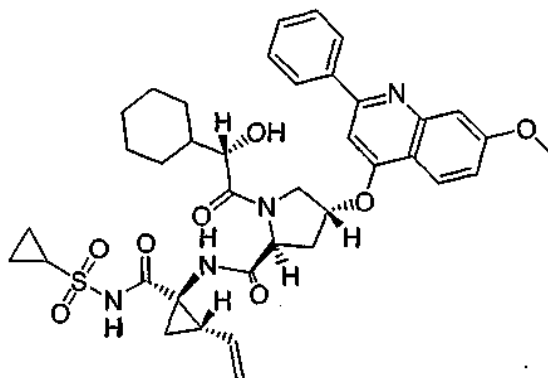
Ejemplo 4, Compuesto 2

Purificado por medio de HPLC de preparación y aislado en forma de mezcla de dos isómeros como la sal de ácido mono-trifluoroacético. LC-MS (MS m/z 691)

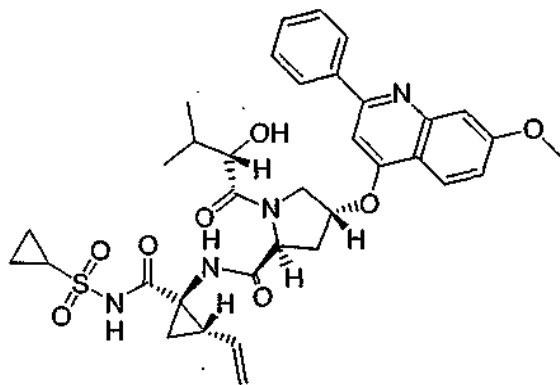


15 Ejemplo 4, Compuesto 3

20 Purificado por medio de HPLC de preparación y aislado como la sal de ácido bis-trifluoroacético. ^1H RMN (CD_3OD) δ 1,04-1,19 (m, 4H), 1,24-1,29 (m, 2H), 1,42 (dd, $J=9,3, 5,3$ Hz, 1H), 1,92 (dd, $J=8,1, 5,3$ Hz, 1H), 2,27 (q, $J=8,7$ Hz, 1H), 2,44-2,50 (m, 1H), 2,70 (s, 1H), 2,74-2,79 (m, 1H), 2,93-2,98 (m, 1H), 3,12-3,24 (m, 3H), 4,05 (s, 3H), 4,21 (dd, $J=3,5, 12,3$ Hz, 1H), 4,48 (d, $J=12,2$ Hz, 1H), 4,61-4,70 (m, 2H), 5,15 (dd, $J=1,5, 10,4$ Hz, 1H), 5,33 (dd, $J=17,4, 1,5$ Hz, 1H), 5,71-5,79 (m, 1H), 5,84-5,91 (m, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,39-7,43 (m, 1H), 7,53 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,67-7,75 (m, 4H); LC-MS (MS m/z 715 (M^++1)).

**Ejemplo 4, Compuesto 4**

Purificado por medio de HPLC de preparación y asilado como sal de ácido mono-trifluoroacético. LC-MS (MS m/z 717 ($M^+ + 1$)).

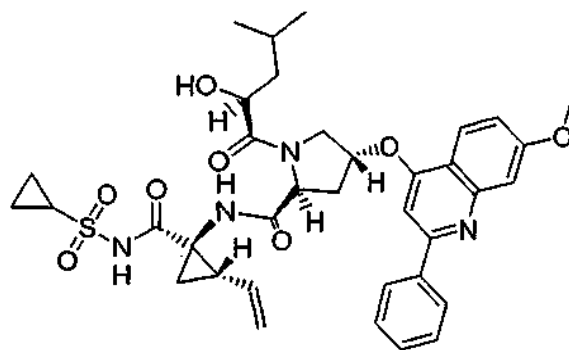


5

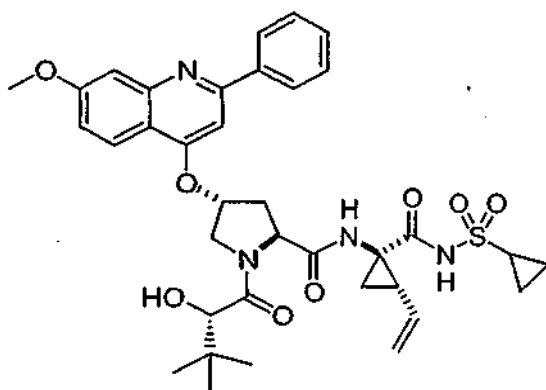
Ejemplo 4, Compuesto 5

Purificado por medio de HPLC de preparación y asilado como sal de ácido mono-trifluoroacético: ^1H RMN (CD_3OD) δ 0,91 (d, $J=6,4$ Hz, 3H), 0,98 (d, $J=6,7$ Hz, 3H), 1,02-1,05 (m, 1H), 1,06-1,10 (m, 2H), 1,15-1,18 (m, 1H), 1,20-1,30 (m, 2H), 1,43 (dd, $J=9,3, 5,3$ Hz, 1H), 1,91 (dd, $J=8,1, 5,3$ Hz, 1H), 2,05-2,10 (m, 1H), 2,25 (q, $J=8,9$ Hz, 1H), 2,41-2,48 (m, 1H), 2,70 (s, 1H), 2,70-2,75 (m, 1H), 2,92-2,98 (m, 1H), 4,06 (s, 3H), 4,14 (dd, $J=12,5, 3,1$ Hz, 1H), 4,36 (d, $J=12,5$ Hz, 1H), 4,63 (dd, $J=10,2, 6,9$ Hz, 1H), 5,14 (d, $J=10,4$ Hz, 1H), 5,32 (d, $J=17,1, 1$ Hz, 1H), 5,73-5,81 (m, 1H), 5,85-5,88 (m, 1H), 7,44 (dd, $J=9,2, 2,1$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J=2,1$ Hz, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,70-7,77 (m, 3H), 8,05-8,09 (m, 2H), 8,27 (dd, $J=9,2, 2,8$ Hz, 1H); LC-MS (MS m/z 677 ($M^+ + 1$)).

10

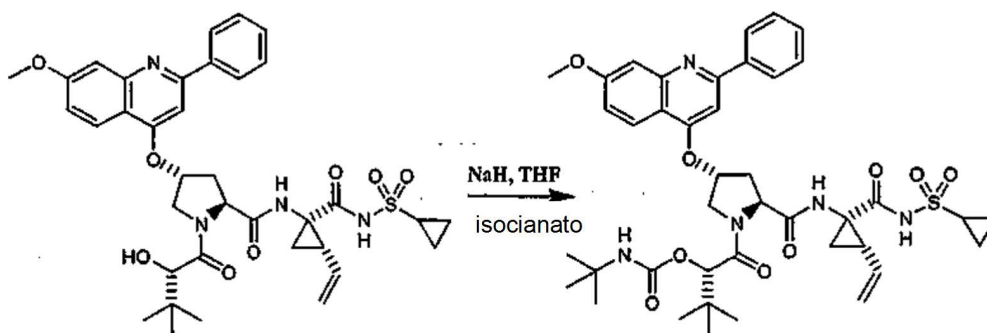
**Ejemplo 4, Compuesto 6**

Purificado por medio de HPLC de preparación y aislado como sal de ácido mono-trifluoroacético. LC-MS (MS m/z 691 ($M^+ + 1$)).



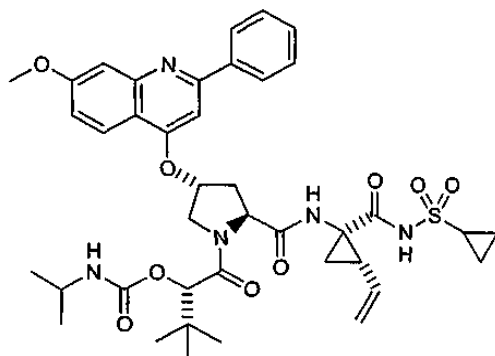
Ejemplo 4, Compuesto 7

Se añadió DIEA (66 μ , 0,378 mmol), HATU (36 mg, 0,126 mmol), HOAt (13,0 mg, 0,126 mmol) y ácido (S)-(-)-2-hidroxi-3,3dimetilbutírico (13,0 mg, 0,126 mmol) a una solución de ácido di-trifluoroacético del Ejemplo 3b (preparado de acuerdo con el Esquema que se muestra en el Ejemplo 3a, 51,0 mg, 0,063 mol) en diclorometano (2 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, se concentró el disolvente y se purificó el aceite viscoso de color marrón resultante por medio de HPLC de preparación de fase inversa para dar el producto deseado (sal de ácido mono trifluoroacético) en forma de sólido de color blanco (45,5 mg, 89 % de rendimiento). ^1H RMN (CD_3OD) δ 0,99 (s, 9H), 1,06-1,09 (m, 2H), 1,22-1,25 (m, 2H), 1,43 (dd, $J=9,8, 5,5$ Hz, 1H), 1,90 (dd, $J=8,2, 5,5$ Hz, 1H), 2,24 (q, $J=8,7$ Hz, 1H), 2,39-2,44 (m, 1H), 2,72 (dd, $J=13,7, 7,6$ Hz, 1H), 2,91-2,96 (m, 1), 4,04 (s, 1H), 4,07 (s, 3H), 4,16 (dd, $J=13,1, 3,4$ Hz, 1H), 4,48 (dd, $J=13,1, 1,2$ Hz, 1H), 4,64 (dd, $J=10,2, 6,9$ Hz, 1H), 5,14 (dd, $J=10,4, 1,5$ Hz, 1H), 5,31 (dd, $J=17,2, 1,2$ Hz, 1H), 5,71-5,78 (m, 1H), 5,86 (sa, 1H), 7,48 (dd, $J=9,3, 2,3$ Hz, 1H), 7,55 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,72-7,79 (m, 3H), 8,07 (dd, $J=8,2, 1,2$ Hz, 1H), 8,28 (d, $J=9,2$ Hz, 1H); LC/MS (MH^+ , 691)



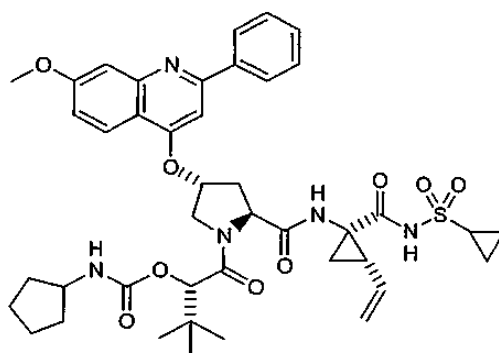
15 Ejemplo 5, Compuesto 1

Se añadió NaH (11, 5 mg, 0,279 mmol) a la solución de sal de ácido mono trifluoroacético del Compuesto 7 del Ejemplo 4 (50,0 mg, 0,062 mmol) en THF (1 ml), seguido de isocianato de terc-butilo (24,6 mg, 0,248 mmol). Tras agitar a temperatura ambiente durante 14 horas, se diluyó la reacción con acetato de etilo (5 ml) y se lavó con NH_4Cl saturado (2 ml). Se sometió a extracción la fase acuosa con 2 x 3 ml de acetato de etilo. Se secó la fase orgánica combinada sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró hasta que quedó aproximadamente 1 ml de disolvente. Se añadieron hexanos (15 ml) para llevar a cabo la precipitación de un material blanco que se filtró y se lavó con hexanos fríos para dar lugar a un producto sólido de color blanco (45,2 mg, rendimiento de 92 %). ^1H RMN (CD_3OD) δ 1,06 (s, 9H), 1,09 (s, 9H), 1,19-1,25 (m, 3H), 1,31-1,42 (m, 2H), 1,88 (t, $J=6,7$ Hz, 1H), 2,20-2,27 (m, 1H), 2,40-2,45 (m, 1H), 2,72-2,76 (m, 1), 2,94 (s a, 1H), 4,06 (s, 4H), 4,64 (s a, 2H), 5,13 (d, $J=9,8$ Hz, 1H), 5,30 (t, $J=1,7$ Hz, 1H), 5,65-5,72 (m, 1H), 5,84 (s a, 1H), 7,37 (d, $J=9,8$ Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,72-7,78 (m, 3H), 8,06 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 8,51 (d, $J=9,5$ Hz, 1H); LC/MS (MH^+ , (790).



Ejemplo 5, Compuesto 2

Se preparó el producto deseado sustituyendo isocianato de terc-butilo por isocianato de isopropilo en el procedimiento del Ejemplo 5, Compuesto 1. LC/MS (MH^+ , 776).

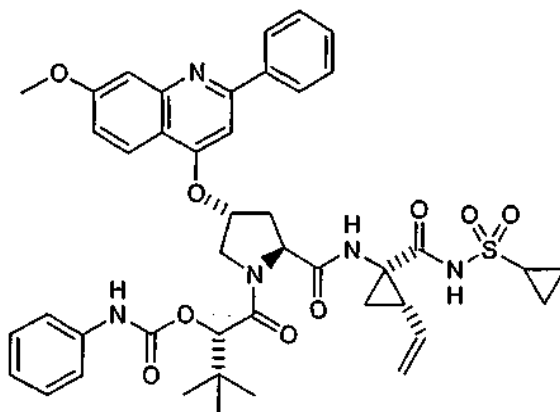


5

Ejemplo 5, Compuesto 3

Se preparó el producto deseado sustituyendo isocianato de terc-butilo por isocianato de ciclopentilo en el procedimiento del Ejemplo 5, Compuesto 1. 1H RMN (CD_3OD) δ 1,05 (s a, 1H), 1,07 (s, 9H), 1,1-1,16 (m, 2H), 1,23-1,24 (m, 2H), 1,28-1,37 (m, 2H), 1,41 (dd, $J=9,5, 5,5$ Hz, 1H), 1,50 (s a, 5H), 1,89 (dd, $J=8,2, 5,8$ Hz, 1H), 2,23 (t, $J=8,9$ Hz, 1H), 2,40-2,45 (m, 1H), 2,76 (dd, $J=12,8, 6,4$ Hz, 1H), 2,92-2,97 (m, 1H), 4,82 (s, 4H), 5,14 (dd, $J=10,4, 1,5$ Hz, 1H), 5,29 (d, $J=17,1$ Hz, 1H), 5,65-5,73 (m, 1H), 5,85 (br, s, 1H), 7,38 (dd, $J=9,2, 1,8$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,72-7,79 (m, 4H), 8,07 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 8,50 (d, $J=9,2$ Hz, 1H). LC/MS (MH^+ , 802).

10

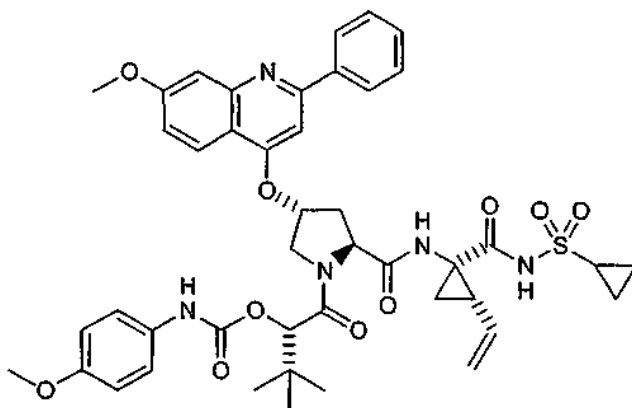


Ejemplo 5, Compuesto 4

15 Se preparó el producto deseado sustituyendo isocianato de terc-butilo por isocianato de fenilo en el procedimiento del Ejemplo 5, Compuesto 1. 1H RMN (CD_3OD) δ 1,13-1,18 (m, 1H), 1,24 (s, 9H), 1,32-1,38 (m, 3H), 1,51 (dd, $J=9,8,$

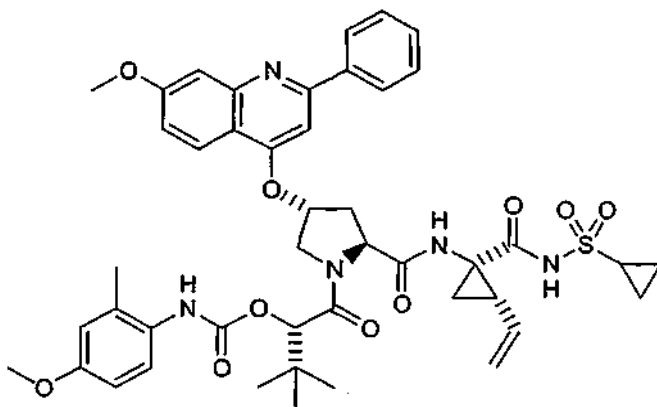
5,8 Hz, 1H), 1,95-2,00 (m, 1H), 2,30-2,61 (m, 1H), 2,89 (dd, $J=13,1$, 1,8 Hz, 1H), 3,03-3,08 (m, 1H), 4,17 (s, 4H), 4,77 (dd, $J=10,4$, 7,0 Hz, 1H), 4,87 (t, $J=5,9$ Hz, 1H), 4,89 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 4,99 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 5,24 (dd, $J=10,4$, 1,8 Hz, 1H), 5,39 (d, $J=17,4$ Hz, 1H), 5,75-5,83 (m, 1H), 5,98 (s, 1H), 7,10 (m, 1H), 7,27 (s, 4H), 7,40 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 7,62 (d, $J=2,1$ Hz, 1H), 7,76 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 7,82-7,89 (m, 4H), 8,18 (d, $J=9,5$ Hz, 2H), 8,60 (d, $J=9,2$ Hz). LC/MS (MH^+ , 810).

5



Ejemplo 5, Compuesto 5

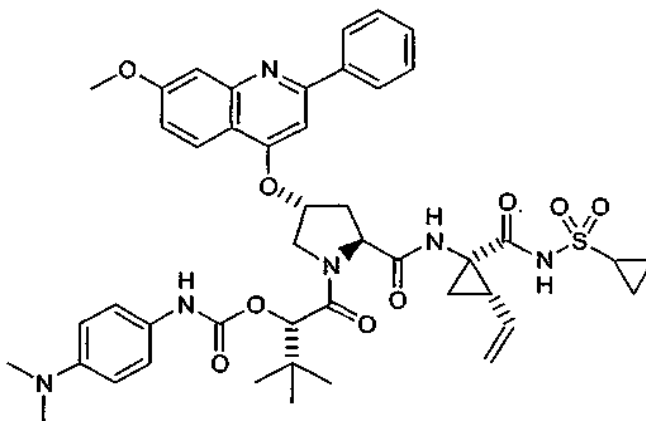
Se preparó el producto deseado sustituyendo isocianato de terc-butilo por isocianato de 4-metoxifenilo en el procedimiento del Ejemplo 5, Compuesto 1. LC/MS (MH^+ , 840).



10

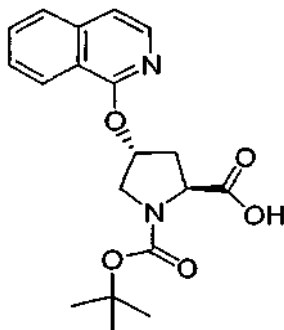
Ejemplo 5, Compuesto 6

Se preparó el producto deseado sustituyendo isocianato de terc-butilo por isocianato de 4-metoxi-2-metilfenilo en el procedimiento del Ejemplo 5, Compuesto 1. LC/MS (MH^+ , 854).



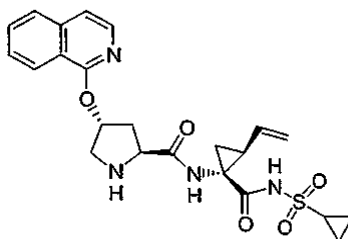
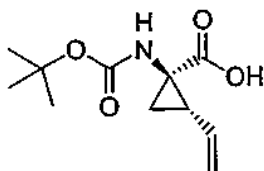
Ejemplo 5, Compuesto 7

Se preparó el producto deseado sustituyendo isocianato de terc-butilo por isocianato de 4-N,N-dimetilaminofenilo en el procedimiento del Ejemplo 5, Compuesto 1. LC/MS (MH^+ , 854).

**5 Ejemplo 6**

Se añadió terc-butóxido de potasio (336 mg, 3,0 mmol) a una solución de BOC-HYP-OH (231 mg, 1,0 mmol) en DMSO (10 ml). Se agitó la solución formada a temperatura ambiente durante 1 hora antes de la adición de 2-cloroisoquinolina (180 mg, 1,1 mmol). Se agitó la solución final durante 12 horas a temperatura ambiente, se inactivó con agua en forma de hielo, se acidificó con HCl 1M hasta pH 4, y se sometió a extracción con acetato de etilo (2 x 50 ml). Se lavaron las fases orgánicas con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró. Se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para proporcionar 272 mg (76 %) del producto deseado en forma de espuma blanquecina. 1H RMN (CD_3OD) δ 1,42, 1,44 (rotámeros, 1:2, 9H), 2,39-2,44 (m, 1H), 2,68-2,72 (m, 1H), 3,80-3,90 (m, 2H), 4,44-4,52 (m, 1H), 5,78 (b, 1H), 7,31-7,33 (m, 1H), 7,58 (t, $J=7,8$ Hz, 1H), 7,71 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,81 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J=8,0$ Hz, 1H); LC/MS (MH^+ , 359).

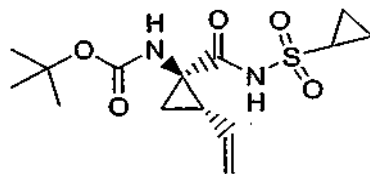
15

**Ejemplo 7****Etapa 7a**

Se añadió una suspensión de LiOH (1,27 g, 53,0 mmol) en agua (14 ml) a una solución de éster etílico de ácido I (R)-terc-butoxicarbonilamino-2-(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico (preparado por medio del procedimiento descrito en el documento WO 03/099274, 3,28 g, 13,2 mmol) en THF (7 ml) y metanol (7 ml). Se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente y se inactivó con NaOH 1 N (15 ml) y agua (20 ml). Se lavó la mezcla resultante con acetato de etilo (20 ml) y se sometió a extracción la fase orgánica con 20 ml de NaOH 0,5 N. Se acidificaron las fases acuosas combinadas con HCl 1N hasta pH 4 y se sometieron a extracción con acetato de etilo (3x40 ml) Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto deseado en forma de sólido de color blanco (2,62 g, 87 %). 1H RMN ($DMSO-d_6$) δ 1,22-1,26 (m, 1H), 1,37 (s, 9H), 1,50-1,52 (m, 1H), 2,05 (q, $J=9$ Hz, 1H), 5,04 (d, $J=10$ Hz, 1H), 5,22 (d, $J=17$ Hz, 1H),

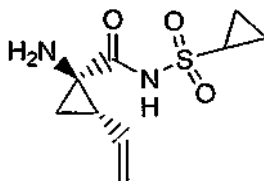
25

5,64-5,71 (m, 1H), 7,18, 7,53 (s, NH (rotámeros), 12,4 (s a, 1H); LC/MS (MH⁺, 228).



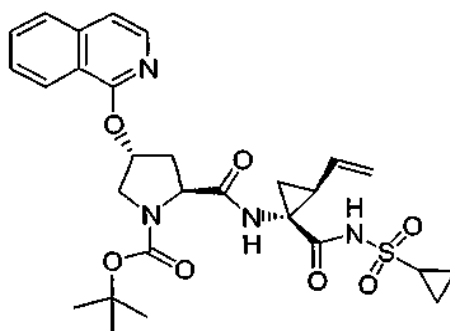
Etapa 7b

5 Se calentó a reflujo una solución del producto de la Etapa 7A (2,62 g, 11,5 mmol) y CDI (2,43 g, 15,0 mmol) en THF (40 ml) durante 50 minutos bajo nitrógeno. Se enfrió la solución hasta temperatura ambiente y se transfirió, por medio de una cánula, a una solución de amida de ácido ciclopropanosulfónico (1,82 g, 15,0 mmol) en THF (10 ml). Se añadió DBU (2,40 ml, 16,1 mmol) a la solución resultante y la agitación continuó durante 20 horas. Se inactivó la mezcla resultante con HCl 1N hasta pH 1 y se evaporó el THF a vacío. Se sometió a extracción la suspensión con acetato de etilo (2x50 ml) y se secaron los extractos combinados (MgSO₄) y se concentró. La purificación por medio de recristalización a partir de hexanos-acetato de etilo (1:1) proporcionó el compuesto deseado (2,4 g) en forma de sólido de color blanco. Se purificó el licor madre en una columna Biotage 40 S (eluída con acetona de 9 % en diclorometano) para proporcionar un segundo lote del compuesto deseado (1,1 g). Se combinaron ambos lotes (rendimiento total de 92 %). ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 0,96-1,10 (m, 4H), 1,22 (dd, J=5,5, 9,5 Hz, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,70 (t, J=5,5 Hz, 1H), 2,19-2,24 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 5,08 (d, J=10 Hz, 1H), 5,23 (d, J=17 Hz, 1H), 5,45 (m, 1H), 6,85, 7,22 (s, NH (rotámeros)); LC/MS (MH⁺, 331).



Etapa 7c

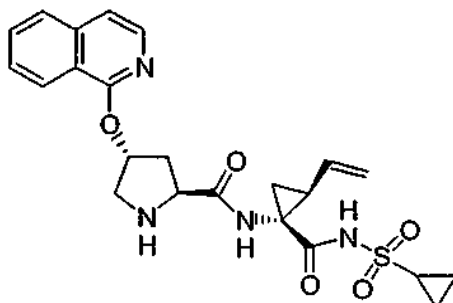
20 Se agitó una solución del producto de la Etapa 7b (3,5 g, 10,6 mmol) en diclorometano (35 ml) y TFA (32 ml) a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se retiraron los volátiles a vacío y se suspendió el residuo acuoso en HCl 1 N en éter dietílico (20 ml) y se concentró a vacío. Se repitió el procedimiento una vez. Se trituró la mezcla resultante a partir de pentano y se filtró para dar el producto deseado en forma de sólido blanquecino higroscópico (2,60 g, 92 %). ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 1,01-1,15 (m, 4H), 1,69-1,73 (m, 1H), 1,99-2,02 (m, 1H), 2,38 (q, J=9 Hz, 1H), 2,92-2,97 (m, 1H), 5,20 (d, J=11 Hz, 1H), 5,33 (d, J=17 Hz, 1H), 5,52-5,59 (m, 1H), 9,17 (s a, 3H); LC/MS (MH⁺, (231).



Etapa 7d

25 Se añadió diisopropiletilamina (387 mg, 3,0 mmol) a una mezcla helada del producto de la Etapa 6 (358 mg, 1,0 mmol), el producto de la Etapa 7c (293 mg, 1,1 mmol) y HATU (570 mg, 1,5 mmol) en DCM (10 ml). Se dejó la solución formada de este modo calentar hasta temperatura ambiente durante 12 horas, se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con ácido cítrico de 5 % (2x50 ml) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. Se trituró el residuo con metanol (10 ml) para proporcionar 470 mg (82 %) del producto deseado. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 1,00-1,09 (m, 4H), 1,35-1,38 (m, 10H), 1,69-1,84 (m, 1H), 2,11-2,66 (m, 3H), 2,89-2,93 (m, 1H), 3,62-3,89 (m, 2H),

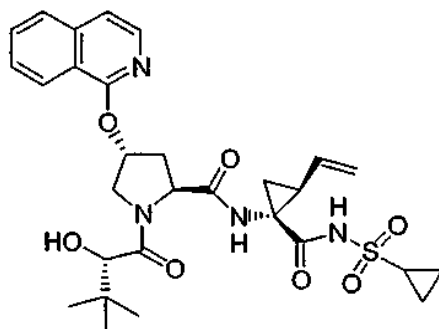
4,31 (t, $J=8,1$ Hz, 1H), 5,12 (d, $J=10,8$ Hz, 1H), 5,27 (d, $J=16,8$ Hz, 1H), 5,58-5,70 (m, 1H), 5,76 (b, 1 H), 7,43 (d, $J=5,7$ Hz, 1H), 7,66 (t, $J=7,4$ Hz, 1H), 7,79 (t, $J=7,5$ Hz, 1 H), 7,92 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H), 8,02 (d, $J=10$ Hz, 1H), 8,13 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 9,02 (s, 1H); LC/MS (MH^+ , 571)



5

Etapa 7e

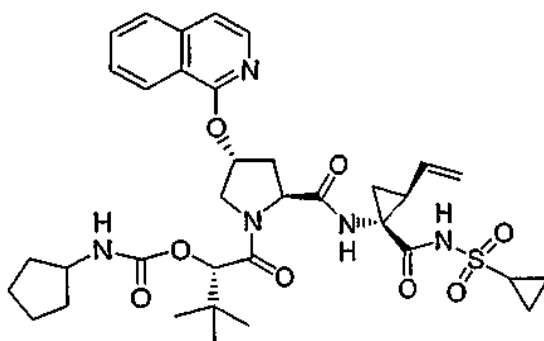
Se añadió TFA (5 ml) a una solución helada del producto de la Etapa 7d (435 mg, 0,76 mmol) en diclorometano (5 ml). Se dejó calentar la solución formada hasta temperatura ambiente durante 2 horas y se retiró el disolvente a vacío. Se trituró el residuo con HCl 1 M en éter dietílico, se recogió por medio de filtración, y se lavó con éter dietílico para proporcionar 400 mg (97 %) del producto deseado en forma de sólido blanco. LC/MS (MH^+ , 471).



10

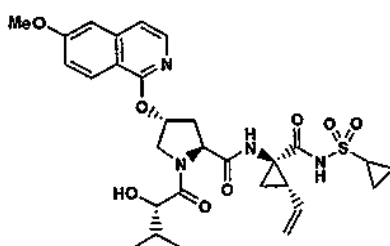
Ejemplo 8

Se preparó el producto deseado sustituyendo el producto de la Etapa 7C y el producto de la Etapa 6 por el Ejemplo 7e y ácido (S)-(-)-2-hidroxi-3,3-dimetilbutírico, respectivamente, en el procedimiento para la Etapa 7b. 1H RMN (CD_3OD) δ 0,98 (s, 9H), 1,05-1,09 (m, 2H), 1,21-1,27 (m, 2H), 1,39-1,44 (m, 1H), 1,87-1,91 (m, 1H), 2,20-2,31 (m, 2H), 2,53-2,62 (m, 1H), 2,90-2,99 (m, 1H), 4,02-4,08 (m, 2H), 4,31 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4,60-4,66 (m, 1H), 5,11-5,15 (m, 1H), 5,29 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5,66-5,79 (m, 1H), 5,88 (b, 1H), 7,34 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 7,58 (t, $J=8,9$ Hz, 1H), 7,72 (t, $J=8,7$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 7,97 (d, $J=5,7$ Hz, 1H), 8,17 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 9,24 (s, 1H); LC/MS (MH^+ , 585).

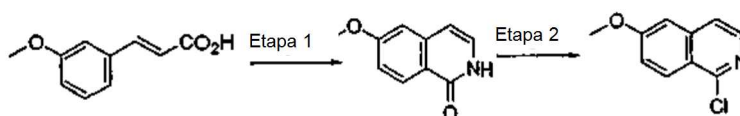


Ejemplo 9

Se añadió NaH (60 %, 24 mg, 0,08 mmol) a una solución helada del producto del Ejemplo 8 (12 mg, 0,02 mmol) en THF (1 ml). Se agitó la mezcla a esta temperatura durante 1 hora antes de la adición de isocianato de ciclopentilo (9 mg, 0,08 mmol). Se agitó la solución final 1 hora adicional a 0 °C y posteriormente se inactivó con ácido cítrico de 5 % y se sometió a extracción con acetato de etilo (10 ml). Se lavó la fase orgánica con ácido cítrico de 5 % y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. Se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para proporcionar 5 mg (36 %) del producto deseado en forma de sólido de color blanco. ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,06 (s, 9H), 1,23-1,89 (m, 10H), 2,21-2,30 (m, 2H), 2,60-2,69 (m, 1H), 2,92-2,99 (m, 1H), 3,66-3,70 (m, 1H), 3,99-4,03 (m, 1H), 4,51-4,60 (m, 2H), 4,76 (s, 1H), 5,12 (d, J=10 Hz, 1H), 5,28 (d, J=17,5 Hz, 1H), 5,65-5,75 (m, 1H), 5,87 (b, 1H), 7,33 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,54 (t, J=8,9 Hz, 1H), 7,72 (t, J=8,7 Hz, 1H), 7,81 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,95 (d, J=5,7 Hz, 1H), 8,34 (d, J=8,4 Hz, 1H), 8,99 (s, 1H); LC/MS (MH⁺, 696).

Ejemplo 50. Preparación del Compuesto 50**Compuesto 50**

15

Esquema 1

20

25

Se añadió cloroformiato de etilo (aproximadamente, 1,5 equivalentes) a una solución de ácido 3-metoxi cinámico (11,04 g, 62 mmol) y trietilamina (12,52 g, 124 mmol) en acetona (80 ml), gota a gota a 0 °C. Tras agitar a esta temperatura durante 1 h, se añadió gota a gota NaN₃ acuoso (6,40 g, 100 mmol en 35 ml de H₂O) y se agitó la mezcla de reacción durante 16 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua (100 ml) a la mezcla y se retiraron los volátiles a vacío. Se sometió a extracción la suspensión resultante con tolueno (3x50 ml) y se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. Se añadió gota a gota la solución seca a una solución caliente de difenilmetano (50 ml) y tributilamina (30 ml) a 190 °C. Se destiló el tolueno durante la adición. Una vez completada la adición, se elevó la temperatura de reacción hasta 210 °C durante 2 horas. Tras enfriar, se recogió el producto precipitado por medio de filtración, se lavó con hexano (2x50 ml) y se secó para dar el producto deseado en forma de sólido de color blanco (5,53 g, 51 %) (Nicolas Briet y col., Tetrahedron, 2002, 5761-5766)

LC-MS, MS m/z 176 (M⁺ + H).

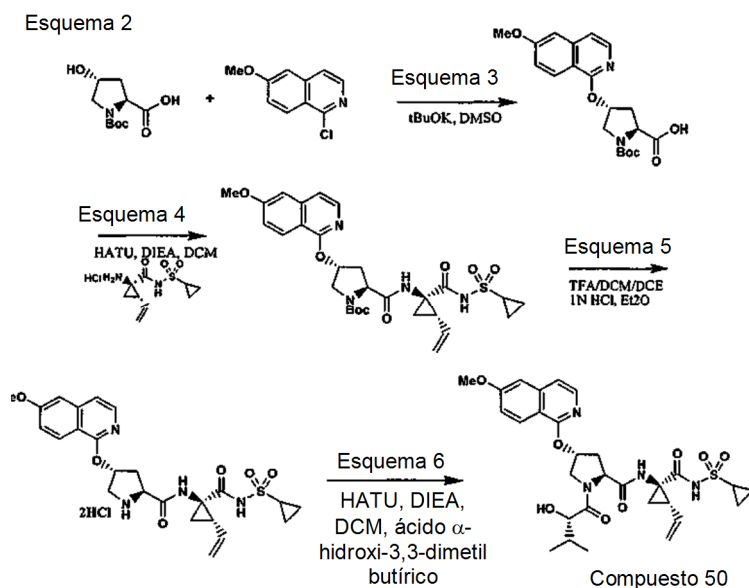
Etapa 2:

30

35

Se calentó 6-metoxi-2H-isoquinolin-1-ona (5,0 g, 28,4 mmol) en POCl₃ (10 ml) a reflujo intenso durante 3 horas y posteriormente se concentró la mezcla a vacío (Nicolas Briet y col., Tetrahedron, 2002, 5761-5766). Se vertió el residuo en agua con hielo (20 ml) y se llevó a pH 10 mediante la adición de NaOH 10N. Se sometió a extracción la mezcla resultante con CHCl₃. Se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y concentró. Se purificó el residuo por medio de cromatografía instantánea (hexano-EtOAc 1:1) para permitir al obtención de 4,41 g (80 %) del producto deseado en forma de sólido de color blanco.

¹H RMN (CD₃OD) δ ppm 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); LC-MS, MS m/z 194 (M⁺+H).



Etapa 3:

Se añadió terc-butóxido de sodio sólido (1,34 g, 12,0 mmol) de una vez a una solución de N-BOC-3-(R)-hidroxi-L-prolina (892 mg, 3,89 mmol) en DMSO (40 ml) a temperatura ambiente. Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 30 min antes de enfriar a 10 °C. Se añadió 1-cloro-6-metoxi-isoquinolina (etapa de producto 2, **Ejemplo 50**) (785 mg, 4,05 mmol) en forma de sólido de una vez y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 12 horas. Se inactivó la mezcla con ácido cítrico de 5 % enfriado en hielo (ac) y posteriormente se sometió a extracción con EtOAc (100 ml). Se sometió a extracción la fase acuosa con EtOAc una vez más. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con ácido cítrico de 5 % (ac) y salmuera respectivamente, se secaron sobre MgSO₄ y se filtró. Se concentró a vacío el filtrado hasta sequedad para dar 1,49 g (99 %) del producto deseado en forma de espuma de color blanquecino. Se usó el presente material bruto en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,42, 1,44 (rotámeros, 9H), 2,38-2,43 (m, 1H), 2,66-2,72 (m, 1H), 3,80-3,87 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,44-4,52 (m, 1H), 5,73 (b, 1H), 7,16-7,18 (m, 2H), 7,24-7,25 (m, 1H), 7,87-7,8 (m, 1H), 8,07 (d, J=8,5 Hz, 1H); LC-MS, MS *m/z* 389 (M⁺+H).

Etapa 4:

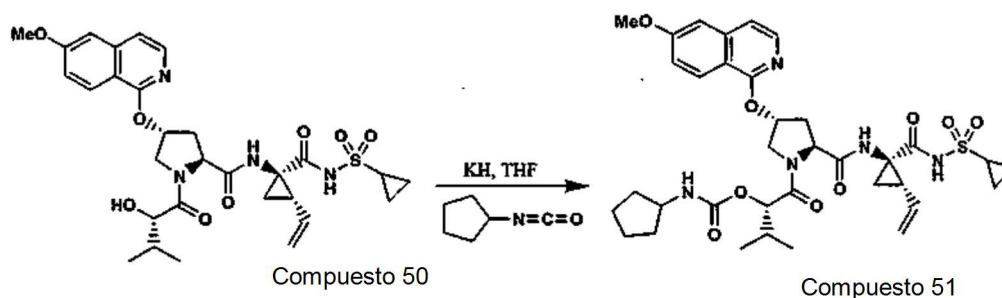
Se añadió DIPEA (1,29 g, 11,5 mmol) a 0 °C a una mezcla del producto del **Ejemplo 50**, etapa 3 (1,49 g, 3,84 mmol), HATU (2,19 g, 5,76 mmol) y sal de HCl de (1-(R)-amino-2-(S)-vinil-ciclopropanocarbonil)-amida de ácido ciclopropanosulfónico, el producto de la etapa 7c, **Ejemplo 7**, (1,12 g, 4,22 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 12 h, se diluyó la solución resultante con CH₂Cl₂ (50 ml) y se lavó con ácido cítrico de 5 % enfriado en hielo (ac.). Se lavó la fase orgánica con ácido cítrico 5 % (ac.) y salmuera respectivamente, se secó MgSO₄ y se filtró. Se concentró el filtrado a vacío hasta sequedad. Se recristalizó el residuo a partir de metanol para dar lugar a 1,60 g (70 %) del producto deseado en forma de sólido de color blanco. ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,05-1,08 (m, 2H), 1,16-1,20 (m, 1H), 1,24-1,27 (m, 1H), 1,42-1,45 (m, 10H), 1,88 (dd, J=8,09, 5,34 Hz, 1H), 2,24-2,30 (m, 2H), 2,53-2,57 (m, 1H), 2,94-2,98 (m, 1H), 3,80 (d, J=12,5 Hz, 1H), 3,86-3,89 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 4,40-4,42 (m, 1H), 5,13 (d, J=10,5 Hz, 1H), 5,32 (d, J=18,0 Hz, 1H), 5,72-5,81 (m, 2H), 7,17-7,20 (m, 2H), 7,26 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,88 (d, J=6,0 Hz, 1H), 8,07 (d, J=9,0 Hz, 1H); LC-MS, MS *m/z* 601 (M⁺+H).

Etapa 5:

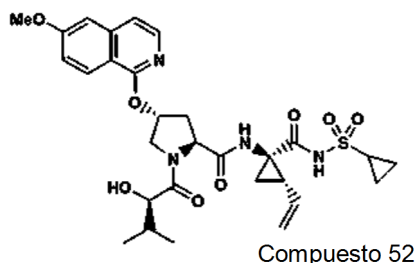
Se añadió TFA (10 ml) a una solución enfriada en hielo del producto del **Ejemplo 50**, Etapa 4 (1,50 g, 2,50 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml). Se dejó calentar la solución resultante hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. Se retiró el disolvente a vacío. Se trituró el residuo con HCl 1M, se filtró y se lavó con éter para dar lugar a 1,43 g (99,8 %) del producto deseado en forma de sólido de color blanco e higroscópico. ¹H RMN (CD₃OD) δ ppm 1,03-1,208 (m, 4H), 1,26-1,31 (m, 1H), 1,37-1,40 (m, 1H), 1,95-1,97 (m, 1H), 2,32-2,37 (m, 1H), 2,42-2,48 (m, 1H), 2,95-2,99 (m, 1H), 3,88 (d, J=12,5 Hz, 2H), 3,98 (s, 3H), 4,40-4,42 (m, 1H), 5,16 (d, J=10,5 Hz, 1H), 5,33 (d, J=18,0 Hz, 1H), 5,62-5,69 (m, 1H), 5,97 (b, 1H), 7,30-7,34 (m, 2H), 7,47 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,90 (d, J=6,5 Hz, 1H), 8,34 (d, J=9,0 Hz, 1H), 9,14 (b, 1H); LC-MS, MS *m/z* 501 (M⁺+H).

Etapa 6

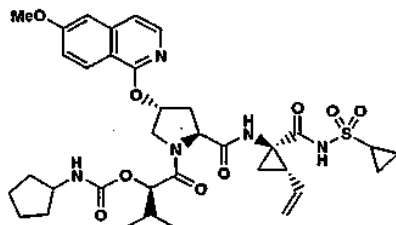
Se añadió HATU (0,597 g, 1,57 mmol) a una mezcla del producto de la etapa 5, **Ejemplo 50**, (0,50 g, 0,872 mmol), DIPEA (1,29 g, 11,5 mmol) y ácido (S)-(+)- α -hidroxi-3-metilbutírico (0,156 g, 1,13 mmol) en CH_2Cl_2 (9 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 16 h, se retiró el subproducto de precipitado de color blanco HOAT por medio de filtración a vacío y se lavó con EtOAc (25 ml). Se concentró el filtrado líquido y se re-disolvió el residuo resultante en EtOAc (75 ml) y se lavó con 2x10 ml de HCl acuoso. Se combinaron las fases acuosas y se sometieron a extracción con EtOAc (50 ml). Se lavó la fase orgánica con Na_2CO_3 de 10 % (ac), salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se filtró. Se concentró el filtrado a vacío hasta sequedad. Se purificó el residuo por medio de cromatografía en columna instantánea (SiO_2 , 97:3 DCM:MeOH) para dar lugar a 0,436 g (88 %) del **Compuesto 50** en forma de sólido espumoso de color blanco. ^1H RMN (CD_3OD) δ ppm 0,93 (d, $J=6,72$ Hz, 3H), 1,00 (d, $J=6,72$ Hz, 3H), 1,10 (dd, $J=7,9$, 2,4 Hz, 2H), 1,23-1,30 (m, 2H), 1,45 (dd, $J=9,3$, 5,4 Hz, 1H), 1,93 (dd, $J=9,3$, 5,4 Hz, 1H), 2,06-2,12 (m, 1H), 2,28 (q, $J=8,9$ Hz, 1H), 2,37-2,43 (m, 1H), 2,69 (dd, $J=13,7$, 6,4 Hz, 1H), 2,94-2,99 (m, 1H), 4,08 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 4,11 (dd, $J=12,5$, 3,5 Hz, 1H), 4,32 (d, $J=12,5$ Hz, 1H), 4,65 (dd, $J=10,1$, 7,0 Hz, 1H), 5,16 (dd, $J=10,4$, 1,5 Hz, 1H), 5,34 (dd, $J=17,2$, 1,4 Hz, 1H), 5,76-5,83 (m, 1H), 5,91 (s, 1H), 7,33 (dd, $J=9,2$, 2,4 Hz, 1H), 7,37 (d, $J=2,5$ Hz, 1H), 7,50 (d, $J=6,1$ Hz, 1H), 7,92 (d, $J=6,4$ Hz, 1H), 8,22 (d, $J=9,2$ Hz, 1H); LC-MS, MS m/z 601 (M^+H).

Ejemplo 51. Preparación del Compuesto 51

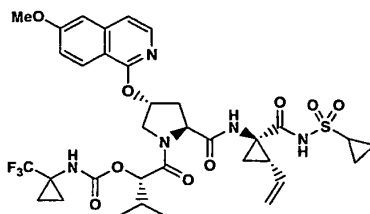
Se añadió KH (pre-lavado con hexanos y seco a vacío, 58,2 mg, 1,45 mmol) a una solución a 0 °C del **Compuesto 50** (0,249 g, 0,415 mmol) en THF (5 ml). Tras agitar durante 5 minutos, se añadió isocianato de ciclopentilo (142,6 mg, 1,25 mmol). Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 5 h, momento en el cual se diluyó la reacción con EtOAc (40 ml) y se lavó con HCl acuoso 1N (3 ml). Se sometió a extracción la fase acuosa con EtOAc (15 ml). Se lavó la fase orgánica combinada con Na_2CO_3 acuoso de 10 % (5 ml), salmuera, se secó sobre MgSO_4 , filtró y concentró. Se purificó la mezcla bruta por medio de HPLC inversa para dar lugar a un sólido de color amarillo (95,6 mg, 31 % de rendimiento). ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,01 (dd, $J=12,67$, 6,56 Hz, 6 H) 1,07 - 1,11 (m, 2 H) 1,19 - 1,36 (m, 4 H) 1,42 (dd, $J=9,46$, 5,49 Hz, 1H) 1,46 - 1,54 (m, 2 H) 1,58 - 1,78 (m, 4 H) 1,92 (dd, $J=8,24$, 5,49 Hz, 1 H) 2,19 - 2,33 (m, 2 H) 2,37 - 2,47 (m, 1 H) 2,72 (dd, $J=13,58$, 6,56 Hz, 1 H) 2,98 (ddd, $J=12,82$, 8,09, 4,73 Hz, 1 H) 3,38 - 3,44 (m, 1 H) 4,01 (s, 3 H) 4,02 - 4,08 (m, 1 H) 4,58 - 4,66 (m, 2 H) 4,70 (d, $J=12,21$ Hz, 1 H) 5,16 (dd, $J=10,38$, 1,53 Hz, 1 H) 5,33 (dd, $J=17,09$, 1,22 Hz, 1 H) 5,76 (ddd, $J=17,24$, 10,22, 9,16 Hz, 1 H) 5,88 (s, 1 H) 7,28 (dd, $J=9,16$, 2,44 Hz, 1 H) 7,37 (s, 1 H) 7,50 (d, $J=6,41$ Hz, 1H) 7,91 (d, $J=6,41$ Hz, 1H) 8,35 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H); LC-MS, MS m/z 712 (M^+H).

Ejemplo 52. Preparación del Compuesto 52

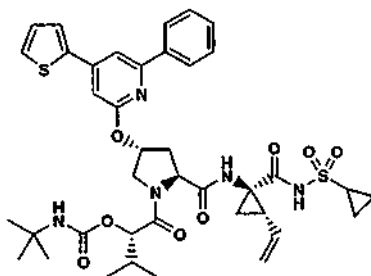
Se preparó el **Compuesto 52** con un rendimiento de 67 % por medio del mismo procedimiento que se ha descrito en la etapa 6, **ejemplo 50**, excepto que se usó ácido D- α -hidroxivalérico en lugar de ácido (S)-(+)- α -hidroxi-3-metilbutírico. ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 0,90 (d, $J=6,71$ Hz, 6 H) 1,04 - 1,16 (m, 3 H) 1,18 - 1,24 (m, 1 H) 1,26 - 1,33 (m, 2 H) 1,43 (dd, $J=9,31$, 5,34 Hz, 1 H) 1,85 - 1,96 (m, 2 H) 2,30 (q, $J=8,85$ Hz, 1 H) 2,45 (ddd, $J=13,81$, 9,23, 4,12 Hz, 1 H) 2,70 (dd, $J=13,89$, 7,17 Hz, 1H) 2,98 (ddd, $J=12,74$, 8,01, 4,58 Hz, 1H) 4,01 (s, 3 H) 4,06 (d, $J=5,80$ Hz, 1 H) 4,14 (dd, $J=12,36$, 3,20 Hz, 1 H) 4,33 (d, $J=12,51$ Hz, 1 H) 4,62 (t, $J=8,24$ Hz, 1H) 5,16 (dd, $J=10,38$, 1,22 Hz, 1 H) 5,35 (dd, $J=17,09$, 1,22 Hz, 1H) 5,73 - 5,84 (m, 1H) 5,93 (s, 1H) 7,33 (dd, $J=9,16$, 2,14 Hz, 1 H) 7,38 (d, $J=2,14$ Hz, 1 H) 7,51 (d, $J=6,41$ Hz, 1 H) 7,92 (d, $J=6,41$ Hz, 1H) 8,16 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H). LC-MS, MS m/z 601

(M⁺+H).**Ejemplo 53. Preparación del Compuesto 53****Compuesto 53**

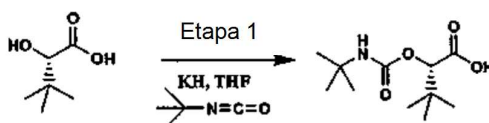
5 Se preparó el **Compuesto 53** con un rendimiento de 25 % a partir del **Compuesto 52** por medio del mismo procedimiento que se describe para la preparación del **Compuesto 51**. ¹H RMN (500 MHz, MeOD) 8 ppm 0,81 (d, *J* =6,71 Hz, 3 H) 0,98 (d, *J* =6,41 Hz, 3 H) 1,05 - 1,15 (m, 2 H) 1,21 - 1,33 (m, 2H) 1,35 - 1,44 (m, 2H) 1,47 (dd, *J* =12,51, 5,80 Hz, 1H) 1,51 - 1,61 (m, 2 H) 1,63 - 1,75 (m, 2 H) 1,77 - 1,87 (m, 2 H) 1,87 - 1,95 (m, 1H) 1,99 - 2,09 (m, 1 H) 2,37 (q, *J* =8,85 Hz, 1H) 2,45 (ddd, *J* =13,89, 9,16,4,73 Hz, 1 H) 2,76 (dd, *J* =13,89, 7,78 Hz, 1 H) 2,95 (ddd, *J* =12,67, 8,09, 4,88 Hz, 1 H) 3,80 - 3,90 (m, 1 H) 3,97 (s, 3 H) 4,20 -4,30 (m, 2 H) 4,62 -4,70 (m, 2 H) 5,17 (d, *J* =11,29 Hz, 1H) 5,33 (d, *J* =17,09 Hz, 1 H) 5,75 (ddd, *J* =17,24, 10,07, 8,70 Hz, 1 H) 5,89 (s, 1 H) 7,25 (dd, *J* =9,16, 2,14 Hz, 1H) 7,29 (d, *J* =2,14 Hz, 1 H) 7,39 (d, *J* =6,10 Hz, 1H) 7,92 (d, *J* =6,10 Hz, 1H) 8,10 (d, *J* =8,85 Hz, 1H); LC-MS, MS *m/z* 712 (M⁺+H).

Ejemplo 54. Preparación del Compuesto 54**Compuesto 54**

15 Se preparó el **Compuesto 54** con un rendimiento de 70 % a partir del **Compuesto 50** por medio del mismo procedimiento que se describe en la preparación del **Compuesto 51**, excepto que se usaron NaH e isocianato de ciclopropilo y trifluorometilo (preparado a partir de ácido ciclopropil trifluorometil carboxílico por medio de una re-organización de Curtius. T Shiori y col., JACS, **1972**, 94, 6203). en lugar de KH e isocianato de ciclopentilo, respectivamente. ¹H RMN (500 MHz, MeOD) 8 ppm 0,92 -1,16 (m, 12 H) 1,18 -1,35 (m, 3 H) 1,91 (dd, *J* =7,93, 5,19 Hz, 1 H) 2,25 (q, *J* =8,75 Hz, 2 H) 2,37 (ddd, *J* =13,81, 10,45, 3,20 Hz, 1 H) 2,67 (dd, *J* =14,50, 7,17 Hz, 1H) 2,98 (ddd, *J* =12,74, 8,16, 5,04 Hz, 1H) 3,98 (s, 3 H) 4,04 (dd, *J* =12,21, 3,36 Hz, 1 H) 4,55 - 4,63 (m, 1H) 4,69 (d, *J* =8,55 Hz, 1H) 5,15 (dd, *J* =10,38, 1,22 Hz, 1 H) 5,32 (dd, *J* =17,09, 0,92 Hz, 1 H) 5,75 (ddd, *J* =17,09, 9,92, 9,31 Hz, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 7,22 (d, *J* =9,16 Hz, 1 H) 7,30 (s, 1 H) 7,41 (d, *J* =6,10 Hz, 1 H) 7,90 (d, *J* =6,10 Hz, 1H) 8,07 (s, 0,5 H) 8,33 (d, *J* =9,16 Hz, 1 H) 9,25 (s, 0,5 H); LC-MS , MS *m/z* 752 (M⁺+H).

Ejemplo 55. Preparación del Compuesto 55**Compuesto 55**

Esquema 1

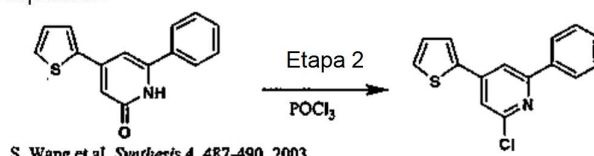


Etapa 1

5 Se añadió ácido (S)-(-)- α -hidroxi-3,3-dimetilbutírico (1,10 g, 7,98 mmol) a una suspensión de KH a 0 °C (0,640 g, 16,0 mmol) y THF (32 ml). Se retiró el baño de hielo y tras agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, se enfrió de nuevo la reacción hasta 0 °C y se trató gota a gota con isocianato de terc-butilo (2,03 g, 23,94 mmol). Tras agitar a temperatura ambiente durante 14 h, se diluyó la reacción con EtOAc (50 ml), se inactivó lentamente con NaOH 1 N (25 ml) y se separaron las fases. Se sometió a extracción la fase orgánica con 3x25 ml de H₂O y se descartó. Se acidificó la fase acuosa combinada hasta pH = 5 con HCl concentrado, posteriormente se sometió a extracción con 3x50 ml de EtOAc. Se secó la fase orgánica combinada sobre MgSO₄, filtró y se concentró para dar un sólido de color amarillo (1,8 g, 98 % de rendimiento) que se usó sin purificación adicional. ¹H RMN (CD₃OD) δ ppm 1,05 (s, 9H), 1,33 (s, 9H), 4,60 (s, 1H), 4,84 (s, 1H), 10,50 (s a, 1H); LC-MS, MS *m/z* 232 (M⁺+Na).

10

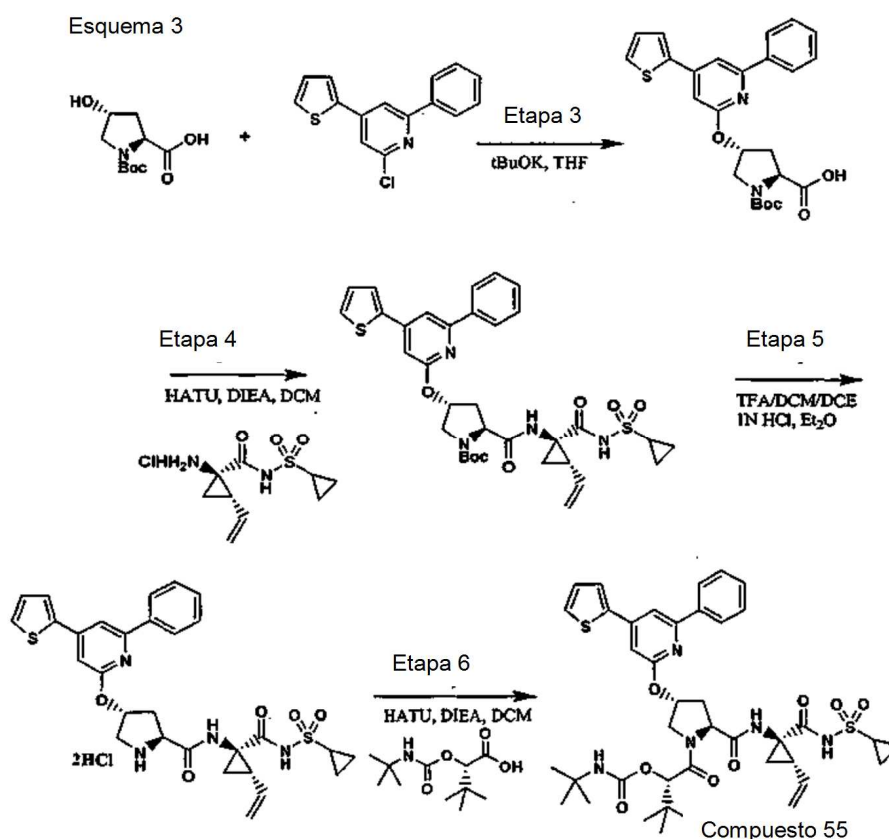
Esquema 2



Etapa 2

15 Se calentó a reflujo durante tres días una solución de 6-fenil-4-(tiofen-2-il)piridin-2(1H)-ona (1,07 mg, 4,23 mmol) (preparada de acuerdo con S. Wang y col., *Synthesis* 4, 487-490, 2003) en oxiclورو de fósforo (15 ml). Se retiró el exceso de oxiclورو de fósforo a vacío y se trituro el residuo con hielo-agua. Se basificó el trituro con NaOH acuoso y se sometió a extracción el producto en DCM. Se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó, filtró a través de tierras diatomeas (Celite®) y se concentró. Se purificó el producto bruto por medio de cromatografía instantánea para dar un producto sólido de color blanco (624 mg, 54 % de rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃) δ ppm 7,16 (dd, *J*=5,13, 3,7 Hz, 1H), 7,44-7,52 (m, 5H), 7,55 (dd, *J*=3,7, 1,1 Hz, 1H), 7,79 (d, *J*=1,5 Hz, 1H), 8,02 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 2H); LC-MS, MS *m/z* 272 (M⁺+H).

20



Etapa 3

Se añadió terc-butóxido de potasio (295 g, 2,5 mmol) a una solución de Boc-Hyp-OH (254 mg, 1,1 mmol) en DMSO (5 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió el producto de cloropiridina de la etapa 2, **Ejemplo 55** y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche. Se separó la mezcla de reacción entre EtOAc y ácido cítrico acuoso. Se lavó la fase orgánica con H₂O y salmuera, y posteriormente se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró a vacío. LC/MS de la mezcla bruta mostró una mezcla de 2,5:1 de producto: material de partida de cloropiridina. Se purificó la mezcla bruta por medio de cromatografía en columna instantánea (SiO₂, DCM:MeOH 90:10) para dar un producto sólido (270 mg, 58 % de rendimiento). ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,45 (s, 9H), 2,37-2,42 (m, 1H), 2,63 (q, J=13,9 Hz, 1H), 3,79 (d, J=11,9 Hz, 1H), 3,88 (d, J=12,2 Hz, 1H), 4,41-4,46 (m, 1H), 5,70 (s a, 1H), 6,92 (s a, 1H), 7,15 (d, J=3,4 Hz, 1H), 7,40 (t, J=6,1 Hz, 1H), 7,45 (q, J=6,7 Hz, 2H), 7,51 (d, J=4,0 Hz, 1H), 7,65 (s a, 2H), 8,05 (d, J=7,0 Hz, 2H); LC-MS, MS *m/z* 467 (M⁺+H).

Etapa 4

Se combinó el producto de la etapa 3, **Ejemplo 55**, (260 mg, 0,56 mmol) con N-metilmorfolina (284 mg, 2,79 mmol), sal de HCl de (1-(R)-amino-2-(S)-vinil-ciclopropanocarbonil)-amida de ácido ciclopropanosulfónico, el producto de la etapa 7c, Ejemplo 7, (202 mg, 0,61 mmol) y HATU (276 mg, 0,73 mmol) en DCM (5 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se vertió la mezcla de reacción en ácido cítrico acuoso y se sometió a extracción el producto con EtOAc. Se lavó la fase orgánica con bicarbonato acuoso, y salmuera, y posteriormente se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró a vacío. Se purificó la mezcla por medio de cromatografía en columna instantánea (SiO₂, MeOH de 1,5 % en DCM) para dar un producto sólido de color blanco (250 mg, rendimiento de 66 %). ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,07 (q, J=7,1 Hz, 2H), 1,18 (dd, J=9,5, 4,3 Hz, 1H), 1,23-1,29 (m, 1H), 1,43 (q, J=6,1 Hz, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,88 (q, J=5,5 Hz, 1H), 2,25 (q, J=8,5 Hz, 1H), 2,30 (dd, J=9,5, 4,6 Hz, 1H), 2,51 (dd, J=13,5 Hz, 1H), 2,93-2,97 (m, 1H), 3,77 (d, J=11,9 Hz, 1H), 3,89 (dd, J=11,6, 4,1 Hz, 1H), 4,32 (t, J=8,3 Hz, 1H), 5,12 (d, J=10,4 Hz, 1H), 5,31 (d, J=17,1 Hz, 1H), 5,76 (s a, 1H), 6,93 (s, 1H), 7,16 (t, J=4,3 Hz, 1H), 7,41 (t, J=6,9 Hz, 1H), 7,46 (t, J=7,5 Hz, 2H), 7,54 (d, J=4,9 Hz, 1H), 7,68 (s a, 2H), 8,06 (d, J=7,6 Hz, 2H); LC-MS, MS *m/z* 678 (M⁺+H).

Etapa 5

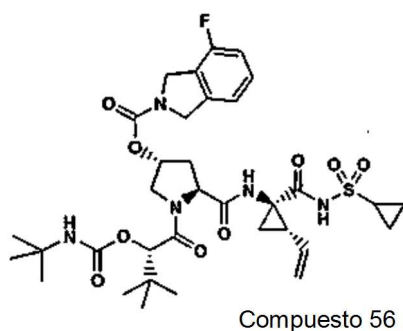
Se añadió TFA (10 ml) a una solución del producto de la etapa 4, **Ejemplo 55**, (0,707 g, 1,04 mmol) en DCM:DCE 1:1 (20 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 0,5 h, se concentró la reacción a vacío. Se re-disolvió el residuo resultante en DCE (20 ml) y se re-concentró. Posteriormente se disolvió el aceite viscoso de color marrón resultante en DCM (3 ml) y se añadió gota a gota a una solución agitada de forma rápida de HCl 1N en Et₂O (100 ml). Se obtuvo el precipitado resultante, un sólido blanquecino (0,666, rendimiento de 98 %) por medio de filtración a

vacío y se lavó con Et₂O. LC-MS, MS m/z 579 (M⁺+H).

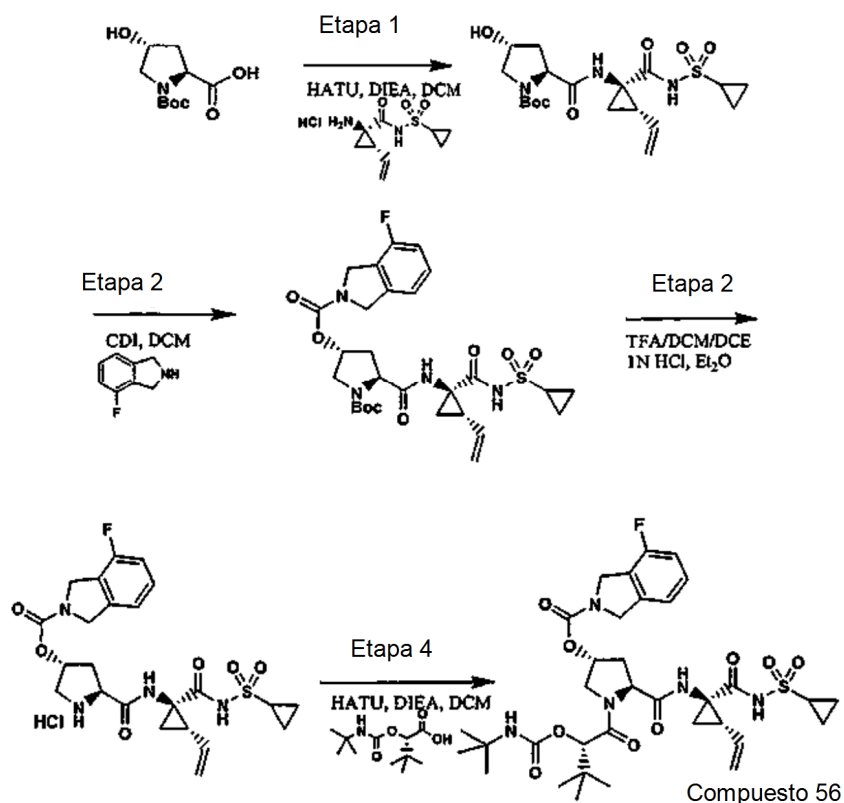
Etapa 6

Se añadió el producto de la etapa 1, **Ejemplo 55**, a una mezcla del producto de la etapa 5, **Ejemplo 55**, (0,200 g, 0,307 mmol) y DIEA (0,139 g, 1,07 mmol) en DCM (3 ml), seguido de la adición de HATU (0,140 g, 0,368 mmol).
 5 Tras agitar a temperatura ambiente durante 8 horas, se retiró el disolvente y se re-disolvió el residuo con EtOAc (30 ml) seguido de lavado con 2x3 ml de HCl acuoso 1N. Se sometió a extracción la fase acuosa con EtOAc (30 ml). Se lavó la fase orgánica combinada con Na₂CO₃ acuoso de 10 % y salmuera, y posteriormente se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró. Se purificó el aceite viscoso resultante de color marrón por medio de cromatografía en columna instantánea (SiO₂, DCM:MeOH 95:5) para dar el **Compuesto 55** en forma de sólido de color blanco (0,170 g, rendimiento de 70 %). ¹H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,08 (s, 11 H) 1,22 (s, 9 H) 1,24 - 1,29 (m, 2 H) 1,42 (dd, J=9,46, 5,49 Hz, 1 H) 1,90 (dd, J=8,24, 5,49 Hz, 1 H) 2,25 - 2,37 (m, 2 H) 2,58 (dd, J=13,58, 7,48 Hz, 1H) 2,98 (ddd, J=12,82, 8,09, 4,73 Hz, 1 H) 4,09 (dd, J=11,75, 3,81 Hz, 1 H) 4,41 (d, J=11,60 Hz, 1 H) 4,62 (t, J=8,39 Hz, 1 H) 4,74 (s, 1 H) 5,15 (dd, J=10,38, 1,22 Hz, 1 H) 5,32 (dd, J=17,24, 1,07 Hz, 1 H) 5,68 - 5,79 (m, 1 H) 5,91 (s, 1 H) 6,97 (s, 1H) 7,20 (dd, J=4,88, 3,66 Hz, 1 H) 7,45 (t, J=7,32 Hz, 1 H) 7,51 (t, J=7,32 Hz, 2 H) 7,57 (d, J=5,19 Hz, 1 H) 7,71 (d, J=3,05 Hz, 1 H) 7,74 (d, J=1,22 Hz, 1 H) 8,12 (d, J=7,32 Hz, 2 H); . LC-MS , MS m/z 792 (M⁺+H).

Ejemplo 56. Preparación del Compuesto 56



Esquema 2



Etapa 1

Se preparó el producto de la etapa 1, **Ejemplo 56**, por medio del mismo procedimiento que el producto de la etapa 4, **Ejemplo 50**, comenzando con Boc-Hyp-OH en lugar del producto de la etapa 3, **Ejemplo 50**. ¹H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,09 (d, *J*=7,63 Hz, 2 H) 1,16 - 1,22 (m, 1 H) 1,25 - 1,32 (m, 1 H) 1,42 (dd, *J*=9,46, 5,49 Hz, 1 H) 1,47 (s, 1,7 H) 1,50 (s, 7,3 H) 1,88 (dd, *J*=8,09, 5,34 Hz, 1 H) 1,94 - 2,03 (m, 1 H) 2,13 (dd, *J*=12,97, 6,87 Hz, 1 H) 2,26 (q, *J*=8,85 Hz, 1 H) 2,97 (ddd, *J*=12,51, 8,09, 4,73 Hz, 1 H) 3,47 (d, *J*=11,60 Hz, 1 H) 3,56 - 3,62 (m, 1 H) 4,25 (dd, *J*=9,61, 6,87 Hz, 1 H) 4,42 (s, 1 H) 5,15 (d, *J*=10,38 Hz, 1 H) 5,34 (d, *J*=17,09 Hz, 1 H) 5,74 - 5,85 (m, 1 H); LCMS, MS *m/z* = 442 (M-H)⁻.

Etapa 2

Se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (439 mg, 2,71 mmol) a una solución del producto de la etapa 1, **Ejemplo 56**, (1,0 g, 2,25 mmol) en DCM (20 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se añadió 4-fluoroisindolina (preparada de acuerdo con el procedimiento encontrado en: L.M. Blatt y col, PCT Int. Appl. (2005), 244 pp, WO 2005037214) (617 mg, 4,50 mmol) y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche. Se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc (100 ml) y se lavó con 2x10 ml de HCl acuoso 1N. Se sometió a extracción la fase acuosa con 2x50 ml de EtOAc. Se lavó la fase orgánica combinada con salmuera, se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró para dar un aceite viscoso de color marrón (1,3 g, 95 % de rendimiento). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,29 - 1,37 (m, 2 H) 1,38 - 1,45 (m, 2 H) 1,47 (s, 9 H) 1,95 - 2,00 (m, 1 H) 2,07 - 2,14 (m, 1 H) 2,28 - 2,35 (m, 1 H) 2,37 - 2,46 (m, 1 H) 2,90 - 2,97 (m, 1 H) 3,65 (d, *J*=12,80 Hz, 1 H) 3,72 (d, *J*=12,50 Hz, 1 H) 4,26 (t, *J*=7,02 Hz, 1H) 4,68 (d, *J*=9,46 Hz, 2 H) 4,77 (d, *J*=9,16 Hz, 2 H) 5,15 (d, *J*=10,38 Hz, 1 H) 5,29 (d, *J*=17,10 Hz, 1 H) 5,33 (s, 1 H) 5,73 - 5,84 (m, 1 H) 6,97 (t, *J*=8,70 Hz, 1 H) 7,01 (d, *J*=7,63 Hz, 1 H) 7,28 (dd, *J*=8,09, 2,90 Hz, 1 H) 10,00 (s, 1 H); LC-MS, MS *m/z* 629 (M⁺+Na).

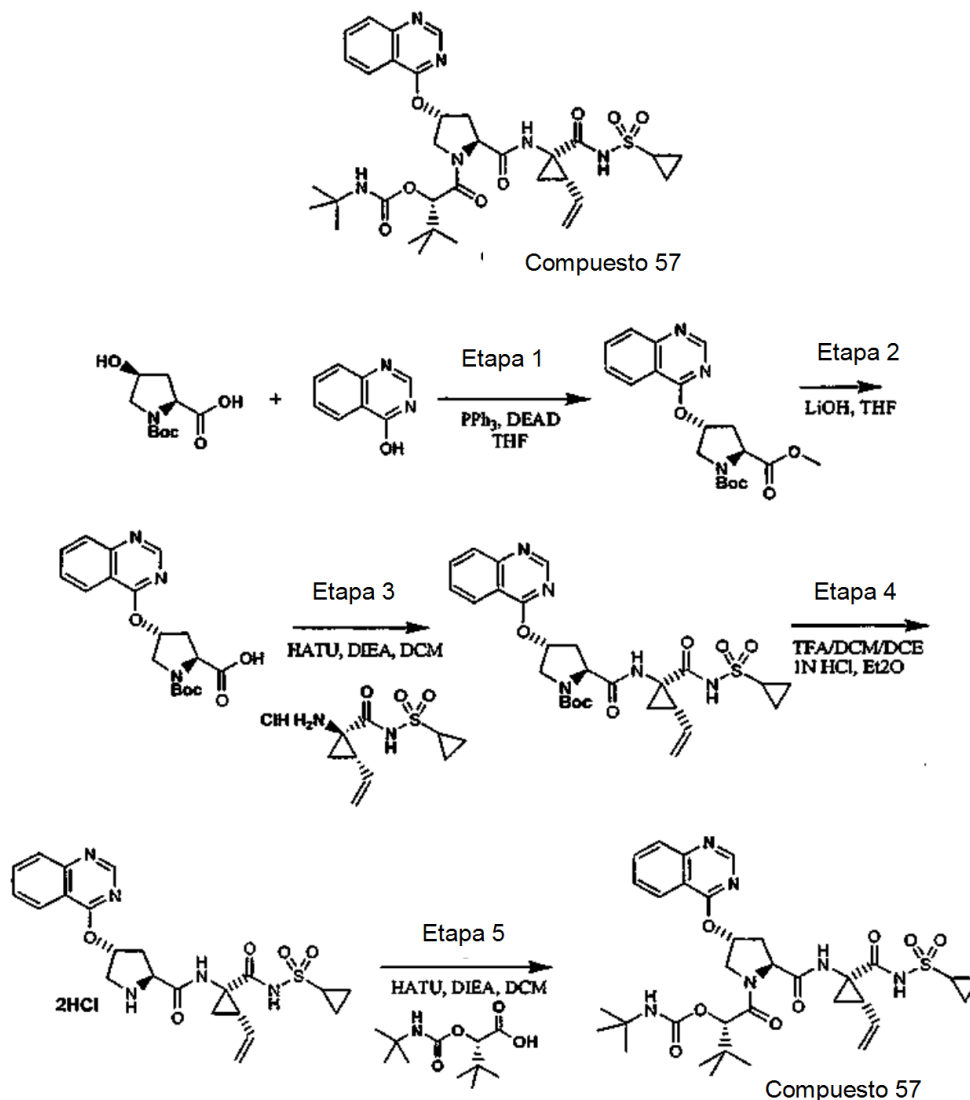
Etapa 3

Se preparó el producto de la etapa 3, **Ejemplo 56**, con un rendimiento de 94 % a partir del producto de la etapa 2, **Ejemplo 56**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 5, **Ejemplo 55**. ¹H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,05-1,11 (m, 1H) 1,11 -1,17 (m, 1H) 1,18 -1,23 (m, 1H) 1,27-1,34 (m,1 H) 1,40 (dd, *J*=9,61, 5,65 Hz, 1 H) 1,98 (dd, *J*=7,93, 5,80 Hz, 1 H) 2,27 - 2,33 (m, 1 H) 2,36 (q, *J*=8,80 Hz, 1 H) 2,75 (dd, *J*=14,34, 7,32 Hz, 1 H) 2,96 - 3,03 (m,1H) 3,65 - 3,75 (m, 2 H) 4,61 - 4,67 (m, 1 H) 4,78 (s, 2 H) 5,19 (d, *J*=10,38 Hz, 1H) 5,36 (d, *J*=17,09 Hz, 1 H) 5,48 (s, 1 H) 5,64 - 5,73 (m, 1 H) 7,06 (t, *J*=8,70 Hz, 1H) 7,17 (dd, *J*=16,17, 7,63 Hz, 1H) 7,37 (q, *J*=7,63 Hz, 1H); LC-MS, MS *m/z* 507 (M⁺+H).

Etapa 4

Se preparó el **Compuesto 56, Ejemplo 56** con un rendimiento de 55 % a partir del producto de la etapa 3, **Ejemplo 56**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 6, **Ejemplo 55**. ¹H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,02 (s, 5 H) 1,05-1,14 (m, 16 H) 1,22 - 1,28 (m, 2 H) 1,42 (dd, *J*=9,46, 5,49 Hz, 1 H) 1,87 - 1,92 (m, 1 H) 2,15 - 2,22 (m, 1 H) 2,26 (q, *J*=8,85 Hz, 1 H) 2,44 - 2,52 (m, 1 H) 2,97 (ddd, *J*=12,82, 8,09,4,73 Hz, 1 H) 3,82 (d, *J*=11,60 Hz, 1 H) 4,42 (d, *J*=11,29 Hz, 1 H) 4,53 - 4,64 (m, 2 H) 4,71 - 4,79 (m, 3 H) 5,15 (dd, *J*=10,38, 1,22 Hz, 1 H) 5,32 (dd, *J*=17,09, 1,22 Hz, 1H) 5,35 (s, 1 H) 5,67 - 5,77 (m, 1H) 6,51 (d, *J*=23,19 Hz, 1H) 6,99 - 7,08 (m, 1,4 H) 7,16 (d, *J*=7,63 Hz, 0,6 H) 7,31 - 7,38 (m, 1 H); LC-MS, MS *m/z* 720 (M⁺+H).

Ejemplo 57. Preparación del Compuesto 57



Etapa 1

5 Se añadió gota a gota dietilazodicarboxilato (7,4 g, 42,4 mmol) a una solución de cis-Boc-Hyp-Oh (4,95 g, 20,2 mmol) y PPh_3 (10,6 g, 40,4 mmol) en THF (100 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 min se añadió 4-hidroxiquinolina (3,7 g, 25,3 mmol). Tras procesado acuoso se usó el producto en forma bruta con algo de óxido de trifetilfosfina por medio de contaminación del sub-producto todavía presente en la siguiente etapa.

Etapa 2

10 Se añadió una solución de LiOH (2,54 g, 60,54 mmol) en H_2O (18 ml) a una solución de producto bruto de la etapa 1, **Ejemplo 57** (se asumen 20,2 mmol) en THF. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente, se sometió a extracción la mezcla de reacción con Et_2O y se lavó a continuación la fase orgánica con H_2O (50 ml). Se diluyó la fase acuosa con DCM (50 ml) y se acidificó hasta $\text{pH} = 4$. Se agitó la mezcla y se separaron las capas. Se sometió a extracción la fase acuosa con 3x50 ml de DCM. Se lavó la fase de DCM combinada con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , filtró y concentró para dar un sólido de color naranja claro (5,8 g, 80 % de rendimiento). LC-MS, MS m/z 360 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

15

Etapa 3

20 Se preparó el producto de la etapa 3, **Ejemplo 57**, con un rendimiento de 76 % a partir del producto de la etapa 2, **Ejemplo 57**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 4, **Ejemplo 55**. ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 0,81 - 0,98 (m, 2 H) 1,07 (s, 2 H) 1,23 - 1,31 (m, 1H) 1,39 (d, $J=6,41$ Hz, 4 H) 1,46 (s, 9 H) 1,87 (d, $J=2,75$ Hz, 1 H) 2,06 - 2,20 (m, 1 H) 2,63 - 2,80 (m, 2 H) 3,96 (d, $J=13,73$ Hz, 1 H) 4,04 (d, $J=11,90$ Hz, 1 H) 4,43 (q, $J=7,60$ Hz, 1H) 5,05 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H) 5,26 (d, $J=17,09$ Hz, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 - 6,05

(m, 1 H) 7,70 (t, $J=7,63$ Hz, 1 H) 7,90 -8,00 (m, 2 H) 8,20 (d, $J=8,24$ Hz, 1 H) 8,79 (s, 1 H); LC-MS , MS m/z 572 ($M^+ + H$)

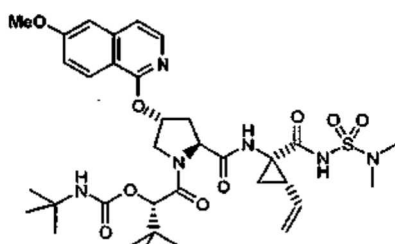
Etapa 4

Se preparó el producto de la etapa 4, **Ejemplo 57**, con un rendimiento de 83 % a partir del producto de la etapa 3, **Ejemplo 57**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 5, **Ejemplo 55**. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,03 -1,10 (m, 1 H) 1,10 -1,17 (m, 1 H) 1,17 -1,24 (m, 1 H) 1,27 -1,35 (m, 1 H) 1,37 - 1,45 (m, 2 H) 1,99 (dd, $J=7,78, 5,65$ Hz, 1 H) 2,40 (q, $J=8,75$ Hz, 1 H) 2,52 - 2,61 (m, 1 H) 2,95 - 3,03 (m, 1 H) 3,10 (dd, $J=14,80, 7,48$ Hz, 1 H) 3,99 (s, 2 H) 5,19 (d, $J=10,38$ Hz, 1 H) 5,37 (d, $J=17,09$ Hz, 1 H) 5,63 - 5,74 (m, 1 H) 6,29 (s, 1 H) 8,00 (t, $J=7,63$ Hz, 1H) 8,10 (d, $J=8,24$ Hz, 1H) 8,28 (t, $J=7,93$ Hz, 1H) 8,61 (d, $J=8,24$ Hz, 1 H) 9,28 (s, 1 H); LC-MS ,MS m/z 472($M^+ + H$).

Etapa 5

Se preparó Compuesto 57, **Ejemplo 57**, con un rendimiento de 78 % a partir del producto de la etapa 4, **Ejemplo 57**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 6, **Ejemplo 55**. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,02 - 1,08 (m, 3 H) 1,09 (s, 9 H) 1,07 - 1,14 (m, 9 H) 1,22 - 1,28 (m, 3 H) 1,30 - 1,34 (m, 1 H) 1,90 (dd, $J=7,78, 5,65$ Hz, 1 H) 2,25 (q, $J=8,65$ Hz, 1 H) 2,36 (t, $J=12,36$ Hz, 1 H) 2,72 (dd, $J=13,73, 6,41$ Hz, 1 H) 2,93 - 3,00 (m, 1 H) 4,02 (dd, $J=11,90, 2,14$ Hz, 1 H) 4,60 - 4,77 (m, 1 H) 5,15 (d, $J=10,38$ Hz, 1 H) 5,31 (d, $J=17,70$ Hz, 1 H) 5,67 - 5,77 (m, 1 H) 5,98 (s, 1 H) 7,64 (t, $J=7,02$ Hz, 1 H) 7,90 - 7,99 (m, 2 H) 8,38 (d, $J=7,93$ Hz, 1 H) 8,80 (s, 1 H); LC-MS , MS m/z 685 ($M^+ + H$).

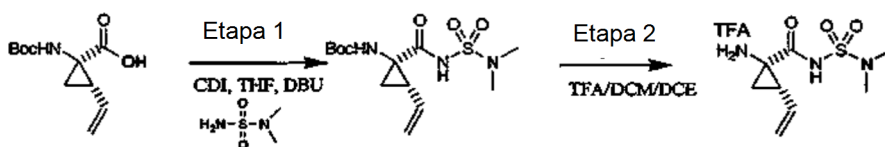
Ejemplo 58. Preparación del Compuesto 58.



Compuesto 58

20

Esquema 1



Etapa 1

Se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (1,44 g, 8,86 mmol) a una solución de ácido N-Boc-vinilciclopropano carboxílico, el producto de la etapa 7a, **Ejemplo 7** (1,83 g, 8,05 mmol) y THF (32 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se trató la mezcla de reacción con N,N-dimetilsulfamida (1,0 g, 8,05 mmol) seguido de DBU (2,45 g, 16,1 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas adicionales. Posteriormente, se diluyó la reacción con EtOAc (50 ml) y se lavó con 2x25 ml de HCl acuoso 1N. Se sometió a extracción la fase acuosa con 2x50 ml de EtOAc. Se lavó la parte orgánica con H₂O (25 ml) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró hasta obtener un sólido de amarillo claro (2,6 g, 97 % de rendimiento) que se usó sin purificación adicional. LC-MS, MS m/z 356 ($M^+ + Na$).

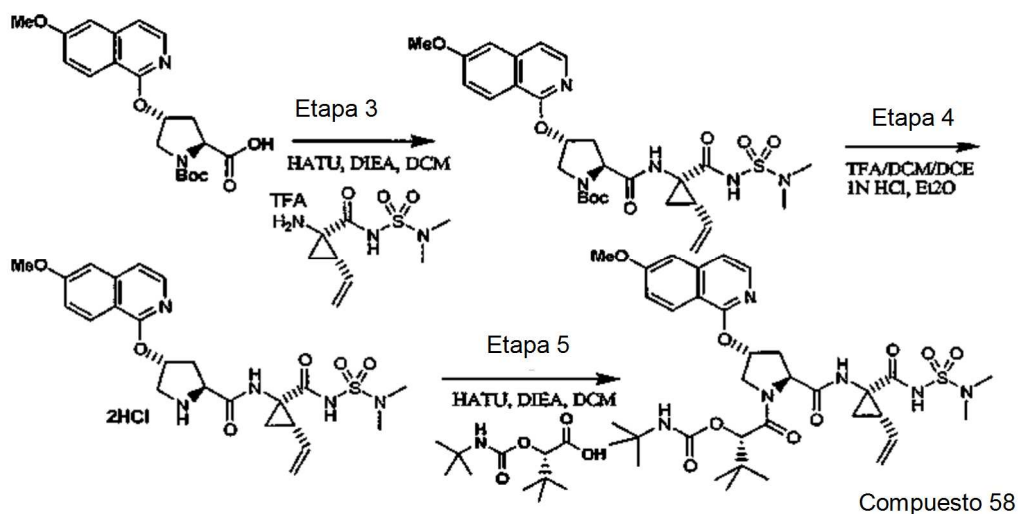
30

Etapa 2

Se añadió TFA (10 ml) a una solución del producto de la etapa 2, **Ejemplo 58**, (1,42 g, 4,26 mmol) en DCM:DCE 1:1 (20 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 0,5 horas, se retiraron el disolvente y el exceso de TFA y se re-disolvió el residuo en DCE (20 ml) y se concentró de nuevo para obtener un sólido de color amarillo (1,46 g, rendimiento de 99 %). LC-MS, MS m/z 234 ($M^+ + H$).

35

Esquema 2



Etapa 3

Se preparó el producto de la etapa 3, **Ejemplo 58**, con un rendimiento de 91 % a partir del producto de la etapa 2, **Ejemplo 58**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 4, **Ejemplo 55**.
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,38 (dd, *J*=7,78, 4,43 Hz, 1 H) 1,46 (s, 9 H) 1,95 (dd, *J*=8,09, 5,65 Hz, 1 H) 2,08 (q, *J*=8,65 Hz, 1 H) 2,49 - 2,55 (m, 2 H) 2,91 (s, 6 H) 3,77 - 3,87 (m, 2 H) 3,93 (s, 3 H) 4,38 (t, *J*=6,87 Hz, 1 H) 5,16 (d, *J*=10,38 Hz, 1 H) 5,29 (d, *J*=17,40 Hz, 1 H) 5,71 - 5,79 (m, 1 H) 5,80 (s, 1 H) 7,02 (d, *J*=2,44 Hz, 1 H) 7,13 - 7,16 (m, *J*=5,50 Hz, 1 H) 7,90 (d, *J*=5,80 Hz, 1 H) 8,02 (d, *J*=9,16 Hz, 1 H) 9,83 (s, 1 H); LC-MS , MS *m/z* 604 (M⁺+H).

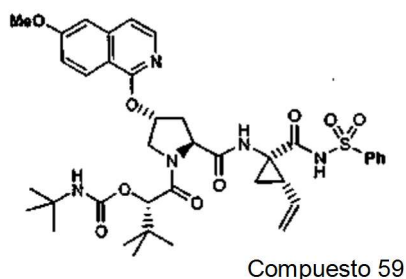
Etapa 4

Se preparó el producto de la etapa 4, **Ejemplo 58**, con un rendimiento de 95 % a partir del producto de la etapa 3, **Ejemplo 58**, por medio del procedimiento que se describe para la preparación del producto de la etapa 5, **Ejemplo 55**. LC-MS, MS *m/z* 504 (M⁺+H).

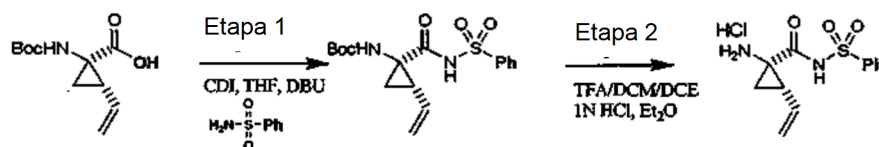
Etapa 5

Se preparó el **Compuesto 58, Ejemplo 58** con un rendimiento de 83 % a partir del producto de la etapa 4, **Ejemplo 58**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 6, **Ejemplo 55**.
¹H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,08 (s, 9 H) 1,24 (s, 9 H) 1,32 - 1,39 (m, 1H) 1,81 - 1,89 (m, 1 H) 2,17 - 2,30 (m, 2 H) 2,65 (dd, *J*=13,12, 6,41 Hz, 1 H) 2,87 - 2,92 (m, 6 H) 3,91 - 3,96 (m, 3 H) 3,96 - 4,03 (m, 1 H) 4,53 - 4,63 (m, 2 H) 4,74 (s, 1 H) 5,15 (dd, *J*=10,38, 1,83 Hz, 1 H) 5,29 (d, *J*=17,09 Hz, 1 H) 5,62 - 5,74 (m, 1 H) 5,82 (d, *J*=2,75 Hz, 1 H) 6,61 (s, 1 H) 7,11 (d, *J*=8,85 Hz, 1 H) 7,20 (d, *J*=2,44 Hz, 1 H) 7,23 - 7,29 (m, 1 H) 7,86 - 7,92 (m, 1 H) 8,29 (d, *J*=8,85 Hz, 1 H); LC-MS , MS *m/z* 717 (M⁺+H).

Ejemplo 59. Preparación del Compuesto 59.



Esquema 1



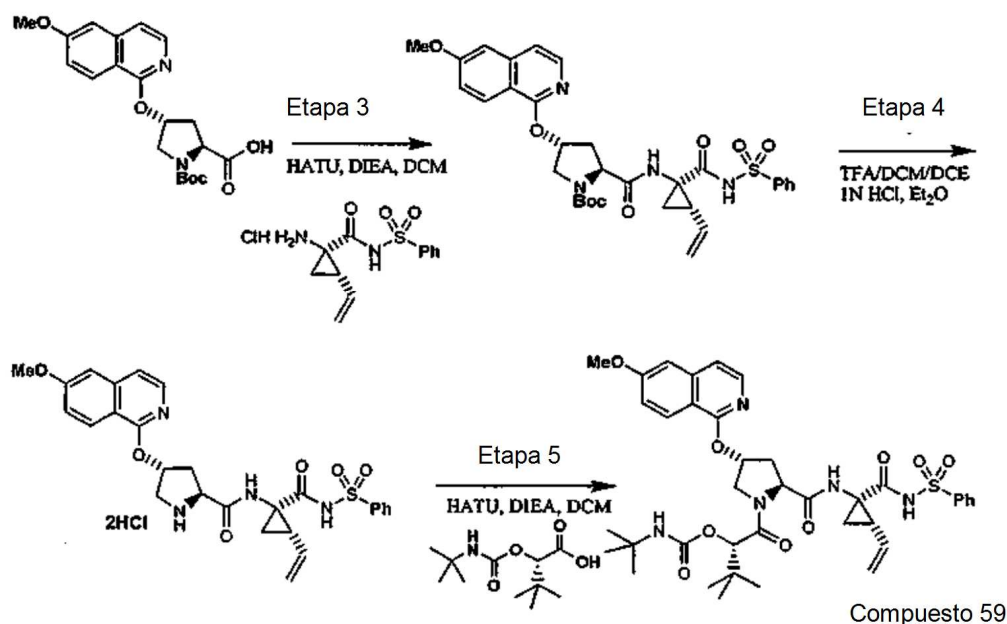
Etapa 1

Se preparó el producto de la etapa 1, **Ejemplo 59**, con un rendimiento de 92 % a partir de ácido N-Boc-vinilciclopropano carboxílico, el producto de la etapa 7a, **Ejemplo 7**, y bencenosulfonamida por medio de mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 1, **Ejemplo 58**, LC-MS, MS m/z 389 ($M^+ + Na$).

5 Etapa 2

Se preparó el producto de la etapa 2, **Ejemplo 59**, con un rendimiento de 86 % a partir del producto de la etapa 1, **Ejemplo 59**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación de la etapa 2, **Ejemplo 58**. LC-MS, MS m/z 267 ($M^+ + H$).

Esquema 2



10 Etapa 3

Se preparó el producto de la etapa 3, **Ejemplo 59**, con un rendimiento de 75 % a partir del producto de la etapa 2, **Ejemplo 59**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 4, **Ejemplo 55**. LC-MS, MS m/z 637 ($M^+ + H$).

Etapa 4

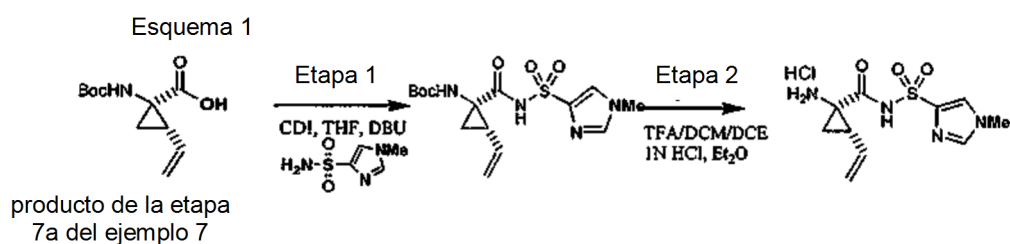
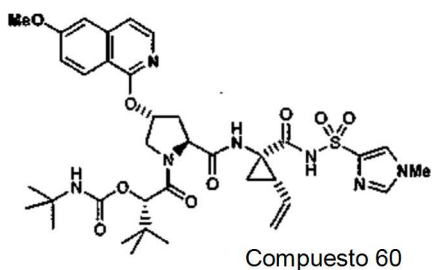
15 Se preparó el producto de la etapa 4, **Ejemplo 59**, con un rendimiento de 87 % a partir del producto de la etapa 3, **Ejemplo 59**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 5, **Ejemplo 55**. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,32 (dd, $J=9,46, 5,49$ Hz, 1 H) 1,82 (dd, $J=7,78, 5,65$ Hz, 1 H) 2,28 (q, $J=8,44$ Hz, 1 H) 2,44 - 2,52 (m, 1 H) 3,00 (dd, $J=14,34, 7,32$ Hz, 1 H) 3,92 (s, 2 H) 4,01 (s, 3 H) 4,80 (dd, $J=10,38, 7,63$ Hz, 1 H) 4,89 (dd, $J=11,60, 1,83$ Hz, 1H) 5,18 (dd, $J=17,10, 2,14$ Hz, 1H) 5,21-5,30 (m, 1H) 6,00 (s, 2H) 7,35 (d, $J=2,14$ Hz, 0,5H) 7,37 (d, $J=2,13$ Hz, 0,5 H) 7,37- 7,40 (m, 1 H) 7,52 (d, $J=6,41$ Hz, 1 H) 7,58 (t, $J=7,78$ Hz, 2 H) 7,70 (t, $J=7,48$ Hz, 1 H) 7,93 (d, $J=6,41$ Hz, 1H) 8,01 (d, $J=8,24$ Hz, 2 H) 8,41 (d, $J=8,85$ Hz, 1 H); LC-MS , MS *m/z* 537 ($M^+ + H$).

Etapa 5

25 Se preparó el **Compuesto 59**, **Ejemplo 59**, con un rendimiento de 85 % a partir del producto de la etapa 4, **Ejemplo 59**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 6, **Ejemplo 55**. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,11 (s, 9 H) 1,26 (s, 9 H) 1,31 (dd, $J=9,61, 5,34$ Hz, 1 H) 1,72 (dd, $J=7,93, 5,49$ Hz, 1 H) 2,18 (q, $J=8,55$ Hz, 1 H) 2,22- 2,31 (m, 1 H) 2,65 (dd, $J=13,73, 7,32$ Hz, 1H) 3,95 (s, 3 H) 4,00 (dd, $J=10,99, 2,44$ Hz, 1 H) 4,55 - 4,64 (m, 2 H) 4,78 (s, 1 H) 4,94 (d, $J=11,60$ Hz, 1 H) 5,18 (d, $J=17,09$ Hz, 1H) 5,33 - 5,45 (m, 1 H) 5,84 (s, 1H) 7,12 (d, $J=8,85$ Hz, 1 H) 7,20 (d, $J=2,44$ Hz, 1 H) 7,27 (d, $J=5,80$ Hz, 1 H) 7,57 (t, $J=7,63$ Hz, 2 H) 7,68 (t, $J=7,48$ Hz, 1H) 7,90 (d, $J=5,80$ Hz, 1H) 8,01 (d, $J=8,24$ Hz, 2 H) 8,29 (d, $J=8,85$ Hz, 1H); LC-MS , MS *m/z* 750 ($M^+ + H$).

30

Ejemplo 60. Preparación del Compuesto 60



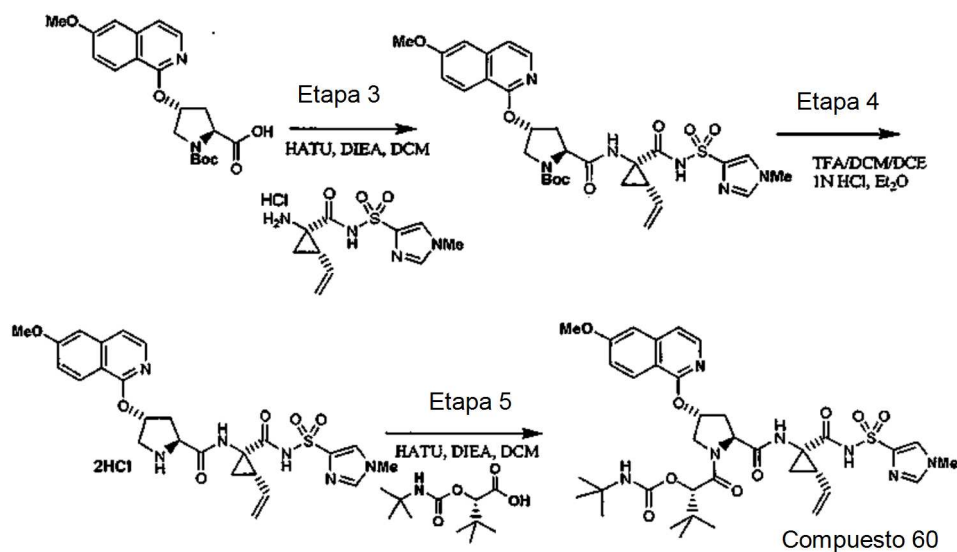
Etapa 1

5 Se preparó el producto de la etapa 1, **Ejemplo 60**, con un rendimiento de 79 % a partir de ácido N-Boc-vinilciclopropano carboxílico, el producto de la etapa 7a, **Ejemplo 7** y 1-metilimidazol-4-sulfonamida por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 1, **Ejemplo 58**. LC-MS, MS m/z 371 ($M^+ + Na$).

Etapa 2

10 Se preparó el producto de la etapa 2, **Ejemplo 60**, con un rendimiento de 83 % a partir del producto de la etapa 1, **Ejemplo 60** por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 2, **Ejemplo 58**. LC-MS, MS m/z 271 ($M^+ + Na$).

Esquema 2



Etapa 3

15 Se preparó el producto de la etapa 3, **Ejemplo 60**, con un rendimiento de 76 % a partir del producto de la etapa 2, **Ejemplo 60** por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 4, **Ejemplo 55**. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,26 (q, 1 H) 1,33 - 1,38 (m, 1 H) 1,44 (s, 9 H) 1,76 - 1,87 (m, 1 H) 2,03 - 2,11

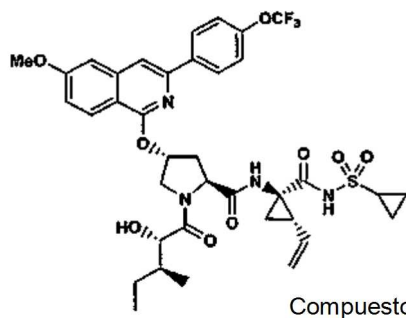
(m, 1H) 2,51-2,70 (m, 2H) 3,25 (q, $J=7,53$ Hz, 2H) 3,71-3,79 (m, 4H) 3,95 (s, 3 H) 4,33 - 4,47 (m, 1 H) 4,91 (d, $J=11,30$ Hz, 1 H) 5,15 (d, $J=17,09$ Hz, 1H) 5,70 (s, 1 H) 5,72 - 5,82 (m, 1 H) 7,18 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,26 (s, 1 H) 7,68 (s, 1 H) 7,91 (d, $J=5,80$ Hz, 1H) 8,06 (d, $J=8,85$ Hz, 1H); LC-MS , MS m/z 641 (M^+H).

Etapa 4

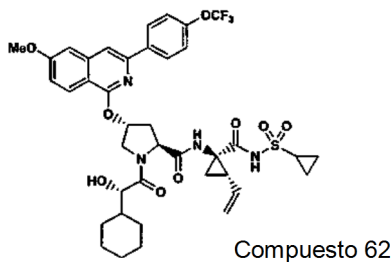
- 5 Se preparó el producto de la etapa 4, **Ejemplo 60**, con un rendimiento de 85 % a partir del producto de la etapa 3, **Ejemplo 60** por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 5, **Ejemplo 55**. ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,20 (t, $J=7,02$ Hz, 1 H) 1,35 (dd, $J=9,46, 5,80$ Hz, 1 H) 1,38 - 1,42 (m, 4 H) 1,86 (dd, $J=7,78, 5,65$ Hz, 1 H) 2,31 (q, $J=8,55$ Hz, 1 H) 2,40 - 2,49 (m, 1 H) 2,92 (dd, $J=14,19, 7,78$ Hz, 1H) 3,21-3,28 (m, 1H) 3,71-3,79 (m, 1H) 3,88 (s, 3H) 3,99 (s, 3 H) 4,73 (dd, $J=9,92, 7,78$ Hz, 1H) 5,07 (d, $J=10,38$ Hz, 1H) 5,27 (d, $J=16,79$ Hz, 1 H) 5,42 - 5,52 (m, 1 H) 5,97 (s, 1 H) 7,41 (d, $J=6,10$ Hz, 1H) 7,93 (d, $J=6,10$ Hz, 1H) 8,03 (s, 1H) 8,18 (s, 1H) 8,29 (d, $J=8,85$ Hz, 1H) ; LC-MS , MS m/z 541 (M^+H).

Etapa 5

- 15 Se preparó el **Compuesto 60, Ejemplo 60**, con un rendimiento de 91 % a partir del producto de la etapa 4, **Ejemplo 60**, por medio del mismo procedimiento descrito para la preparación del producto de la etapa 6, **Ejemplo 55**. ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 0,93 (s, 9 H) 1,11 (s, 9 H) 1,17 - 1,24 (m, 2 H) 1,63 (t, $J=6,20$ Hz, 1 H) 2,02 (d, $J=7,30$ Hz, 1 H) 2,20 - 2,35 (m, 1 H) 2,52 (dd, $J=13,43, 7,63$ Hz, 1 H) 3,64 (s, 3 H) 3,82 (s, 3 H) 3,84 - 3,92 (m, 1 H) 4,43 (d, $J=11,60$ Hz, 1H) 4,48 (dd, $J=9,77, 7,93$ Hz, 1 H) 4,56 (s, 1 H) 4,81 (d, $J=7,02$ Hz, 1 H) 5,02 (d, $J=16,79$ Hz, 1 H) 5,69 (s, 1 H) 6,98 (dd, $J=9,16, 1,83$ Hz, 1 H) 7,07 (d, $J=2,44$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=6,10$ Hz, 1H) 7,57 (s, 1 H) 7,78 (d, $J=6,10$ Hz, 1H) 8,14 (d, $J=8,85$ Hz, 1 H); LC-MS , MS m/z 754 (M^+H).

20 **Ejemplo 61. Preparación del Compuesto 61**

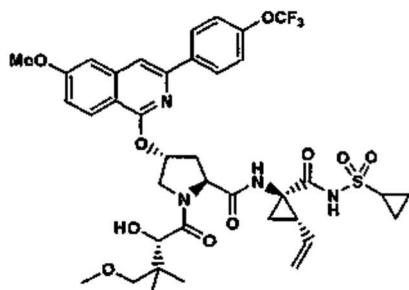
- 25 Se preparó el **Compuesto 61, Ejemplo 61** de forma similar al Compuesto 50. ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 0,87 (t, $J=7,32$ Hz, 3 H) 0,95 (d, $J=7,02$ Hz, 3 H) 1,07-1,13 (m, 2H) 1,13-1,19 (m, 1H) 1,20-1,26 (m, 1H) 1,28-1,35 (m, 1H) 1,45 (dd, $J=9,46, 5,19$ Hz, 1 H) 1,56 - 1,65 (m, 1 H) 1,78 - 1,87 (m, 1 H) 1,93 (dd, $J=7,93, 5,49$ Hz, 1 H) 2,28 (q, $J=8,75$ Hz, 1 H) 2,37 - 2,46 (m, 1 H) 2,69 (dd, $J=13,73, 7,32$ Hz, 1 H) 2,94 - 3,02 (m, 1 H) 3,98 (s, 3 H) 4,09 (d, $J=6,41$ Hz, 1 H) 4,16 (dd, $J=12,21, 3,66$ Hz, 1 H) 4,31 (d, $J=12,51$ Hz, 1 H) 4,65 (dd, $J=10,07, 7,32$ Hz, 1H) 5,15 (d, $J=10,38$ Hz, 1 H) 5,34 (d, $J=17,09$ Hz, 1 H) 5,74 - 5,85 (m, 1H) 6,10 (s, 1H) 7,19 (dd, $J=9,16, 2,44$ Hz, 1H) 7,32 (d, $J=2,14$ Hz, 1 H) 7,40 (d, $J=8,24$ Hz, 2 H) 7,86 (s, 1 H) 8,10 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H) 8,28 (d, $J=8,85$ Hz, 2 H); LC-MS , MS m/z 775 (M^+H).

30 **Ejemplo 62. Preparación del Compuesto 62**

- 35 Se preparó el **Compuesto 62, Ejemplo 62** de forma similar al **Compuesto 50**. ^1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,05 - 1,12 (m, 3 H) 1,18 (dd, $J=13,12, 10,07$ Hz, 4 H) 1,22 - 1,27 (m, 1 H) 1,28 - 1,34 (m, 1 H) 1,45 (dd, $J=9,46, 5,19$ Hz, 1 H) 1,59 - 1,72 (m, 4 H) 1,76 (d, $J=14,04$ Hz, 2 H) 1,92 (dd, $J=8,09, 5,34$ Hz, 1H) 2,27 (q, $J=8,65$ Hz, 1 H) 2,38 - 2,46 (m, 1 H) 2,69 (dd, $J=13,73, 7,32$ Hz, 1 H) 2,93 - 3,02 (m, 1 H) 3,98 (s, 3 H) 4,07 (d, $J=6,10$ Hz, 1 H) 4,14 (dd,

$J=12,21, 3,97$ Hz, 1H) 4,31 (d, $J=12,21$ Hz, 1 H) 4,65 (dd, $J=10,07, 7,32$ Hz, 1H) 5,15 (d, $J=10,38$ Hz, 1H) 5,33 (d, $J=17,09$ Hz, 1 H) 5,75 - 5,85 (m, 1 H) 6,09 (s, 1 H) 7,18 (dd, $J=9,00, 2,59$ Hz, 1 H) 7,31 (d, $J=2,44$ Hz, 1 H) 7,40 (d, $J=8,24$ Hz, 2 H) 7,85 (s, 1 H) 8,09 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H) 8,27 (d, $J=8,85$ Hz, 2 H) ; LC-MS , MS m/z 801 (M^+H).

Ejemplo 63. Preparación del Ejemplo 63.



Compuesto 63

5

Se preparó el **Compuesto 63, Ejemplo 63** de forma similar al **Compuesto 50**. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ ppm 0,98 (s, 3 H) 1,06 (s, 3 H) 1,08 - 1,13 (m, 2 H) 1,24 - 1,30 (m, 2 H) 1,45 (dd, $J=9,46, 5,49$ Hz, 1 H) 1,92 (dd, $J=7,93, 5,49$ Hz, 1H) 2,28 (q, $J=8,55$ Hz, 1 H) 2,35 - 2,43 (m, 1 H) 2,68 (dd, $J=13,73, 7,32$ Hz, 1 H) 2,94 - 3,01 (m, 1 H) 3,17 (d, $J=8,85$ Hz, 1 H) 3,31 (s, 3 H) 3,98 (s, 3 H) 4,21 (dd, $J=12,36, 3,81$ Hz, 1 H) 4,31 (d, $J=11,90$ Hz, 1 H) 4,34 (s, 1H) 4,65 (dd, $J=9,46, 7,32$ Hz, 1H) 5,15 (d, $J=10,38$ Hz, 1 H) 5,33 (d, $J=18,62$ Hz, 1 H) 5,72 - 5,82 (m, 1 H) 6,06 (s, 1 H) 7,18 (dd, $J=9,16, 2,44$ Hz, 1 H) 7,31 (d, $J=2,14$ Hz, 1H) 7,39 (d, $J=8,24$ Hz, 2 H) 7,85 (s, 1 H) 8,10 (d, $J=9,16$ Hz, 1 H) 8,27 (d, $J=8,55$ Hz, 2 H) ; LC-MS , MS m/z 805 - (M^+H).

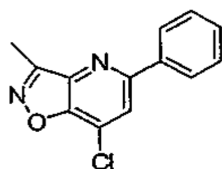
10

Los ejemplos siguientes describen además la preparación de los intermedios P2. Se pueden usar los presentes intermedios para preparar compuestos de Fórmula I mediante el uso de las consideraciones descritas, o referenciadas en el presente documento.

15

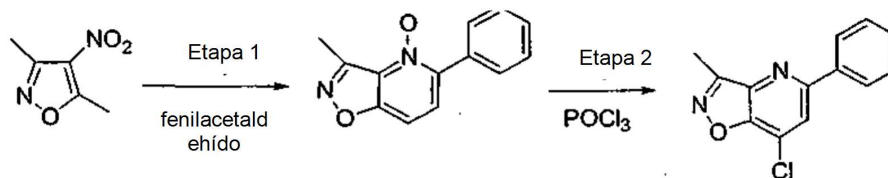
Ejemplo 70

Preparación del intermedio 70



Intermedio 70

Esquema 1



20 Etapa 1:

Se calentó hasta reflujo durante 16 horas una mezcla de 3,5-dimetil-4-nitro-isoxazol (1,42 g, 10,0 mmol), fenilacetald ehído (1,32 g, 11,0 mmol) en piperidina (1 ml) y etanol (10 ml). Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se recogió el producto precipitado por medio de filtración. Se lavó la torta filtrante con etanol frío intensamente para permitir al obtención de 1,20 g (53 %) del producto deseado en forma de aceite de color blanco. 1H RMN ($CDCl_3$) 8 2,87 (s, 3H), 7,46-7,50 (m, 3H), 7,56 (d, $J=8,5$ Hz, 1H), 7,7-7,80 (m, 2H); MS m/z 227 (M^+H).

25

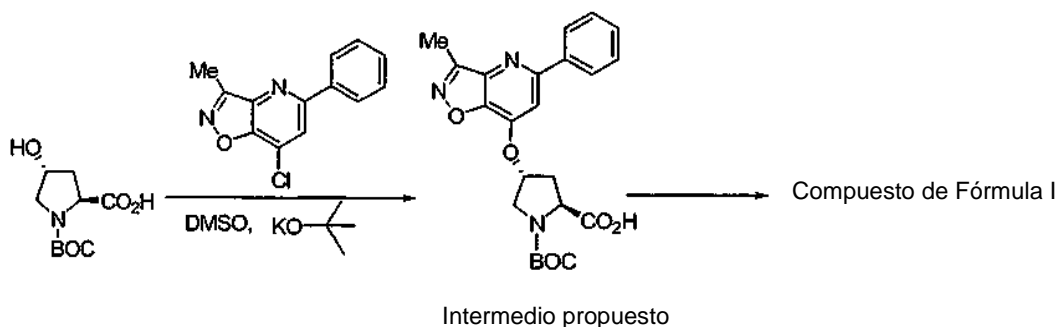
Etapa 2

Se calentó a reflujo durante 1 hora una solución de 4-óxido de 3-metil-5-fenil-isoxazol[4,5-b]piridina (1,00 g, 4,40 mmol) y $POCl_3$ (2,71 g, 17,7 mmol) en cloroformo (10 ml). Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se diluyó la

solución final con cloroformo (50 ml) y se lavó con NaHCO₃ (ac.) (dos partes de 50 ml) y salmuera, se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró. Se purificó el residuo por medio de cromatografía instantánea (hexano-EtOAc 4:1) para permitir la obtención de 790 mg (73 %) del producto deseado en forma de sólido de color blanco.

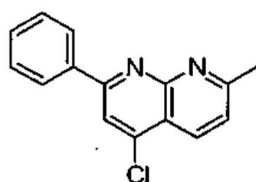
¹H RMN (CDCl₃) 8 2,72 (s, 3H), 7,46-7,54 (m, 3H), 7,91 (s, 1H), 8,00-8,03 (m, 2H); MS *m/z* 245, 247 (M⁺+H).

- 5 Se puede usar el intermedio 70 para preparar los compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:

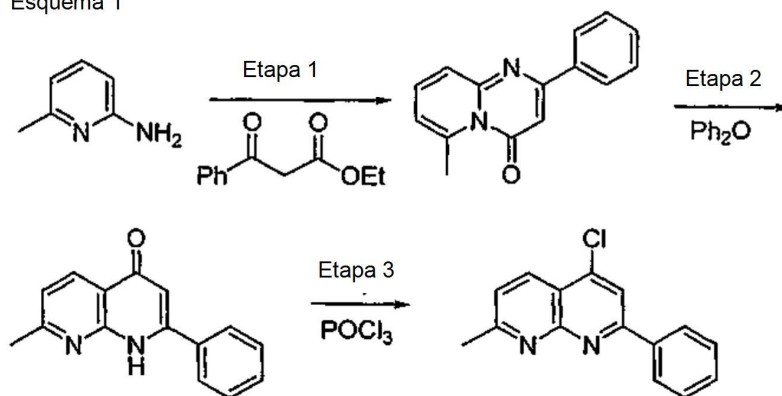


Ejemplo 71

Preparación del Intermedio 71



Esquema 1



Intermedio 71

10

Etapa 1:

Se calentó a reflujo durante 1 hora un mezcla de 2-amino-6-metilpiridina (1,08 mg, 10,0 mmol) y benzoilacetato (2,30 g, 12,0 mmol) y ácido fosfórico (6,00 g, 61,2 mmol). Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se vertió la mezcla en agua con hielo (20 ml) y se neutralizó hasta pH 7 con NaOH 10 M. Se sometió a extracción con CHCl₃. Se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró. Se purificó el residuo por medio de cromatografía instantánea (hexano:EtOAc 1:1) para permitir la obtención de 510 mg (22 %) del producto deseado en forma de sólido de color amarillo pálido. ¹H RMN (CDCl₃) δ 3,08 (s, 3H), 6,64 (d, J=7,0 Hz, 1H), 6,71 (s, 1H), 7,42-7,52 (m, 5H), 8,04-8,06 (m, 2H); MS *m/z* 237 (M⁺+H).

15

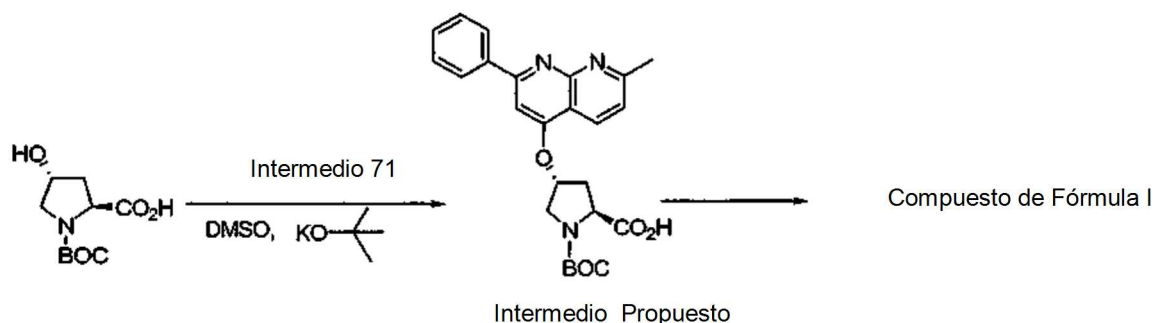
Etapa 2

Se calentó a reflujo intenso durante 5 horas una solución de 6-metil-2-fenil-pirido[1,2a]pirimidin-4-ona (489 mg, 2,07 mmol) y éter difenílico fundido (5 ml). Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se diluyó la suspensión formada con éter dietílico (10 ml) y se filtró. Se lavó la torta filtrante con éter dietílico intensamente para permitir la obtención de 450 mg (92 %) del producto deseado en forma de sólido de color marrón. MS *m/z* 237 ($M^+ + H$).

Etapa 3

Se calentó a reflujo durante 3 horas una suspensión de 7-metil-2-fenil-1H-[1,8]naftiridin-4-ona (450 mg, 1,91 mmol) en $POCl_3$ (10 ml) y posteriormente se concentró a vacío. Se vertió el residuo en agua con hielo (20 ml) y se neutralizó hasta pH 10 con NaOH 10 M. Posteriormente se sometió a extracción la mezcla con $CHCl_3$ y se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, filtró y concentró. Se purificó el residuo por medio de cromatografía instantánea (hexano:EtOAc 2:1) para permitir la obtención de 450 mg (92 %) del producto deseado en forma de sólido de color rosa. 1H RMN (CD_3OD) δ 2,80 (s, 3H), 7,54-7,56 (m, 3H), 7,61 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 8,25-8,30 (m, 3H), 8,58 (d, $J=8,4$ Hz, 1H); MS *m/z* 255, 257 ($M^+ + H$).

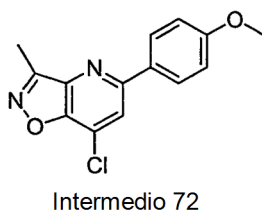
Se puede usar el intermedio 71 para preparar los compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:



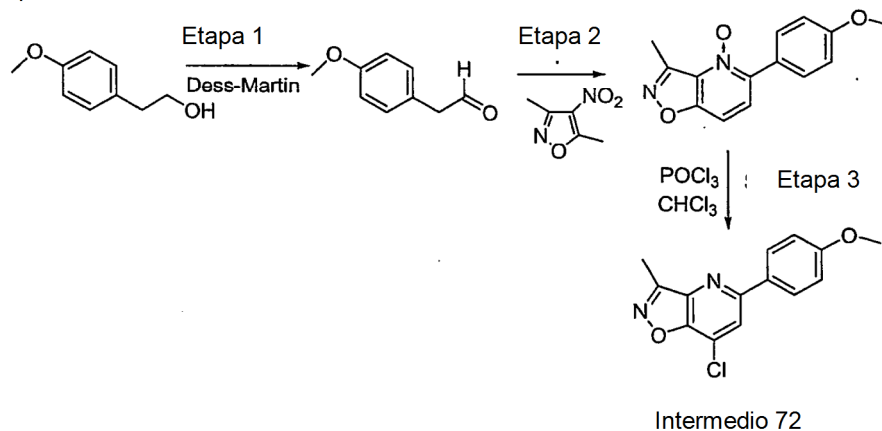
15

Ejemplo 72

Preparación del Intermedio 72



Esquema 1



20

Etapa 1

Se añadió reactivo de Dess-Martin (4,45 g, 10,5 mmol) de una vez a una solución de alcohol 4-metoxifenético (1,52 g, 10,0 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) a 0 °C. Se dejó calentar la mezcla formada hasta temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavó con Na₂S₂O₃ sat. (ac) y NaOH 1M, y salmuera respectivamente. Se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró a vacío para dar 1,50 g (100 %) del aldehído deseado en forma de aceite viscoso. Se usó el presente producto en forma bruta sin purificación adicional.

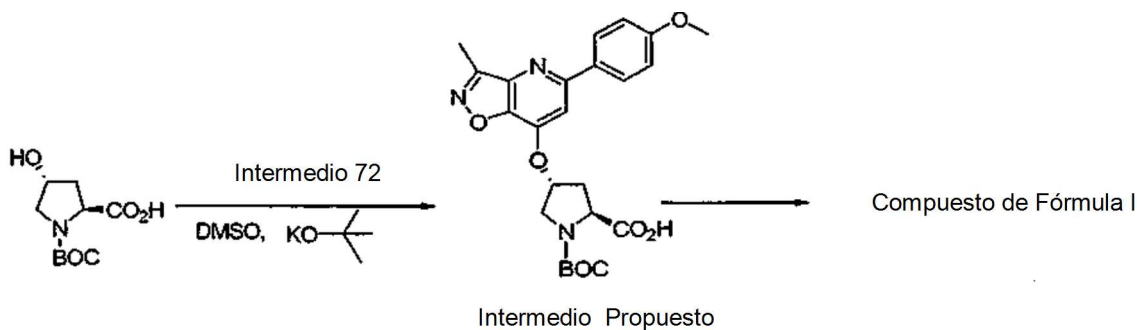
Etapa 2

Se calentó a reflujo durante 12 horas una solución de 3,5-dimetil-4-nitro-isoxazol (142 mg, 1,0 mmol), 4-metoxifenilacetaldehído del Ejemplo 3, Etapa 1 (180 mg, 1,1 mmol) en piperidina (0,1 ml) y etanol (2 ml). Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se recogió el producto precipitado por medio de filtración. Se lavó la torta filtrante con etanol frío intensamente para permitir la obtención de 130 mg (51 %) del producto deseado en forma de sólido grisáceo. ¹H RMN (CDCl₃) δ 2,88 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 7,02 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,50 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,57 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,81 (d, J=8,5 Hz, 2H); MS m/z 257 (M⁺+H).

Etapa 3

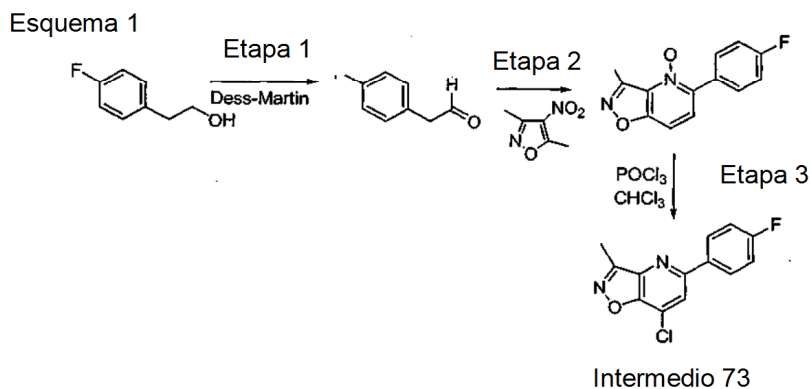
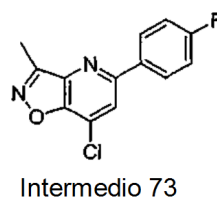
Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 70, Etapa 2. ¹H RMN (CDCl₃) δ 2,70 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 7,00-7,03 (m, 2H), 7,84 (s, 1H), 7,96-7,98 (m, 2H); MS m/z 275,277 (M⁺+H).

Se puede usar el intermedio 72 para preparar compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:

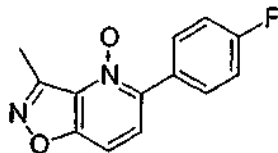


20 **Ejemplo 73**

Preparación del Intermedio 73

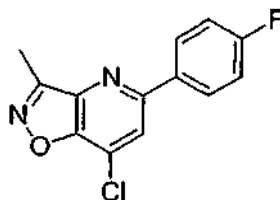


Etapa 1 & 2



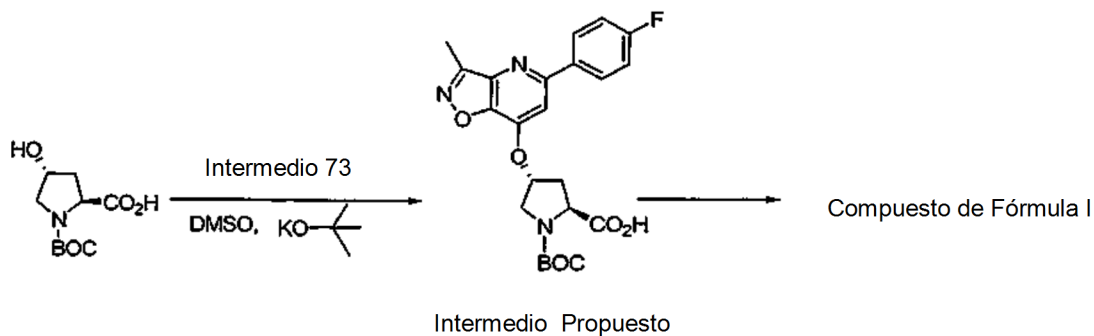
Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 72, Etapa 1&2, excepto que se usa alcohol 4-fluorofenético. MS m/z 245 ($M^+ + H$).

5 Etapa 3:



Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento descrito en la etapa 2 del Ejemplo 70. 1H RMN ($CDCl_3$) δ 2,71 (s, 3H), 7,17-7,20 (m, 2H), 7,86 (s, 1H), 8,00-8,02 (m, 2H); MS m/z 263, 265 ($M^+ + H$).

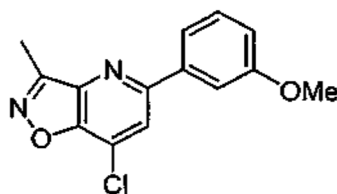
Se puede usar el Intermedio 73 para preparar los compuestos de la Formula I como se muestra a continuación:



10

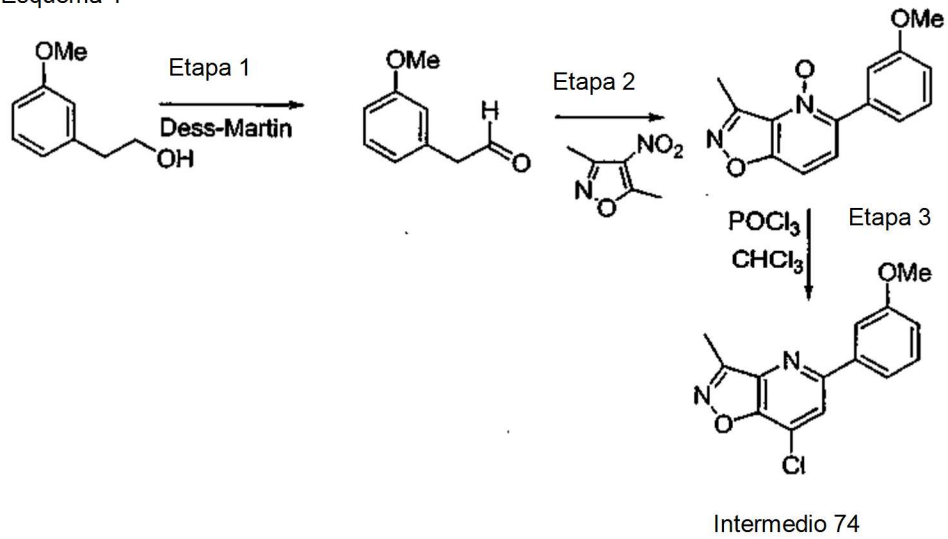
Ejemplo 74

Preparación del Intermedio 74

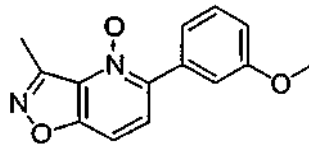


Intermedio 74

Esquema 1

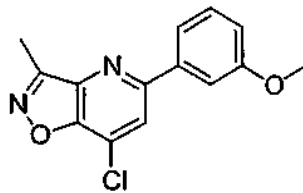


Etapa 1 & 2:



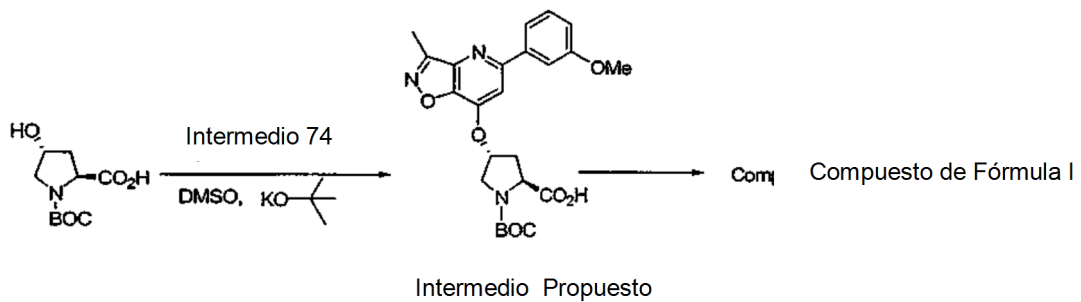
5 Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 72, Etapa 1&2, excepto que se usa alcohol 3-metoxi-fenílico como material de partida. MS m/z 257 ($M^+ + H$).

Etapa 3:



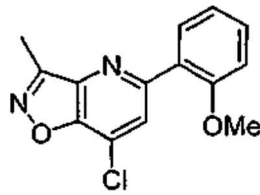
10 Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 2, etapa 2. 1H RMN ($CDCl_3$) δ 2,72 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 7,00-7,02 (m, 1H), 7,41 (t, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,55 (d, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,59 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), 7,89 (s, 1H); MS m/z 275, 277 ($M^+ + H$).

Se puede usar el Intermedio 74 para preparar los compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:



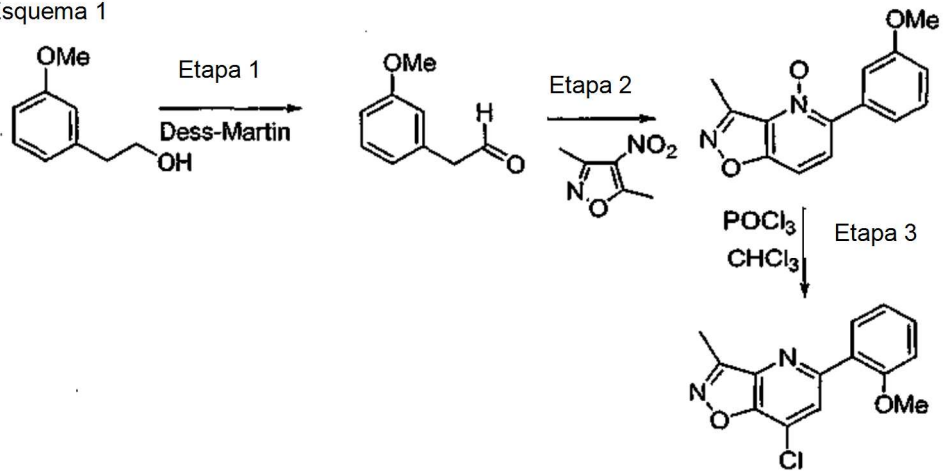
Ejemplo 75

Preparación del Intermedio 75



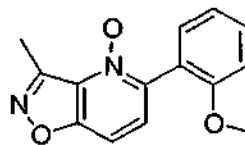
Intermedio 75

Esquema 1



Intermedio 75

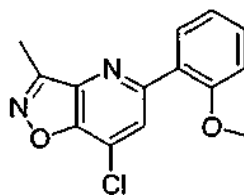
5 Etapa 1 & 2:



Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 72, Etapa 1&2, excepto que se usa alcohol metoxi-fenilico como material de partida. MS m/z 257 (M⁺+H).

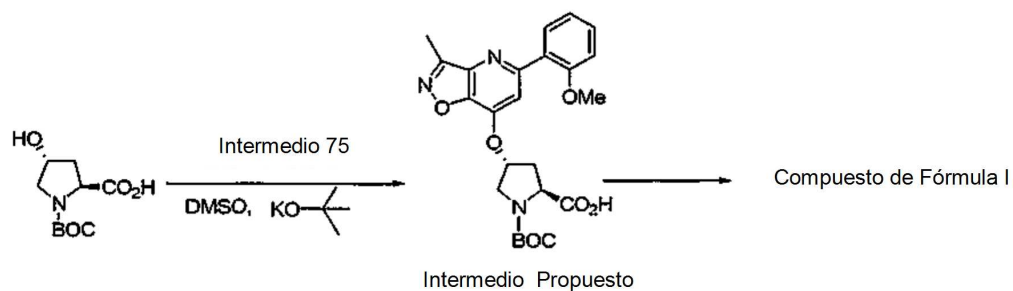
Etapa 3:

10



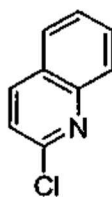
Se preparó el presente producto por medio del mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 70, Etapa 2.
¹H RMN (CDCl₃) 82,721 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 7,03 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,11 (t, J=7,5 Hz, 1H), 7,41-7,44 (m, 1H), 7,79-7,81 (m, 1H), 8,04 (s, 1H); MS m/z 275, 277 (M⁺+H).

Se puede usar el intermedio 75 para preparar los compuestos de Fórmula I como se muestra continuación.



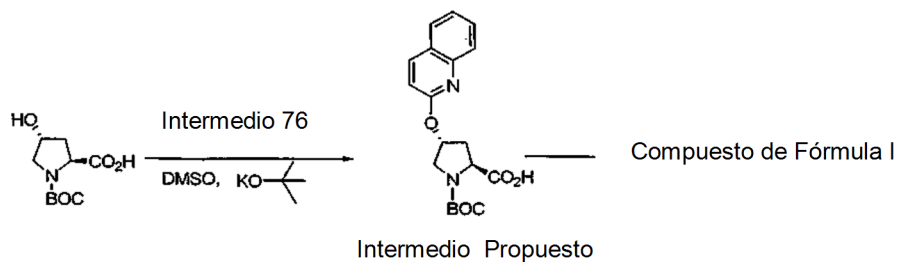
Ejemplo 76

Preparación del Compuesto 76



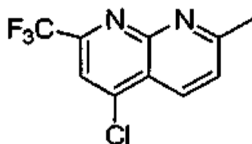
Intermedio 76

- 5 El intermedio 76 se encuentra disponible comercialmente.
Se puede usar el intermedio 76 para preparar compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación.



Ejemplo 77

Preparación del Compuesto 77

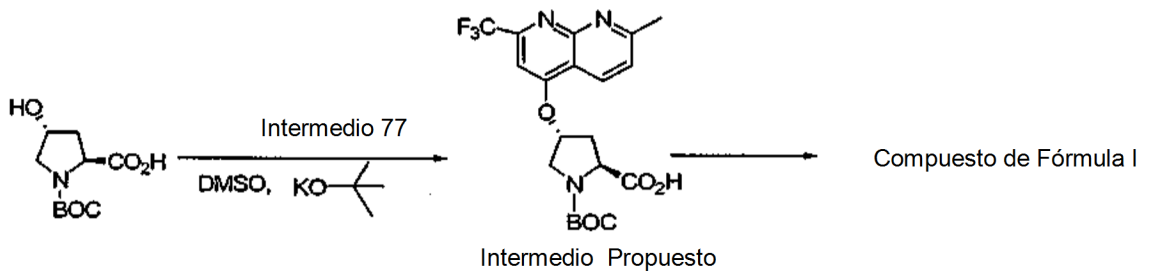


Intermedio 77

10

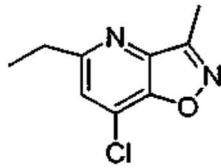
Se preparó el intermedio 77 como se describe por parte de P. Ferrarini y col., en J. **Heterocyclic Chem**, 1983, p1053.

Se puede usar el intermedio 77 para la preparación de compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:



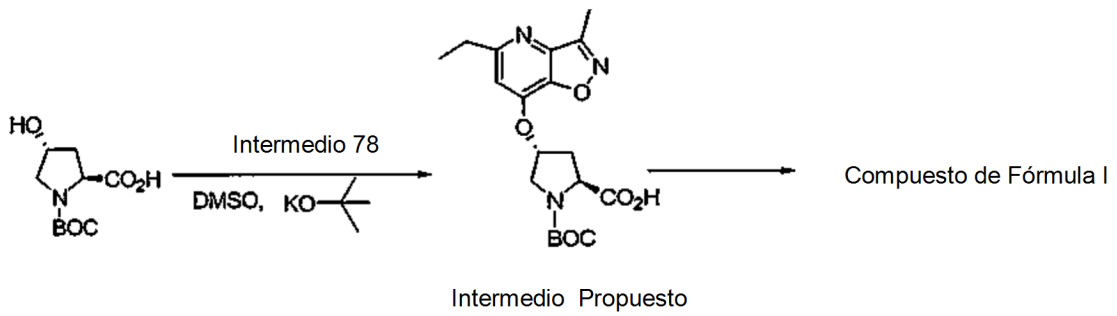
Ejemplo 78

Preparación del Compuesto 78



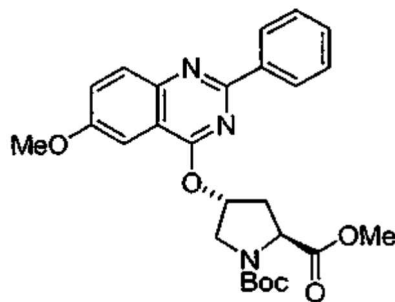
Intermedio 78

- 5 Se preparó el Intermedio 78 como se describe en R. Nesi y col, **Synth Comm.** 1992, 22 (16), 2349.
Se puede usar el intermedio 78 para preparar compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación.



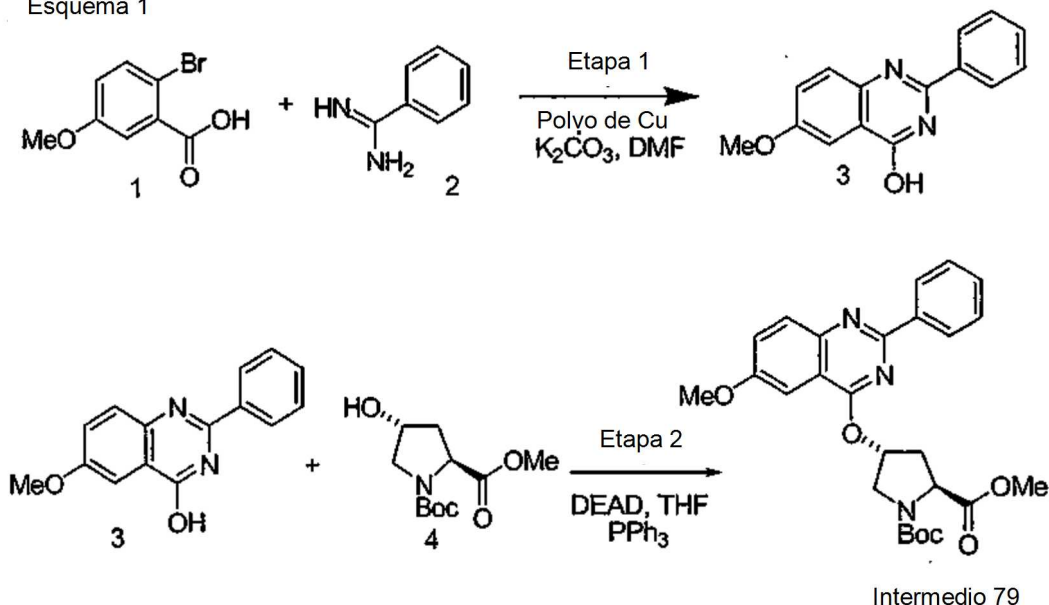
Ejemplo 79

Preparación del Compuesto 79



Intermedio 79

Esquema 1



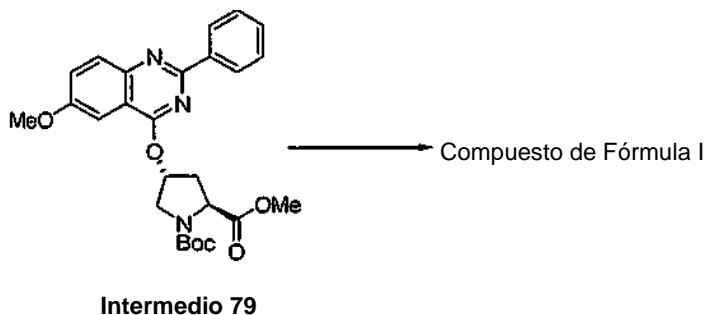
Etapa 1:

Se añadió benzamidina (1,25 g, 8,00 mmol), K₂CO₃ (6,0 G, 43,6 mmol) y polvo de cobre (336 mg, 1,45 mmol) a una solución de ácido 2-bromo-5-metoxibenzoico (1,68 g, 7,27 mmol) en DMF (50 ml) en un matraz de media presión (Chemglass). Se calentó la mezcla de reacción hasta 180 °C durante 1 hora. Se retiraron el cobre y K₂CO₃ en exceso por medio de filtración a vacío y se lavó con MeOH. Se concentró el filtrado y se purificó el material bruto resultante por medio de cromatografía instantánea (SiO₂, MeOH de 5 % en DCM) para dar el sólido de color verde claro (1,55 g, rendimiento de 84 %): ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 3,84 (s, 3H), 7,26 (d, J= 7,8 Hz, 1H), 7,46 (s a, 5H), 7,57 (s, 1H), 8,38 (s a, 1 H); MS *m/z* (MH⁺) 253.

Etapa 2:

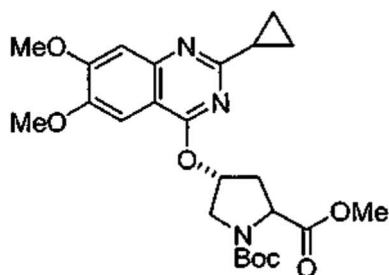
Se añadió Ph₃P y azocarboxilato de diisopropilo (1,98 g, 8,97 mmol) a una suspensión a 0 °C de Boc-cis-hidroxiprolin-OMe (2,0 g, 8,25 mmol) y **3** (2,26 g, 8,97 mmol) en THF (82 ml). Tras agitar a temperatura ambiente durante 17 horas, se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc (100 ml) y se lavó con H₂O (50 ml). Se separó la fase acuosa y se sometió a retro-extracción con EtOAc (2x50 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO₄, filtró y concentró para dar un aceite viscoso que se redisolvió en la cantidad mínima de EtOAc y se añadieron hexanos para llevar a cabo la precipitación de la mayoría del sub-producto de Ph₃PO. Se retiró Ph₃P por medio de filtración a vacío y se concentró el filtrado líquido. Se purificó el aceite viscoso resultante por medio de cromatografía instantánea en columna (SiO₂, hex:EtOAc 4:a) para obtener un producto sólido de color blanco (1,76 g, rendimiento de 45 %). ¹H RMN (60/40 rotámeros, CDCl₃) δ 1,47 (s, 9H), 2,49-2,55 (m, 1H), 2,73-2,83 (m, 1H), 3,80 (s, 1,8H), 3,81 (s, 1,2H), 3,96 (s, 3H), 4,03-4,09 (m, 1H), 4,54 (t, J= 8,0 Hz, 0,6H), 4,66 (t, J= 7,8 Hz), 4,96-5,06 (m, 1H), 5,97 (s a, 0,6H), 6,04 (s a, 0,4H), 7,33 (dd, J= 6,1, 2,7 Hz, 1H), 7,46-7,51 (m, 4H), 7,91 (d, J= 9,2 Hz, 1H), 8,49 (t, J= 8,5Hz, 2H); ¹³C RMN (rotámeros, CDCl₃) δ 21,7, 22,0, 28,3, 28,4, 35,8, 36,8, 52,3, 52,4, 52,6, 55,8, 55,9, 57,9, 58,3, 74,5, 74,9, 80,6, 101,2, 101,3, 115,7, 125,8, 126,0, 128,1, 128,5, 129,7, 130,2, 137,9, 147,8, 153,8, 157,7, 158,0, 158,0, 164,8, 173,1, 173,3; MS *m/z* (MH⁺) 480.

Se puede usar el intermedio 79 para preparar compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:



Ejemplo 80

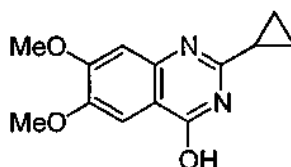
Preparación del Intermedio 80



Intermedio 80

Etapa 1:

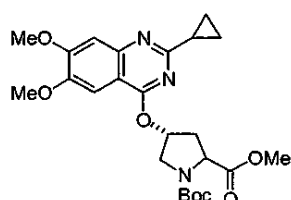
- 5 Como se describe para el Ejemplo 79.



Datos: ^1H RMN (DMSO- d_6) 8 0,97-1,01 (m, 2H), 1,03-1,06 (m, 2H), 1,90-1,94 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 6,93 (s, 1H), 7,37 (s, 3H), 12,28 (s, 1H); ^{13}C RMN (DMSO- d_6) 8 9,03, 13,17, 55,47, 55,73, 104,81, 107,27, 113,26, 145,16, 147,48, 154,44, 157,21, 160,89 ; MS m/z (MH^+) 247.

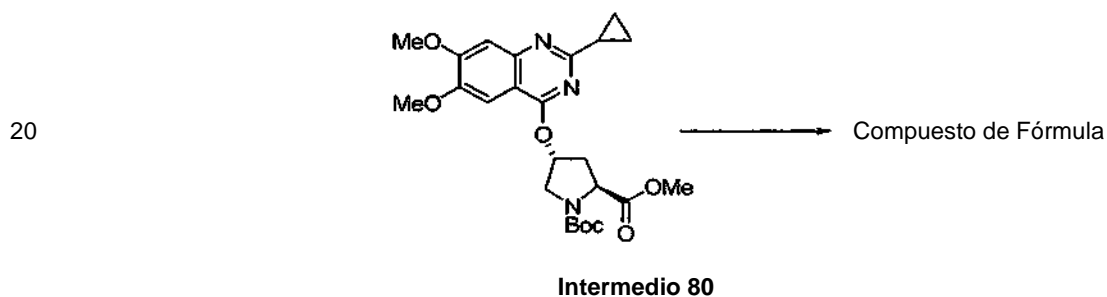
- 10 Etapa 2:

Como se describe para Ejemplo 79.



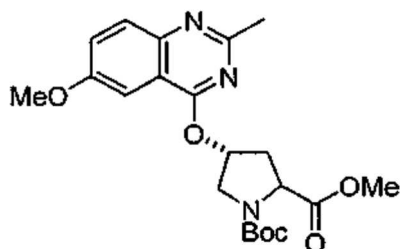
- 15 Datos: ^1H RMN (CDCl_3) 8 1,00-1,04 (m, 2H), 1,07-1,11 (m, 2H), 1,43 (s, 5,4H), 1,46 (s, 3,6H), 2,17-2,21 (m, 1H), 2,37-2,43 (m, 1H), 2,62-2,69 (m, 1H), 3,75 (s, 1,8H), 3,78 (s, 1,2H), 3,92 (d, $J=2,8$ Hz, 1H), 4,00 (s, 3,6H), 4,01 (s, 2,4H), 4,48 (t, $J=8,0$ Hz, 0,6H), 4,59 (t, $J=7,6$ Hz, 0,4H), 5,7 (s a, 0,6H), 5,74 (s a, 0,4H), 7,18 (s, 1H), 7,20 (s, 1H); ^{13}C RMN (CDCl_3) 8 9,6, 9,7, 18,1, 28,3, 28,4, 35,8, 36,7, 52,2, 52,4, 56,3, 57,8, 58,2, 74,0, 74,5, 80,5, 80,6, 101,0, 101,1, 106,3, 108,6, 148,8, 149,1, 153,8, 155,4, 164,4, 165,9, 172,9, 173,2; LC-MS m/z (MH^+) 474.

Se puede usar el Intermedio 80 para preparar compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación:



Ejemplo 80

Preparación del Intermedio 81

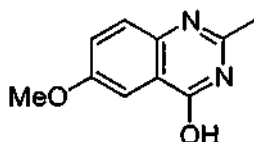


Intermedio 81

Etapa 1:

- 5 Como se describe en el Ejemplo 79 en el que se utilizan hidrocloreto de acetamida y ácido 2-bromo-5-metoxibenzoico como materiales de partida.

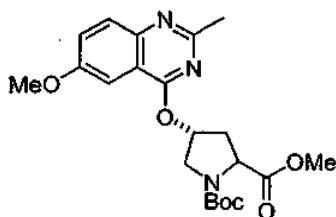
Producto:



- 10 Datos: ^1H RMN (DMSO) 8 2,31 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 7,36 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,51 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 12,15 (s, 1H); ^{13}C RMN (DMSO) 821,11, 55,41, 105,57, 121,22, 123,59, 128,12, 143,34, 151,68, 157,00, 161,45; LC-MS m/e (MH^+) 191.

Etapa 2:

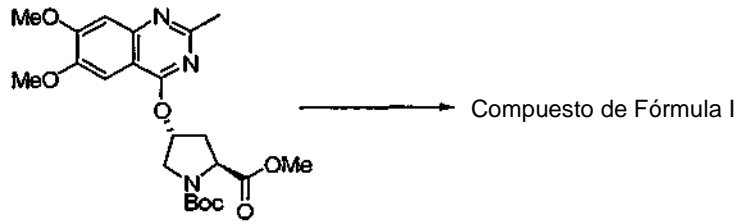
Como se describe en el Ejemplo 79



Intermedio 81

- 15 Datos: ^1H RMN (CDCl_3) 8 1,43 (s, 5,4H), 1,45 (s, 3,6H), 2,38-2,45 (m, 1H), 2,62-2,71 (m, 1H), 2,66 (s, 1,8H), 2,68 (s, 1,2H), 3,77 (1,8H), 3,79 (s, 1,2H), 3,92 (s, 3H), 3,93-3,98 (m, 2H), 4,49 (t, J = 8,0 Hz, 0,6H), 4,61 (t, J = 7,8 Hz, 0,4H), 5,82 (t, J = 2,1 Hz, 0,6H), 5,89 (t, J = 2,3 Hz, 0,4H), 7,26 (dd, J = 4,7, 3,2 Hz, 1H), 7,42 (dd, J = 6,3, 2,8 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 9,15 Hz, 1H); ^{13}C RMN (CDCl_3) 8 26,1, 28,3, 28,4, 35,8, 36,7, 52,2, 52,2, 52,4, 52,5, 55,755,8, 57,9, 58,2, 74,1, 74,7, 80,6,101,0,101,2, 114,9, 125,6,125,9,128,6,147,3, 153,8, 154,5,157,6,157,6,161,2,164,6, 173,0,173,3; LC-MS m/e (MH^+) 418.
- 20

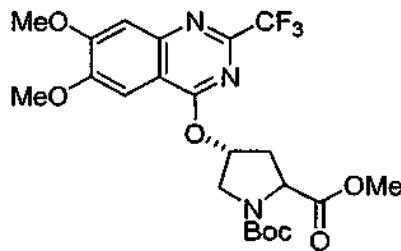
Se puede usar el Intermedio 81 para preparar los compuestos de Formula I como se muestra a continuación:



Intermedio 81

Ejemplo 82

Preparación del Intermedio 82

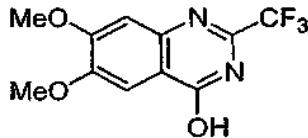


Intermedio 82

5

Etapa 1:

Preparado como se describe en el Ejemplo 79 y usando ácido 2-bromo-4,5-dimetoxibenzoico y trifluoroamidina como materiales de partida.



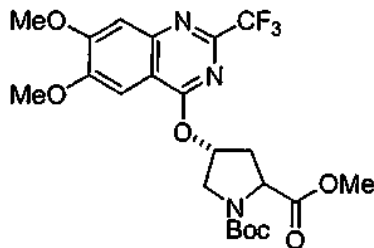
10

Datos: ^1H RMN (DMSO) δ 3,92 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 7,33 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 13,40 (s a, 1H); ^{13}C RMN (DMSO) δ 55,8, 56,1, 104,9, 108,7, 150,2, 155,0; LC-MS m/e (MH^+) 275.

Etapa 2:

Como se describe en el Ejemplo 79.

15 Producto:

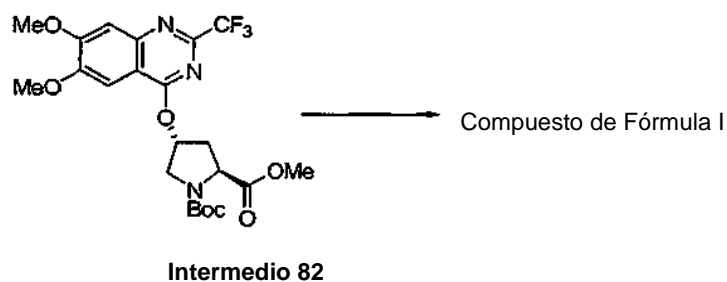


Intermedio 82

Datos: ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,42 (s, 3,6H), 1,44 (s, 5,4H), 2,42-2,49 (m, 1H), 2,67-2,73 (m, 1H), 3,37 (s, 1,2H), 3,78 (s, 1,8H), 3,97 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H), 4,02 (s, 2,4H), 4,04 (s, 3,6H), 4,48 (t, $J = 7,9$ Hz, 0,6H), 4,60 (t, $J = 7,7$ Hz, 0,4H), 5,86 (sa, 0,6H), 5,90 (sa, 0,4H), 7,27-7,29 (m, 1H), 7,38-7,44 (m, 1H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 8,2, 28,3, 35,7, 36,7, 52,1, 52,2, 52,4, 56,5, 57,8, 58,2, 75,5, 76,0, 80,7,100,8,107,6,111,0,119,7,148,2,150,2,151,4,153,8,154,5,156,4,165,1, 172,7, 173,0; LC-MS m/e (MH^+) 502.

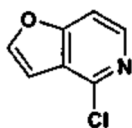
5

Se puede usar el Intermedio 82 para preparar los compuestos de Fórmula I como se muestra a continuación



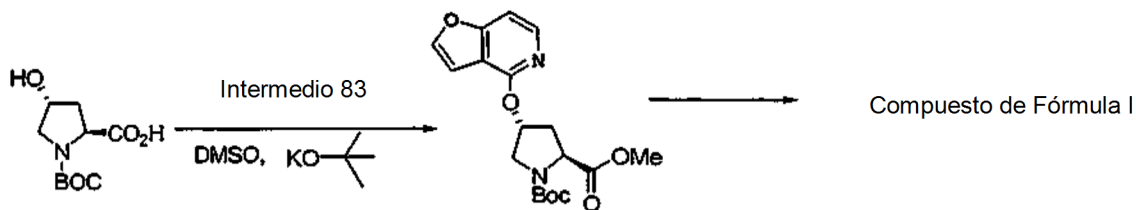
10 **Ejemplo 83**

Preparación del Compuesto 83



Intermedio 83

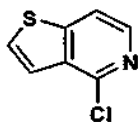
El Intermedio 83 se encuentra comercialmente disponible y se puede usar para preparar compuestos de Fórmula I.



15

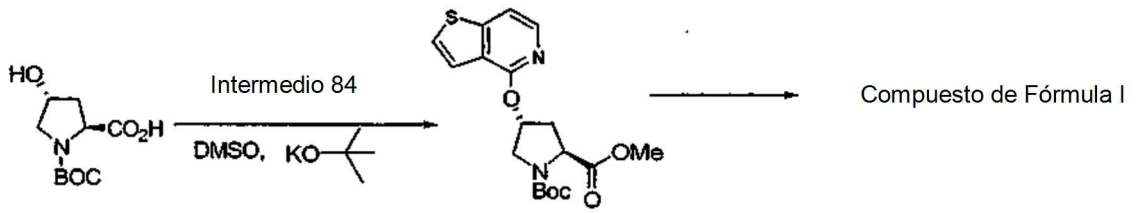
Ejemplo 84

Preparación del intermedio 84



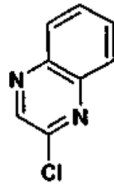
Intermedio 84

20 El Intermedio 84 se encuentra disponible comercialmente y se puede usar para preparar compuestos de Fórmula I.



Ejemplo 85

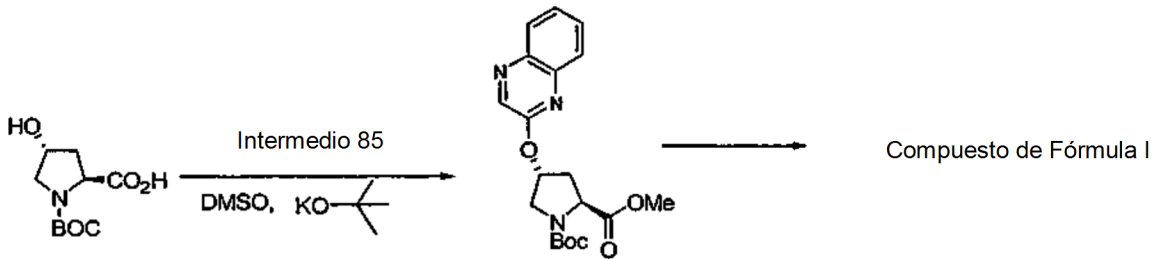
Preparación del Intermedio 85



5

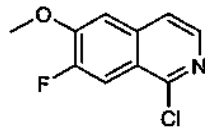
Intermedio 85

El Intermedio 85 se encuentra disponible comercialmente y se puede usar para preparar los compuestos de Fórmula I.



Ejemplo 86

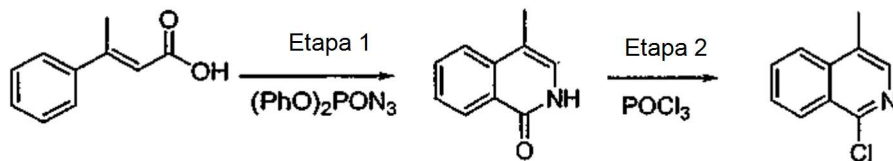
10 Preparación del Compuesto 86



Intermedio 86

Esquema de Referencia para la preparación del Intermedio 86

Esquema 1



15

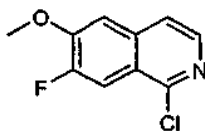
Etapa 1:

- 5 Se agitó durante 1 hora una solución de ácido 3-fenil-but-2-enoico (16,2 g), azida de difenilfosforilo (27,5 g) y trietilamina (10,1 g) en benceno (100 ml). Tras filtración a través de una tapón de gel de sílice lavando con benceno y concentración, se disolvió el residuo en difenilamina (80 ml) y se sometió a reflujo durante 3 horas. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se recogieron los sólidos a través del tapón lavando con benceno y se secó para dar 10 g (63 %) del producto deseado en forma de sólido. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2,30(s, 3 H), 7,00 (s, 1 H), 7,54 (m, 1 H), 7,77 (m, 2 H), 8,33 (d, $J=7,34$ Hz, 1 H).

Etapa 2

- 10 Se sometió a reflujo durante 3 horas una solución de 4-metil-2H-isoquinolin-1-ona (4,8 g) en POCl_3 (50 ml). Tras enfriar y concentración, se basificó el residuo con NaOH 5 N y se sometió a extracción con CH_2Cl_2 . Se lavó la fase orgánica con salmuera y se secó sobre MgSO_4 . Tras filtración y concentración, la purificación por medio de cromatografía instantánea de Biotage con acetato de etilo de 5 % en hexanos dio lugar a 4,8 g (90 %) del producto deseado en forma de sólido. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,59 (s, 3 H), 7,68 (t, $J=7,70$ Hz, 1 H), 7,78 (m, 1 H), 7,94 (d, $J=8,31$ Hz, 1 H), 8,11 (s, 1 H), 8,35 (d, $J=8,31$ Hz, 1 H).

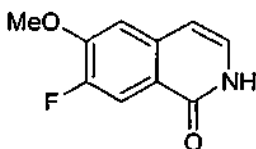
- 15 Química para la preparación del Intermedio 86



Intermedio 86

Etapa 1:

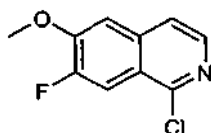
- 20 Preparación de 7-fluoro-6-metoxi-2H-isoquinolin-1-ona. Como se muestra en la etapa 1 del presente ejemplo que usa 19,6 g de ácido 4-fluoro-3-metoxicinámico como material de partida, se obtuvieron 9,5 g de producto (48 % de rendimiento)



Datos: ^1H RMN (400 MHz, CD_3COCD_3) δ ppm 4,00 (s, 1 H), 6,49 (d, $J=7,34$ Hz, 1 H), 7,19 (d, $J=7,09$ Hz, 1 H), 7,29 (d, $J=8,07$ Hz, 1 H), 7,86 (d, $J=11,74$ Hz, 1 H).

- 25 Etapa 2:

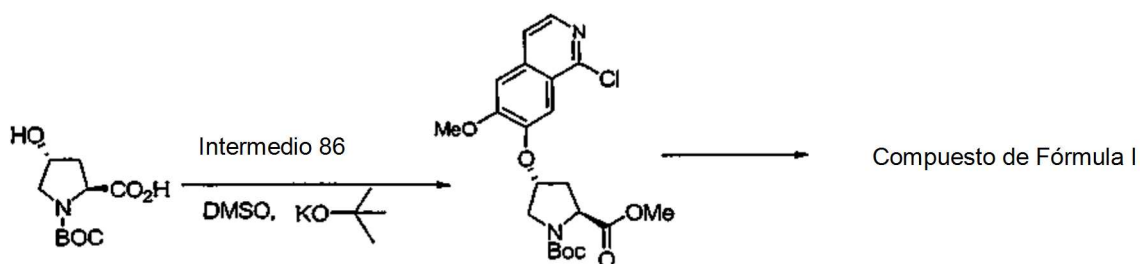
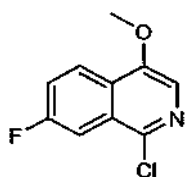
Preparación de 1-cloro-7-fluoro-6-metoxiisoquinolina. Como se muestra en la etapa 2 del presente ejemplo que usa 7-fluoro-6-metoxi-2H-isoquinolin-1-ona (9 g) como material de partida, se obtuvieron 7 g de producto deseado (70 % de rendimiento).



Intermedio 86

- 30 Datos: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4,04 (s, 3 H), 7,17 (d, $J=8,07$ Hz, 1 H), 7,48 (d, $J=5,62$ Hz, 1 H), 7,94 (d, $J=11,49$ Hz, 1 H), 8,20 (d, $J=5,62$ Hz, 1 H).

Se puede usar el Intermedio 86 para preparar los compuestos de Fórmula I.

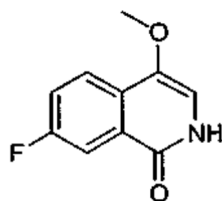
**Ejemplo 87**Preparación del Intermedio 87**Intermedio 87**

5

Etapa 1:

Como en la etapa 1 del Ejemplo 86 pero con 3,82 g de ácido 3-(4-fluorofenil)-3-metoxi-acríico como material de partida. Se obtuvieron 198 mg de producto (rendimiento de 5 %).

Producto:



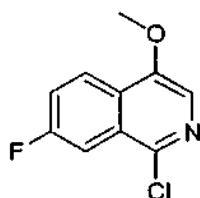
10

Datos: MS: (M+H)⁺ 194

Etapa 2:

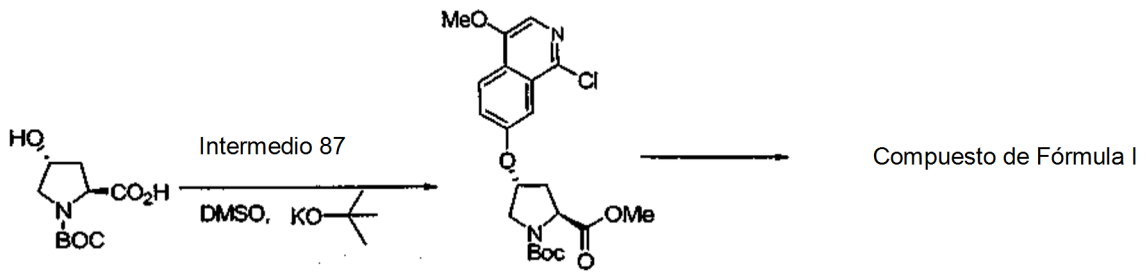
Como en la etapa 1 del Ejemplo 86, pero con 193 mg de 7-fluoro-4-metoxi-2H-isoquinolin-1-ona como material de partida. Se obtuvieron 199 mg de producto (rendimiento de 94 %).

15 Producto:



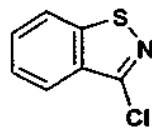
Datos: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,05 (s, 3 H), 7,49 (m, 1 H), 7,78 (s, 1 H), 7,86 (dd, J=9,66, 2,57 Hz, 1 H), 8,23 (dd, J=9,29, 5,38 Hz, 1 H); MS: (M+H)⁺ 212.

El Intermedio 87 se puede usar para preparar compuestos de Fórmula I.



Ejemplo 88

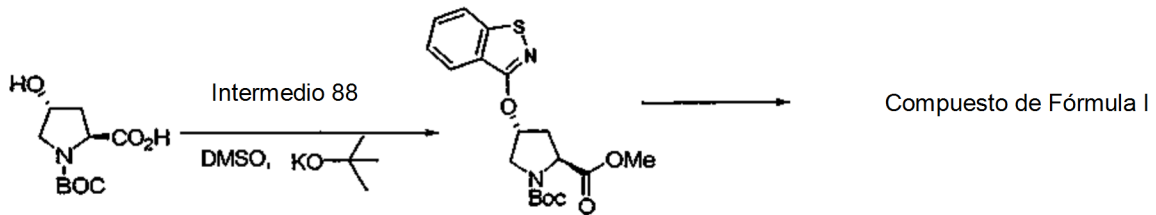
Preparación del Intermedio 88



Intermedio 88

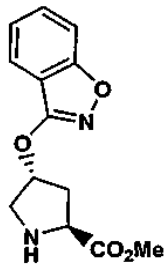
5

Se puede usar el Intermedio 88 para preparar los compuestos de Fórmula I.



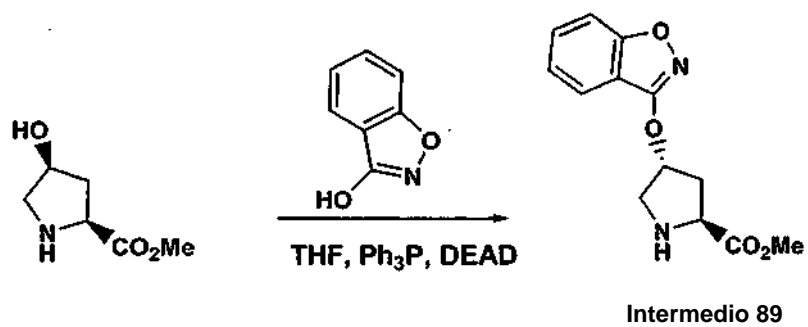
Ejemplo 89

Preparación del Intermedio 89



Intermedio 89

10

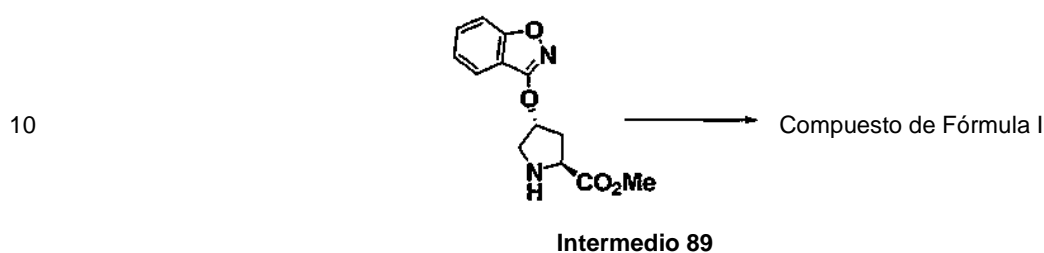


Se añadieron trifetilfosfina (196,7 mg, 0,75 mmol) y benzo[d]isoxazol-3-ol (81 mg, 0,6 mmol) a una solución de Boc-cis-HYP-OMe (122,6 mg, 0,5 mmol) en THF (15 ml) a 0 °C. Posteriormente, se añadió DEAD (0,118 ml, 0,75 mmol). Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. A continuación se concentró el disolvente y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para dar un aceite espeso incoloro (117 mg, 54 % de rendimiento).

5

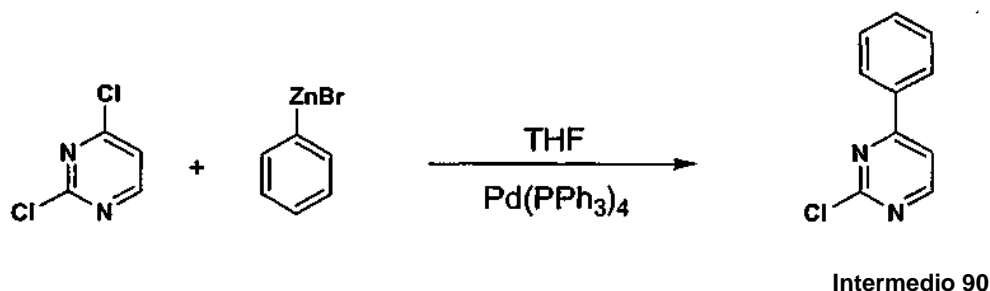
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) 8 1,41 (m, 9 H), 2,38 (m, 1 H), 2,75 (m, 1 H), 3,75 (m, 3 H), 3,81 (m, 1 H), 3,90 (m, 1 H), 4,47 (m, 1 H), 5,44 (m, 1 H), 7,31 (t, $J=7,46$ Hz, 1 H), 7,47 (d, $J=8,56$ Hz, 1 H), 7,59 (t, $J=7,83$ Hz, 1 H), 7,66 (d, $J=8,07$ Hz, 1 H). LC-MS (tiempo de retención: 2,65 min.), MS m/z 363(MH^+).

Se puede usar el Intermedio 89 para preparar los compuestos de Fórmula I.



Ejemplo 90

Preparación del Intermedio 90



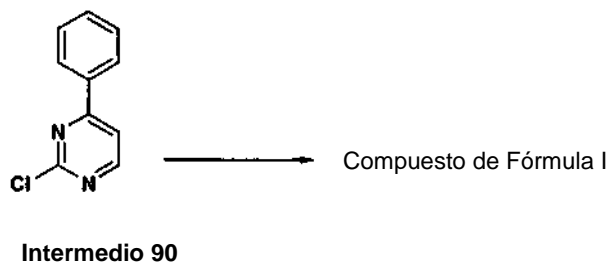
15

Se añadieron tetraakis(trifenilfosfina)paladio (23 mg, 2 % en moles) y una solución de 0,5 M de bromuro de fenilcinc (2,1 ml, 1,05 mmol) en THF a una solución de 2,4-dicloropirimidina (149 mg, 1 mmol) en THF (5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 50 °C durante la noche. Posteriormente se añadió una solución de cloruro de amonio saturado y se sometió a extracción con EtOAc dos veces. Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con agua y se secaron (MgSO_4). La filtración y concentración del disolvente dio lugar a un residuo de color amarillo que se purificó por medio de HPLC de preparación para permitir la obtención de un aceite amarillento en forma de 2-cloro-4-fenilpirimidina.

20

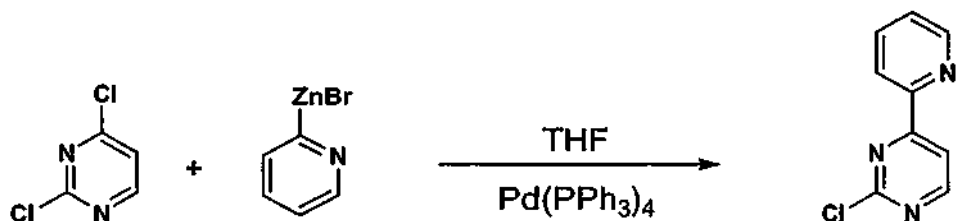
Se puede usar el Intermedio 90 para preparar los compuestos de Fórmula I.

25



Ejemplo 91

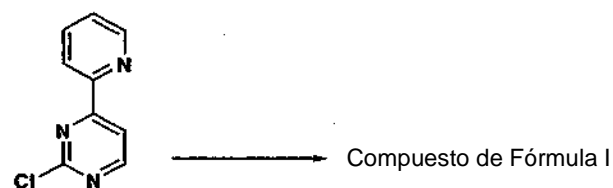
Preparación del Intermedio 91

**Intermedio 91**

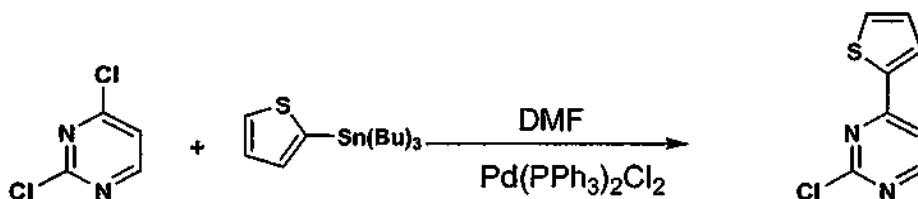
- 5 Se añadieron tetraquis(trifenilfosfina)paladio (58 mg, 5 % en moles) y una solución de 0,5 M de bromuro de piridinilcinc (2,4 ml, 1,2 mmol) en THF a una solución de 2,4-dicloropirimidina (149 mg, 1 mmol) en THF (5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 50 °C durante la noche. Posteriormente se añadió una solución de cloruro de amonio saturado y se sometió a extracción con EtOAc dos veces. Se combinaron las fases orgánicas, se lavaron con agua y se secaron (MgSO₄). La filtración y concentración del disolvente dio lugar a un residuo de color amarillo que se purificó por medio de HPLC de preparación para permitir la obtención de un aceite amarillento como producto.
- 10 (Intermedio 60, 11 mg, rendimiento de 3,6 %). ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) 8 7,61 (m, 1 H), 8,07 (m, 1 H), 8,36 (d, J=5,19 Hz, 1 H), 8,50 (d, J=7,94 Hz, 1 H), 8,75 (d, J=3,97 Hz, 1 H), 8,82 (d, J=5,19 Hz, 1 H). MS m/z 192 (MH⁺).

Se puede usar el Intermedio 91 para preparar los compuestos de Fórmula I.

15

**Intermedio 91****Ejemplo 92**

Preparación del Intermedio 92



Etapa 1

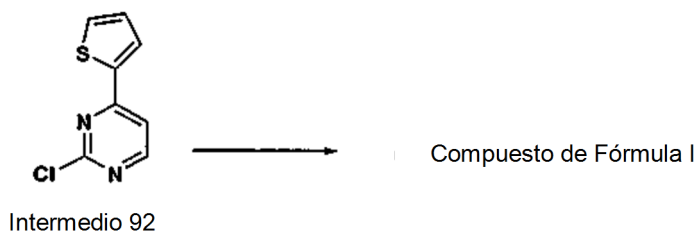
Intermedio 2

20

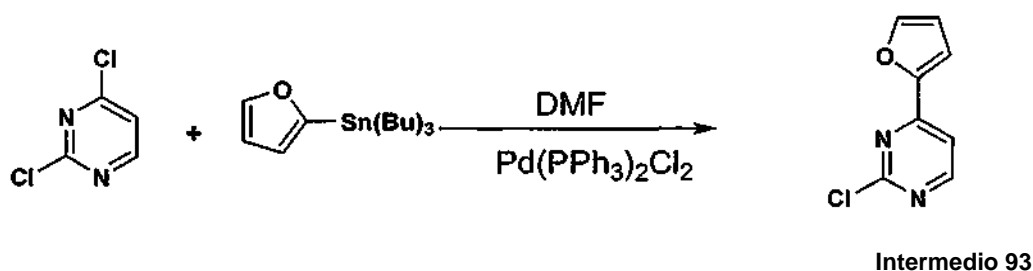
25

Se añadieron dicloro bis(trifenilfosfina)paladio (II) (35 mg, 5 % en moles) y 2-(tributylestannil)tiofeno (0,38 ml, 1,2 mmol) a una solución de 2,4-dicloropirimidina (149 mg, 1 mmol) en DMF (5 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 70 °C durante 3 horas. Posteriormente, se añadió una solución de KF saturado en metanol (20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se concentró la mezcla de reacción con una pequeña cantidad de gel de sílice y se filtró el residuo a través de papel de filtro con EtOAc. A continuación se concentró el filtrado y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para permitir la obtención de un sólido blanquecino como producto (100 mg, 35 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 8 7,20 (dd, J=5,01, 3,79 Hz, 1 H), 7,74 (dd, J=5,01, 1,10 Hz, 1 H), 7,77 (d, J=5,38 Hz, 1 H), 7,98 (dd, J=3,79, 1,10 Hz, 1 H), 8,55 (d, J=5,38 Hz, 1 H). MS m/z 197 (MH⁺).

Se puede usar el Intermedio 92 para preparar compuestos de Fórmula I

**Ejemplo 93**

Preparación del Intermedio 93



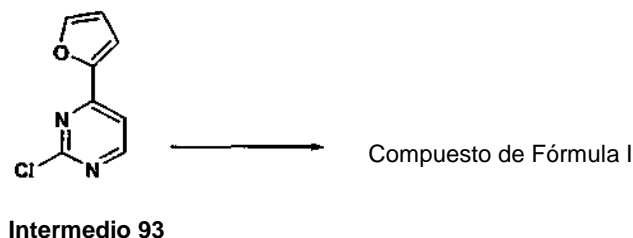
5

Se añadieron dicloro bis(trifenilfosfina)paladio (II) (35 mg, 5 % en moles) y 2-(tributylestanil)furano (0,35 ml, 1,1 mmol) a una solución de 2,4-dicloropirimidina (149 mg, 1 mmol) en DMF (5 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 70 °C durante 3 horas. Posteriormente se añadió una solución de KF saturada en metanol (20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se concentró la mezcla de reacción con una pequeña cantidad de gel de sílice y se filtró el residuo a través de papel de filtro y se lavó con EtOAc. A continuación se concentró el filtrado y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para permitir la obtención de un sólido de color marrón como producto (80 mg, rendimiento de 27 %). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 8,6,68 (dd, *J*=3,67, 1,71 Hz, 1 H), 7,42 (d, *J*=3,67 Hz, 1 H), 7,67 (d, *J*=5,13 Hz, 1 H), 7,30 (d, *J*=1,71 Hz, 1 H), 8,62 (d, *J*=5,14 Hz, 1 H). MS *m/z* 181 (MH⁺).

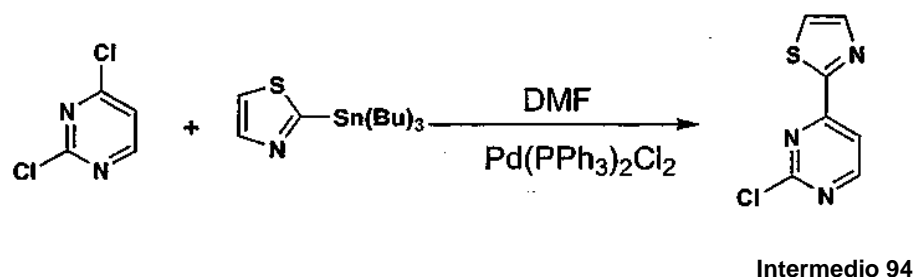
10

Se puede usar el Intermedio 62 para preparar compuestos de Fórmula I.

15

**Ejemplo 94**

Preparación del Intermedio 94



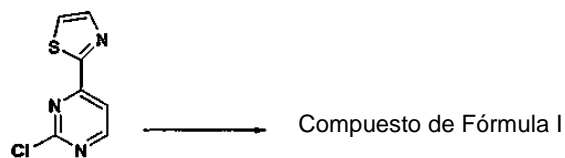
20

Se añadieron dicloro bis(trifenilfosfina)paladio (II) (35 mg, 5 % en moles) y 2-(tributylestanil)thiazol (412 mg, 1,1 mmol) a una solución de 2,4-dicloropirimidina (149 mg, 1 mmol) en DMF (5 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 80 °C durante 3 horas. Posteriormente se añadió una solución de KF saturada en metanol (20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se concentró la mezcla de reacción con una pequeña cantidad de gel de sílice y se filtró

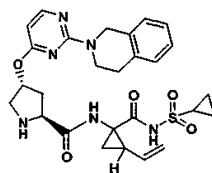
el residuo a través de papel de filtro y se lavó con EtOAc. A continuación se concentró el filtrado y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para permitir la obtención de un sólido de color marrón como producto (9 mg, 3 % de rendimiento). MS m/z 198 (MH⁺).

Se puede usar el Intermedio 63 para preparar compuestos de Fórmula I.

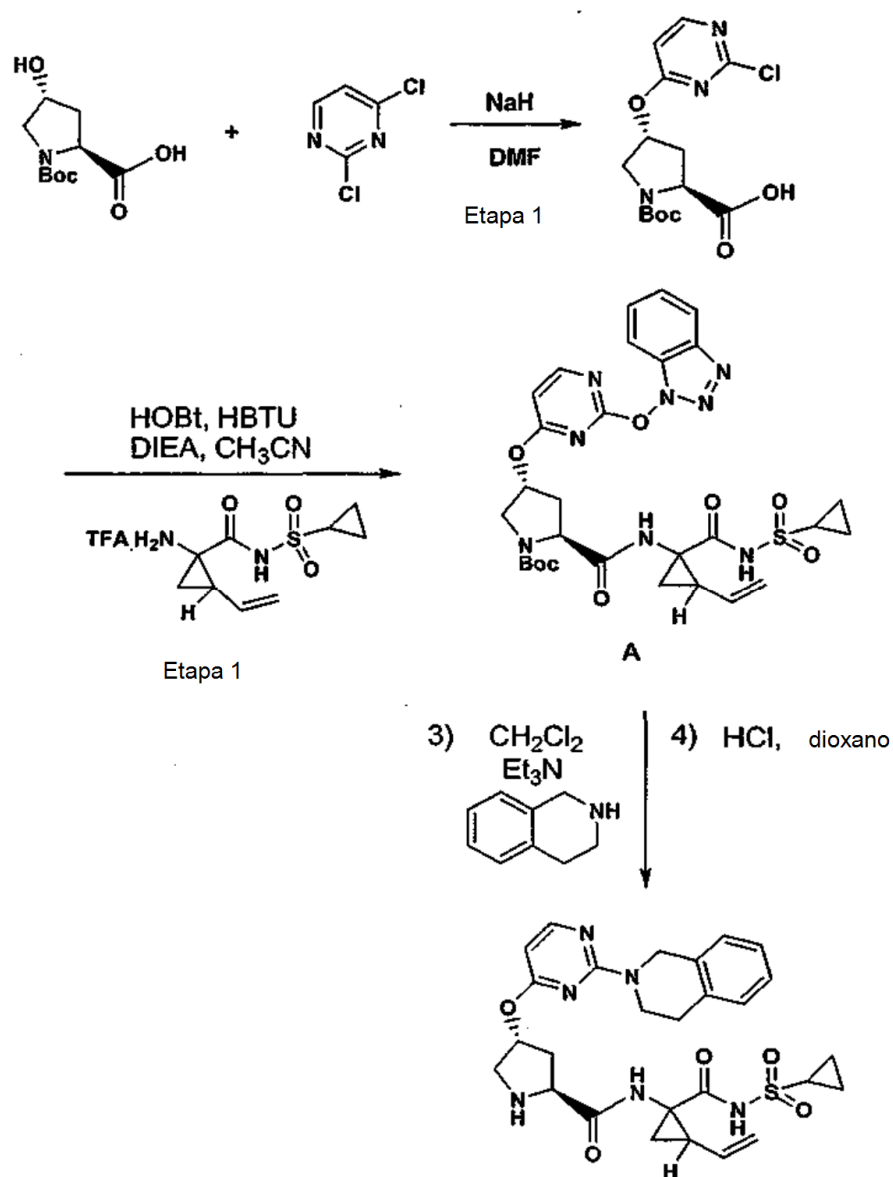
5

**Intermedio 94****Ejemplo 95**Preparación del Intermedio 95

10

**Intermedio 95**

Esquema 1



Etapa 1:

5 Se añadió NaH (0,38 g de dispersión de 60 % en aceite mineral, 9,513 mmol) a 0 °C a una solución de Boc-HYP-OH (1,0 g, 4,324 mmol) en DMF (20 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 1 h. Posteriormente, se añadió 2,4-dicloropirimidina (0,709 g, 0,0289 mmol). Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. A continuación, se inactivó la mezcla con una solución de HCl 1N y se sometió a extracción con EtOAc. Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera y se secó (MgSO_4). La filtración seguida de centrifugación del disolvente dio lugar a un producto bruto que posteriormente se purificó por medio de HPLC de preparación para dar lugar a un aceite incoloro en forma de producto (0,4 g, 27 % de rendimiento).

^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 1,13 (m, 9 H), 2,37 (m, 1 H), 2,62 (m, 1 H), 3,70-3,84 (m, 2 H), 4,38 (m, 1 H), 5,65 (m, 1 H), 6,88 (d, $J=5,86$ Hz, 1 H), 8,37 (d, $J=5,86$ Hz, 1 H). MS m/z 344(MH^+).

Etapa 2:

15 Se añadieron ácido (1R, 2S)/(1S, 2R) (1-ciclopropanosulfonil-aminocarbonil-2-vinil-ciclopropil)-carbámico (0,511 g, 1,48 mmol), DIEA (0,86 ml, 4,95 mmol) y el agente de acoplamiento HOBt (0,226 g, 1,48 mmol) y HBTU (0,561, 1,48 mmol) a una solución de éster terc-butílico de ácido (2S, 4R) 4-(2-cloro-pirimidin-4-iloxi)-pirrolidina-1,2-dicarboxílico (0,34 g, 0,99 mmol) en CH_3CN (20 ml). Se agitó la solución a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente se concentró, se lavó con agua y se sometió a extracción con acetato de etilo dos veces. Se lavaron

las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , filtraron y concentraron. A continuación, se purificó por medio de columna de HPLC de preparación para dar lugar a un sólido de color amarillo (A). (0,33 g y rendimiento de 41 %). MS m/z 655 (MH^+).

Etapa 3

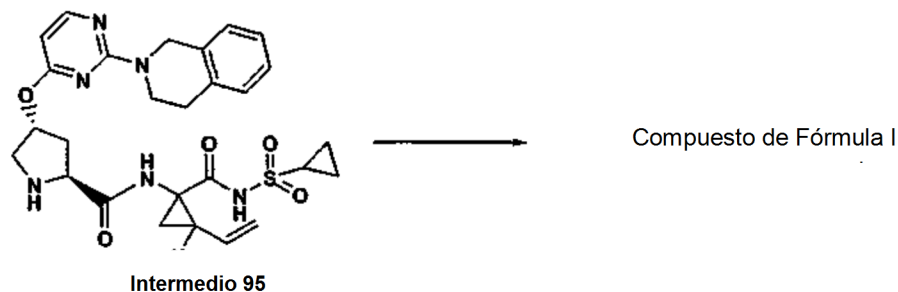
- 5 Se añadieron 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (0,011 ml, 0,0915 mmol) y Et_3N (0,021 ml, 0,153 mmol) a una solución de intermedio 4 (50 mg, 0,061 mmol) en CH_2Cl_2 (2,5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche y a 40 °C durante 1 día. Se separó el disolvente y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para dar lugar a un aceite incoloro. Posteriormente, se disolvió en HCl 4N en dioxano (1 ml) y se agitó durante la noche. La evaporación del disolvente dio lugar a un aceite incoloro en forma de sal de hidrocloreuro (20 mg, 52 % de rendimiento). MS m/z 553 (MH^+).

Etapa 4

- 15 Se añadieron ácido 2-metoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butírico (9,1 mg, 0,048 mmol), DIEA (0,028 ml, 0,16 mmol) y el agente de acoplamiento de HOBt (7,3 mg, 0,048 mmol) y HBTU (18,2 mg, 0,048 mmol) a una solución de hidrocloreuro de (1-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2-vinil-ciclopropil)-amida de ácido 4-[2-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-pirimidin-4-iloxi]-pirrolidin-2-carboxílico (20 mg, 0,032 mmol) en CH_3CN (5 ml). Se agitó la solución a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente, se concentró, se lavó con agua y se sometió a extracción con acetato de etilo dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , filtraron y concentraron para dar lugar a un aceite amarillento. Se purificó pro medio de columna de HPLC de preparación para dar lugar a un aceite incoloro en forma de sal de TFA (Intermedio 64) (16 mg, 60 % de rendimiento).

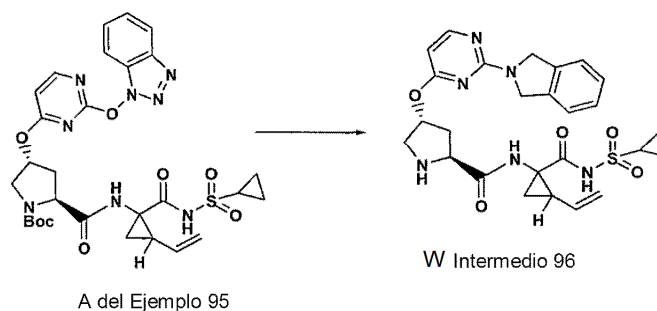
- 25 ^1H RMN (CD_3OD , 500 MHz) δ 0,98-1,06 (m, 13 H), 1,13 (m, 1 H), 1,22-1,32 (m, 1 H), 1,35-1,44 (m, 1 H), 1,82 (dd, $J=8,24$, 5,19 Hz, 0,5 H), 1,90 (dd, $J=8,24$, 5,49 Hz, 0,5 H), 2,26 (m, 1 H), 2,32-2,43 (m, 1 H), 2,56 (m, 1 H), 2,96 (m, 1 H), 3,11 (m, br, 2 H), 3,56 (s, 3 H), 4,14 (m, 1 H), 4,21 (m, 1 H), 4,38 (m, 1 H), 4,47 (m, 1 H), 5,15 (m, 1 H), 5,31 (m, 1 H), 5,75 (m, 1 H), 5,94 (s, 1 H), 6,47 (d, $J=7,02$ Hz, 1 H), 7,29 (s, 4 H), 7,49 (m, 1 H), 7,56 (m, 1 H), 7,74 (d, $J=8,24$ Hz, 1 H), 7,88 (d, $J=8,24$ Hz, 1 H), 8,11 (d, $J=7,02$ Hz, 1 H). MS m/z 724 (MH^+).

Se puede usar el Intermedio 95 para preparar compuestos de Fórmula I.



Ejemplo 96

Preparación del Intermedio 96

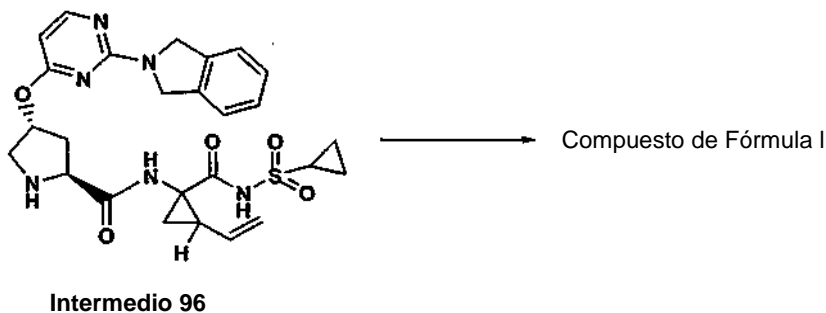


30

Se añadieron isoindolina (0,013 ml, 0,115 mmol) y Et_3N (0,026 ml, 0,19 mmol) a una solución de A (50 mg, 0,061

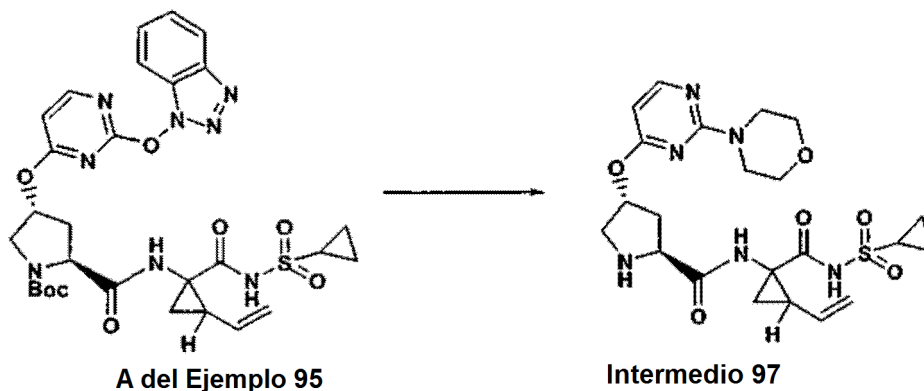
mol) en CH_2Cl_2 (2,5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 días. Se separó el disolvente y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para dar lugar a un aceite incoloro. A continuación, se disolvió en HCl 4N en dioxano (1 ml) y se agitó durante la noche. La evaporación dio lugar a un producto bruto que se purificó por medio de HPLC de preparación de nuevo para permitir la obtención de una sal de TFA en forma de sólido amarillento (8,5 mg, 14 % de rendimiento). MS m/z 539 (MH^+).

Se puede usar el Intermedio 65 para preparar compuestos de Fórmula I.



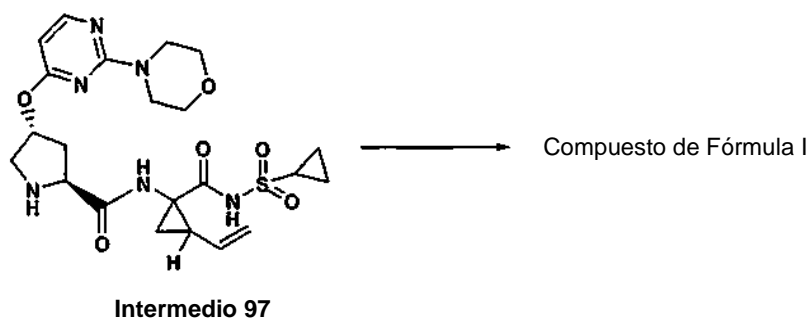
Ejemplo 97

10 Preparación del Intermedio 97



Se añadieron morfolina (0,008 ml, 0,0915 mmol) y Et_3N (0,021 ml, 0,153 mmol) a una solución de A del Ejemplo 95 (50 mg, 0,061 mmol) en CH_2Cl_2 (2,5 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche y a 40 °C durante a día. Se separó el disolvente y se purificó el residuo por medio de HPLC de preparación para dar un aceite incoloro. Posteriormente, se disolvió en HCl 4N en dioxano (1 ml) y se agitó durante la noche. La evaporación dio lugar a un aceite incoloro en forma de sal de hidrocioruro (12,6 mg, 35 % de rendimiento); MS m/z 507 (MH^+).

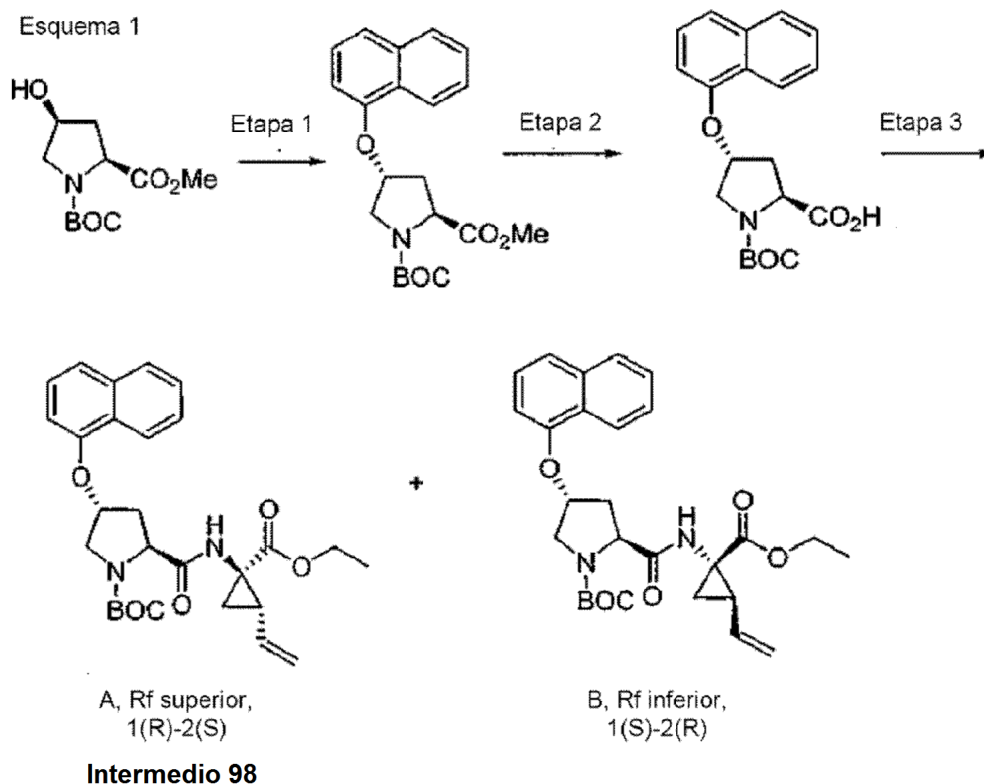
Se puede usar el Intermedio 66 para preparar compuestos de Fórmula I



20

Ejemplo 98

Preparación del Intermedio 98



Etapa 1:

- 5 Se añadió gota a gota una solución de dietildiazodicarboxilato (190 μ l, 1,22 mmol) en 1,0 ml de THF durante 10 minutos a una solución de N-Boc-(4S)-(cis)-hidroxiprolin-OMe (200 mg, 0,82 mmol), trifetilfosfina (320 mg, 1,22 mmol) y 1-naftol (176 mg, 1,22 mmol) en 2,5 ml de tetrahidrofurano. Tras agitar durante 5,5 días, se concentró la reacción a vacío. Se cromatografió el aceite bruto de color amarillo sobre una placa de TLC de preparación (Analtech SiO₂) eluyendo con hexanos-acetato de etilo 6-1 para dar lugar al producto deseado en forma de aceite de color amarillo pálido (150 mg, 33 %).
- 10 ¹H RMN (CDCl₃, 500MHz) 8 1,44 (s, 9H), 2,33 (1H, m), 2,72 (1H, m), 3,77 y 3,38 (2s, 3H, rotámeros), 3,88 (dd, 1H, J= 4,3, 12,4 Hz), 3,97 (bd, 1H), 4,53 y 4,62 (2t, 1H, J=7,8Hz, rotámeros), 5,10 (bd, 1 H), 6,76 (t, 1H, J=9,5 Hz), 7,37 (m, 1H), 7,46 (m, 3H), 7,80 (d, 1H, J=7,7 Hz), 8,18 (m, 1H); MS m/z 394 (M+Na)⁺

Etapa 2:

- 15 Se añadió hidróxido de litio (10 mg) a una solución agitada de Boc-(4R)-naftal-1-oxo)-Pro-Et (150 mg, 0,40 mmol) en 1,5 l de THF y 0,5 ml de agua. Se agitó la solución durante 21 horas a temperatura ambiente y posteriormente se diluyó con NaHCO₃ 0,5 N. Se sometió a extracción la solución básica con acetato de etilo y posteriormente se acidificó la fase acuosa hasta pH 2 con la adición gota a gota de HCl conc. Posteriormente la presente fase acidificada se sometió de nuevo a extracción con acetato de etilo. Esta segunda fase de acetato de etilo se secó con sulfato de magnesio, se filtró y posteriormente se concentró a vacío para dar Boc-(4R)-naftal-1-oxo)-Pro-OH en forma de cristales de color rosa pálido (147 mg, 100 %).
- 20 ¹H RMN(CDCl₃, 500MHz) 8 1,47 y 1,48 (2s, 9H, rotámeros), 2,40 y 2,52 (2m, 1H), 2,68 y 2,78 (2m, 1H), 3,78-4,07 (m, 2H), 4,57 y 4,69 (2t, 1H, J=7,6 y 8,0 Hz, rotámeros), 5,12 (bd, 1H), 6,77 (dd, 1H, J=7,6, 21,2 Hz), 7,37 (m, 1H), 7,46 (m, 3H), 7,81 (t, 1H, J=5,8 Hz), 8,19 (m, 1H); MS m/z 358 (M+H)⁺

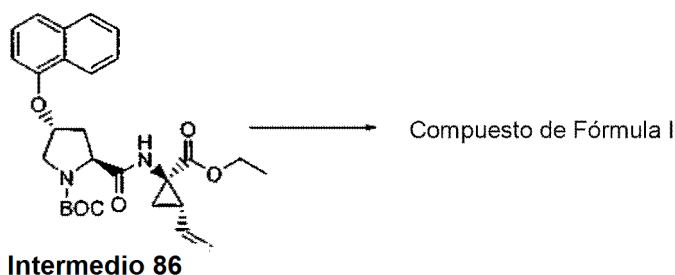
Etapa 3:

- 25 Se añadió DIPEA (250 μ l, 1,44 mmol) y TBTU (158 mg, 0,49 mmol) a una solución de Boc-((4R)-naftal-1-oxo)-Pro-OH (147 mg, 0,41 mmol) y sal de hidrocloreuro de éster etílico de ácido (1R/2S)/(1S/2R)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (79 mg, 0,41 mmol) en 2,8 ml de cloruro de metileno. Se agitó la solución resultante bajo nitrógeno durante 20 horas y posteriormente se diluyó con 40 ml de cloruro de metileno. Se lavó la fase orgánica con agua, NaHCO₃ 1N, HCl 1N, agua y salmuera. Posteriormente, se secó la solución con sulfato de sodio y se concentró a vacío. La purificación por medio de TLC de preparación dio lugar a dos diastereoisómeros por separado, un
- 30

diastereoisómero A de Rf superior (P2[Boc(4R)-(naftal-1-oxo)prolin]-P1 (1R, 2S, Vinil Acaca)-OEt (78 mg, 38 %) y un diastereoisómero B de Rf inferior (P2[Boc(4R)-(naftal-1-oxo)prolin]-P1(1S, 2R, Vinil Acaca)-OEt (91 mg, 45 %) en forma de sólidos de color blanco:

- 5 Diastereoisómero A: P2[Boc(4R)-(naftal-1-oxo)prolin]-P1(1R,2S Vinil Acaca)-OEt: ^1H RMN (CDCl_3 ,500MHz) 8,1,24 (t, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,52 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 2,02 (m, 1H), 2,14 (m, 1H), 2,81 (m, 1H), 3,88 (m, 2H), 4,11 (q, 1H, J=7,15), 4,19 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,15 (m, 1H), 5,31 (dd, 1H, J=17, 0,8 Hz), 5,77 (m, 1H), 6,83 (m, 1H), 7,36 (t, 1H, J=7,8 Hz), 7,46 (m, 3H), 7,78 (d, 1H, J=7,6 Hz), 8,14 (d, 1H, J=8,15Hz); MS m/z 495 (M+H)⁺
- 10 Diastereoisómero B, Ejemplo 10B: P2[Boc(4R)-(naftal-1-oxo)prolin]-P1(1S, 2R Vinil Acaca)-OEt: ^1H RMN ($\text{d}_1\text{-CHCl}_3$ 500MHz) 8 1,24 (t, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,85 (m, 1H), 2,15 (q, 1H, J=8,9Hz), 2,40 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 4,12 (m, 2H), 4,52 (m, 1H), 5,15 (m, 1H), 5,31 (m, 1H), 5,79 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 7,35 (t, 1H, J=7,6 Hz), 7,46 (m, 3H), 7,78 (d, 1H, J=7,6 Hz), 8,14 (d, 1H, J=8,10 Hz). MS m/z 495 (M+H)⁺.

Se puede usar el Intermedio 98 para preparar los compuestos de Fórmula I.



Estudios Biológicos

- 15 Se utilizaron ensayos de enzima complejo de HCV NS3/4A proteasa y ensayos de replicón de HCV basados en células en la presente divulgación, y se prepararon, se llevaron a cabo y se validaron como se muestra a continuación.

Generación de complejo de HCV NS3/4A proteasa recombinante

- 20 Se generaron complejos de HCV NS3 proteasa, procedente de la cepa BMS, cepa H77 o cepa J4L6S, como se muestra a continuación. Se generaron las presentes proteínas recombinantes purificadas para su uso en el ensayo homogéneo (véase a continuación) con el fin de proporcionar un indicativo del modo en el que los compuestos eficaces de la presente divulgación inhiben la actividad proteolítica de HCV NS3.

- 25 Se obtuvo suero a partir de un paciente infectado con HCV del Dr. T. Wright, Hospital de San Francisco. Se construyó una matriz de ADNc (ácido desoxiribonucleico de cumplido) de longitud completa procesado por ingeniería del genoma humano (cepa BMS) a partir de fragmentos de ADN obtenidos por medio de transcripción inversa-PCR (RT-PCR) de ARN de suero (ácido ribonucleico) y usando cebadores seleccionados en base a la homología entre otras cepas de genotipo 1a. A partir de la determinación de toda la secuencia de genoma, se asignó el genotipo 1a a la fracción aislada de HCV de acuerdo con la clasificación de Simmonds y col. (véase P. Simmonds, KA Rose, S Graham, SW Chan, F McOmish, BC Dow, EA Follet, PL Yap y horas Marsden, J. Clin. Microbiol., 31 (6), 1493-1503 (1993)). Se mostró que la secuencia de amino ácidos de la región no estructural, NS2-5B, fue > 97 % idéntica al genotipo 1a de HCV (H77) y 87 % idéntica al genotipo 1b (J4L6S). Los clones infecciosos, H77 (genotipo 1a) y J4L6S (genotipo 1b) se obtuvieron a partir de R. Purcell (NIH) y se las secuencias se publican en Genbank (AAB67036, véase Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U y Bukh, J. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 94(16), 8738-8743 (1997); AF054247, véase Yanagi, M.; St Claire, M., Shapiro, M., Emerson, S.U., Purcell, R.H. y Bukh, J.,
- 35 Virology 244 (1), 161-172 (1998)).

- Se usaron cepas H77 y J4L6S para la producción de complejos de NS3/4A proteasa recombinante. Se manipuló el ADN que codificaba el complejo de HCV NS3/4A proteasa recombinante (amino ácidos 1027 y 1711) para las presentes cepas como describe P. Gallinari y col. (Véase Gallinari, P., Paolini, C., Brennan D., Nardi C., Steinkuhle r C, De Francesco R., Biochemistry 38 (17): 5620-32 (1999)). Brevemente, se añadió una cola recombinante de tres lisinas en el extremo 3' de la región de codificación de NS4A. Se modificó la cisteína en posición P1 del sitio de escisión NS4A-NS4B (amino ácido 1711) hasta una glicina para evitar la escisión proteolítica de la marca de lisina. Además, se introdujo una cisteína en la mutación de serina por medio de PCR en la posición de aminoácido 1454 para evitar la escisión autolítica en el dominio de NS3 helicasa. Se clonó el fragmento de ADN variante en el vector pET11b de expresión bacteriana (Novagen) y se expresó el complejo NS3/4A en la cepa BL21 (DE3) de Escherichia coli (Invitrogen) siguiendo el protocolo descrito por P. Gallinari y col. (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. Brevemente, se indujo la expresión del complejo de NS3/4A proteasa con β -D-tiogalactopiranosido de isopropilo 0,5 milimolar (mM) (IPTG) durante 22 horas (h) a 20 °C. Una fermentación típica (1 litro (l)) dio lugar a aproximadamente 10 gramos (g) de pasta celular húmeda. Se re-suspendieron las células en tampón de lisis (10 ml/g) que consistía en

ácido N-(2-hidroxiethyl)piperazin-N'-(2-etanosulfónico) (HEPES) 25 mM, pH 7,5, glicerol de 20 %, cloruro de sodio 500 mM (NaCl), Triton X-100 0,5 %, lisozima de 1 microgramo/mililitro ("µg/ml"), cloruro de magnesio 5 mM (MgCl₂), DnaseI 1 µg/ml, β-mercaptoetanol 5 mM 8βME). ácido etilendiamino tetracético libre (EDTA)-inhibidor de proteasa (Roche), se homogeneizó y se incubó durante 20 minutos (min) a 4 °C. Se sometió a tratamiento con ultrasonidos la fracción homogeneizada y se clarificó por medio de ultra-centrifugación a 235000 g durante 1 hora a 4 °C. Se añadió imidazol al sobrenadante hasta una concentración final de 15 mM y se ajustó el pH a 8,0. Se introdujo el extracto de proteína bruta en una columna de níquel-ácido nitriloacético (Ni-NTA) pre-equilibrada con un tampón B (HEPES 25 mM, pH 8,0, glicerol 20 %, NaCl 500 mM, Triton X-100, imidazol 15 mM, βME 5 mM). Se introdujo la muestra con un caudal de 1 ml/min. Se lavó la columna con 15 volúmenes de columna de tampón C (mismo tampón de B excepto con Triton-X 100 de 0,2 %). Se eluyó la proteína con 5 volúmenes de columna de tampón D (mismo que el tampón C excepto con Imidazol 200 mM).

Se agruparon las fracciones que contenían el complejo de NS3/A4 proteasa y se introdujeron en una columna de desalación Superdex-S200 pre-equilibrada con tampón D (HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol de 20 %, Triton X-100 de 0,2 %, βMe 10 mM). Se introdujo la muestra con un caudal de 1,0 ml/min. Se agruparon las fracciones que contenían el complejo de NS3/4A proteasa y se concentraron hasta aproximadamente 0,5 mg/ml. Se evaluó que la pureza de los complejos de NS3/4A proteasa, procedentes de las cepas de BMS, H77 y J4L6S fue mayor que 90 % por medio de SDS-PAGE y análisis de espectrometría de masas. Se almacenó la enzima a -80 °C, se descongeló sobre hielo y se diluyó antes de su uso en el tampón de ensayo.

Ensayo de péptido FRET para evaluar la actividad proteolítica de HCV NS3/4A

La finalidad del presente ensayo in vitro es medir la inhibición de los complejos de HCV NS3 proteasa, procedentes de la cepa BMS, cepa H77 y cepa J4L6S, como se ha descrito anteriormente, por medio de los compuestos de la presente divulgación. Este ensayo proporciona un indicativo de cómo de eficaces resultan los compuestos de la presente divulgación para inhibir la actividad proteolítica de HCV NS3.

Con el fin de controlar la actividad de la HCV NS3/4A proteasa, se usó un sustrato de péptido de NS2/4A. El sustrato fue RET S1 (Sustrato de Depsipéptido de Transferencia de Energía de Resonancia: AnaSpec, Inc. Nº. 22991) (péptido FRET), descrito por Taliani y col, en Anal. Biochem 240(2): 60-67 (1996). La secuencia del presente péptido se encuentra basada ligeramente en el sitio de escisión natural NS4A/NS4B de la HCV NS3 proteasa, exceptuando que existe un engarce de éster en lugar de un enlace de amida en el sitio de escisión. El péptido también contiene un donador de fluorescencia, EDANS, cerca de un extremo del péptido y un aceptor, DABCYL, cerca del otro extremo. La fluorescencia del péptido queda inactivada por medio de la transferencia de energía de resonancia intramolecular (RET) entre el donador y el aceptor, pero a medida que la NS3 proteasa se escinde se liberan los productos procedentes de la inactivación de RET y la fluorescencia del donador se vuelve evidente.

Se incubó el sustrato de péptido con uno de los tres complejos de NS3/4A proteasa recombinante, en ausencia o en presencia de un compuesto de la presente divulgación. Se determinaron los efectos inhibidores del compuesto controlando la formación del producto de reacción fluorescente en tiempo real usando un Cytofluor Series 4000.

Los reactivos fueron los siguientes: se obtuvieron HEPES y glicerol (Ultrapure) a partir de GIBCO-BRL. Se obtuvo sulfóxido de dimetilo (DMSO) en Sigma. Se obtuvo β-mercaptoetanol en Bio Rad.

Tampón de ensayo: HEPES 50 mM, pH 7,5; NaCl 0,15 M; Triton de 0,1 %; Glicerol 15 %; βME 10 mM. Sustrato: concentración final de 2 µM (a partir de una solución de reserva de 2 mM en DMSO almacenada a -20 °C). HCV NS3/4A proteasa tipo 1a (1b), concentración final 2-3 mM (a partir de una solución de reserva 5 µM en HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol 20 %, NaCl 300 mM, Triton-X100 0,2 %, βME 10 mM). Para los compuestos con potencias que se aproximan al límite de ensayo, el ensayo se llevó a cabo de forma más sensible mediante la adición de Albúmina de Suero Bovino (Sigma) de 50 µg/ml al tampón del ensayo y reduciendo la concentración de proteasa en el extremo hasta 300 pM.

Se llevó a cabo el ensayo en un placa negro de poliestireno de 96 pocillos de Falcon. Cada pocillo contenía 25 µl de complejo NS3/4A proteasa en el tampón de ensayo, 50 µl de un compuesto de la presente divulgación en DMSO de 10 %/tampón de ensayo y 25 µl de sustrato en el tampón de ensayo. También se preparó un control (sin compuesto) en la misma placa de ensayo. Se mezcló el complejo de enzima con compuesto o solución de control durante 1 min antes de iniciar la reacción enzimática mediante la adición de sustrato. Se leyó la placa de ensayo de forma inmediata usando Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). Se ajustó el instrumento para una lectura de emisión de 340 nm y una excitación de 490 nm a 25 °C. De manera general, las reacciones se siguieron durante aproximadamente 15 minutos.

Se calculó el porcentaje de inhibición con la siguiente ecuación:

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

en al que δF es el cambio en la fluorescencia durante el intervalo lineal de la curva. Se aplicó un ajuste no lineal de curva a los datos de inhibición-concentración, y se calculó la concentración eficaz de 50 % (IC_{50}) mediante el uso de un soporte lógico de ajuste de Excel XL usando la ecuación $y = A + (B - A) / (1 + (c/s)^D)$.

- 5 Se encontró que todos los compuestos sometidos a ensayo inhibían la actividad del complejo NS3/4A proteasa con valores de IC_{50} de $\delta \mu M$ o menos. Además, se encontró que los compuestos de la presente divulgación, que se sometieron a ensayo frente a más de un tipo de complejo de NS3/4A, presentan propiedades inhibitorias similares a aunque los compuestos mostraron de manera uniforme una potencia más elevada frente a cepas 1b en comparación con las cepas 1a.

Ensayos de especificidad

- 10 Los ensayos de especificidad se llevaron a cabo para demostrar la selectividad in vitro de los compuestos de la presente divulgación a la hora de inhibir el complejo HCV NS3/4A proteasa frente a otras proteasas de serina o cisteína.

- 15 Se determinaron las especificidades de los compuestos de la presente divulgación frente a una variedad de proteasas de serina: elastasa neutrófila humana (HNE), elastasa pancreática porcina (PPE) y quimotripsina pancreática humana y una proteasa de cisteína: catepsina B de hígado humano. En todos los casos, se usó el protocolo de formato de placa de 96 pocillos que usa un sustrato de p-nitroanilina colorimétrica (pNA) o un sustrato de amino-metil-cumarina (AMC) fluorométrico, específico para cada enzima, como se ha descrito anteriormente (Solicitud de Patente PCT N°. WO 00/09543) con algunas modificaciones. Todas las enzimas se adquirieron en Sigma o EMD Biosciences mientras que los sustratos fueron de Bachem.

- 20 Cada ensayo de pNA incluye una pre-incubación de enzima-inhibidor de 2 horas a temperatura ambiente seguida de adición de sustrato e hidrólisis hasta una conversión de ≈ 15 % medido sobre un lector de micro-placas de Spectramax Pro. Se inició el ensayo de catepsina B mediante la adición de un sustrato a una pre-incubación de enzima-inhibidor de 10 min a temperatura ambiente, y se midió cada placa inmediatamente usando un Cytofluor Series 4000. Las concentraciones de compuesto variaron de 100 a $0,4 \mu M$ dependiendo de su potencia.

- 25 Las condiciones finales para cada ensayo fueron las siguientes:

- Hidrocloruro de tris(hidroxi metil)aminometano (Tris-HCl) 50 mM, pH 8, Sulfato de sodio 0,5 M (Na_2SO_4), NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, 3% DMSO, 0,01% Tween-20 con:
 133 μM succ-AAA-pNA y 20 nM HNE o 8 dM PPE; 100 μM succ-AAPF-pNA y 250 pM Quimiotripsina. 100 mM $NaHPO_4$ (Hidrógeno Fosfato de Sodio) pH 5,5, 3% DMSO, 1 mM TCEP Hidrocloruro de Tris(2-carboxietil)fosfina, 5 nM Catepsina B (enzima de reserva activada en tampón que contenía 20 mM de TCEP antes de su uso), y 2 μM DE Z-FR-AMC diluido en H_2O .
- 30

Se calculó el porcentaje de inhibición usando la fórmula:

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

- 35 Se aplicó un ajuste no lineal de curva a los datos de inhibición-concentración, y se calculó el la concentración eficaz de 50 % (IC_{50}) mediante el uso de un soporte lógico de ajuste de Excel XL.

Generación de Replicón de HCV

- Se estableció un sistema celular completo de replicón de HCV como se describe por parte de Lohmann V., Former F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartegschlager R, Science 285(5424):110-3 (1999). El sistema permitió a los inventores evaluar los efectos de los compuestos de HCV proteasa sobre la replicación de ARN de HCV. Brevemente, mediante el uso de la secuencia de cepa 1b de HCV descrita en la publicación de Lohmann (número de sesión: AK 238799), se sintetizó ADNc de HCV por medio de Operon Technologies, Inc. (Alameda, CA) y posteriormente se motró el replicón de longitud completa en un plasmido pGem9zf(+) (Promega, Madison, WI) usando técnicas estándar de biología molecular. El replicón consiste en (i) el UTR 5' de HCV condensado con los primeros 12 aminoácidos de la proteína de cápside, (ii) el gen de neomicina fosfatotransferasa (neo), (iii) el IREs de virus de encefalomiocarditis (EMCV) y (iv) genes de NS3 a NS5B de HCV y el UTR 3' de HCV. Se linealizaron los ANDs de plásmido con Scal y se sintetizaron los fragmentos transcritos de ARN in vitro usando el estuche de transcripción T7 MegaScript (Ambion, Austin, TX) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se sometieron a transfección los fracciones transcritas in vitro del ADNc en líneas celulares de hepatoma humano, HUH-7. Se logró la selección de las células que, de manera constitutiva, expresan el replicón de HCV en presencia de un marcado susceptible de elección, neomicina (G418). Se caracterizaron las líneas celulares resultantes en cuanto a la producción de ARN positiva y negativa y la producción de proteínas con el tiempo.
- 40
- 45
- 50

Ensayo de FRET de Replicón de HCV

Se desarrolló el ensayo de FRET de replicón de HCV para controlar la eficacia de los efectos inhibitorios de los compuestos descritos en la divulgación sobre la replicación vírica de HCV. Se cultivaron células HUH-7, que de

forma constitutiva expresan el replicón de HCV, en Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) (Gibco-BRL) que contenía suero de ternero fetal de 10 % (FCS) (Sigma) y G418 de 1 mg/ml (Gibco-BRL). Se sembraron las células la noche antes ($1,5 \times 10^4$ células/pocillo) y placas estériles de tejido-cultivo de 96 pocillos. Se prepararon el compuesto y los controles sin compuesto en DMEM que contenía FCS de 4 %, Penicilina/Estreptomisina 1:100 (Gibco-BRL), L-glutamina 1:100 y DMSO de 5 % en la placa de dilución (concentración final de DMSO de 0,5 % en el ensayo). Se añadieron las mezclas de compuesto/DMSO a las células y se incubaron durante 4 días a 37 °C. Trascorridos 4 días, en primer lugar se evaluaron las células en cuanto a citotoxicidad usando Azul alamar (Trek Diagnostic Systems) para una lectura de CC_{50} . Se determinó la toxicidad del compuesto (CC_{50}) mediante la adición de un volumen de 1/10 del Azul alamar al medio de incubación de las células. Trascorridas 4 h, se leyó la señal de fluorescencia de cada pocillo, con una longitud de onda de excitación de 530 nm y una longitud de onda de emisión de 580 nm, usando Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). Posteriormente, se enjuagaron las placas intensamente con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (3 veces con 150 μ l). Se sometieron las células a lisis con 25 μ l de un reactivo de ensayo de lisis que contenía sustrato de HCV proteasa (reactivo de lisis de 5x células de luciferasa por célula de cultivo (Promega #E153A) diluido hasta 1x con agua destilada, se añadió NaCl hasta una concentración final de 150 mM, se diluyó el sustrato de péptido de FRET (como se ha descrito para el ensayo de enzima anteriormente) hasta un valor final de 10 μ M a partir de una reserva de 2 nM en DMSO de 100 %. A continuación, se colocó la placa en el interior de un instrumento Cytofluor 4000 que había sido ajustado a una excitación de 340 nm/emisión de 490 nm, en modo automático, para 21 ciclos y la lectura de placa en modo cinético. Se llevaron a cabo las determinaciones de EC_{50} como se ha descrito para el caso de las determinaciones de IC_{50} .

20 Ensayo de indicador de luciferasa de replicón de HCV

Como ensayo secundario, se confirmaron las determinaciones de EC_{50} a partir de FRET de replicón en un ensayo de indicador de luciferasa de replicón. La utilización de un ensayo de indicador de luciferasa de replicón se describió por primera vez por parte de Krieger y col (Krieger N, Lohmann V y Bartegschlager R., J. Virol. 75(10):4614-4624 (2001)). Se modificó la construcción de replicón descrito para el ensayo FRET de los inventores mediante la inserción de ADNc que codifica una forma humana del gen de luciferasa de Renilla y un secuencia de engarce condensada directamente al extremo 3' del gen de luciferasa. Se introdujo el presente inserto en el interior de la construcción de replicón usando un sitio de restricción ubicado en el núcleo, directamente aguas arriba del gen marcador de neomicina. También se introdujo la mutación adaptativa en la posición 1179 (de serina a isoleucina) (Blight KJ, Kolykhalov, AA, Rice, CM Science 290 (5498):1972-1974). Se generó una línea celular estable que, de manera constitutiva, expresa la presente construcción del replicón de HCV como se ha descrito anteriormente. Se fijó el ensayo de indicador de luciferasa como se ha descrito para el ensayo de FRET de replicón de HCV con las siguientes modificaciones. Tras 4 días en un incubador de CO_2 de 5 % a 37 °C, se analizaron las células en cuanto a actividad de Renilla luciferasa usando un Sistema de Ensayo de Promega Dual-Glo Luciferase. Se retiró el medio (100 μ l) de cada pocillo que contenía células. A los restantes 50 μ l del medio, se añadieron 50 μ l de reactivo de Dual-Glo Luciferase, y se agitaron las placas durante 10 minutos a 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se añadió reactivo de Dual-Glo-Stop & Glo (50 μ l) a cada pocillo, y se agitaron las placas de nuevo durante un período adicional de 10 minutos a 2 horas a temperatura ambiente. Se leyeron las placas en un Packard TopCount NXT usando un programa de luminiscencia.

Se calculó el porcentaje de inhibición usando la fórmula siguiente:

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

40 Se representaron gráficamente los valores y se analizaron usando ajuste XL para obtener el valor de EC_{50} .

Se evaluaron los compuestos representativos de la divulgación en los ensayos de enzima de HCV, ensayo celular de replicón de HCV y/o en varios de los ensayos de especificidad comentados. Por ejemplo, se encontró que el Compuesto 56 presentaba un IC_{50} de 00 nanomolar (nM) frente a la cepa de BMS de NS3/4A en el ensayo de enzima. Se obtuvieron valores similares de potencia con las cepas publicadas H77 (IC_{50} de 17 nM) y J4L6S (IC_{50} de 9,8 nM). El valor de EC_{50} del ensayo de FRET de replicón fue de 742 nM y de 247 nM en el ensayo de replicón de Luciferasa.

En los ensayos de especificidad, se encontró que el mismo producto presentaba la siguiente actividad: HLE > 100 μ M; PPE > 100 μ M; Quimiotripsina > 100 μ M; Catepsina B > 100 μ M. Estos resultados indican que la presente familia de compuestos es altamente específica para la proteasa NS3 y muchos de los presentes miembros inhiben la replicación del replicón de HCV.

50 Se sometieron a ensayo los compuestos de la presente divulgación y se encontró que presentaban actividades en los intervalos que se muestran a continuación:

Intervalo de actividad IC_{50} (para los compuestos sometidos a ensayo): A es > 1 μ M; B es 0,1-1 μ M; C es < 0,1 μ M
Intervalo de actividad EC_{50} (cepa de BMS NS3/4A): A es > 5 μ M; B es 0,5-5 μ M; C es < 0,5 μ M.

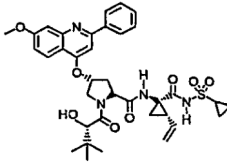
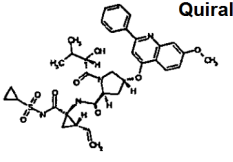
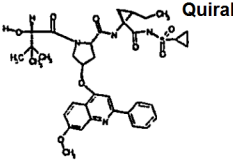
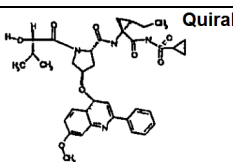
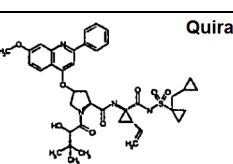
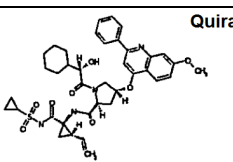
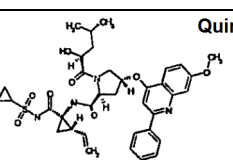
De acuerdo con una realización de la presente divulgación, los compuestos presentan un actividad biológica (EC_{50})

de 5 µM o menos, y en otra realización de 0,5 µ M o menos.

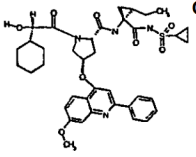
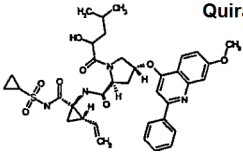
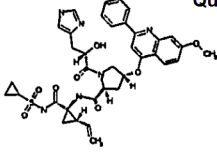
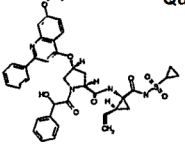
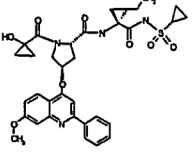
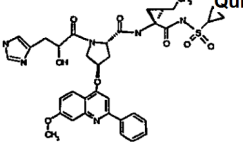
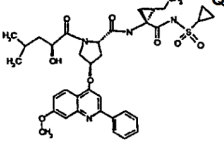
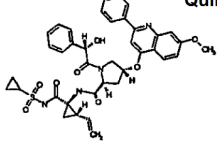
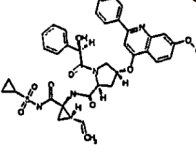
La Tabla 1 muestra los valores de IC₅₀ y EC₅₀ para los compuestos representativos. Se pueden preparar ejemplos que no se encuentran contenidos en los ejemplos anteriores siguiendo los mismos procedimientos descritos en los ejemplos y esquemas, sustituyendo los materiales de partida apropiados.

5

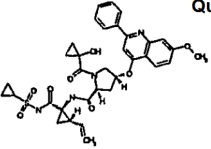
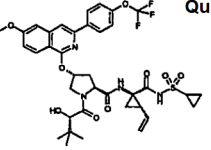
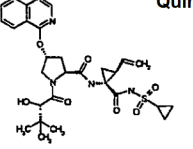
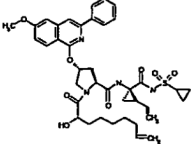
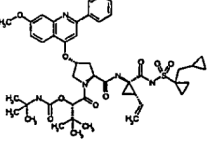
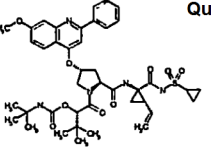
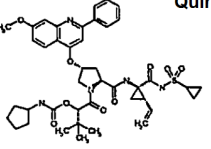
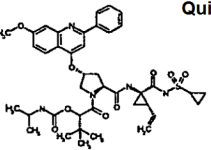
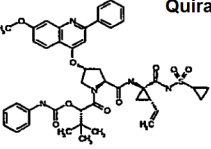
Tabla 1: Datos Biológicos para los Compuestos Representativos

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC ₅₀	Intervalo EC ₅₀
Compuesto 8, Ejemplo 4		C	B
Compuesto 5, Ejemplo 4	 Quiral	C	B
Ejemplo 10	 Quiral	C	B
Ejemplo 11	 Quiral	C	B
Ejemplo 12	 Quiral	C	B
Compuesto 4, Ejemplo 4	 Quiral	C	B
Compuesto 6, Ejemplo 4	 Quiral	C	B

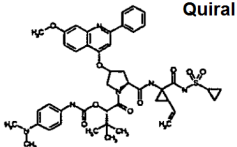
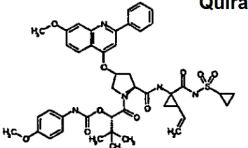
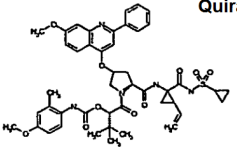
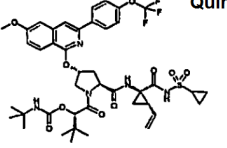
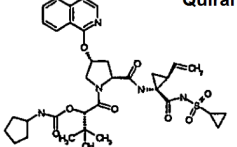
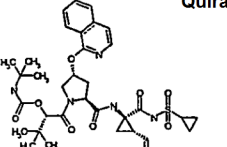
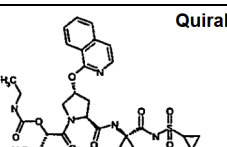
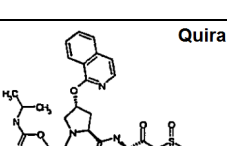
(continuación)

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC50	Intervalo EC50
Ejemplo 13		C	B
Compuesto 2, Ejemplo 4		B	B
Compuesto 3, Ejemplo 4		B	A
Ejemplo 14		B	A
Ejemplo 15		B	B
Ejemplo 16		B	A
Ejemplo 17		B	B
Compuesto 1, Ejemplo 4		B	A
Ejemplo 18		B	A

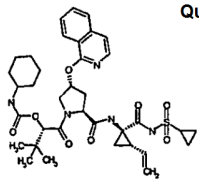
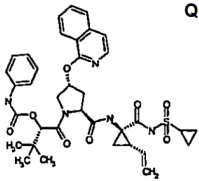
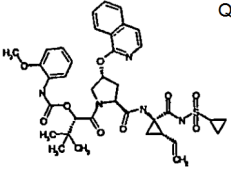
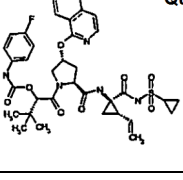
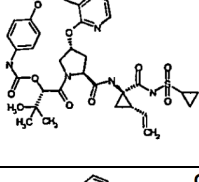
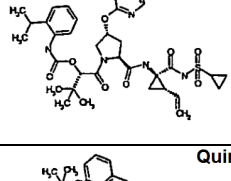
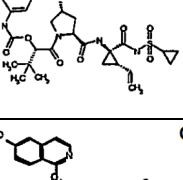
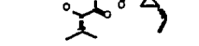
(continuación)

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC50	Intervalo EC50
Ejemplo 19	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	--
Ejemplo 20	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	B
Ejemplo 8	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Ejemplo 21		B	--
Ejemplo 22		C	B
Compuesto 1, Ejemplo 5	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	C
Compuesto 3, Ejemplo 5	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	C
Compuesto 2, Ejemplo 5	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	C
Compuesto 4, Ejemplo 5	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	C

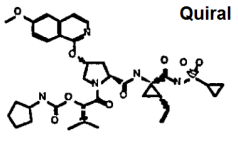
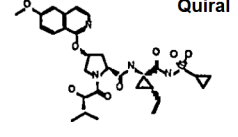
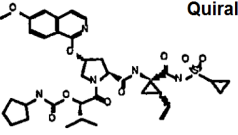
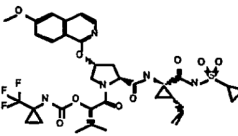
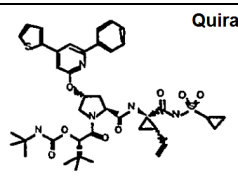
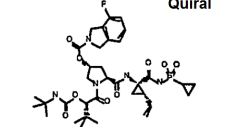
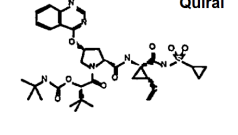
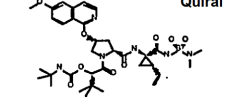
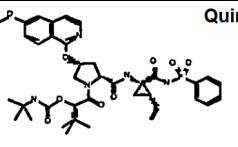
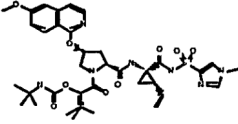
(continuación)

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC50	Intervalo EC50
Compuesto 7, Ejemplo 5		B	B
Compuesto 5, Ejemplo 5		B	B
Compuesto 6, Ejemplo 5		B	B
Ejemplo 23		C	B
Ejemplo 9		B	B
Ejemplo 24		B	B
Ejemplo 25		B	B
Ejemplo 26		B	B

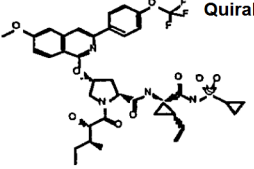
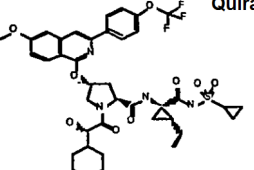
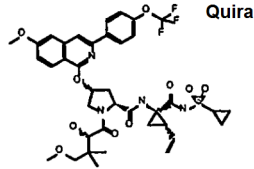
(continuación)

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC50	Intervalo EC50
Ejemplo 27	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	B
Ejemplo 28	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Ejemplo 29	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Ejemplo 30	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Ejemplo 31	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Ejemplo 32	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Ejemplo 33	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Compuesto 50, Ejemplo 50	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B

(continuación)

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC50	Intervalo EC50
Compuesto 51, Ejemplo 51	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	B
Compuesto 52, Ejemplo 52	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	A
Compuesto 53, Ejemplo 53	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	A	A
Compuesto 54, Ejemplo 54		B	B
Compuesto 55, Ejemplo 55	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	B
Compuesto 56, Ejemplo 56	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	B
Compuesto 57, Ejemplo 57	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Compuesto 58, Ejemplo 58	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	C	B
Compuesto 59, Ejemplo 59	<p style="text-align: center;">Quiral</p> 	B	B
Compuesto 60, Ejemplo 60		A	A

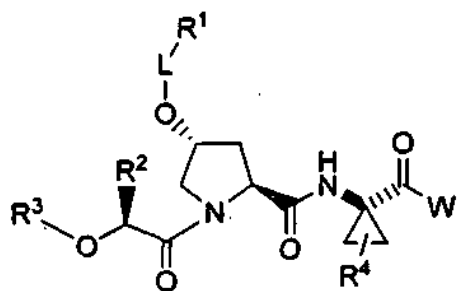
(continuación)

Ejemplo	Estructura	Intervalo IC50	Intervalo EC50
Compuesto 61, Ejemplo 61		B	B
Compuesto 62, Ejemplo 62		B	B
Compuesto 63, Ejemplo 63		C	B

5 Resulta evidente para el experto en la técnica que la presente divulgación no se encuentra limitada a los ejemplos ilustrativos anteriores, y que se pueden incorporar otras formas específicas sin que ello suponga apartarse de sus atributos esenciales. Por tanto, resulta deseable que los ejemplos sean considerados, en todos los sentidos, como ilustrativos y no como restrictivos, haciendo referencia a las reivindicaciones adjuntas, en lugar de a los ejemplos anteriores, y se pretende que todos los cambios que se incluyan dentro del significado e intervalo de equivalencia de las reivindicaciones queden por tanto englobados en las mismas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)

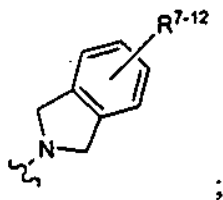


(I)

5 o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, en la que
 L se encuentra ausente o -C(O)-;
 R¹ es heteroarilo o heterociclo en el que heteroarilo y heterociclilo se encuentran sustituidos de manera opcional
 con uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alcoxi,
 10 alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo,
 haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxilo, mercapto, -NR^aR^b,
 (NR^aR^b)alquilo y (NR^cR^d)carbonilo;
 R² es seleccionado entre hidrógeno, alqueno, alcoxialquilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilo, alquilaminoalquilo,
 aminoalquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo; dialquilaminoalquilo, haloalcoxialquilo, haloalquilo,
 15 heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;
 R³ es R⁵-NH-C(O)-;
 R⁴ es seleccionado entre hidrógeno, alqueno, alquilo, cicloalquilo, haloalqueno y haloalquilo; R⁵ es
 seleccionado entre alquilo, arilo, arilalquilo, carboxialquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalcoxialquilo,
 haloalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;
 20 uno de R^a y R^b es seleccionado entre hidrógeno, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo,
 arilalquilo, arilcarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, formilo y (NR^cR^d)carbonilo y el otro es seleccionado entre
 hidrógeno, alquilo y cicloalquilo;
 R^c y R^d están seleccionados cada uno de forma independiente entre hidrógeno y alquilo; y
 W es -NH-SO_n-R⁶, en la que n es 1 ó 2 y R⁶ es seleccionado entre alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo,
 heteroarilo, heterociclilo y
 25 -NR^aR^b.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que L es -C(O)-.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que R¹ es

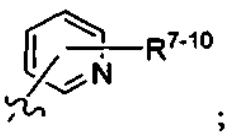


30 en la que
 R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo,
 alcoxycarbonilo, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo,
 heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxilo, mercapto, -NR^aR^b, (NR^aR^b)alquilo y
 (NR^cR^d)carbonilo.

4. El compuesto de la reivindicación 3, en el que uno de R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² es halo y el resto son hidrógeno.

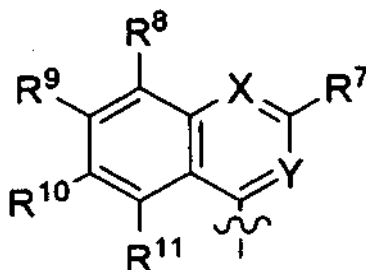
35 5. El compuesto de la reivindicación 1 en el que L se encuentra ausente.

6. El compuesto de la reivindicación 5 en el que R¹ es



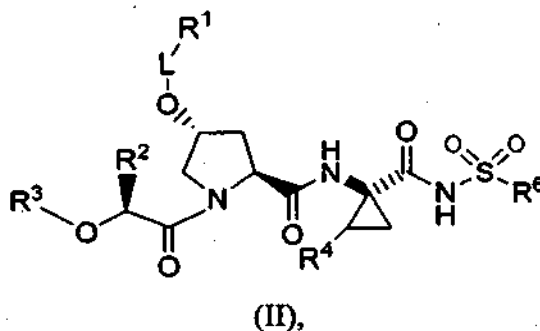
5 en la que R^7 , R^8 , R^9 y R^{10} son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxilo, mercapto, NR^aR^b , (NR^aR^b) alquilo y (NR^cR^d) carbonilo.

7. El compuesto de la reivindicación 5, en el que R^1 es

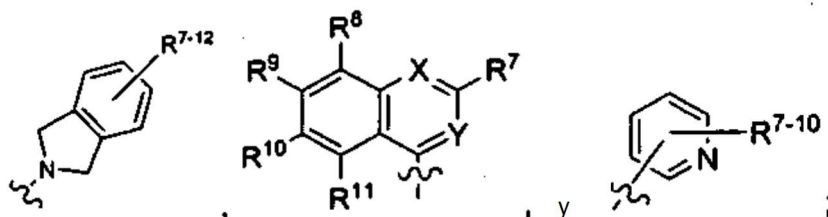


10 en la que
 X es seleccionado entre N y CR^{12} ;
 Y es seleccionado entre N y CH; y
 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} y R^{12} son seleccionados de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, alquilo, alquilsulfanilo, arilo, arilalcoxi, carboxi, ciano, cicloalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroariloxi, heteroarilo, heteroarilcarbonilo, heterociclilo, hidroxilo, mercapto, $-NR^aR^b$, (NR^aR^b) alquilo y (NR^cR^d) carbonilo.

15 8. Un compuesto de fórmula (II)



o una de sus sales aceptables farmacéuticamente, en la que R^1 es seleccionado entre



20 L se encuentra ausente o $-C(O)-$;
 X es seleccionado entre N y CR^{12} ;
 Y es seleccionado entre N y CH; y
 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} y R^{12} son seleccionados cada uno de forma independiente entre hidrógeno, alcoxi, arilo, halo

- y heteroarilo;
 R^2 es seleccionado entre alcoxilalquilo, alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo y heteroarilalquilo;
 R^3 es R^5 -NH-C(O)-;
 R^4 es alquenilo o alquilo;
 R^5 es seleccionado entre alquenilo, alquilo, arilo, cicloalquilo y heteroarilalquilo;
 R^6 es seleccionado entre arilo, cicloalquilo, heteroarilo y $-NR^aR^b$; y
 R^a y R^b son alquilo.
- 5 9. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo aceptable farmacéuticamente.
- 10 10. La composición de acuerdo con la reivindicación 9 que además comprende un interferón y ribavirina.
11. La composición de acuerdo con la reivindicación 9 que además comprende un segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV es un interferón.
- 15 13. La composición de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el interferón es seleccionado entre interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide.
14. La composición de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el segundo compuesto que presenta actividad anti-HCV es seleccionado entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de un agente de ayuda de respuesta celular T de tipo 1, ARN interferente, ARN de antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosin 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 20 15. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso en un procedimiento de inhibición de la función de Serina proteasa HCV.
16. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso en el procedimiento de tratamiento de la infección por HCV en un paciente.
- 25 17. El compuesto de la reivindicación 16, en el que el compuesto resulta eficaz para inhibir la función de la Serina proteasa HCV,
18. El compuesto de la reivindicación 17, que además comprende el uso de un segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV antes de, después de o de manera simultánea con, el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 30 19. El compuesto de la reivindicación 18, en el que el segundo compuesto que tiene actividad anti-HCV es un interferón.
20. El compuesto de la reivindicación 19, en el que el interferón es seleccionado entre interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón tau de linfoblástico.
- 35 21. El compuesto de la reivindicación 18, en el que el segundo compuesto que presenta actividad anti-HCV es seleccionado entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de un agente de ayuda de respuesta celular T de tipo 1, ARN interferente, ARN de antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosin 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.