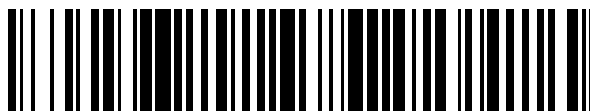


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 489 115**

51 Int. Cl.:

C07D 209/52	(2006.01)
C07D 209/02	(2006.01)
C07K 7/06	(2006.01)
C07K 5/02	(2006.01)
C07K 5/08	(2006.01)
C07K 5/10	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2001 E 10185132 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014 EP 2368877**

54 Título: **Inhibidores de la proteasa peptidomiméticos y compuestos intermedios para su preparación como tratamiento para infección por VHC**

30 Prioridad:

31.08.2000 US 229398 P
21.03.2001 US 277641 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.09.2014

73 Titular/es:

VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)
50 Northern Avenue
Boston, MA 02210, US

72 Inventor/es:

BABINE, ROBERT EDWARD;
CHEN, SHU-HUI;
LAMAR, JASON ERIC;
SNYDER, NANCY JUNE;
SUN, XICHENG;
TEBBE, MARK JOSEPH;
VICTOR, FRANTZ;
WANG, MAY Q.;
YIP, MAI YEE YVONNE;
COLLADO, IVAN;
GARCIA-PAREDES, CRISTINA;
PARKER III, SAMUEL RAYMOND;
JIN, LING;
GUO, DEQI y
GLASS, JOHN IRVIN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 489 115 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 la proteasa peptidomiméticos y compuestos intermedios para su preparación como tratamiento para infección por VHC

5 La presente invención se refiere a compuestos peptidomiméticos y compuestos intermedios de los mismos, a composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos peptidomiméticos y al uso de compuestos peptidomiméticos o composiciones de los mismos como inhibidores de la proteasa, en particular como inhibidores de la serín proteasa y más en particular como inhibidores de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C ("VHC"). Los compuestos peptidomiméticos, como inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, son particularmente útiles para interferir en el ciclo vital del virus de la hepatitis C y en el tratamiento o prevención de una infección por VHC o afecciones fisiológicas asociadas con la misma. La presente invención también se refiere a compuestos peptidomiméticos o a composiciones farmacéuticas, o a kits y envases de medicamentos para su uso en procedimientos de terapia de combinación para inhibir la replicación de VHC en células, o para su uso en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en pacientes. De acuerdo con la presente invención se incluyen como composiciones farmacéuticas aquellas que comprenden un inhibidor de la serín proteasa de VHC en combinación con un interferón que tenga actividad anti VHC; un inhibidor de la serín proteasa de VHC en combinación con un compuesto, distinto de un interferón, que tenga actividad anti VHC; o un inhibidor de la serín proteasa de VHC en combinación con tanto un interferón que tenga actividad anti VHC como con un compuesto, distinto de un interferón, que tenga actividad anti VHC. Además, la presente invención se refiere a procedimientos estereoselectivos para la preparación de intermedios quirales de bicicloprolinato útiles para la síntesis de los compuestos peptidomiméticos.

20 La infección por VHC es un problema médico humano apremiante y ahora se reconoce como el agente causante de la mayor parte de las hepatitis no-A, no-B.

Se cree que el VHC infecta de manera crónica al 3 % de la población mundial [A. Alberti y Col., "Natural History of Hepatitis C," J. Hepatology, 31, (Supl. 1), 17-24 (1999)]. Solo en los Estados Unidos, la tasa de infección es del 1,8 % o 3,9 millones de personas [M.J. Alter, "Hepatitis C Virus Infection in the United States," J. Hepatology, 31, (Supl. 1), 88-91 (1999)]. De todos los pacientes infectados más del 70 % desarrollan una infección crónica que se cree que es la principal causa de cirrosis y de carcinoma hepatocelular. [D. Lavanchy, "Global Surveillance and Control of Hepatitis C," J. Viral Hepatitis, 6, 35-47 (1999)]

30 La replicación del VHC abarca la codificación genómica de una poliproteína de 3010-3033 aminoácidos [Q.-L. Choo, *et al.*, "Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 2451-2455 (1991); N. Kato y Col., "Molecular Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome From Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 9524-9528 (1990); A. Takamizawa y Col., "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated From Human Carriers", J. Virol., 65, 1105-1113 (1991)]. Se supone que las proteínas no estructurales (NS) del VHC proporcionan la maquinaria catalítica esencial para la replicación viral. Las proteínas NS se derivan por escisión proteolítica de la poliproteína [R. Bartenschlager y Col., "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions", J. Virol., 67, 3835-3844 (1993); A. Grakoui y Col., "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Pro- teinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites", J. Virol., 67, 2832-2843 (1993); A. Grakoui y Col., "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products", J. Virol., 67, 1385-1395 (1993); L. Tomei y Col., "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein", J. Virol., 67, 4017-4026 (1993)]. De hecho, se ha demostrado que los 181 primeros aminoácidos NS3 (restos 1027-1207 de la poliproteína viral) contienen el dominio de serín proteasa de NS3 que procesa los cuatro sitios cadena abajo de la poliproteína de VHC [C. Lin y Col., "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans-Cleavage Requirements and Processing Kinetics", J. Virol., 68, 8147-8157 (1994)].

45 La proteína NS 3 (NS3) de VHC contiene una actividad de serín proteasa que ayuda en el procesamiento de la mayoría de las enzimas virales y por tanto se considera esencial para la replicación e infectividad viral. La esencialidad de la proteasa NS3 se infirió a partir del hecho de que las mutaciones en la proteasa NS3 del virus de la fiebre amarilla disminuyen la infectividad viral [T.J. Chambers y Col., "Evidence that the N-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever Virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 8898-8902 (1990)]. Más recientemente, se demostró que las mutaciones en el sitio activo de la proteasa NS3 del VHC podían suprimir por completo la infección por VHC en un modelo de chimpancé [C.M. Rice y Col., "Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3'-nontranslated region are essential for virus replication *in vivo*." J. Virol., 74(4) 2046-51 (2000)]. La serín proteasa NS3 del VHC también se considera esencial para la replicación viral ya que esta y su cofactor asociado, NS4A, ayudan en el procesamiento de todas las enzimas virales. Este procesamiento parece ser análogo al que desarrolla la aspartil proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana ("VIH"). Además, el uso demostrado de inhibidores de la proteasa de VIH como potentes agentes antivirales en seres humanos demuestra que la interrupción de la etapa de procesamiento de la proteasa en el ciclo vital viral da como resultado agentes terapéuticamente activos. En consecuencia, la enzima proteasa es una diana atractiva para el descubrimiento de fármacos.

60 Se han descrito varios inhibidores potenciales de la proteasa de VHC. Las Publicaciones PCT Número WO 00/09558, WO 00/09543, WO 99/64442, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/50230, WO98/46630, WO 98/17679 y WO

97/43310, Patente de los Estados Unidos N°. 5,990,276, M. Llinas-Brunet y Col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 1713-1718 (1998), W. Han y Col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 711-713 (2000), R. Dunsdon y Col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 1571-1579 (2000), M. Llinas-Brunet y Col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 2267-2270 (2000) y S. LaPlante y Col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 2271-2274 (2000) describen cada una inhibidores potenciales de la proteasa NS3 de VHC. Desafortunadamente, no hay actualmente disponibles inhibidores de la serín proteasa como agentes anti VHC.

De hecho, no hay terapias anti VHC a excepción del interferón- α , combinación de interferón- α /ribavirina y más recientemente interferón- α pegilado. Las tasas de respuesta controlada para las terapias con interferón- α e interferón- α /ribavirina, sin embargo, tienden a ser bajas (<50 %) y los efectos secundarios mostrados por las terapias tienden a ser significativos y severos [M.A. Walker, "Hepatitis C Virus: an Overview of Current Approaches and Progress," DDT, 4, 518-529 (1999); D. Moradpour y Col., "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C," Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, 1199-1202 (1999); H.L.A. Janssen y Col., "Suicide Associated with Alfa-interferón Therapy for Chronic Viral Hepatitis," J. Hepatol., 21, 241-243 (1994); y P.F. Renault y Col., "Side effects of alfa interferón", Seminars in Liver Disease 9, 273-277, (1989)]. Además, las terapias con interferón solo inducen remisión a largo plazo en una fracción (~ 25 %) de los casos [O. Weiland, "interferón Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection", FEMS Microbiol. Rev., 14, 279-288 (1994)]. Los problemas anteriormente mencionados con las terapias con interferón- α han conducido incluso al desarrollo de estudios clínicos de compuestos derivatizados de interferón- α pegilados como agentes terapéuticos anti-VHC mejorados.

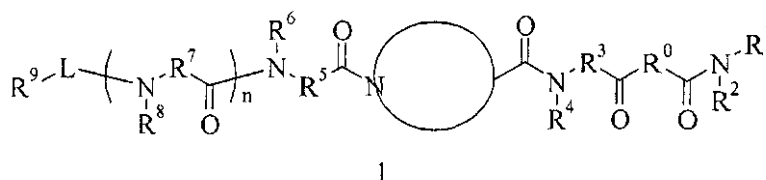
A la vista de la situación actual en referencia a agentes terapéuticos anti VHC, queda claro que hay una necesidad de terapias más efectivas y mejor toleradas.

Además, la síntesis de compuestos peptidomiméticos complejos se ha visto obstaculizada durante mucho tiempo por la naturaleza no estereoselectiva de la mayoría de los procedimientos sintéticos orgánicos. Se conoce bien que la actividad terapéutica de los enantiómeros de compuestos peptidomiméticos varía ampliamente. Por tanto es muy beneficioso proporcionar dichos procedimientos sintéticos esteroespecíficos.

Los intentos anteriores de sintetizar intermedios de bicicloprolinato quiralmente específicos, útiles en la síntesis de los presentes inhibidores de la proteasa peptidomiméticos terapéuticos, han padecido no ser enantioselectivos, o diastereoselectivos, o de abarcar rutas sintéticas largas, o no ser adecuados para preparar grandes cantidades de producto. Por tanto, hay también una necesidad de un medio para preparar grandes cantidades de bicicloprolinatos de forma diaestereoselectiva y en forma enantioméricamente selectiva.

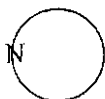
30 Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto peptidomimético de fórmula 1



una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato de dicho compuesto, o su sal, en la que:

35 R^0 es un enlace o difluorometileno difluorometileno;
 R^1 es hidrógeno, grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;
 cada uno de R^2 y R^9 es independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, un grupo cíclico opcionalmente sustituido o un grupo aromático opcionalmente sustituido;
 R^3 , R^5 y R^7 son cada uno independientemente:
 40 un cicloalquilo opcionalmente sustituido (1,1- o 1,2-),
 un heterociclileno opcionalmente sustituido (1,1- o 1,2-), o
 metileno o etileno, sustituido con un sustituyente seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo alifático opcionalmente sustituido, un grupo cíclico opcionalmente sustituido o un grupo aromático opcionalmente sustituido y en el que el metileno o etileno está opcionalmente sustituido adicionalmente con un sustituyente de
 45 grupo alifático;
 R^4 , R^6 , R^8 y R^{10} son cada uno independientemente hidrógeno o grupo alifático opcionalmente sustituido;



es un azaheterociclililo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente

sustituido en el que la insaturación está en el anillo distal al anillo que porta el resto $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_nN(R^6)-R^5-C(O)-N$ y al que está unido el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$; L es $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$, o $-NR^{10}S(O)_2-$; y n es 0 o 1;

5 cíclico es un sistema de anillo no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono; un sistema de anillo no aromático, mono o multicíclico, de 3 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono; un sistema de anillo saturado, no aromático, mono o multicíclico, de 3 a 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el anillo es un heteroátomo; o un sistema de anillo mono o multicíclico saturado, no aromático de 3 a 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono del anillo es un heteroátomo y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono; y aromático es un sistema de anillo aromático monocíclico o multicíclico de 6 a 10 átomos de carbono, o un sistema de anillo aromático monocíclico o multicíclico de 5 a 14, en el que uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo, en la que:

15 son grupos alifáticos opcionalmente sustituidos, alquilo, alquenilo o alquinilo, opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo alifático;
son grupos cíclicos opcionalmente sustituidos, cicloalquilo, cicloalquenilo, grupos heterociclilo o heterociclenilo opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
son grupos aromáticos opcionalmente sustituidos, grupos arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

20 son grupo cicloalquilenilo (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos, grupos cicloalquilenilo (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
son grupos heterocicliclenilo (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos, grupos heterocicliclenilo (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

25 es azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, un grupo azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
es azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, un grupo azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

en la que:

30 (a) sustituyentes de grupo alifático significan arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, ciclioxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo o su análogo tioxo, cicliilcarbonilo o su análogo tioxo, aroilo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, cicliilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonilcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, alcoxilcarbonilo, cicliiloxilcarbonilo, ariloxilcarbonilo, heteroariloxilcarbonilo, alquilsulfonilo, cicliilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, cicliilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, cicliiltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, metileno ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$, o $Y^3SO_2NY^1-$ en el que R^2 es como se define en el presente documento, Y^1 e Y^2 son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, e Y^3 es alquilo, cicloalquil arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y^1Y^2N- , entonces uno de Y^1 e Y^2 puede ser acilo, cicliilcarbonilo, aroilo, heteroarilo, alcoxilcarbonilo, cicliiloxilcarbonilo, ariloxilcarbonilo o heteroariloxilcarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y^1 e Y^2 es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. Y^1 e Y^2 también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y^1 e Y^2 se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros;

35 (b) sustituyentes de grupo de anillo significan arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, ciclioxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo o su análogo tioxo, cicliilcarbonilo o su análogo tioxo, aroilo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, cicliilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), biostero de ácido, alcoxilcarbonilo, cicliiloxilcarbonilo, ariloxilcarbonilo, heteroariloxilcarbonilo, alquilsulfonilo, cicliilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, cicliilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, cicliiltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. donde Y^1 , Y^2 e Y^3 son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y^1Y^2N- , entonces uno de Y^1 e Y^2 puede ser acilo, cicliilcarbonilo, aroilo, heteroarilo, alcoxilcarbonilo, cicliiloxilcarbonilo, ariloxilcarbonilo o heteroariloxilcarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y^1 e Y^2 es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. Y^1 e Y^2 también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y^1 e Y^2 se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros; o cuando un sistema de anillo está saturado o parcialmente saturado, los "sustituyentes de grupo de anillo" incluyen además, metileno ($H_2C=$), oxo ($O=$) y tioxo ($S=$);

50 (c) arilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico, de 6 a 14 átomos de carbono;

55 (d) cicloalquilo significa un sistema de anillo no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono;

60 (e) cicloalquenilo significa un sistema de anillo no aromático mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono;

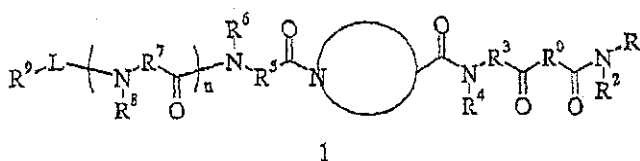
(f) ciclilo significa cicloalquilo, cicloalquenilo, heterociclilo o heterociclenilo;

(g) heterociclilo significa un sistema de anillo saturado no aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distinto de carbono;

5 (h) heterociclenilo significa un sistema de anillo no aromático, monocíclico o multicíclico, de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillos es o son hetero elementos distintos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono o doble enlace carbono-nitrógeno; y

10 (i) heteroarilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distintos de carbono.

También se describe un compuesto peptidomimético de fórmula I



en la que:

15 R⁰ es un enlace o difluorometileno difluorometileno;
R¹ es hidrógeno, grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático sustituido;

20 cada uno de R² y R⁹ es independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;

R³, R⁵ y R⁷ son cada uno independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido (metileno opcionalmente sustituido o etileno opcionalmente sustituido), cicloalquilenilo opcionalmente sustituido (1,1- o 1,2,) o heterociclileno opcionalmente sustituido (1,1- o 1,2-);

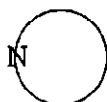
R⁴, R⁶, R⁸ y ¹⁰ son cada uno independientemente hidrógeno o grupo alifático opcionalmente sustituido;



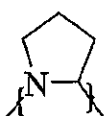
25 es azaheterociclilo opcionalmente sustituido o azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido en el que la insaturación está en el anillo distal al anillo que porta el resto R⁹-L-(N(R⁸)-R⁷-C(O)-)_n-N(R⁶)-R⁵-C(O)-N y al que está unido el resto -C(O)-N(R⁴)-R³-C(O)C(O)NR²R¹;

30 L es -C(O)-, -OC(O)-, -NR¹⁰C(O)-, -S(O)₂-, o -NR¹⁰S(O)₂-; y
n es 0 o 1, o

una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de los mismos, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco, con la condición de que cuando

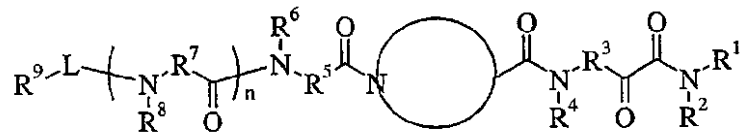


35 está sustituido



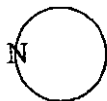
40 entonces L es -OC(O)- y R⁹ es alifático opcionalmente sustituido, o al menos uno de R³, R⁵ y R⁷ es (grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido) (etanodiilo opcionalmente sustituido), o R⁴ es alifático opcionalmente sustituido.

La presente invención también proporciona un compuesto que tiene la fórmula estructural:

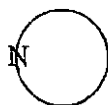


en la que:

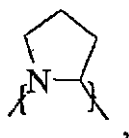
- 5 R^1 es hidrógeno, grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;
 cada uno de R^2 y R^3 es independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;
 10 R^3 , R^5 y R^7 son cada uno independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido) (metanodiilo opcionalmente sustituido o etanodiilo opcionalmente sustituido),
 R^4 , R^6 , R^8 y R^{10} son cada uno independientemente hidrógeno o grupo alifático opcionalmente sustituido;



- 15 es azaheterociclilo opcionalmente sustituido o azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido en el que la insaturación está en el anillo distal al anillo que porta el resto $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_nN(R^6)-R^5-C(O)-N$ y al que está unido el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$;
 L es $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$, o $-NR^{10}S(O)_2-$; y n es 0 o 1, o
 20 una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de los mismos, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco, con la condición de que cuando



está sustituido

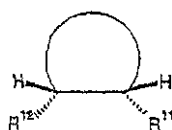


- 25 entonces L es $-OC(O)-$ y R^9 es alifático opcionalmente sustituido, o al menos uno de R^3 , R^5 y R^7 es (grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido) (etanodiilo opcionalmente sustituido), o R^4 es alifático opcionalmente sustituido.

La invención también está dirigida a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención y el compuesto de la invención para su uso en la inhibición de proteasa del VHC, o tratamiento o prevención de una infección o por VHC en pacientes o afección fisiológica relacionada con la invención.

- 30 Los compuestos de la invención pueden prepararse usando un procedimiento estereoselectivo para la preparación de un compuesto bicicloprolinato quiral que es un intermedio útil en la preparación de un compuesto de la fórmula 1. El procedimiento sintético comprende las etapas de:

(a) escindir y ciclar un compuesto de fórmula 24



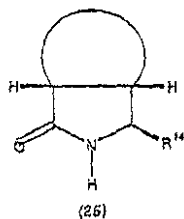
(24)

- 35 en la que:



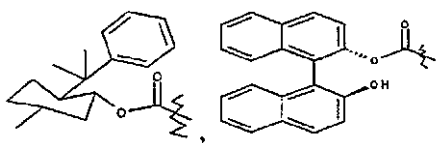
es cicloalquilo opcionalmente sustituido o arilcicloalquilo condensado opcionalmente sustituido;

- 5 R^{11} es $-CO_2R^{13}$;
 R^{12} es un aducto de glicinimida imínico;
 R^{13} es un grupo protector de ácidos o un grupo alifático opcionalmente sustituido; en condiciones de escisión y ciclación para formar un compuesto de fórmula 25

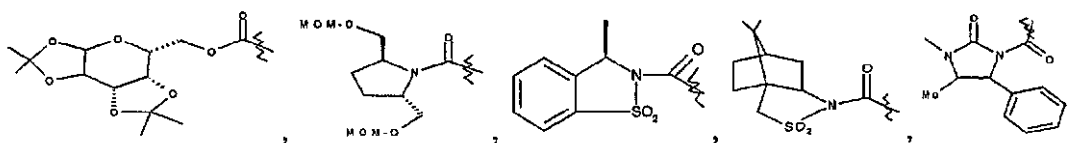


en la que:

R^{14} es $-CONR^{15}R^{15}$, $-CN$;



10

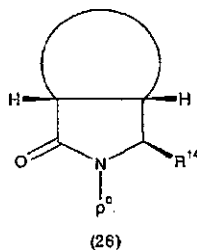


o $-CO_2R^{16}$;

R^{15} es un grupo alifático opcionalmente sustituido;

R^{16} es un grupo protector de ácidos, arilo opcionalmente sustituido, o un grupo alifático opcionalmente sustituido; y

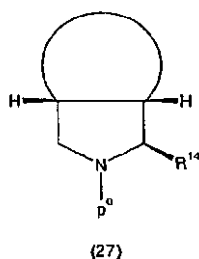
- 15 (b) proteger el nitrógeno del resto lactama en el compuesto de fórmula 25 con un grupo protector de amida para formar un compuesto de fórmula 26



en la que:

- 20 p^O es un grupo protector de amida;
 R^{14} es como se describe en el presente documento; y

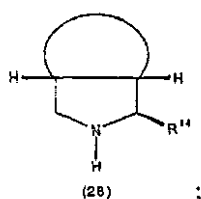
(c) reducir el compuesto de fórmula 26 en condiciones de reducción para formar un compuesto de fórmula 27



en la que:

P^O y R^{14} son como se describen en el presente documento; y

(d) desproteger el compuesto de fórmula 27 en condiciones de desprotección para formar un compuesto de fórmula 28

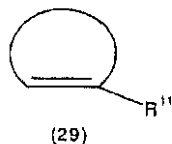


5

en la que:

R^{14} es como se describe en el presente documento;

El procedimiento sintético anterior puede comprender además la etapa en la que el compuesto de fórmula 24 se prepara realizando una adición de Michael con un compuesto de glicinimida imínico en un compuesto de fórmula 29



10

en la que:



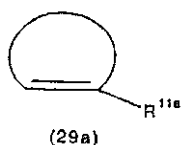
es cicloalquienilo opcionalmente sustituido o arilcicloalquienilo condensado opcionalmente sustituido;

R^{11} es $-CO_2R^{13}$;

en la que:

el compuesto de fórmula 29 puede prepararse por esterificación de un compuesto de fórmula 29a

15



en la que:



20

es cicloalquienilo opcionalmente sustituido o arilcicloalquienilo condensado opcionalmente sustituido;

R^{110} es $-CHO$, $-COR^{15}$, $-C\equiv N$, o $-CONR^{15}R^{15}$; y

R^{15} es como se describe en el presente documento;

De manera notable, un experto en la materia sabría que la conversión de cetonas en ésteres puede conseguirse, por ejemplo, mediante una reacción Bayer-Villiger. La conversión de nitrilos y amida en ésteres puede conseguirse, por ejemplo, por hidrólisis acuosa, seguido de esterificación adicional. La conversión de aldehídos en ésteres puede conseguirse, por ejemplo, por oxidación del aldehído, seguido de esterificación.

- 5 Otro aspecto de la invención es un compuesto de fórmula 1, en la que los sustituyentes se seleccionan entre una combinación de realizaciones preferidas o particulares como se definen en el presente documento.

Otro aspecto de la invención es un compuesto de las fórmulas 24-29, en el que los sustituyentes se seleccionan entre una combinación de realizaciones preferidas o particulares como se definen en el presente documento.

- 10 Otro aspecto de la invención son composiciones farmacéuticas que comprenden, además de uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC, uno o más interferones o compuestos que induzcan la producción de interferones que muestren actividad anti VHC y/o uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC, incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 15 Otro aspecto de la invención son los usos de los compuestos de la invención en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente que lo necesite, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad farmacéuticamente efectiva de una combinación de uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC; uno o más interferones o compuestos que induzcan la producción de un interferón que muestre actividad anti VHC; y/o uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC, incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC.

- 20 La invención también se refiere al uso de uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC en combinación con uno o más interferones o compuestos que induzcan la producción de un interferón que muestre actividad anti VHC y/o uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC, incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC, para preparar un medicamento para tratar o prevenir una infección por VHC en un paciente que lo necesite.

- 25 La presente invención también se refiere a un kit o paquete farmacéutico para su uso en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente, en el que el kit o paquete farmacéutico comprende una variedad de recipientes separados, en el que al menos uno de dichos recipientes contiene uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC (solos o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable o diluyente), al menos otro de dichos recipientes contiene uno o más interferones o compuestos que induzcan la producción de un interferón que muestre actividad anti VHC, (solos o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable o diluyente) y, opcionalmente, al menos otro de dichos recipientes contiene uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC (solos o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable o diluyente), incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC.

- 35 La cantidad de inhibidor(es) de la serín proteasa de VHC, interferón(es), o compuestos anti VHC en cualquiera de las aplicaciones precedentes puede ser una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad efectiva anti VHC subclínica, o una de sus combinaciones, siempre que la combinación final de inhibidor(es) de la serín proteasa de VHC, interferón(es), o compuestos que induzcan la producción de un interferón que muestre actividad anti VHC, y/o el(los) compuesto(s) anti VHC comprenda una cantidad farmacéuticamente efectiva de compuestos que sea efectiva en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente.

40 **Breve descripción de las figuras**

Los anteriores y otros aspectos, rasgos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor a partir de la siguiente descripción detallada tomada en conjunto con los dibujos adjuntos, todos los cuales se proporcionan a modo exclusivamente ilustrativo y no son limitativos de la presente invención, en los que:

- 45 La Figura 1 muestra la inhibición de la acumulación de ARN del replicón de VHC 48 horas después de tratar a células que contienen replicón con el Compuesto CU e interferón alfa 2B, individualmente o en combinación.

La Figura 2 muestra gráficamente concavidad de la isobola mostrada por compuestos usados en combinación que son antagonistas, aditivos y sinérgicos de acuerdo con los métodos de cálculo de sinergia de Greco, Park y Rustom ((1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318-5327).

- 50 La Figura 3 muestra la relación geométrica entre α y la cantidad de curvatura en la isobola. Una isobola hipotética en el nivel de efecto $E = 50\%$ se muestra con una isobola en línea recta que se esperaría bajo actividad. M es el punto de intersección de la recta $y = x$ y la isobola hipotética. N es el punto de intersección de la recta $y = x$ y la isobola en línea recta. O es el origen (0,0). S proporciona una medida de la cantidad de curvatura en la isobola, donde $S = ON/OM$. ON es la distancia de O a N y OM es la distancia de O a M. El parámetro α se relaciona con S mediante la ecuación $\alpha = 4(S^2 - S)$.

- 55 La figura 4 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto CU e interferón alfa 2B (Schering-Plough) usando 6 diluciones de cada compuesto en el Experimento 1. La figura 5 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col.,

anteriormente citado, para la combinación de compuesto CU e interferón alfa 2A usando 6 diluciones de cada compuesto en el Experimento 2.

La figura 6 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto CU e interferón alfa 2B (Schering-Plough) usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 3. La figura 7 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto CU e interferón alfa 2A usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 4.

La figura 8 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto CU e interferón ovino tau usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 5.

La figura 9 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto EC e interferón alfa 2B (Schering-Plough) usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 6. La figura 10 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto EC e interferón alfa 2A usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 7.

La figura 11 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto CU e interferón beta usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 8.

La figura 12 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de compuesto EP e interferón alfa 2B (Schering-Plough) usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 9.

La figura 13 muestra los cálculos de la isobola usando el método de Greco y Col., *anteriormente citado*, para la combinación de Ribavirina e interferón alfa 2B (Schering-Plough) usando 8 diluciones de cada compuesto en el Experimento 10.

La Figura 14 muestra la inhibición de la acumulación de ARN de replicón de VHC causada por el tratamiento de células de replicón con o bien (A) Ribavirina sola o (B) interferón alfa 2B solo. En ambos paneles, se muestra la inhibición medida así como la inhibición corregida para la citotoxicidad de los compuestos.

Descripción detallada de la invención

Como se usa anteriormente y a lo largo de la descripción de la invención, las siguientes abreviaturas, salvo que se indique de otra forma, se entenderá que tienen los siguientes significados:-

Designación	Reactivo o Fragmento
ACN	acetonitrilo
AIBN	2,2'-azobisisobutironitrilo
BOC o Boc	carbamato de <i>terc</i> -butilo
BOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitris (dimetilamino)fosfonio
n-Bu ₃ SnH	hidruro de tri-n-butilestaño
t-Bu	<i>terc</i> -butilo

(continuación)

Designación

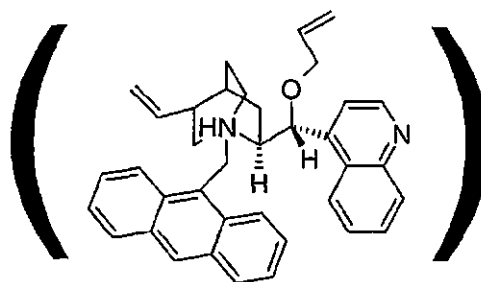
Reactivo o Fragmento

Cbz

carbamato de bencilo

PTC quiral

catalizador de transferencia de fases quiral



DAST

trifluoruro de (dietilamino)azufre (Et_2NSF_3)

DCC

diciclocarbodiimida

DCM

diclorometano (CH_2Cl_2)

DIBAL-H

Hidruro de diisobutilaluminio

DIC

1,3-diisopropilcarbodiimida

DIPEA

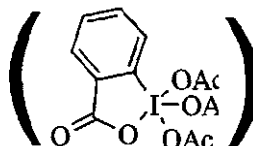
diisopropiletilamina

DMAP

4-(N,N-dimetilamino)piridina

Reactivo DMP

reactivo de Peryodinano de Dess-Martin



DMF

dimetilformamida

DMSO

dimetilsulfóxido

EA

análisis elemental

EDCI

HCl de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida

equiv.

equivalente o equivalentes

Et

etilo

 Et_2O

éter dietílico

EtOH

etanol

EtOAc

acetato de etilo

 Et_3Si

trietilsilano

Fmoc

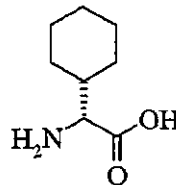
9-fluorenilmetoxicarbonilo

(continuación)

Designación

Reactivo o Fragmento

H-Chg-OH



HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBT	1-hidroxibenzotriazol
HOSu	N-hidroxisuccinamida
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
LAH	anhídrido de litio y aluminio
Me	metilo
MeI	yoduro de metilo
MeOH	metanol
MeOC(O)Cl	cloroformiato de metilo
MOMCl	cloruro de metoximetilo
MOM	metoximetilo
EM	espectroscopía de masas
NaBH ₄	borohidruro sódico
Na ₂ C ₄ H ₄ O ₆	tartrato sódico
NMP	N-metil pirrolidinona
RMN	resonancia magnética nuclear
P-	Enlace de polímero
PyBOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitris-pirrolidino-fosfonio
TBD	1,5,7-triazabicyclo[4,4.0]-dec-5-eno
RP-HPLC	fase inversa - cromatografía de líquidos de alta presión
TBSCl	cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsililo
TCA	ácido tricloroacético
TFA	ácido trifluoroacético
Tf ₂ O	triflato anhídrido
THF	tetrahidrofurano
THP	tetrahidropirano
TLC	cromatografía de capa fina

Como se usa anteriormente y a lo largo de la descripción de la invención, los siguientes términos, salvo que se indique de otra forma, se entenderá que tienen los siguientes significados:

5 "Bioisótero ácido" significa un grupo que tiene similitudes físicas y químicas que en general producen propiedades biológicas similares a un grupo carboxílico (véase Lipinski. Annual Reports in Medicinal Chemistry, "Bioisosterism In Drug Design" 21, 283 (1986); Yun, Hwahak Sekye, "Application Of Bioisosterism To New Drug Design" 33, 576-579, (1993); Zhao, Huaxue Tongbao, "Bioisosteric Replacemant And Development Of Lead Compounds In Drug Design" 34-38, (1995); Graham, Theochem, "Theoretical Studies Applied To Drug Design:ab initio Electronic Distributions In Bioisosteres" 343, 105-109, (1995)). Los bioisósteros ácidos ejemplares incluyen -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonilcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo y similares.

15 "grupo funcional ácido" significa un resto que porta un hidrógeno ácido. Los grupos funcionales de ácido incluyen carboxilo (-C(O)OH), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonilcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, imidazolilo, mercapto y similares y un hidrógeno adecuado, tal como un hidrógeno aromático, por ejemplo, hidroxifenilo.

20 "Grupo protector de ácidos" significa un grupo fácilmente retirable que se sabe en la técnica que protege un hidrógeno ácido de un grupo carboxilo frente a una reacción indeseada durante los procedimientos sintéticos, por ejemplo, para bloquear o proteger la funcionalidad ácido mientras se realizan las reacciones que implican otros sitios funcionales del compuesto y para que pueden retirarse selectivamente. Dichos grupos protectores de ácidos son bien conocidos por los expertos en la materia, habiéndose usado ampliamente en la protección de grupos carboxilo, como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 3,840,556 y 3,719,667. Para grupos protectores de ácidos adecuados, véase T.W. Green y P.G.M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 1991. El grupo protector de ácidos también incluye un grupo protector lábil a hidrogenación como se define en el presente documento. Los grupos protectores de ácidos ejemplares incluyen ésteres, tales como alquilo inferior C₁₋₈ sustituido y sin sustituir, por ejemplo, metilo, etilo, t-butilo, metoximetilo, metiltiometilo, 2,2,2-tricloroetilo y similares, tetrahidropirano, fenilalquilo sustituido y sin sustituir, tal como bencilo y derivados sustituidos de los mismos, tales como grupos alcoxibencilo o nitrobencilo y similares, cinamilo, dialquilaminoalquilo, por ejemplo, dimetilaminoetilo y similares, trimetilsililo, amidas e hidrazidas sustituidas y sin sustituir, por ejemplo, amidas e hidrazidas de N,N-dimetilamina, 7-nitroindol, hidrazina, N-fenilhidrazina y similares, grupos aciloxialquilo, tales como pivaloiloximetilo o propioniloximetilo y similares, aroiloalquilo, tales como benzoiloalquilo y similares, alcoxycarbonilalquilo, tales como metoxycarbonilmetilo, ciclohexiloalquilo y similares, alcoxycarboniloxialquilo, tales como t-butiloalcoxycarboniloximetilo y similares, alcoxycarbonilaminoalquilo, tales como t-butiloalcoxycarbonilaminometilo y similares, alquilaminocarbonilaminoalquilo, tales como metilaminocarbonilaminometilo y similares, acilaminoalquilo, tales como acetilaminometilo y similares, heterociclilcarboniloxialquilo, tal como 4-metilpiperazinil-carboniloximetilo y similares, dialquilaminocarbonilalquilo, tal como dimetilaminocarbonilmetilo y similares, (5-(alquilo inferior)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)alquilo, tal como (5-t-butil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo y similares y (5-fenil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)alquilo, tal como (5-fenil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo y similares.

"Grupo protector de amina lábil a ácidos" significa un grupo protector de amina como se define en el presente documento que se retira fácilmente por tratamiento con ácido mientras se mantiene relativamente estable a otros reactivos. Un grupo protector de amina lábil a ácidos preferido es BOC.

"Alifático" significa alquilo, alqueno o alquino como se define en el presente documento.

45 "Sustituyente o sustituyentes de grupo alifático" significan sustituyentes unidos a un grupo alifático como se define en el presente documento incluyendo arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, cicloaloxi, arilo, heteroarilo, acilo o su análogo tioxi, cicloalcarbonilo o su análogo tioxi, aroilo o su análogo tioxi, heteroarilo o su análogo tioxi, aciloxi, cicloalcarbonilo, aroilo, heteroarilo, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonilo-carbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, alcoxycarbonilo, cicloaloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, alquilsulfonilo, cicloaloxycarbonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, cicloaloxycarbonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonilo, aroilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicloaloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y¹ e Y² es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³, Y¹Y²NSO₂-, o Y³SO₂NY¹- en el que R² es como se define en el presente documento, Y¹ e Y² son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, e Y³ es alquilo, cicloalquilo arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²N-, entonces uno de Y¹ e Y² puede ser acilo, cicloalcarbonilo, aroilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicloaloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y¹ e Y² es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. Y¹ e Y² también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y¹ e Y² se unen para formar un azaheterociclo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros. Son sustituyentes de grupo alifático ácido/amida, carboxi (ácido), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo,

N-metoxicarbamoílo, heteroarilsulfonilcarbamoílo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo y Y^1Y^2NCO- . Son sustituyentes de grupo alifático polar no ácidos, hidroxilo, oxo (O=), tioxo (S=), acilo o su análogo tioxo, ciclicarbonilo o su análogo tioxo, aroílo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, alcocarbonilo, ciclicarbonilo, ariloxicarbonilo, heteroariloxicarbonilo, aciloxi, ciclicarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, alquilsulfonilo, ciclicarboniloxi, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclicarboniloxi, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. Los grupos alifáticos ejemplares que portan un sustituyente de grupo alifático incluyen metoximetoxi, metoxietoxi, etoxietoxi, (metoxi-, benciloxi-, fenoxi-, o etoxi-)carbonil(metilo o etilo), benciloxicarbonilo, piridilmetiloxi-carbonilmetilo, metoxietilo, etoximetilo, n-butoximetilo, ciclopentilmetiloxietilo, fenoxipropilo, fenoxialilo, trifluorometilo, ciclopropil-metilo, ciclopentilmetilo, carboxi(metilo o etilo), 2-feneteno, benciloxi, 1- o 2-naftil-metoxi, 4-piridil-metiloxi, benciloxietil, 3-benciloxialilo, 4-piridilmetil-oxietilo, 4-piridilmetil-oxialilo, bencilo, 2-fenetilo, naftilmetilo, estirilo, 4-fenil-1,3-pentadienilo, fenil-propinilo, 3-fenilbut-2-inilo, pirid-3-ilacetilenil y quinolin-3-ilacetilenilo, 4-piridil-etinilo, 4-piridilvinilo, tienileteno, piridiletieno, imidazolil-eteno, pirazinileteno, piridilpenteno, piridilhexeno y piridilhepteno, tienil-metilo, piridilmetilo, imidazolilmetilo, pirazinilmetilo, tetrahidropiranimetilo, tetrahidropiranimil-metil-oximetilo y similares.

"Acilo", se refiere un grupo $H-CO-$ o (alifático o ciclico)- $CO-$, en el que el grupo alifático es como se describe en el presente documento. Los acilos preferidos contienen un alquilo inferior. Los grupos acilo ejemplares incluyen formilo, acetilo, propanoílo, 2-metilpropanoílo, butanoílo, palmitoílo, acrilólo, propinoílo, ciclohexilcarbonilo y similares.

"Alquenoílo" significa un grupo alquenoil- $CO-$, en el que alquenoílo es como se define en el presente documento.

"Alquenoílo" significa un grupo hidrocarburo alifático que contiene un doble enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, teniendo de aproximadamente 2 a aproximadamente 15 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo preferidos tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono en la cadena; y más preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono en la cadena. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo inferior, tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena de alquenoílo lineal. "Alquenoílo inferior" significa de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono en la cadena que puede ser lineal o ramificada. Los grupos alquenoílo ejemplares incluyen eteno, propeno, n-butenilo, i-butenilo, 3-metilbut-2-eno, n-penteno, hepteno, octeno, ciclohexilbuteno, deceno y similares. "Alquenoílo sustituido" significa un grupo alquenoílo como se ha definido anteriormente que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo alifático" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son como se definen en el presente documento. Los sustituyentes de grupo alifático ejemplares incluyen grupos halo o cicloalquilo.

"Alquenoiloxi" significa un grupo alquenoil- $O-$ en el que el grupo alquenoílo es como se describe en el presente documento. Los grupos alquenoiloxi ejemplares incluyen alilo, 3-buteniloxi y similares.

"Alcoxi" significa un grupo alquil- $O-$, en el que el grupo alquilo es como se describe en el presente documento. Los grupos alcoxi ejemplares incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi, heptoxi y similares.

"Alcoxiarbonilo" significa un grupo alquil- $O-CO-$, en el que el grupo alquilo es como se define en el presente documento. Los grupos alcocarbonilo ejemplares incluyen metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butiloxicarbonilo y similares.

"Alquilo" significa un grupo hidrocarburo alifático que puede ser lineal o ramificado, que tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo preferidos tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono en la cadena, se prefiere más alquilo inferior como se define en el presente documento. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo inferior, tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena de alquilo lineal. "Alquilo inferior" significa de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono en la cadena que puede ser lineal o ramificada. "Alquilo sustituido" significa un grupo alquilo como se ha definido anteriormente que están sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo alifático" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son como se definen en el presente documento.

"Alquilsulfonilo" significa un grupo alquil- $SO-$, en el que el grupo alquilo es como se ha definido anteriormente. Son grupo preferidos aquellos en los que el grupo alquilo es alquilo inferior.

"Alquilsulfonilo" significa un grupo alquil- SO_2- , en el que el grupo alquilo es como se ha definido en el presente documento. Son grupo preferidos aquellos en los que el grupo alquilo es alquilo inferior.

"Alquilsulfonilcarbamoílo" significa un grupo alquil- $SO_2-NH-C(=O)-$, en el que el grupo alquilo es como se ha descrito en el presente documento. Los grupos alquilsulfonilcarbamoílo preferidos son aquellos en los que el grupo alquilo es alquilo inferior.

"Alquiltio" significa un grupo alquil- $S-$, en el que el grupo alquilo es como se describe en el presente documento. Los grupos alquilo ejemplares incluyen metiltio, etiltio, i-propiltio y heptiltio.

"Alquinoílo" significa un grupo hidrocarburo alifático que contiene un triple enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, teniendo de aproximadamente 2 a aproximadamente 15 átomos de carbono en la cadena. Los

grupos alquínilo preferidos tienen de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono en la cadena; y más preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono en la cadena. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo inferior, tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena de alquínilo lineal. "Alquínilo inferior" significa de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono en la cadena que puede ser lineal o ramificada. El grupo alquínilo puede estar sustituido con uno o más halo. Los grupos alquínilo ejemplares incluyen etínilo, propínilo, n-butínilo, 2-butínilo, 3-metilbutínilo, n-pentínilo, heptínilo, octínilo, decínilo y similares. "Alquínilo sustituido" significa un alquínilo como se ha definido anteriormente que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo alifático" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son como se definen en el presente documento.

"Grupo protector de amina", significa un grupo fácilmente retirable que se sabe en la técnica que protege un resto nitrógeno de un grupo amino o amida frente a una reacción indeseada durante procedimientos sintéticos y que puede retirarse selectivamente. El uso de grupos protectores de amina/amida es bien conocido en la técnica para la protección de grupos frente a reacciones indeseables durante un procedimiento sintético y se conocen muchos de dichos grupos protectores, por ejemplo, T.W. Green y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª Edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1991). El grupo protector de amina/amida también incluye "grupo protector de amina/amida lábil a ácido" y "grupo protector de amina/amida lábil a hidrogenación". Son grupos protectores de amina/amida ejemplares, acilo, incluyendo formilo, acetilo, cloroacetilo, tricloroacetilo, o-nitrofenilacetilo, o-nitrofenoxi-acetilo, trifluoroacetilo, acetoacetilo, 4-clorobutirilo, isobutirilo, o-nitrocinnamoilo, picolinoilo, acil-isotiacionato, aminocaproilo, benzoilo y similares y aciloxi incluyendo metoxi-carbonilo, 9-fluorenilmtoxycarbonilo, 2,2,2-trifluoroetoxycarbonilo, 2-trimetilsililetoxi-carbonilo, viniloxycarbonilo, aliloxycarbonilo, t-butiloxycarbonilo (BOC), 1,1-dimetil-propiniloxycarbonilo, benciloxycarbonilo (CBZ), p-nitrobenciloxycarbonilo, 2,4-dicloro-benciloxycarbonilo y similares.

"Grupo protector de amida" significa un que puede retirarse fácilmente que se sabe en la técnica que protege un resto nitrógeno de un grupo amida frente a una reacción indeseada durante procedimientos sintéticos y que puede retirarse selectivamente después de su conversión en la amina. El uso de grupos protectores de amida es bien conocido en la técnica para la protección de grupos frente a reacciones indeseables durante un procedimiento sintético y se conocen muchos de dichos grupos protectores, por ejemplo, T.W. Green y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª Edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1991). Los grupos protectores de amida también incluyen "grupos protectores de amida lábiles a ácidos" y "grupos protectores de amida lábiles a hidrogenación". Son grupos protectores de amida ejemplares, o-nitrocinnamoilo, picolinoilo, aminocaproilo, benzoilo y similares y aciloxi incluyendo metoxi-carbonilo, 9-fluorenilmtoxycarbonilo, 2,2,2-trifluoroetoxycarbonilo, 2-trimetilsililetoxi-carbonilo, viniloxycarbonilo, aliloxycarbonilo, t-butiloxycarbonilo (BOC), 1,1-dimetil-propiniloxycarbonilo, benciloxycarbonilo (CBZ), p-nitrobenciloxycarbonilo, 2,4-dicloro-benciloxycarbonilo y similares.

"Aminoácido" significa un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en aminoácidos naturales y no naturales como se definen en el presente documento. Por aminoácido también se pretende incluir aminoácidos que tengan estereoquímica L o D en el carbono α . Los aminoácidos preferidos son aquellos que poseen un grupo α -amino. Los aminoácidos pueden ser neutros, positivos o negativos dependiendo de los sustituyentes en la cadena lateral. "Aminoácido neutro" significa un aminoácido que contiene sustituyentes de la cadena lateral sin carga. Los aminoácidos neutros ejemplares incluyen alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptófano, metionina, glicina, serina, treonina y cisteína. "Aminoácido positivo" significa un aminoácido en el que los sustituyentes de la cadena lateral están cargados positivamente a pH fisiológico. Los aminoácidos positivos ejemplares incluyen lisina, arginina e histidina. "Aminoácido negativo" significa un aminoácido en el que los sustituyentes de la cadena lateral tienen una carga neta negativa a pH fisiológico. Los aminoácidos negativos ejemplares incluyen ácido aspártico y ácido glutámico. Los aminoácidos preferidos son los α -aminoácidos. Los aminoácidos naturales ejemplares son isoleucina, prolina, fenilalanina, triptófano, metionina, glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, lisina, arginina, histidina, ácido aspártico y ácido glutámico. "Aminoácido no natural" significa un aminoácido para el que no hay codón de ácido nucleico. Los aminoácidos no naturales incluyen, por ejemplo, los isómeros D de los α -aminoácidos naturales indicados anteriormente; Aib (ácido aminobutírico), β Aib (ácido 3-amino-isobutírico), Nva (norvalina), β -Ala, Aad (ácido 2-aminoadípico), β Aad (ácido 3-aminoadípico), Abu (ácido 2-aminobutírico), Gaba (ácido γ -aminobutírico), Acp (ácido 6-aminocaproico), Dbu (ácido 2,4-diaminobutírico), ácido α -aminopimélico, TMSA (trimetilsililo-Ala), alle (alo-isoleucina), Nle (norleucina), *terc*-Leu, Cit (citrulina), Orn, Dpm (ácido 2,2'-diaminopimélico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropiónico), α - o β -Nal, Cha (ciclohexil-Ala), hidroxiprolina, Sar (sarcosina) y similares; aminoácidos cíclicos; aminoácidos N^{α} -alquilados como MeGly (N^{α} -metilglicina), EtGly (N^{α} -etilglicina) y BtAsn (N^{α} -etilasparagina); y aminoácidos en los que el carbono α porta dos sustituyentes de cadena lateral. Los nombres de los aminoácidos naturales y no naturales y restos de los mismos usados en el presente documento siguen las convenciones de nomenclatura sugeridas por la Comisión de la IUPAC para la Nomenclatura de la Química Orgánica y de la Comisión de la IUPAC-IUB para la Nomenclatura Bioquímica como se expone en "Nomenclature of α -Amino Acids (Recomendaciones, 1974)" *Biochemistry*, 14 (2), (1975), En la medida en que los nombres y abreviaturas de los aminoácidos y sus restos empleados en esta memoria descriptiva y reivindicaciones adjuntas difieran de los indicados, se aclararán los nombres y abreviaturas discordantes.

"Grupo protector de aminoácido" significa un grupo que protege un resto amina o del aminoácido u otro resto reactivo en la cadena lateral de un aminoácido, por ejemplo, hidroxilo o tiol. Por ejemplos de "derivados protegidos

- correspondientes" de cadenas laterales de aminoácido, véase T. W. Green y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 1991. Los grupos de protección para un grupo ácido en un aminoácido se describen en el presente documento, por ejemplo en las secciones "grupo funcional ácido" y "grupo protector de ácido lábil frente a hidrogenación". Los grupos de protección para un grupo amina en un aminoácido se describen en el
- 5 presente documento, por ejemplo en las secciones "grupo protector de amina", "grupo protector de amina lábil frente a ácido" y "grupo protector de amina lábil frente hidrogenación".
- "Residuo de aminoácido" significa las unidades de aminoácido individuales incorporadas en el compuesto de la invención.
- 10 "Cadena lateral de aminoácido" significa el sustituyente hallado en el carbono entre los grupos amino y carboxi en α -aminoácidos. Las cadenas laterales de α -aminoácido ejemplares incluyen isopropilo, metilo y carboximetilo para valina, alanina y ácido aspártico, respectivamente.
- "Equivalente de aminoácido" significa un aminoácido que puede sustituir a otro aminoácido en los péptidos de acuerdo con la invención sin pérdida apreciable alguna de función. Al realizar tales cambios, las sustituciones de aminoácidos similares se realizan sobre la base de la similitud relativa de los sustituyentes de cadena lateral, por ejemplo en lo que
- 15 respecta al tamaño, la carga, hidropaticidad e hidrofobicidad tal como se describe en el presente documento.
- "Grupo aromático" significa arilo o heteroarilo tal como se define en el presente documento. Los grupos aromáticos ejemplares incluyen fenilo, halo fenilo sustituido, azaheteroarilo y similares.
- "Aroílo" significa un grupo aril-CO- en el que el grupo arilo es tal como se describe en el presente documento. Los grupos aroílo ejemplares incluyen benzoílo, 1- y 2-naftoílo y similares.
- 20 "Arilo" significa un sistema de anillo monocíclico o multicíclico aromático de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 átomos de carbono, preferentemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono. Englobados por arilo se encuentran arilcicloalqueno condensado, arilcicloalquilo condensado, arilheterociclenilo condensado y arilheterociclilo condensado tal como se define en el presente documento cuando se enlazan a través del resto arilo de los mismos. El arilo está opcionalmente sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo"
- 25 que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. Los grupos arilo ejemplares incluyen fenilo o naftilo, o fenilo sustituido o naftilo sustituido. "Arilo sustituido" significa un grupo arilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento.
- "Arildiazo" significa un grupo aril-diazo en el que los grupos arilo y diazo son tal como se define en el presente documento.
- 30 "Arileno" significa un grupo arilo bivalente opcionalmente sustituido 1,2-, 1,3-, 1,4-, , en el que el grupo arilo es tal como se define en el presente documento. Los grupos arileno ejemplares incluyen fenileno opcionalmente sustituido, naftileno e indanileno. Un arileno particular es fenileno opcionalmente sustituido. "Arileno sustituido" significa un grupo arileno como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento.
- 35 "Ariloxi" significa un grupo aril-O- en el que el grupo arilo es tal como se define en el presente documento. Los grupos ariloxi ejemplares incluyen fenoxi y 2-naftiloxi.
- "Ariloxicarbonilo" significa un grupo aril-O-CO- en el que el grupo arilo es tal como se define en el presente documento. Los grupos ariloxi-carbonilo ejemplares incluyen fenoxicarbonilo y naftoxicarbonilo.
- 40 "Arilsulfonilo" significa un grupo aril-SC₂- en el que el grupo arilo es tal como se define en el presente documento.
- "Arilsulfonilcarbamoílo" significa un grupo aril-SC₂-NH-C(=C>)- en el que el grupo arilo es tal como se describe en el presente documento. Un grupo arilsulfonilcarbamoílo ejemplares es fenilsulfonilcarbamoílo.
- "Arilsulfínilo" significa un grupo aril-SO- en el que el grupo arilo es tal como se define en el presente documento.
- 45 "Ariltio" significa un grupo aril-S- en el que el grupo arilo es tal como se describe en el presente documento. Los grupos ariltio ejemplares incluyen feniltio y naftiltio.
- "Átomo de nitrógeno básico" significa un átomo de nitrógeno sp² o sp³ hibridado que tiene un par no enlazado de electrones que es capaz de protonarse. Los átomos de nitrógeno básicos ejemplares incluyen grupos imino opcionalmente sustituido, amino opcionalmente sustituido y amidino opcionalmente sustituido.
- "Carboxi" significa un grupo HO(O)C-(ácido carboxílico).
- 50 "Agente de acoplamiento" significa un compuesto que reacciona con el resto hidroxilo de un resto carboxilo, volviendo de este modo al mismo susceptible de ataque nucleófilo. Los agentes de acoplamiento ejemplares incluyen DIC, EDCl, DCC y similares.

"Cicloalquenilo" significa un sistema de anillo mono- o multicíclico, no aromático de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Englobados por cicloalquenilo se encuentran arilcicloalquenilo condensado y heteroarilcicloalquenilo condensado tal como se define en el presente documento cuando se enlazan a través del resto cicloalquenilo de los mismos. Los tamaños de anillo preferentes de los anillos del sistema de anillo incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo; y también se hace referencia a tales tamaños de anillo preferentes como "inferior". "Cicloalquenilo sustituido" significa un grupo cicloalquenilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. Los cicloalquenos monocíclicos ejemplares incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo y similares. Un cicloalquenilo multicíclico ejemplares es norbornenilo.

"Cicloalquilo" significa un sistema de anillo mono- o multicíclico, no aromático de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos de carbono. Los tamaños de anillo preferentes de los anillos del sistema de anillo incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo; y también se hace referencia a tales tamaños de anillo preferentes como "inferior". Englobados por cicloalquilo se encuentran arilcicloalquilo condensado y heteroarilcicloalquilo condensado tal como se define en el presente documento cuando se enlazan a través del resto cicloalquilo de los mismos. "Cicloalquilo sustituido" significa un grupo cicloalquilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. Los cicloalquilos monocíclicos ejemplares incluyen ciclohexilo, cicloheptilo y similares. Los cicloalquilos multicíclicos ejemplares incluyen 1-decalina, norbornilo, adamant-(1- o 2-)ilo y similares.

"Cicloalquilenilo" significa un grupo cicloalquilo bivalente tal como se define en el presente documento que tiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 8 átomos de carbono. Los tamaños de anillo preferentes del cicloalquilenilo incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo; y también se hace referencia a tales tamaños de anillo preferentes como "inferior". Los puntos de unión en el grupo cicloalquilenilo incluyen patrones de unión 1,1-, 1,2-, 1,3-, o 1,4- y, donde sea aplicable, la relación estereoquímica de los puntos de unión es o bien cis o bien trans. Los grupos cicloalquilenos ejemplares incluyen (1,1-, 1,2- o 1,3-) ciclohexileno y (1,1- o 1,2-) ciclopentileno.

"Cicloalquilenilo sustituido" significa un grupo cicloalquilenilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento

"Cíclico" o "Ciclilo" significa cicloalquilo, cicloalquenilo, heterociclilo o heterociclenilo tal como se define en el presente documento. El término "inferior" tal como se usa en conexión con el término cíclico es el mismo que se ha indicado en el presente documento en lo que respecta al cicloalquilo, cicloalquenilo, heterociclilo o heterociclenilo.

"Ciclioxi" significa un grupo cicliil-O- en el que el grupo ciclilo es tal como se describe en el presente documento. Los grupos cicloalcoxi ejemplares incluyen ciclopentiloxi, ciclohexiloxi, quinuclidiloxi, pentametileno sulfideoxi, tetrahidropiraniloxi, tetrahidrotiofeniloxi, pirrolidiniloxi, tetrahidrofuraniloxi o 7-oxabicyclo[2,2,1]heptaniloxi, hidroxitetrahidropiraniloxi, hidroxil-7-oxabicyclo[2,2,1]heptaniloxi y similares.

"Cicliilsulfonilo" significa grupo cicliil-S(O)- en el que el grupo ciclilo es tal como se describe en el presente documento.

"Cicliilsulfonilo" significa un grupo cicliil-S(O)₂- en el que el grupo ciclilo es tal como se describe en el presente documento.

"Cicliiltio" significa un grupo cicliil-S- en el que el grupo ciclilo es tal como se describe en el presente documento. "Diazo" significa un radical -N=N- bivalente.

"Diazo" significa un radical bivalente -N=N-.

"Resto desplazable" significa un grupo que, donde esté asociado con L tal como se define en el presente documento, puede ser objeto de desplazamiento por ataque nucleófilo por un resto amina mono- o di-sustituida con o sin presencia de un agente que facilite dicho ataque, por ejemplo, agente de acoplamiento. Restos desplazables ejemplares incluyen hidroxil, oxil alifático, halo, N-oxisuccinimida, aciloxil y similares.

"Cantidad efectiva" significa una cantidad de un compuesto/composición de acuerdo con la presente invención efectiva para producir el efecto terapéutico deseado.

"Aricicloalquenilo condensado" significa un arilo condensado y cicloalquenilo tal como se define en el presente documento. Los arilcicloalquenos condensados preferentes son aquellos en los que el arilo de los mismos es fenilo y el cicloalquenilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un arilcicloalquenilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. "Aricicloalquenilo condensado sustituido" significa un grupo arilcicloalquenilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de

1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. Los arilcicloalquenilo condensado ejemplares incluyen 1,2-dihidronaftileno, indeno y similares.

"Arlcicloalquilo condensado" significa un arilo condensado y cicloalquilo como se han definido en el presente documento. Los arilcicloalquilos condensados preferentes son aquellos en los que el arilo de los mismos es fenilo y el cicloalquilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un arilcicloalquilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. "Arlcicloalquilo condensado sustituido" significa un grupo arilcicloalquilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. Los arilcicloalquilo condensado ejemplares incluye 1,2,3,4-tetrahidro-naftileno y similares.

"Arlheterociclenilo condensado" significa un arilo condensado y heterociclenilo tal como se define en el presente documento. Los arilheterociclenilos condensados preferentes son aquellos en los que el arilo de los mismos es fenilo y el heterociclenilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un arilheterociclenilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes de la porción de heterocicleno del arilheterociclenilo condensado define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. "Arlheterociclenilo condensado sustituido" significa un grupo arilheterociclenilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un arilheterociclenilo condensado puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno o de azufre de la porción de heterociclenilo del arilheterociclenilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido correspondiente. Los arilheterociclenilo condensado ejemplares incluyen 3H-indolinilo, 1H-2-oxoquinolilo, 2H-1-oxoisoquinolilo, 1,2-dihidroquinolinilo, 3,4-dihidroquinolinilo, 1,2-dihidroisoquinolinilo, 3,4-dihidroisoquinolinilo y similares.

"Arlheterociclilo condensado" significa un arilo condensado y heterociclilo tal como se define en el presente documento. Los arilheterociclilos condensados preferentes son aquellos en los que el arilo de los mismos es fenilo y el heterociclilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un arilheterociclilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes de la porción de heterociclo del arilheterociclilo condensado define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo de anillo. "Arlheterociclilo condensado sustituido" significa un grupo arilheterociclilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un arilheterociclilo condensado puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno o de azufre de la porción de heterociclilo del arilheterociclilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido correspondiente. Los sistemas de anillo de arilheterociclilo condensado ejemplares incluyen indolinilo, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, 1,2,3,4-tetrahidroquinolina, 1H-2,3-dihidroindol-2-ilo, 2,3-dihidrobenz[f]isoindol-2-ilo, 1,2,3,4-tetrahidrobenz[g]-isoquinolin-2-ilo y similares.

"Heteroarilcicloalquenilo condensado" significa un heteroarilo y cicloalquenilo condensado tal como se define en el presente documento. Los heteroarilcicloalquenilos condensados preferentes son aquellos en los que el heteroarilo de los mismos es fenilo y el cicloalquenilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un heteroaril-cicloalquenilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes de la porción de heteroarilo del heteroarilcicloalquenilo condensado define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. "Heteroarilcicloalquenilo condensado sustituido" significa un grupo heteroarilcicloalquenilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un heteroarilcicloalquenilo condensado puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno de la porción de heteroarilo del heteroarilcicloalquenilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido correspondiente. Los heteroarilcicloalquenilo condensado ejemplares incluyen 5,6-dihidroquinolilo, 5,6-dihidroisoquinolilo, 5,6-dihidroquinoxalinilo, 5,6-dihidroquinazolinilo, 4,5-dihidro-1H-benzoimidazolilo, 4,5-di-hidrobenzoxazolilo y similares.

"Heteroarilcicloalquilo condensado" significa un heteroarilo y cicloalquilo condensado tal como se define en el presente documento. Los heteroarilcicloalquilos condensados preferentes son aquellos en los que el heteroarilo de los mismos consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo y el cicloalquilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un heteroarilcicloalquilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes de la porción de heteroarilo del heteroarilcicloalquilo condensado define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. "Heteroarilcicloalquilo condensado sustituido" significa un grupo heteroarilcicloalquilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de

nitrógeno de un heteroarilcicloalquilo condensado puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno de la porción de heteroarilo del heteroarilcicloalquilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido correspondiente. Los heteroarilcicloalquilo condensado ejemplares incluyen 5,6,7,8-tetrahidroquinolinilo, 5,6,7,8-tetra-hidroisoquinolinilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinoxalinilo, 5,6,7,8- tetrahidroquinazolilo, 4,5,6,7-tetrahidro-1 H-benzoimidazolilo, 4,5,6,7 -tetrahidrobenzoxazolilo, 1H-4- oxa-1,5-diazanaftalen-2- onilo, 1,3-dihidroimidazol-[4,5]-piridin-2-onilo y similares.

"Heteroarilheterociclenilo condensado" significa un heteroarilo y heterociclenilo condensado tal como se define en el presente documento. Los heteroarilheterociclenilos condensados preferentes son aquellos en los que el heteroarilo de los mismos consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo y el heterociclenilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un heteroarilheterociclenilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes de la porción de heteroarilo o heterociclenilo del heteroarilheterociclenilo condensado define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. "Heteroarilheterociclenilo condensado sustituido" significa el grupo heteroarilheterociclenilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un heteroarilazaheterociclenilo condensado puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno o de azufre de la porción de heteroarilo del heteroarilheterociclenilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido correspondiente. El átomo de nitrógeno o de azufre de la porción de heteroarilo o heterociclenilo del heteroarilheterociclenilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido correspondiente. Los heteroarilheterociclenilo condensado ejemplares incluyen 7,8-dihidro[1,7]naftiridinilo, 1,2- dihidro[2,7]-naftiridinilo, 6,7-dihidro-3H-imidazo[4,5-c]piridilo, 1,2-dihidro-1,5-naftiridinilo, 1,2-dihidro-1,6-naftiridinilo, 1,2-dihidro-1,7-naftiridinilo, 1,2-dihidro-1,8-naftiridinilo, 1,2-dihidro-2,6-naftiridinilo y similares.

"Heteroarilheterociclilo condensado" significa un heteroarilo y heterociclilo condensado tal como se define en el presente documento. Los heteroarilheterociclilos condensados preferentes son aquellos en los que el heteroarilo de los mismos consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo y el heterociclilo consiste en de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Un heteroarilheterociclilo condensado como una variable puede enlazarse a través de cualquier átomo del sistema de anillo del mismo capaz de tal cosa. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes de la porción de heteroarilo o heterociclo del heteroarilheterociclilo condensado define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. "Heteroarilheterociclilo condensado sustituido" significa un grupo heteroarilheterociclilo condensado tal como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un heteroarilheterociclilo condensado puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno o de azufre de la porción de heteroarilo del heteroarilheterociclilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido correspondiente. El átomo de nitrógeno o de azufre de la porción de heteroarilo o heterociclilo del heteroarilheterociclilo condensado también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido correspondiente. Los heteroarilheterociclilo condensado ejemplares incluyen 2,3-dihidro-1H-pirrol[3,4-b]quinolin-2-ilo, 1,2,3,4- tetrahidrobenz[b][1,7]naftiridin-2-ilo, 1,2,3,4-tetrahidrobenz[b][1,6]naftiridin-2-ilo, 1,2,3,4-tetra-hidro-9H-pirido[3,4-b]indol-2-ilo, 1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido[4,3-b]indol-2-ilo, 2,3-dihidro-1 H-pirrol[3,4-b]indol-2-ilo, 1H-2,3,4,5- tetrahidroazepino[3,4-b]indol-2-ilo, 1 H-2,3,4,5-tetrahidroazepino[4,3-b]indol-3-ilo, 1 H-2,3,4,5-tetrahidroazepino[4,5- b]indol-2-ilo, 5,6,7,8-tetrahidro[1,7]naftiridilo, 1,2,3,4-tetrahidro[2,7]naftiridilo, 2,3-dihidro[1,4]dioxino[2,3-b]piridilo, 2,3-dihidro-[1,4]dioxino[2,3-b]piridilo, 3,4-dihidro-2H-1-oxa[4,6]diazanaftalenilo, 4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridilo, 6,7-dihidro [5,8]diazanaftalenilo, 1,2,3,4-tetrahidro[1,5]-naftiridinilo, 1,2,3,4-tetrahidro[1,6]naftiridinilo, 1,2,3,4-tetrahidro [1,7]naftiridinilo, 1,2,3,4-tetrahidro[1,8]naftiridinilo, 1,2,3,4-tetra-hidro[2,6]naftiridinilo y similares.

"Halo" significa fluor, cloro, bromo, o yodo. Son preferentes fluor, cloro o bromo y son más preferentes flúor o cloro.

"Heteroaróilo" significa un grupo heteroaril-CO- en el que el grupo heteroarilo es tal como se describe en el presente documento. Los grupos heteroaróilo ejemplares incluyen tiofenoílo, nicotinoílo, pirrol-2-ilcarbonilo, 1- y 2-naftoílo, piridinoílo y similares.

"Heteroarilo" significa un sistema de anillo monocíclico o multicíclico aromático de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es/son hetero-elemento o elementos distintos de carbono, por ejemplo nitrógeno, oxígeno o azufre. Preferentemente el sistema de anillo incluye 1 a 3 heteroátomos. Los tamaños de anillo preferentes de los anillos del sistema de anillo incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo. Englobados por heteroarilo se encuentran heteroarilcicloalqueno condensado, heteroarilcicloalquilo condensado, heteroarilheterociclenilo condensado y heteroarilheterociclilo condensado tal como se define en el presente documento cuando se enlazan a través del resto heteroarilo de los mismos. "Heteroarilo sustituido" significa un grupo heteroarilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes

del heteroarilo define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. Un átomo de nitrógeno de un heteroarilo puede ser un átomo de nitrógeno básico y también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido correspondiente. Los grupos heteroarilo y heteroarilo sustituidos ejemplares incluyen pirazinilo, tienilo, isotiazolilo, oxazolilo, pirazolilo, furazanilo, pirrolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, piridazinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, imidazo[1,2-a]piridina, imidazo[2,1-b]tiazolilo, benzofurazanilo, azaindolilo, benzoimidazolilo, benzotienilo, tienopiridilo, tienopirimidilo, pirrolopiridilo, imidazopiridilo, benzoazaindolilo, 1,2,4-triazinilo, benzotiazolilo, furanilo, imidazolilo, indolilo, indolizínilo, isoxazolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, pirazinilo, piridazinilo, pirazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo y similares. Un grupo heteroarilo preferente es pirazinilo.

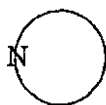
"Heteroarildiazo" significa un grupo heteroarilo -azo- en el que los grupos heteroarilo y azo son tal como se define en el presente documento.

"Heteroarilidilo" significa un radical bivalente obtenido a partir de un heteroarilo, en el que el heteroarilo es tal como se describe en el presente documento. Un radical heteroarilidilo ejemplares es piridinadilo opcionalmente sustituido.

"Heteroarilsulfonilcarbamoilo" significa un grupo heteroaril-SC(=O)-NH-C(=O)- en el que el grupo heteroarilo es tal como se describe en el presente documento.

"Heterociclenilo" significa un sistema de anillo de hidrocarburo monocíclico o multicíclico no aromático de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es/son hetero-elemento o elementos distintos de carbono, por ejemplo nitrógeno, oxígeno o azufre átomos y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono o doble enlace carbono-nitrógeno. Preferentemente, el anillo incluye 1 a 3 heteroátomos. Los tamaños de anillo preferentes de los anillos del sistema de anillo incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo; y también se hace referencia a tales tamaños de anillo preferentes como "inferior". Englobados por heterociclenilo se encuentran arilheterociclenilo condensado y heteroarilheterociclenilo condensado tal como se define en el presente documento cuando se enlazan a través del resto heterociclenilo de los mismos. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes del heterociclenilo define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente, respectivamente, como un átomo del anillo. "Heterociclenilo sustituido" significa un grupo heterociclenilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un heterociclenilo puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno o de azufre del heterociclenilo también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido correspondiente. Los grupos azaheterociclenilo monocíclicos ejemplares incluyen 1,2,3,4-tetrahidropiridina, 1,2-dihidropiridilo, 1,4-dihidropiridilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridina, 1,4,5,6-tetrahidropiridina, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, 2-imidazolinilo, 2-pirazolinilo y similares. Los grupos oxaheterociclenilo ejemplares incluyen 3,4-dihidro-2H-pirano, dihidrofuranilo y fluorodihidrofuranilo. Un grupo oxaheterociclenilo multicíclico ejemplares es 7-oxabicyclo[2,2,1]heptenilo. Los anillos de tiaheterociclenilo monocíclico ejemplares incluyen dihidrotiofenilo y dihidrotiopiranilo.

"Heterociclilo" significa un sistema de anillo monocíclico o multicíclico saturado no aromático de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es/son hetero-elemento o elementos distintos de carbono, por ejemplo nitrógeno, oxígeno o azufre. Preferentemente, el sistema de anillo contiene de 1 a 3 heteroátomos. Los tamaños de anillo preferentes de los anillos del sistema de anillo incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo; y también se hace referencia a tales tamaños de anillo preferentes como "inferior". Englobados por heterociclilo se encuentran arilheterociclilo condensado y heteroarilheterociclilo condensado tal como se define en el presente documento cuando se enlazan a través del resto heterociclilo de los mismos. La designación del aza, oxa o tia como un prefijo antes del heterociclilo define que al menos un átomo de nitrógeno, de oxígeno o de azufre se encuentra presente respectivamente como un átomo del anillo. "Heterociclilo sustituido" significa un grupo heterociclilo como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. El átomo de nitrógeno de un heterociclilo puede ser un átomo de nitrógeno básico. El átomo de nitrógeno o de azufre del heterociclilo también puede oxidarse opcionalmente para dar el N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido correspondiente. Los anillos de heterociclilo monocíclico ejemplares incluyen piperidilo, pirrolidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tiazolidinilo, 1,3-dioxolanilo, 1,4-dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo y similares.



como azaheterociclilo monocíclico sustituido está sustituido directamente o a través de un ligando por al menos un sustituyente es decir, o engloba, o está sustituido con un grupo aromático tal como se define en el presente documento; por ejemplo arilo, heteroarilo, ariloxi, heteroariloxi, aroilo o su análogo tioxo, heteroaróilo o su análogo

tioxi, aroiloxi, heteroarilo, ariloxicarbonilo, heteroariloxicarbonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, arilsulfino, heteroarilsulfino, ariltio, heteroariltio, arildiazo, heteroarildiazo, Y1Y2N-, Y1Y2NC(O)-, Y1Y2NC(O)O-, Y1Y2NC(O)NY3- o Y1Y2NSO2- en el que al menos uno de Y1 e Y2 es, engloba o está sustituido con un resto arilo o heteroarilo. Los ligandos preferentes incluyen -C(O)-, -OC(O)-, alquilo inferior, alcoxi inferior, alqueno inferior, -O-, -S-, -C(O)C(O)-, -S(O)-, -S(O)2-, -NR8-, en el que R8 es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo o heteroarilo. Los ligandos particularmente preferentes son -C(O)- y -OC(O)-. "Azaheterociclilo multicíclico sustituido" significa un grupo azaheterociclilo multicíclico como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento. "Azaheterociclenilo multicíclico sustituido" significa un grupo azaheterociclenilo multicíclico como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento.

"Heterociclileno" significa un grupo heterociclilo bivalente tal como se define en el presente documento que tiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 8 átomos de carbono. Los tamaños de anillo preferentes del heterociclileno incluyen de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos en el anillo; y también se hace referencia a tales tamaños de anillo preferentes como "inferior". Los puntos de unión en el grupo cicloalqueno incluyen patrones de unión 1,1-, 1,2-, 1,3-, o 1,4- y, donde sea aplicable, la relación estereoquímica de los puntos de unión es o bien cis o bien trans. Los grupos heterociclileno ejemplares incluyen (1,1-, 1,2- o 1,3-)piperidinileno y (1,1- o 1,2-) tetrahidrofuranileno. "Heterociclileno sustituido" significa un grupo heterociclileno como se ha definido en lo que antecede que está sustituido con uno o más "sustituyentes de grupo de anillo" (preferentemente de 1 a 3) que pueden ser iguales o diferentes y son tal como se define en el presente documento.

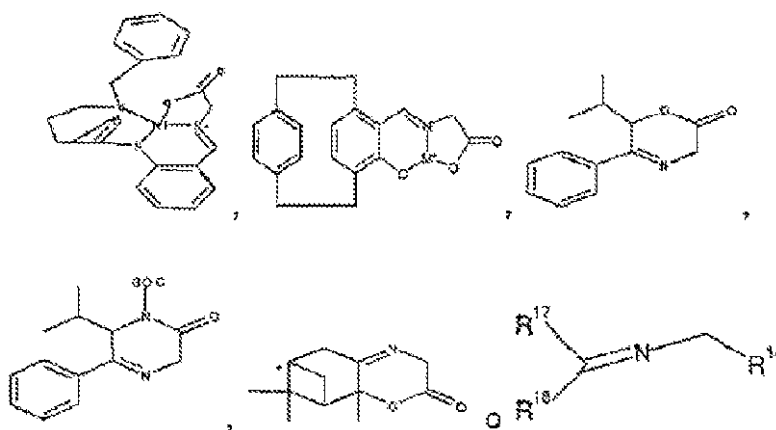
"Hidrato" significa un solvato en el que la molécula o moléculas de disolvente es/son H₂O.

"Grupo protector de amina lábil frente a hidrogenación" significa un grupo protector de amina tal como se define en el presente documento que se retira con facilidad mediante hidrogenación mientras que permanece relativamente estable frente a otros reactivos. Un grupo protector de amina lábil frente a hidrogenación preferente es Cbz.

"Grupo protector de ácido lábil frente a hidrogenación" significa un grupo protector de ácido tal como se define en el presente documento que se retira con facilidad mediante hidrogenación mientras que permanece relativamente estable frente a otros reactivos. Un grupo protector de ácido lábil frente a hidrogenación preferido es bencilo.

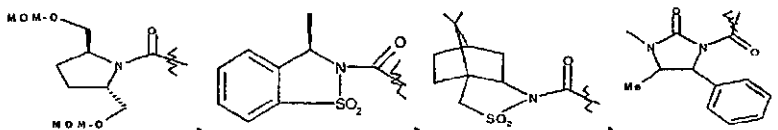
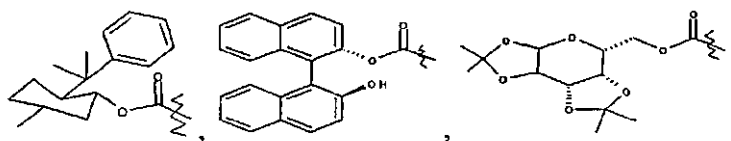
"Higroscopicidad" significa sorción, implicando una cantidad o estado adquirido de agua suficiente para afectar a las propiedades físicas o químicas de la sustancia (Eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 10, 33).

"Derivado de glicinimida imínica" significa una base de Schiff imínica de una glicina que es útil en la síntesis de α -aminoácidos, tanto naturales como no naturales. La funcionalidad de éster imínico puede contener uno o más centros asimétricos que pueden ayudar en la estereoinducción durante el procedimiento de formación de enlaces. Además, estos derivados de glicinimida imínica pueden incorporarse a soportes poliméricos para facilitar la síntesis de combinación. Los derivados de glicinimida imínica pueden prepararse mediante la condensación de un éster de glicina con la cetona apropiada en presencia de un catalizador ácido. La reacción se facilita por la retirada de agua. Los derivados de glicinimida imínica son bien conocidos en la técnica para su uso en procedimientos sintéticos de adición de Michael, por ejemplo tal como se divulga por Guillena, G. y col., J. Org. Chem. 2000, 65, 7310-7322. Los ejemplos particulares de derivados de glicinimida imínica de acuerdo con la invención incluyen uno seleccionado entre el grupo de fórmulas

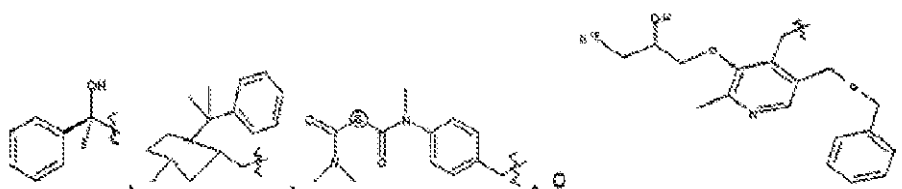


en las que:

M* es un metal de transición, preferentemente CU, más preferentemente CU".
 R¹⁴ es -CO₂R¹⁶; -CN,



- 5 o -CONR¹⁵R¹⁵;
 R¹⁵ es un grupo alifático opcionalmente sustituido;
 R¹⁶ es un grupo protector de ácidos, arilo opcionalmente sustituido, o un grupo alifático opcionalmente sustituido;
 R¹⁷ es arilo opcionalmente sustituido, grupo alifático opcionalmente sustituido,

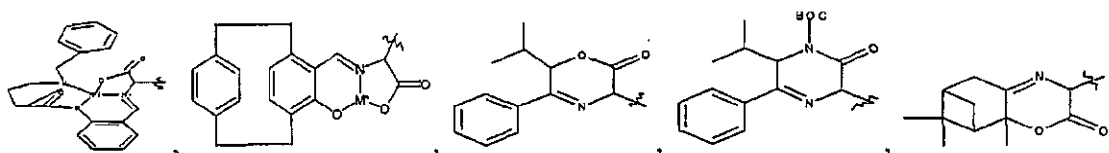


- 10 R¹⁸ es hidrógeno, alquilo, o alquiltío; o arilo opcionalmente sustituido;
 R¹⁷ y R¹⁸ tomados junto con el carbono al que R¹⁷ y R¹⁸ están unidos

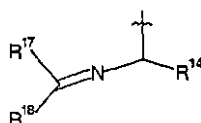


y d) es una fase sólida.

- 15 "Producto de adición de derivado de glicinimida imínica" significa el compuesto resultante en el que un α-hidrógeno con respecto al nitrógeno y el resto carbonilo de la porción de base de Schiffse retira y se usa para formar una unión para la formación de enlaces con el mismo. Los ejemplos particulares de productos de adición de derivado de glicinimida imínica de acuerdo con la invención incluyen uno seleccionado entre el grupo de fórmulas



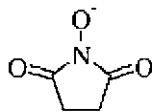
o



- 20 en las que:

R¹⁴, R¹⁷ y R¹⁸ se definen tal como se describe en la definición de derivado de glicinimida imínica en el presente documento.

"N-oxisuccinimida" significa un resto de la siguiente estructura



"N-óxido" significa un resto de la siguiente estructura



5 "Paciente" incluye tanto seres humanos como otros mamíferos.

"Peptidomimético" significa un polímero que abarca restos de aminoácidos unidos mediante enlaces amida.

10 "Éster farmacéuticamente aceptable" significa ésteres que se hidrolizan *in vivo* e incluyen aquellos que se rompen fácilmente en el cuerpo humano para dejar el compuesto matriz o una sal del mismo. Los grupos éster adecuados incluyen, por ejemplo, aquellos derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, en particular ácidos alcanóicos, alquenoicos, cicloalcanóicos y alcanodioicos, en los que cada resto alquil o alquencil ventajosamente no tiene más de 6 átomos de carbono. Los ésteres ejemplares incluyen formatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos, etilsuccinatos y similares.

15 "Profármacos farmacéuticamente aceptables" como se usa en el presente documento significan aquellos profármacos de los compuestos de la presente invención que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similares, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable y eficaces para su uso previsto, así como las formas zwitteriónicas, donde sea posible, de los compuestos de la invención. El término "profármaco" significa compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* para producir el compuesto matriz de la fórmula anterior, por ejemplo mediante hidrólisis en sangre. Los grupos funcionales que pueden transformarse rápidamente, mediante escisión metabólica, *in vivo* forman una clase de grupos reactivos con el grupo carboxilo de los compuestos de esta invención. Incluyen, pero sin limitación, grupos tales como alcanóilo (como acetil, propanoilo, butanoilo y similares), aroilo no sustituido y sustituido (como benzoilo y benzoilo sustituido), alcoxicarbonilo (como etoxicarbonilo), trialkilsililo (como trimetil- y trietilsilil), monoésteres formados con ácidos dicarboxílicos (como succinil) y similares. Debido a la facilidad con la que los grupos escindibles metabólicamente de los compuestos de esta invención se escinden *in vivo*, los compuestos que portan dichos grupos actúan como profármacos. Los compuestos que portan los grupos escindibles metabólicamente tienen la ventaja de que pueden mostrar una biodisponibilidad mejorada como resultado de la solubilidad potenciada y/o tasa de absorción conferida al compuesto matriz en virtud de la presencia del grupo escindible metabólicamente. Se proporciona una discusión en profundidad en Design of Prodrugs, H. Bundgaard, ed., Elsevier (1985); Methods in Enzymology; K. Widder y Col., Ed., Academic Press, 42, 309-396 (1985); A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard- Larsen y H. Bandaged, ed., capítulo 5; "Design and Applications of Prodrugs" 113-191 (1991); Advanced Drug Delivery Reviews, H. Bundgaard, 8, 1-38, (1992); J. Pharm. Sci., 77, 285 (1988); Chem. Pharm Bull., N. Nakeya y Col., 32, 692 (1984); Pro-drugs as Novel Delivery Systems, T. Higuchi y V. Stella, 14 A.C.S. Symposium Series, and Bioreversible Carriers in Drug Design, E.B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

35 Sales farmacéuticamente aceptables" significan las sales de adición de ácido y sales de adición de base, orgánicas e inorgánicas, relativamente no tóxicas, de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos. En particular, las sales de adición de ácido pueden prepararse haciendo que reaccione por separado el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal que se forma de este modo. Las sales de adición de ácido ejemplares incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactiobionato, sulfamatos, malonatos, salicilatos, propionatos, metileno-bis-P-hidroxi-naftoatos, gentisatos, isetionatos, di-p-toluoiltartratos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, p-toluenosulfonatos, ciclohexilsulfamatos y quinate-laurilsulfonato y similares. Véase por ejemplo S. M. Berge y col., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977). Las sales de adición de base también pueden prepararse haciendo que reaccione por separado el compuesto purificado en su forma de ácido con una base orgánica o inorgánica adecuada y aislando la sal que se forma de este modo. Las sales de adición de base incluyen sales de metal y de amina farmacéuticamente aceptables. Las sales de metal adecuadas incluyen las sales de sodio, potasio, calcio, bario, cinc, magnesio y aluminio. Las sales de sodio y potasio son preferentes. Las sales de adición de base inorgánicas adecuadas se preparan a partir de metal bases que incluyen hidruro de sodio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de aluminio, hidróxido de litio, hidróxido de magnesio, hidróxido de cinc y similares. Las sales de adición de base de amina adecuadas se preparan a partir de aminas que tienen suficiente basicidad para formar una sal estable y preferentemente incluyen aquellas aminas que se usan con

frecuencia en la química médica debido a su baja toxicidad y aceptabilidad para uso médico, amoniaco, etilendiamina, N-metil-glucamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N-bencilfenetilamina, dietilamina, piperazina, tris(hidroximetil)-aminometano, hidróxido de tetrametilamonio, trietilamina, dibencilamina, efenamina, dehidroabietilamina, N-etilpiperidina, bencilamina, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, aminoácidos básicos, por ejemplo, lisina y arginina y diciclohexilamina y similares.

"Sustituyentes de grupo de anillo" significan sustituyentes unidos a sistemas de anillo aromáticos o no aromáticos incluyendo arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, cicliloxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo o su análogo tioxo, ciclilcarbonilo o su análogo tioxo, aroilo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, ciclilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonylcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonylcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonylcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, alquilsulfonyl, ciclilulfonyl, arilsulfonyl, heteroarilsulfonyl, alquilsulfonyl, ciclilulfonyl, arilsulfonyl, heteroarilsulfonyl, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-, en los que Y¹, Y² e Y³ son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²N-, entonces uno de Y¹ e Y² puede ser acilo, ciclilcarbonilo, aroilo, heteroarilo, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, tal como se define aquí y el otro de Y¹ e Y² es tal como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-, Y¹ e Y² también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y¹ e Y² están unidos para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros. Cuando un sistema de anillo está saturado o parcialmente saturado, los "sustituyentes de grupo de anillo" incluyen además, metileno (H₂C=), oxo (O=) y tioxo (S=). Sustituyentes de grupo de anillo ácido/de amida son carboxi (ácido), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonylcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonylcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonylcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo e Y¹Y²NCO-. Sustituyentes de grupo de anillo polar no ácido son hidroxilo, oxo (O=), tioxo (S=), acilo o su análogo tioxo, ciclilcarbonilo o su análogo tioxo, aroilo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, aciloxi, ciclilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, alquilsulfonyl, ciclilulfonyl, arilsulfonyl, heteroarilsulfonyl, alquilsulfonyl, ciclilulfonyl, arilsulfonyl, heteroarilsulfonyl, tiol, Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-.

"Solvato" significa una asociación física de un compuesto de la presente invención con una o más moléculas disolventes. Esta asociación física incluye la formación de enlaces de hidrógeno. En ciertos casos el solvato será capaz de aislamiento, por ejemplo cuando una o más moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino. "Solvato" engloba solvatos tanto en fase de solución y aislables. Los solvatos ejemplares incluyen hidratos, etanolatos, metanolatos y similares.

Realizaciones

Con referencia a las invenciones que se describen en el presente documento, en lo sucesivo se dan realizaciones preferentes y particulares relacionadas con las mismas.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁰ es un enlace. Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁰ es difluorometileno.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R¹ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R¹ es hidrógeno o alquilo inferior. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R¹ es hidrógeno.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R² es un grupo alifático inferior opcionalmente sustituido o grupo monocíclico opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R² es alquilo inferior opcionalmente sustituido, alquenilo inferior opcionalmente sustituido, o cicloalquilo monocíclico opcionalmente sustituido.

Una realización más particular de acuerdo con la invención es en la que R² es carboximetilo, 1-carboxi-2-feniletilo, ciclopropilo, ciclobutilo, 1-ciclohexiletilo, 1-feniletilo, but-2-ilo, 1-pirid-4-iletilo, propen-3-ilo o 3-metilbut-2-ilo; más preferentemente ciclopropilo.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R³ es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R³ es metileno (de alquilo o alquenilo) inferior opcionalmente halosustituido.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R³ es propilmetileno, 2,2-difluoroetilmetileno, 2,2,2-trifluorometileno o propen-3-ilmetileno; R³ más preferente es propilmetileno o 2,2-difluoroetilmetileno; R³ adicionalmente preferente es propilmetileno.

5 Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁴ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁴ es hidrógeno o alquilo inferior.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁴ es hidrógeno.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁵ es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

10 Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁵ es metileno (de alquilo o alqueno inferior) opcionalmente (fenil-, carboxi-, carboxamido- o alcoxicarbonil) sustituido.

15 Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁵ es metilmetileno, isopropilmetileno, f-butilmetileno, but-2-ilmetileno, butilmetileno, bencilmetileno, 3-metilbutilmetileno, 2-metilpropilmetileno, carboximetilmetileno, carboxamidometilmetileno, benciloxicarbonilmetilmetileno, benciloxicarbonilpropilmetileno, o fenilpropen-3-ilmetileno; R⁵ más preferente es isopropilmetileno o f-butilmetileno.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁶ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁶ es hidrógeno o alquilo inferior.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁶ es hidrógeno.

20 Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁷ es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido, metileno de grupo cíclico inferior opcionalmente sustituido o (aril o heteroaril) metileno monocíclico opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁷ es alquilmetileno inferior opcionalmente sustituido, cicloalquilmetileno inferior opcionalmente sustituido o fenilmetileno opcionalmente sustituido.

25 Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁷ es metilmetileno, isopropilmetileno, n-propilmetileno, fenilmetileno, ciclohexilmetileno, ciclopentilmetileno, t-butilmetileno, s-butilmetileno, ciclohexilmetilmetileno, o fenilmetilmetileno; más preferente es isopropilmetileno, ciclohexilmetileno, ciclopentilmetileno, t-butilmetileno o s-butilmetileno.

30 Una realización preferente de acuerdo con la invención también es en la que cada uno de R³, R⁵ y R⁷ es metileno monosustituido

Una realización preferente de acuerdo con la invención también es en la que R³ es metileno monosustituido y tiene una configuración (S) en el carbono unido al resto -C(O)-R⁰-C(O)-NR¹R²

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁸ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

35 Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁸ es hidrógeno o alquilo inferior. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁸ es hidrógeno.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es un grupo alifático inferior opcionalmente sustituido o grupo aromático monocíclico opcionalmente sustituido.

40 Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es alquilo inferior opcionalmente sustituido o heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido.

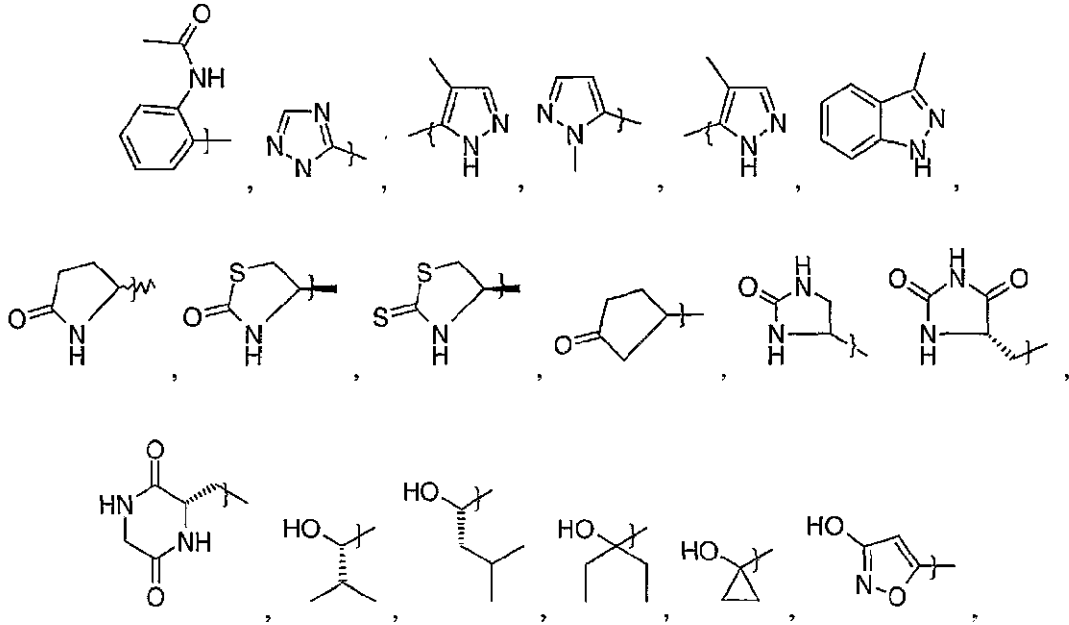
Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es alquilo inferior opcionalmente (carboxi-, (alquilo inferior)SO₂NH-, (alquilo inferior)HNCO-, hidroxil-, fenil-, heteroaril-, o (alquilo inferior)OC(O)NH-) sustituido, o heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido.

45 Una realización más preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es alquilo inferior sustituido con (mono- o di-)MeOC(O)NH-; más preferente es 1,2-di(MeOC(O)NH)etilo o 1-(MeOC(O)NH)etilo.

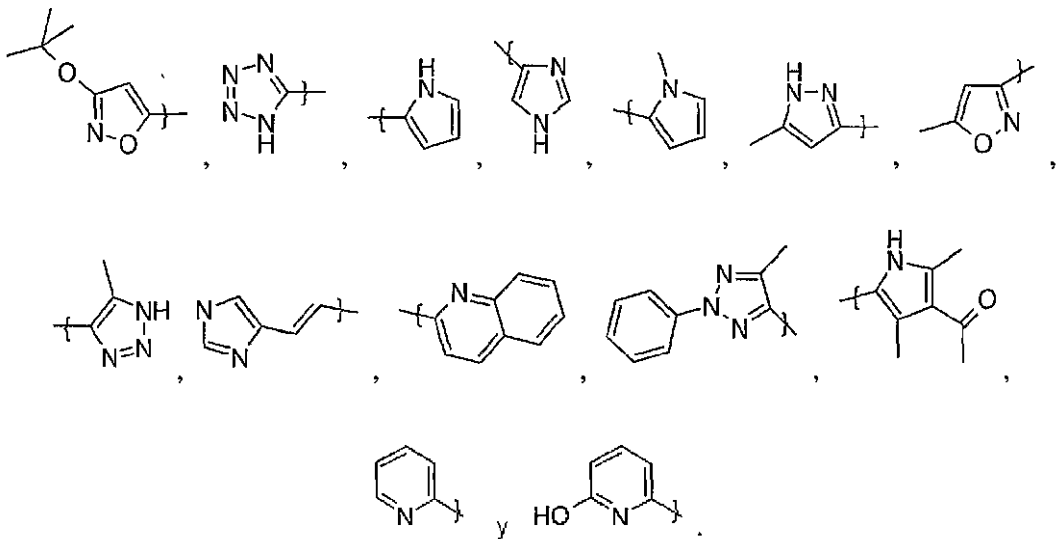
Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es alquilo inferior (carboxi-, (alquilo inferior)HNCO- o tetrazolilo) sustituido; más preferentemente 3-carboxipropilo, 2-tetrazol-5-ilpropilo, 3-(N-metilcarboxamido)propilo o 3-carboxi-2,2-dimetilpropilo; adicionalmente preferente es 3-carboxipropilo, 2-tetrazol-5-ilpropilo o 3-(N-metilcarboxamido)propilo.

Otra realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es alquilo inferior opcionalmente sustituido; más preferente es 1-hidroxil-2-feniletilo, metilo, isopropilo o f-butilo; adicionalmente preferente es metilo, isopropilo o f-butilo.

Otra realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R⁹ se selecciona entre el grupo que consiste en



5



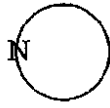
Otra realización preferente más de acuerdo con la invención es en la que R⁹ es pirazinilo.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R¹⁰ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

10 Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R¹⁰ es hidrógeno o alquilo inferior.

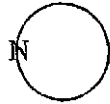
Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R¹⁰ es hidrógeno.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que

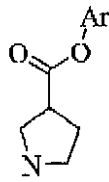


como un azaheterociclilo monocíclico sustituido es pirrolidinilo sustituido.

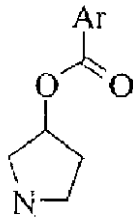
Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que



5 como un azaheterociclilo monocíclico sustituido es

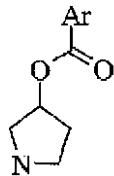


opcionalmente sustituido o

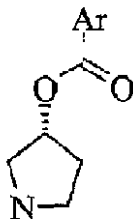


opcionalmente sustituido

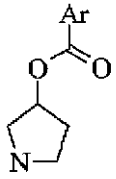
10 en la que Ar es R² que comprende un resto aromático; más preferente es



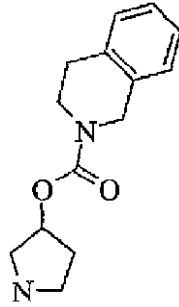
opcionalmente sustituido; adicionalmente preferente es



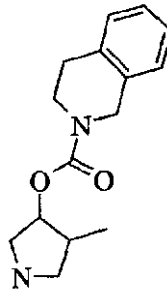
opcionalmente sustituido.



opcionalmente sustituido adicionalmente preferente es



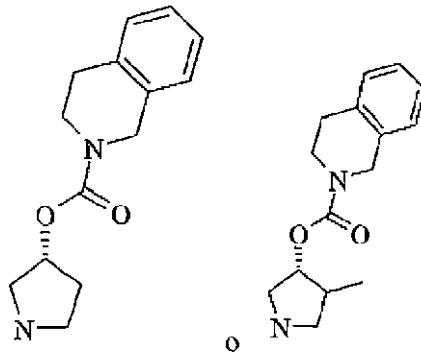
o



;

5

más adicionalmente preferente



o

Se describen compuestos en los que



10 como un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido es



opcionalmente sustituido; más preferente es



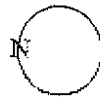
opcionalmente sustituido. Sustituyentes particulares para

5



son hidroxilo, fluoro u oxo.

Se describen otros compuestos en los que



como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido es

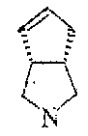
10



opcionalmente sustituido; más preferente es



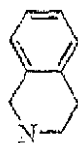
adicionalmente preferente es



15 Los compuestos que se describen incluyen además aquellos en los que



como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido es



opcionalmente sustituido.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)R^0C(O)NR^2R^1$ unido a

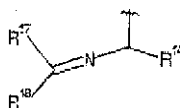


5

está unido a un carbono α al átomo de nitrógeno.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que L es $-C(O)-$ o $-OC(O)-$. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que n es O, Otra realización preferente de acuerdo con la invención es en la que n es 1. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{11} es $-CO_2R^{13}$, Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{12} es

10



Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{13} es un grupo alifático opcionalmente sustituido.

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{13} es un grupo alquilo. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{13} es alquilo inferior. Otra realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{13} es metilo. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{14} es $-CO_2R^{16}$.

15

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{15} es alquilo.

Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{15} es alquilo inferior. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{15} es metilo.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{16} es un grupo alifático opcionalmente sustituido.

20

Otra realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{16} es alquilo. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{16} es alquilo inferior. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{16} es t-Bu.

Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{17} es arilo opcionalmente sustituido. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{17} es fenilo. Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que R^{18} es arilo opcionalmente sustituido. Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que R^{18} es fenilo.

25

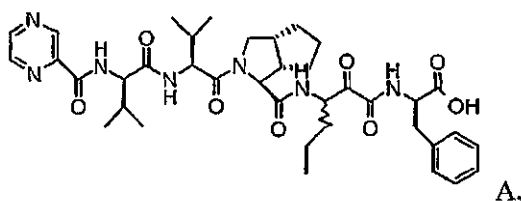
Una realización particular de acuerdo con la invención es en la que p° se selecciona entre el grupo que consiste en BOC, CBz y $-CO_2$ -alquilo.

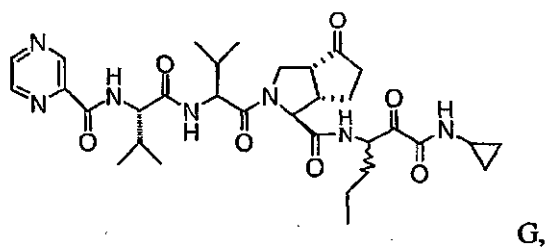
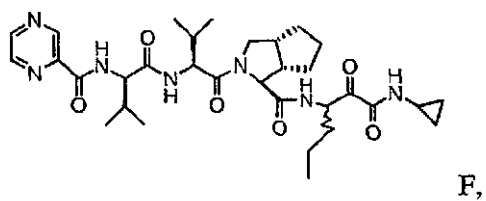
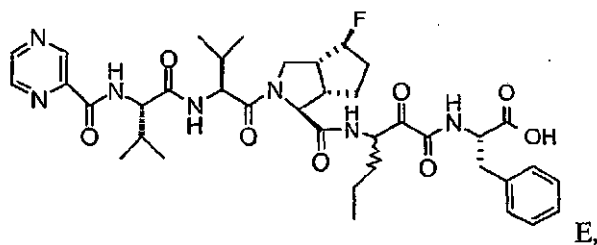
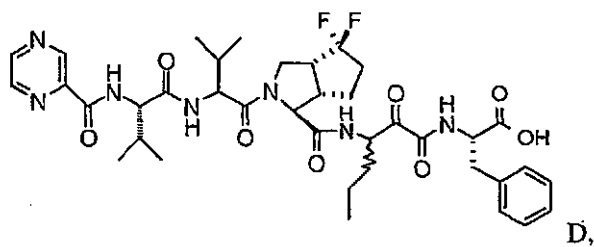
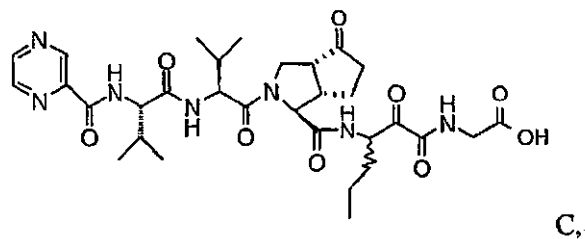
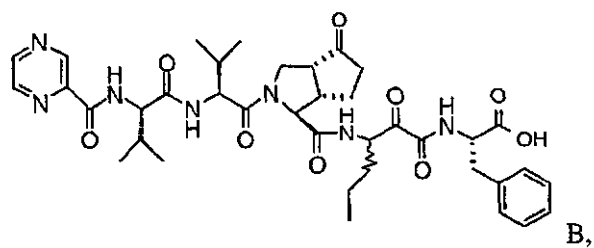
Una realización preferente de acuerdo con la invención es en la que p° es BOC.

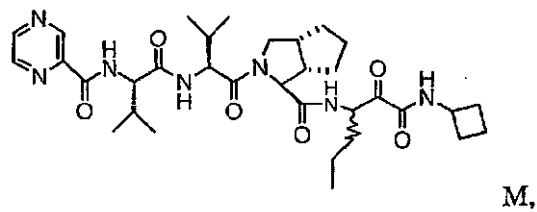
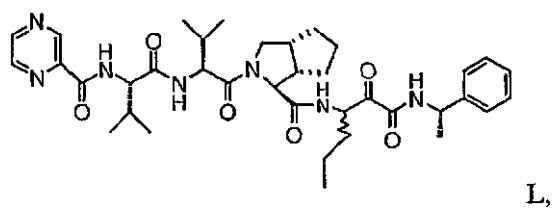
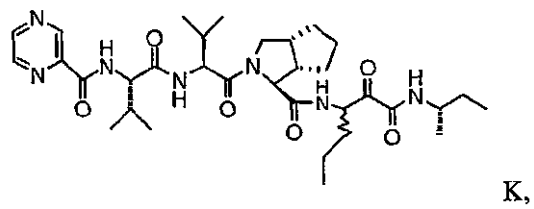
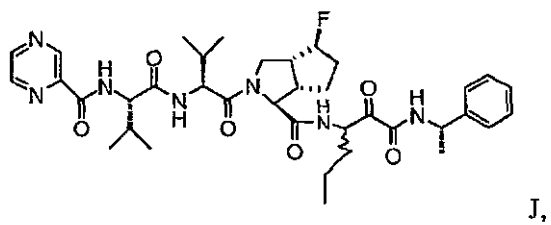
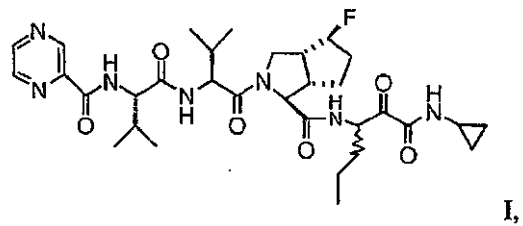
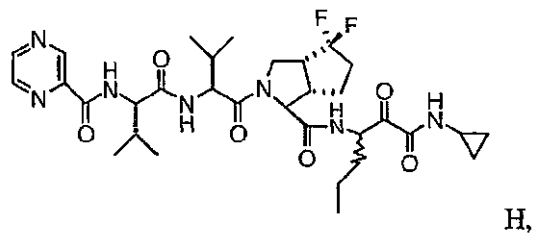
30

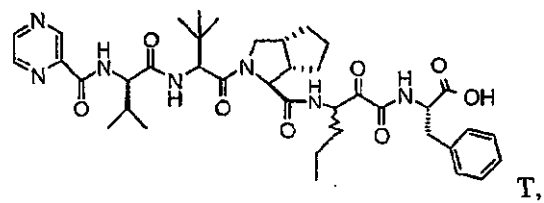
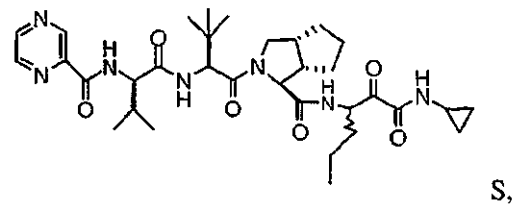
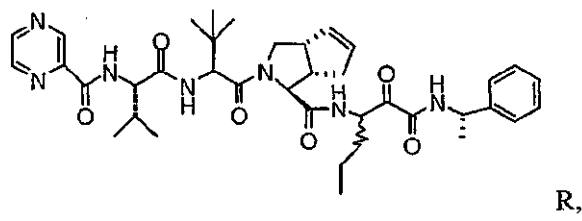
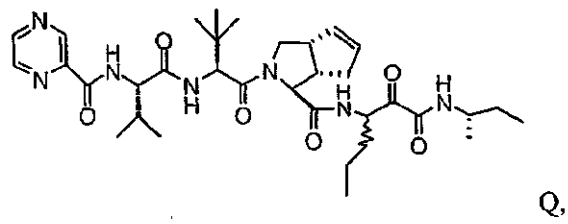
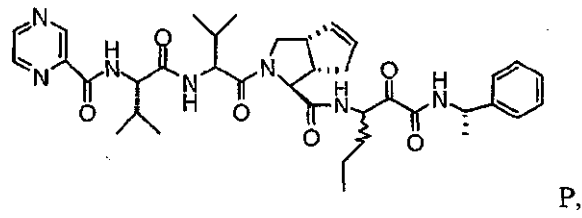
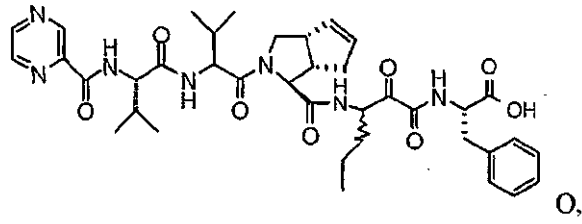
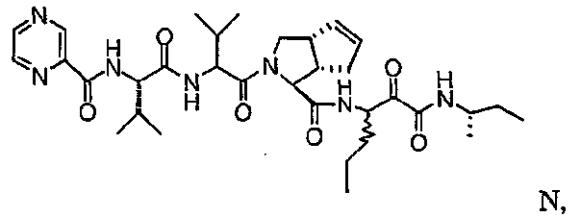
Debe apreciarse que la presente invención cubre todas las combinaciones apropiadas de las agrupaciones particulares y preferentes a las que se hace referencia en el presente documento.

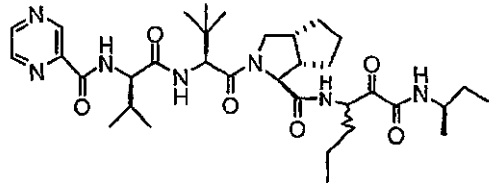
Los compuestos particulares de acuerdo con la invención y compuestos de comparación (marcados por un asterisco) se seleccionan entre el grupo de compuestos A-FH que consiste consecutivamente en



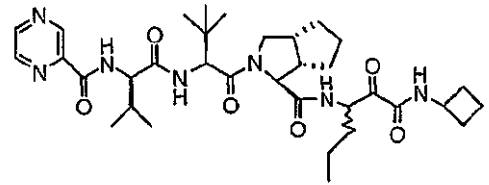




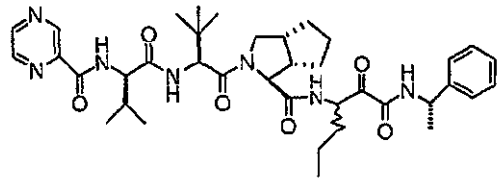




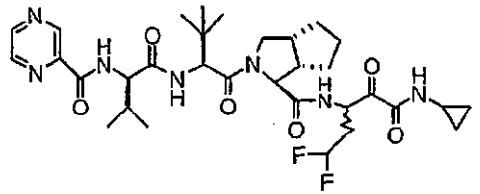
U,



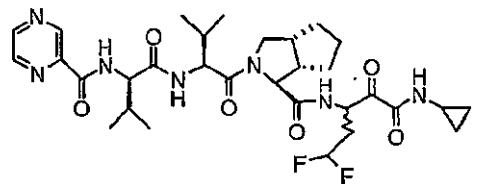
V,



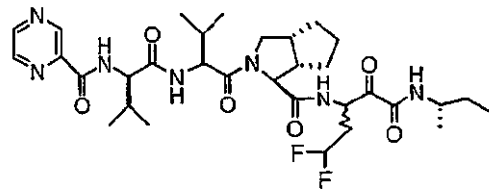
W,



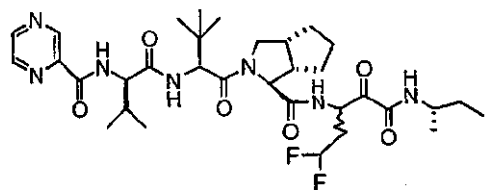
X,



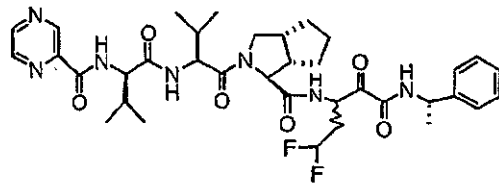
Y,



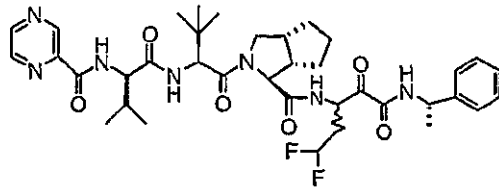
Z,



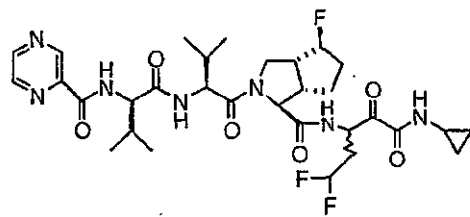
AA,



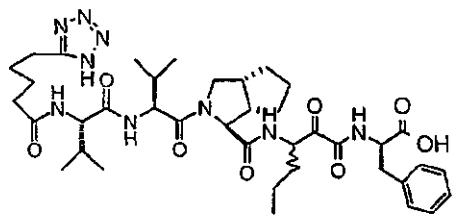
AB,



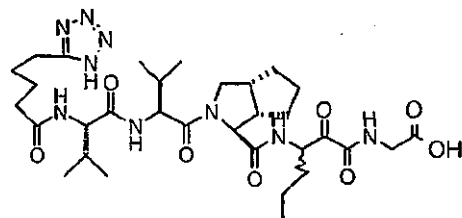
AC,



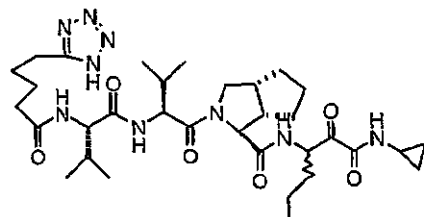
AD,



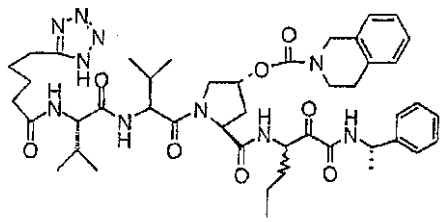
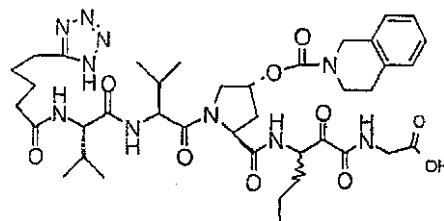
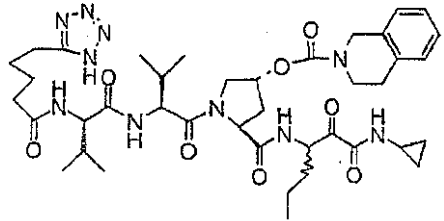
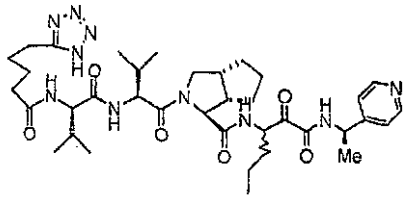
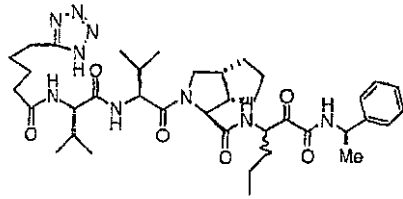
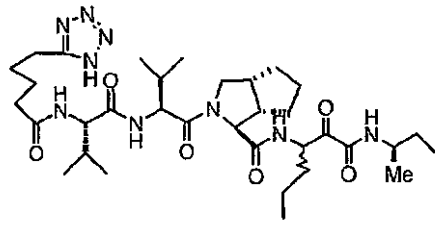
AE,

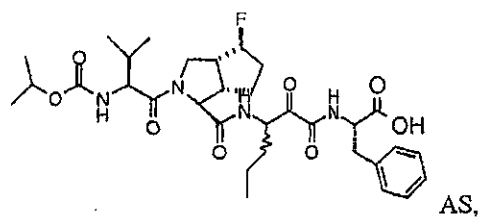
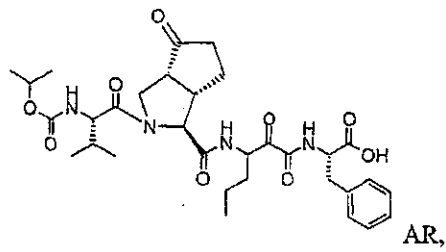
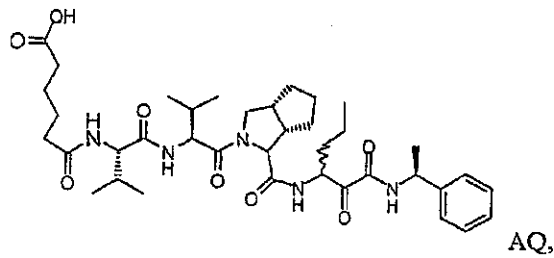
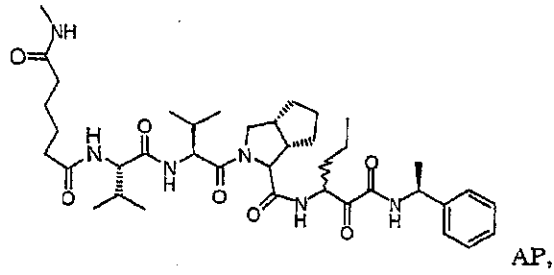
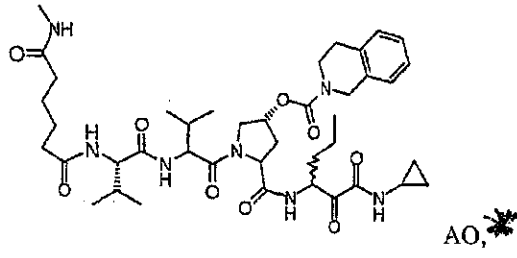
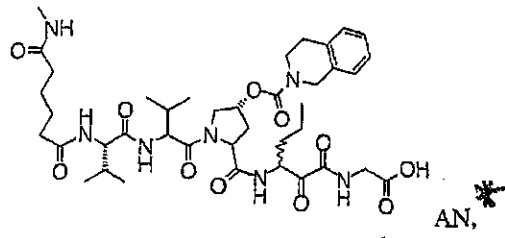


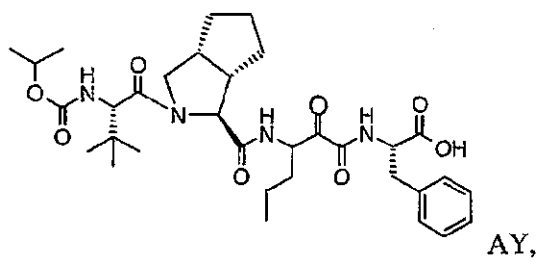
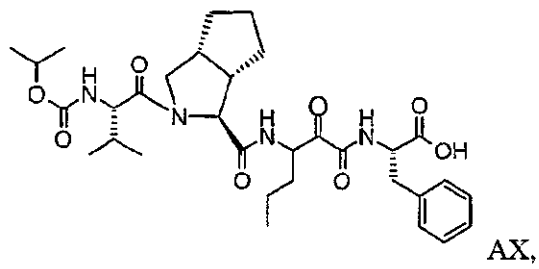
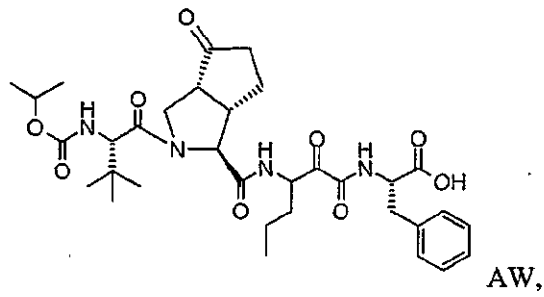
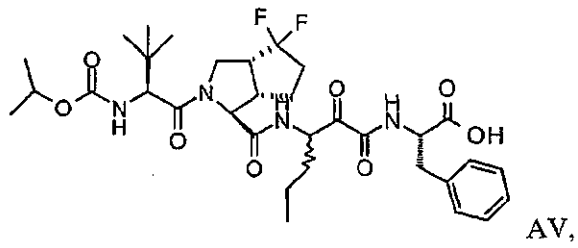
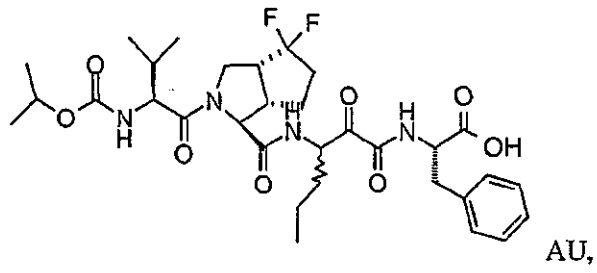
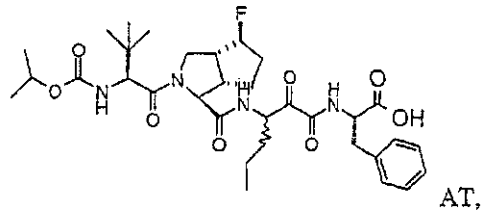
AF,

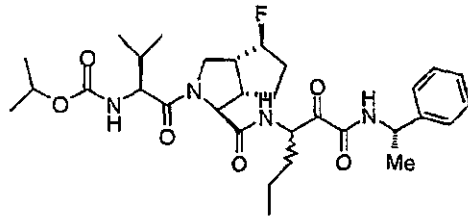


AG,

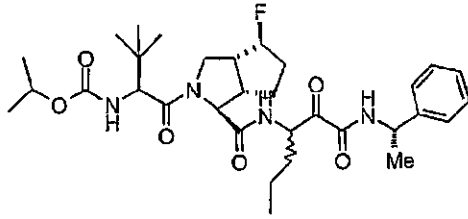




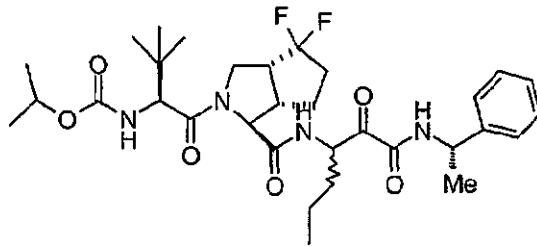




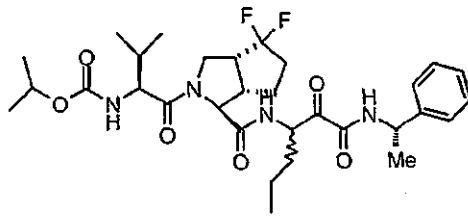
AZ,



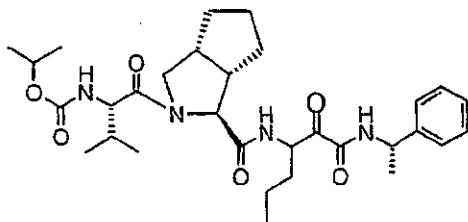
BA,



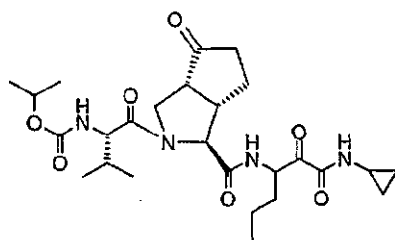
BB,



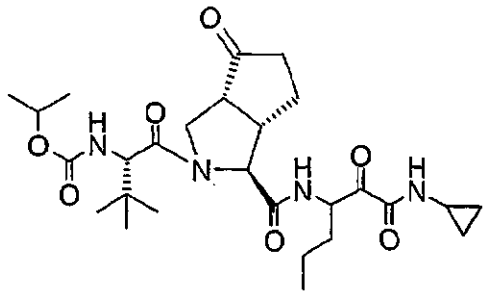
BC,



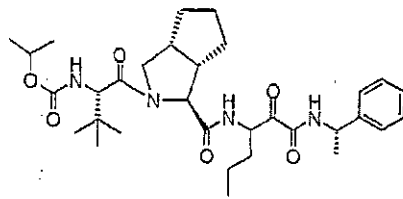
BD,



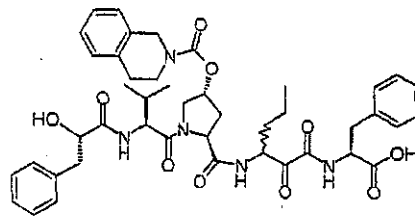
BE,



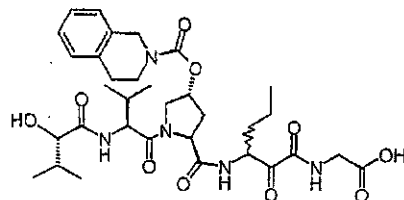
BF,



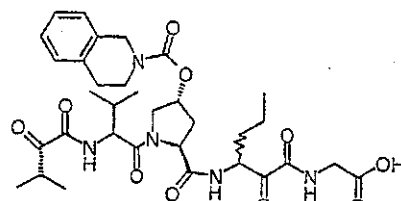
BG,



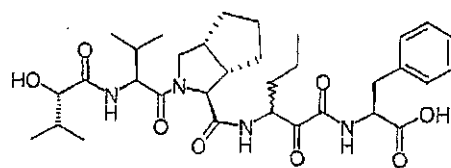
BH,*



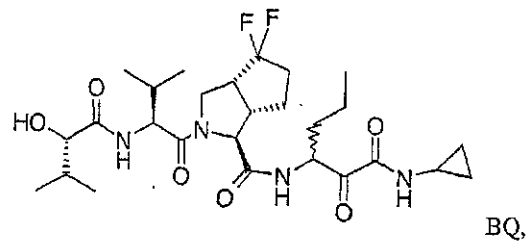
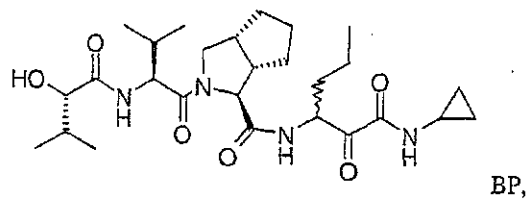
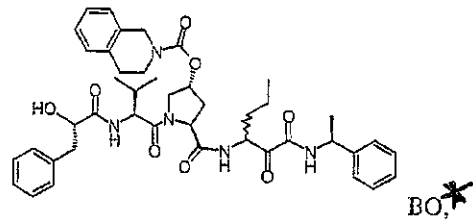
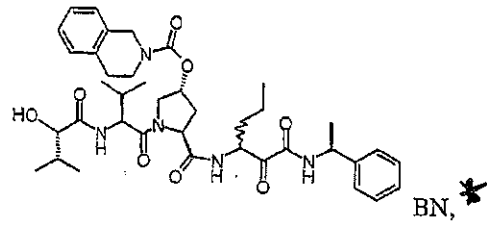
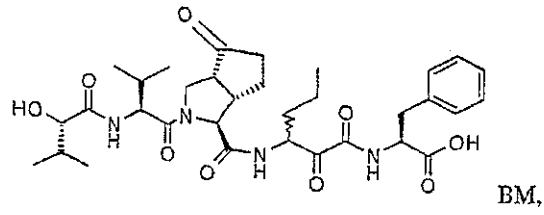
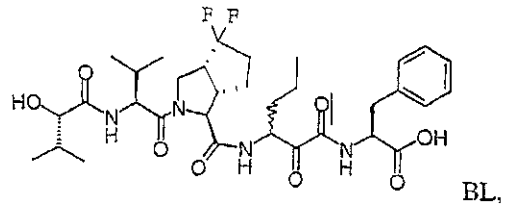
BL,*

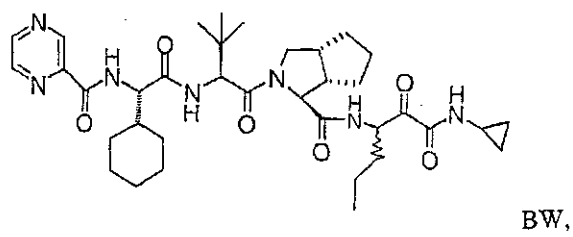
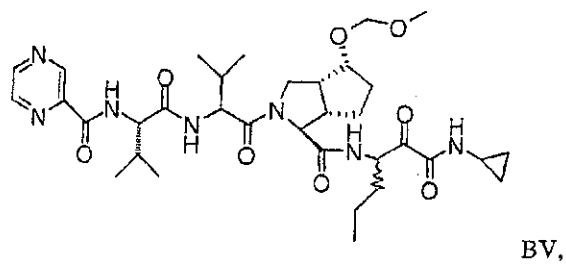
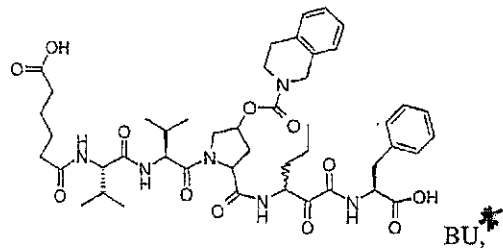
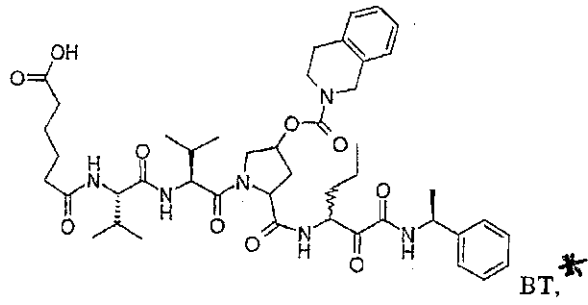
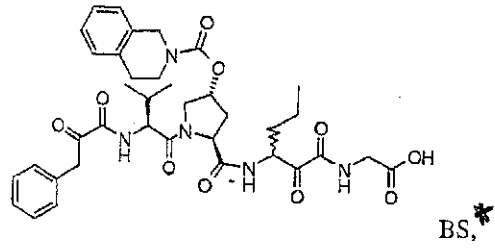
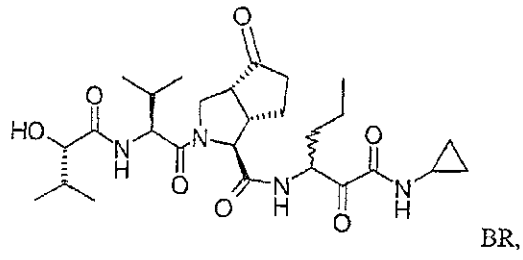


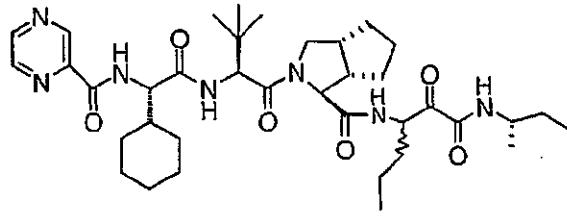
BJ,*



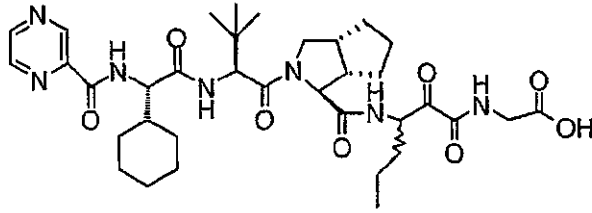
BK,



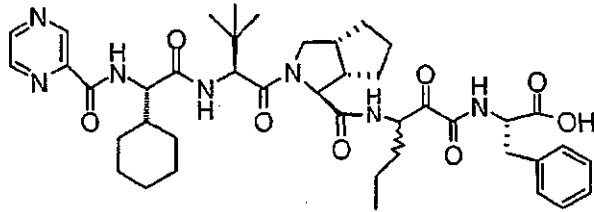




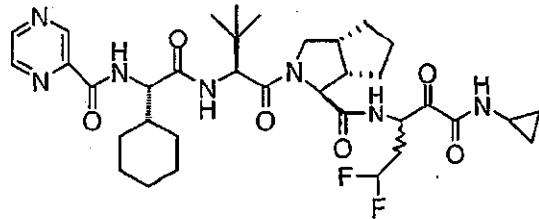
BX,



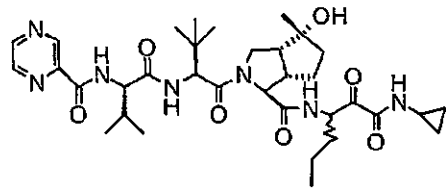
BY,



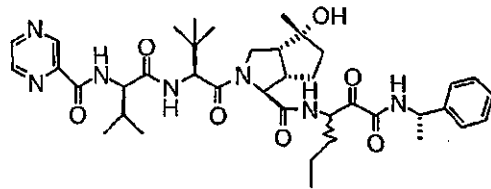
BZ,



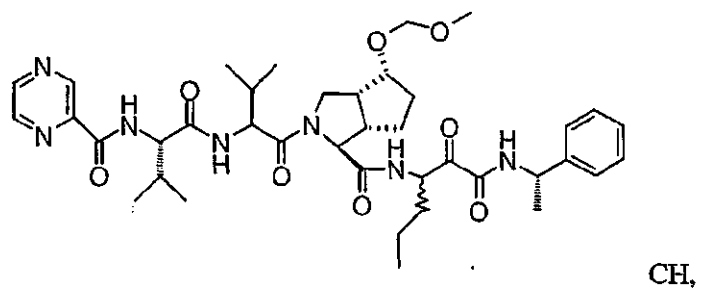
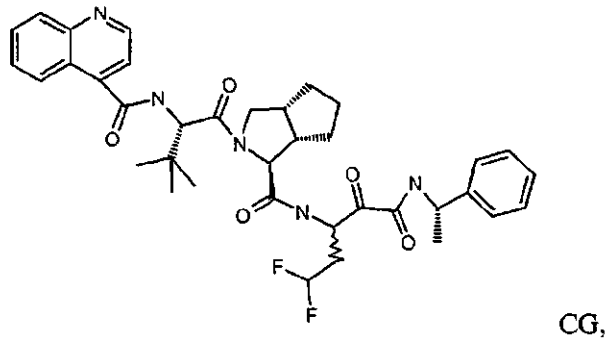
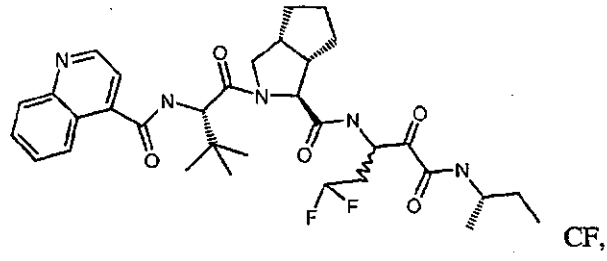
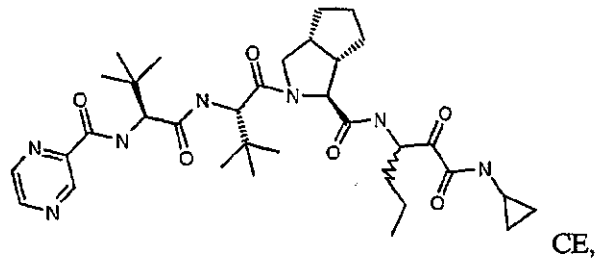
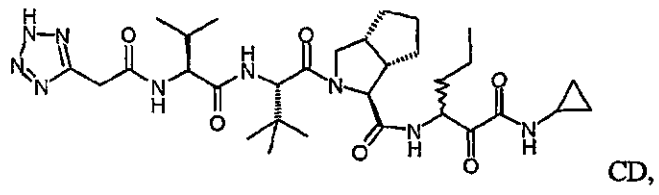
CA,

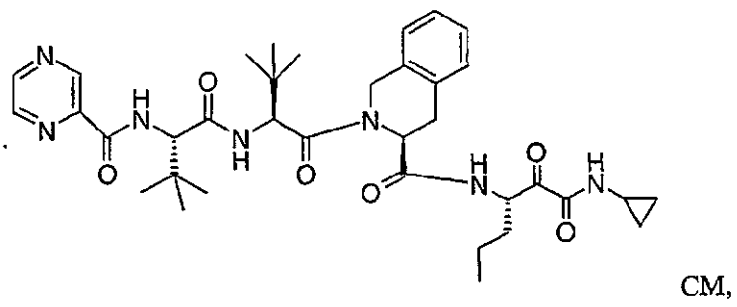
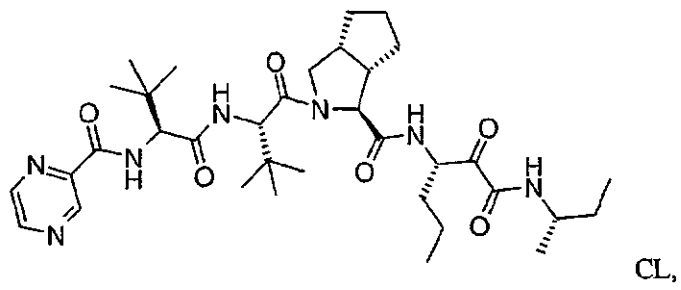
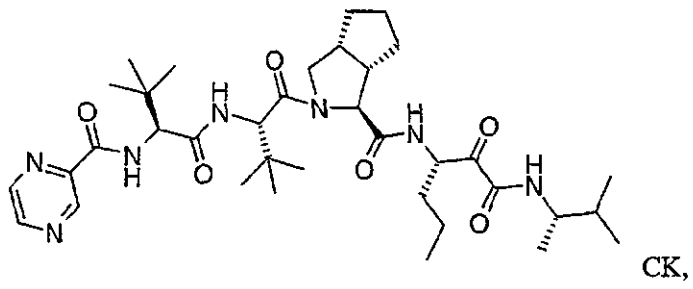
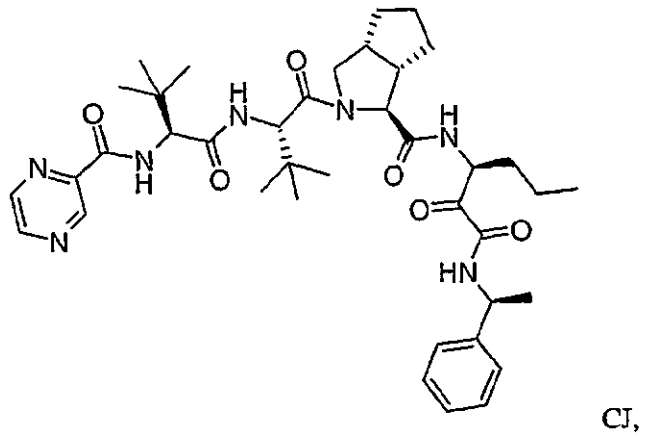
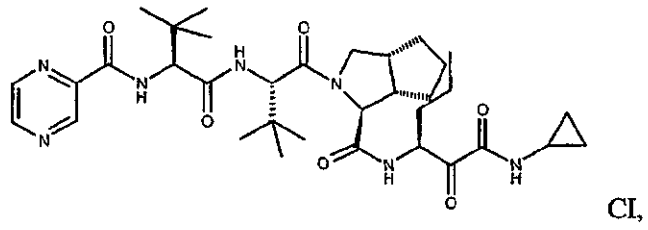


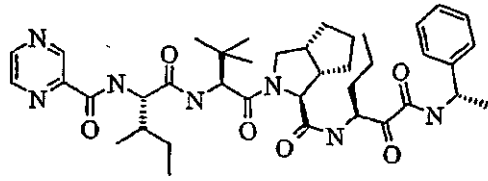
CB,



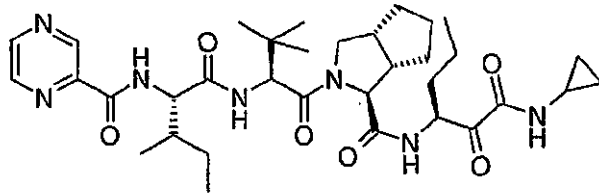
CC,



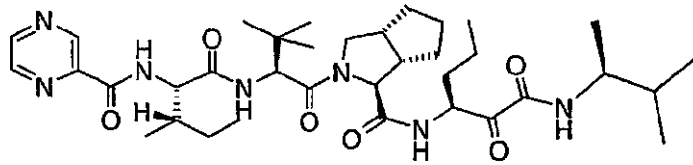




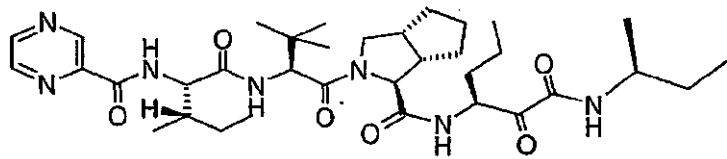
CN,



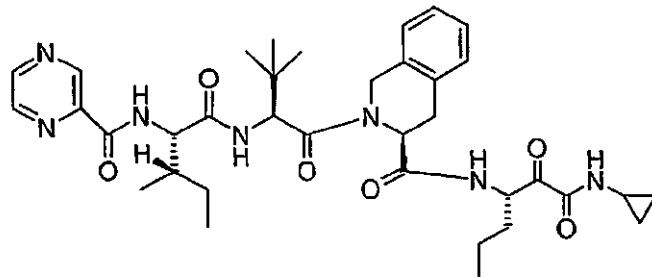
CO,



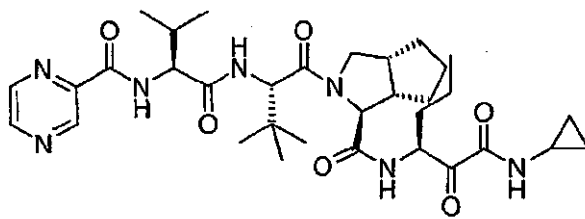
CP,



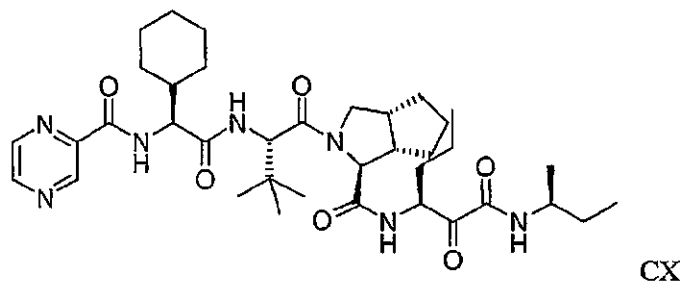
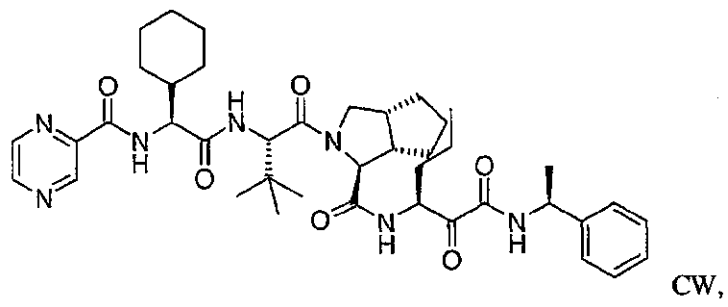
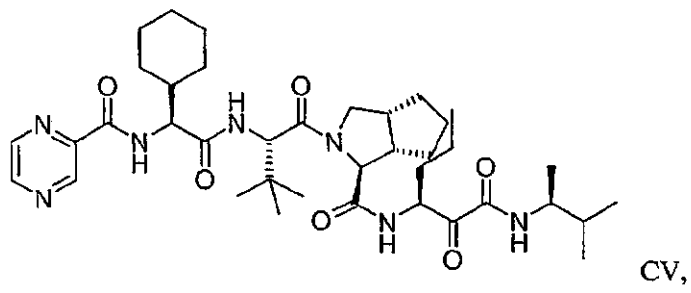
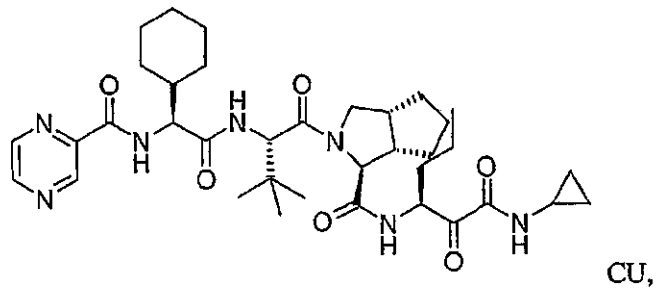
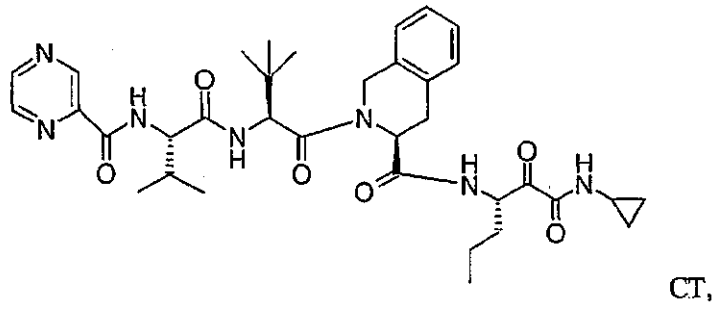
CQ,

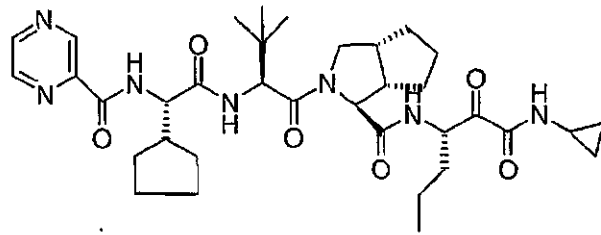


CR,

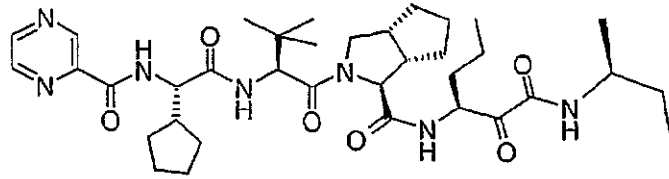


CS,

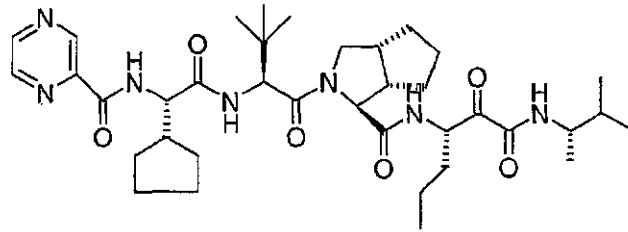




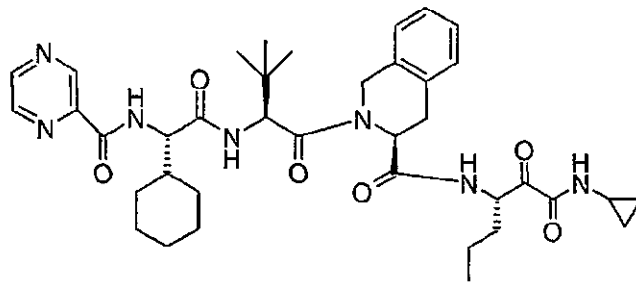
CY



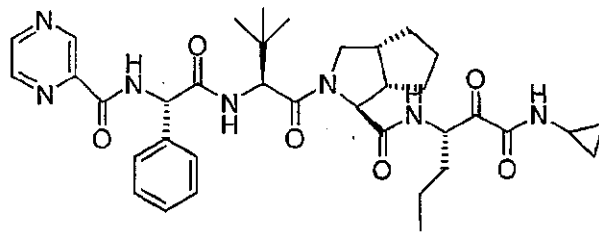
CZ,



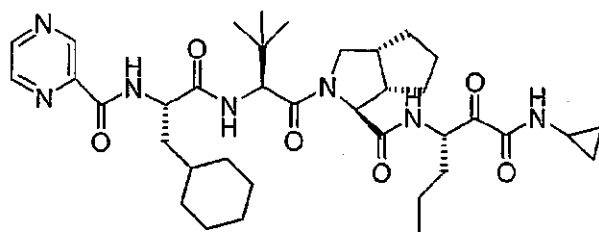
DA,



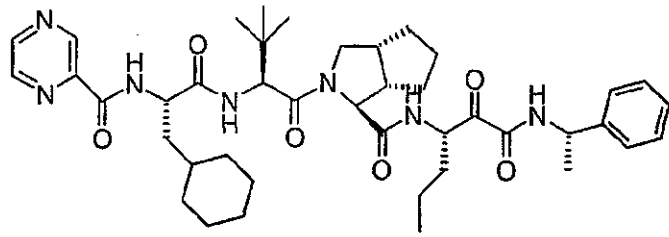
DB,



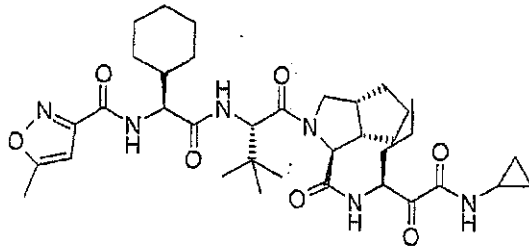
DC,



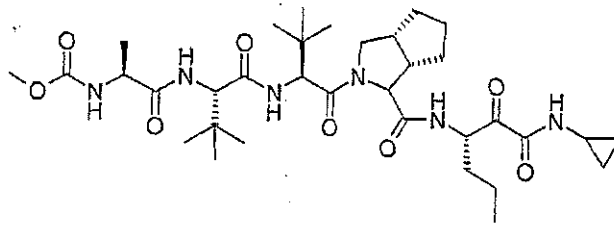
DD,



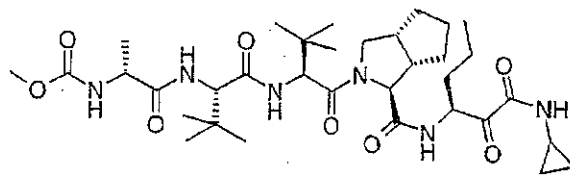
DE,



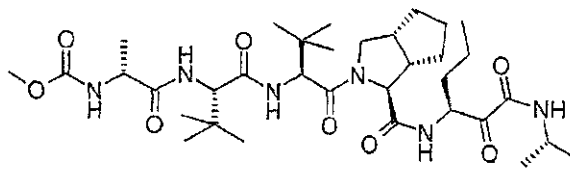
DF,



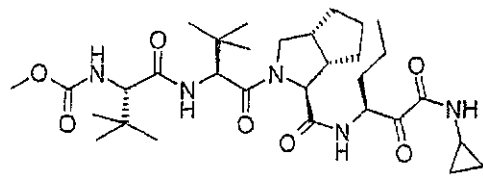
DG,



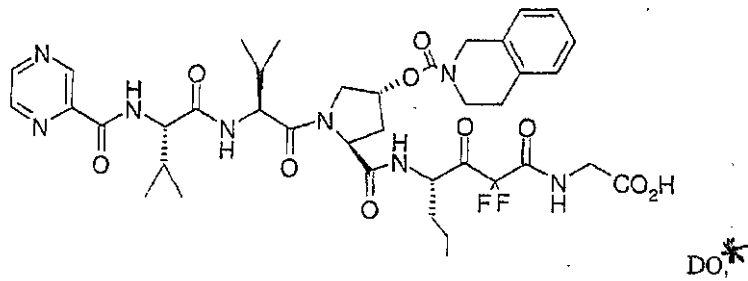
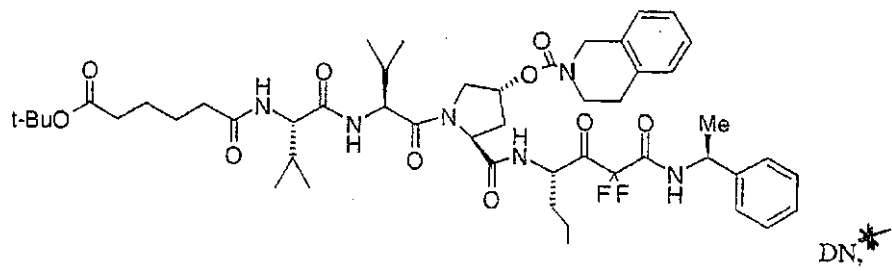
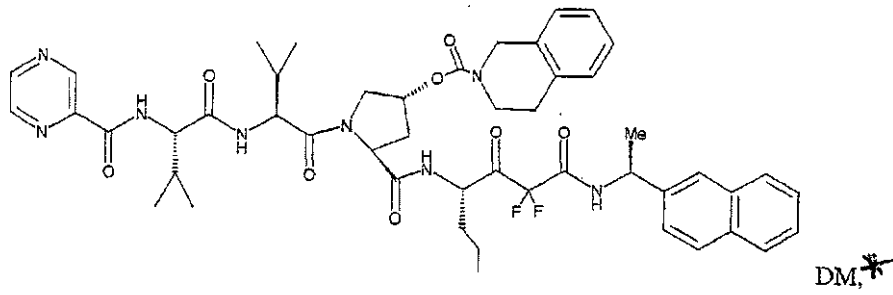
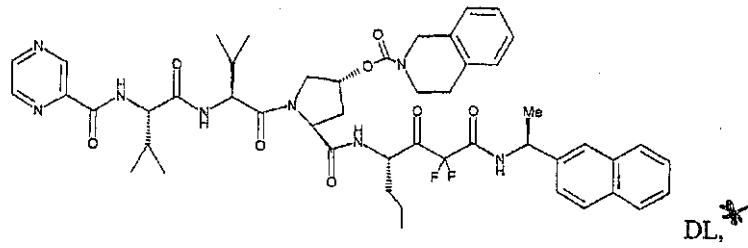
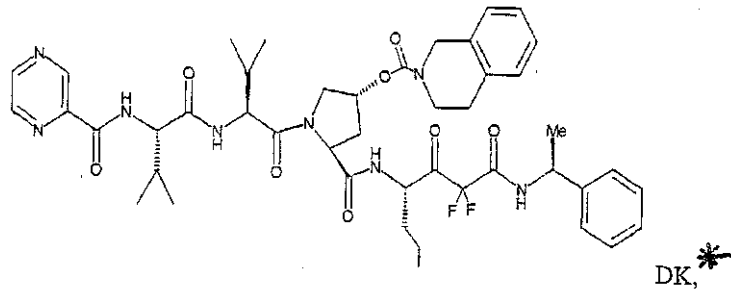
DH,

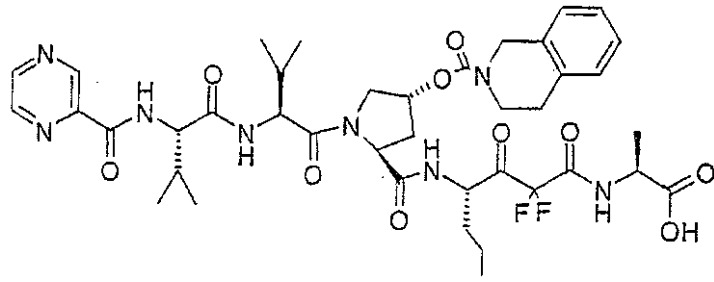


DI,

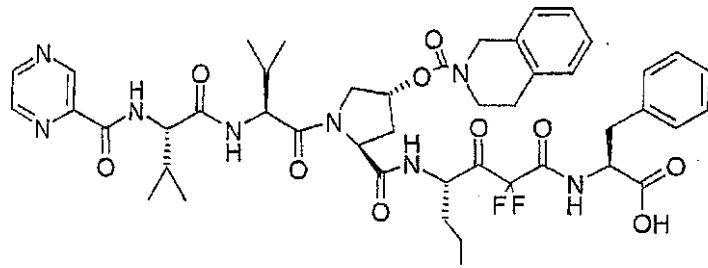


DJ,

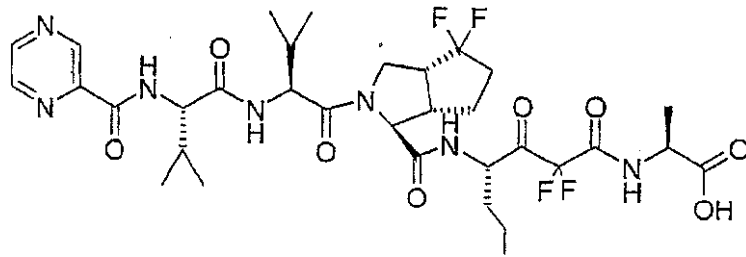




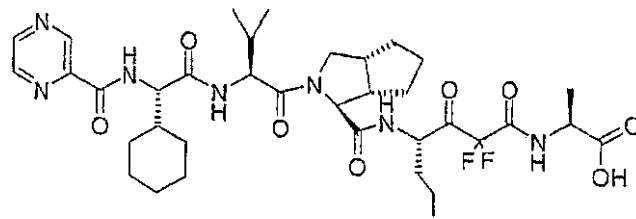
DP, *



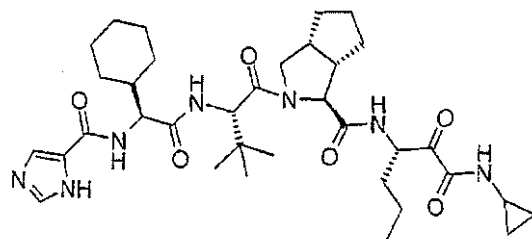
DQ, *



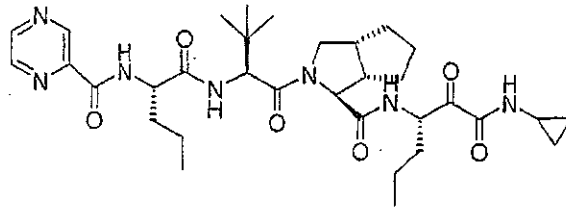
DR,



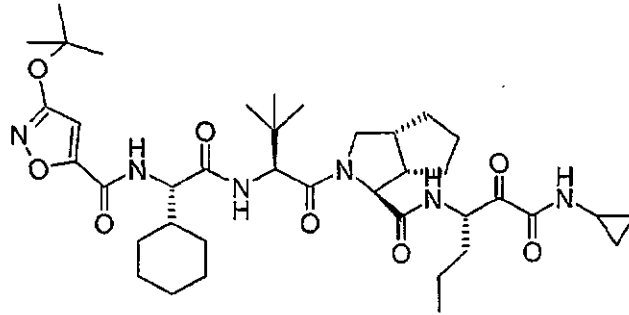
DS,



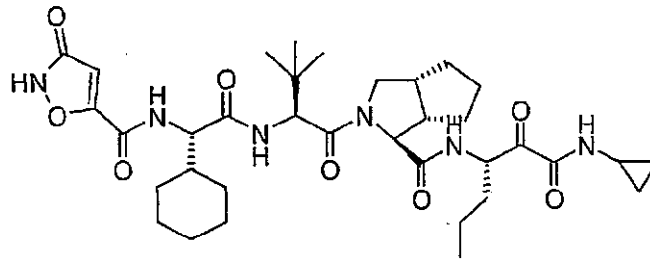
DT,



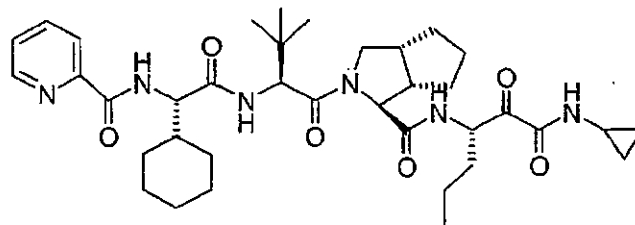
DU,



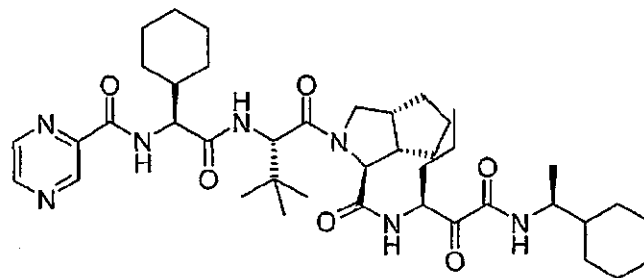
DV,



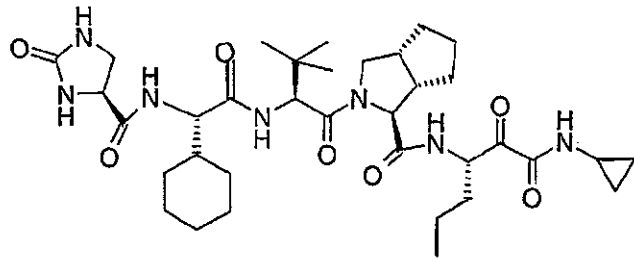
DW,



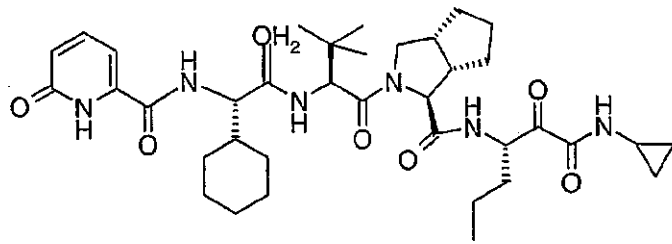
DX,



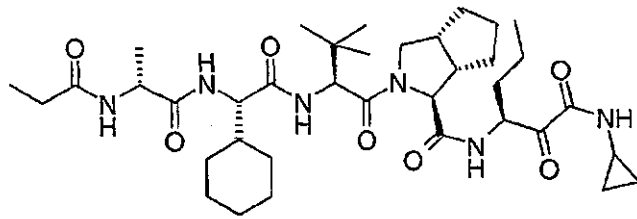
DY,



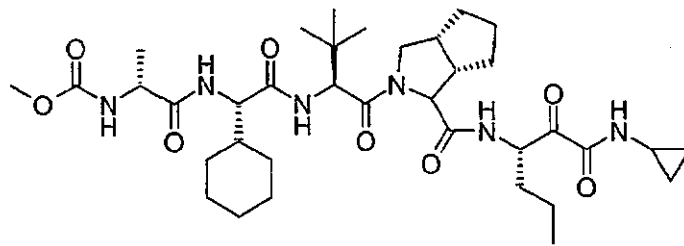
DZ,



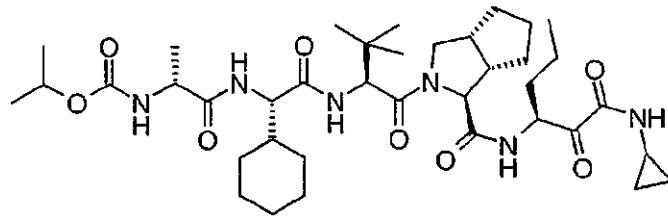
EA,



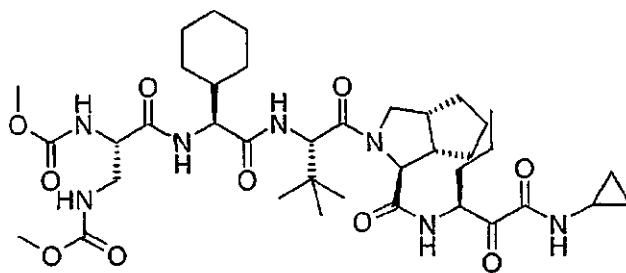
EB,



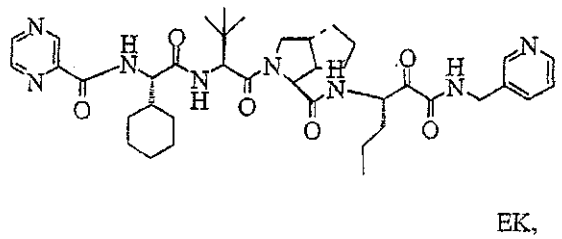
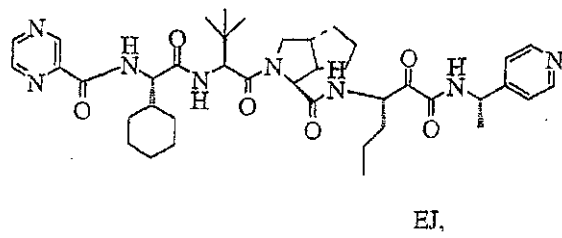
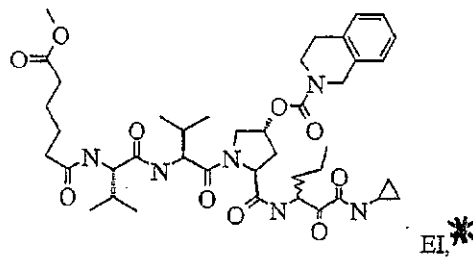
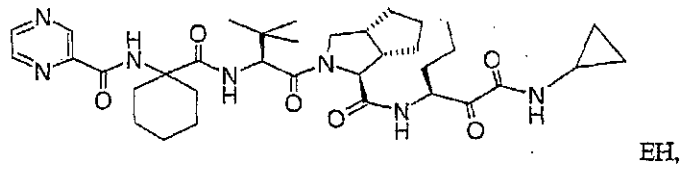
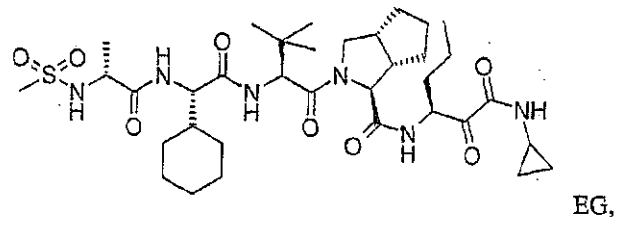
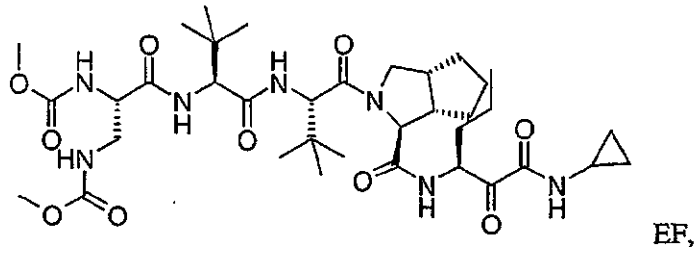
EC,

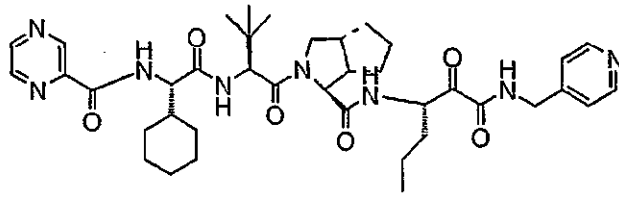


ED,

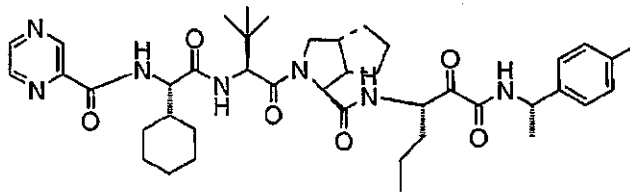


EE,

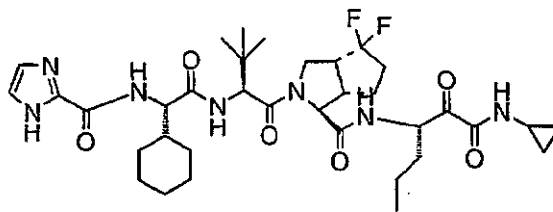




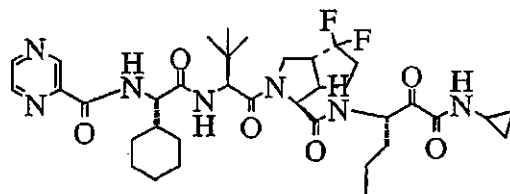
EL,



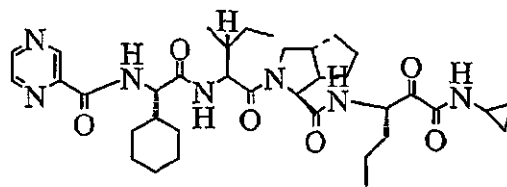
EM,



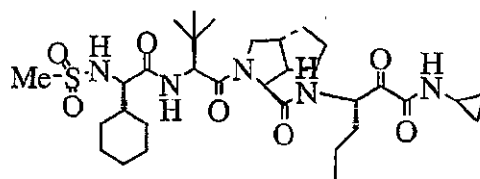
EN,



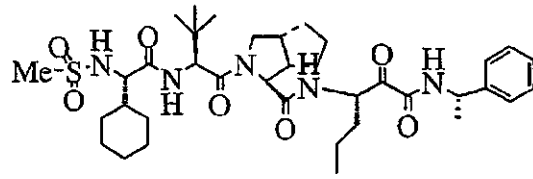
EO,



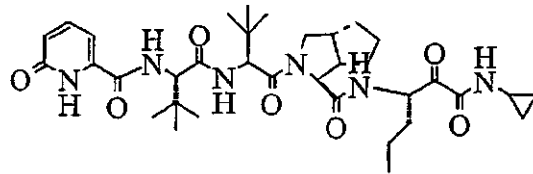
EP,



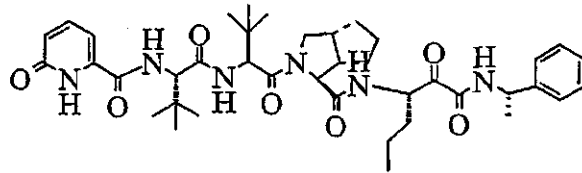
EQ,



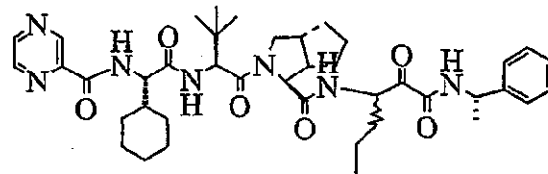
ER,



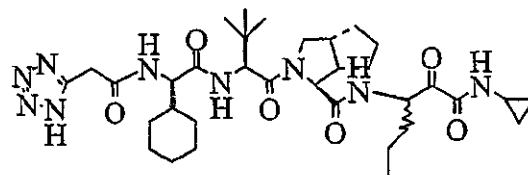
ES,



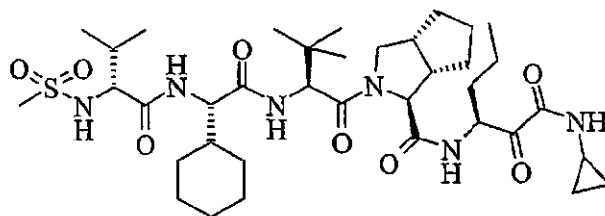
ET,



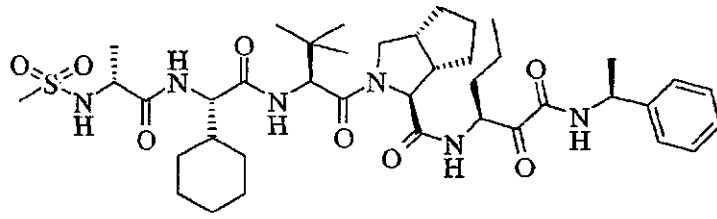
EU,



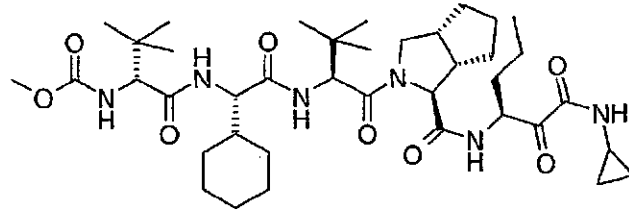
EV,



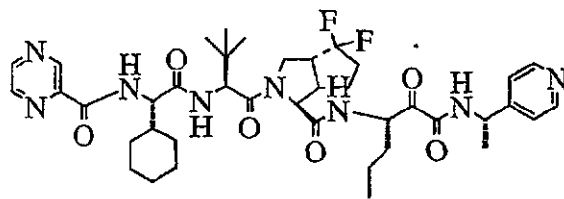
EW,



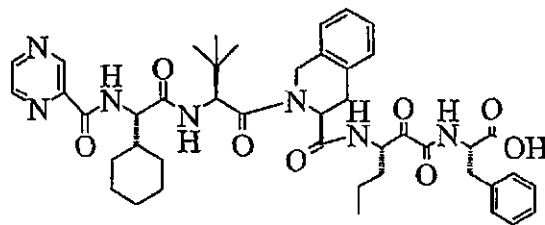
EX,



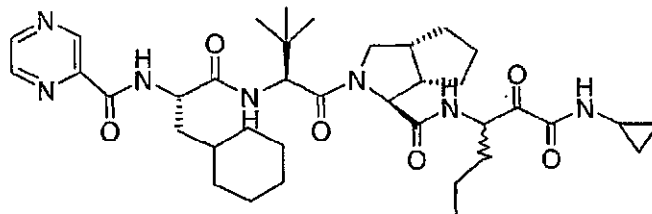
EY,



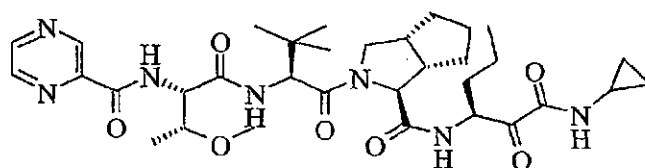
EZ,



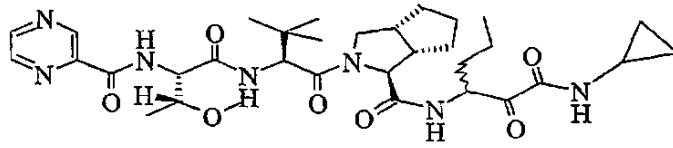
FA,



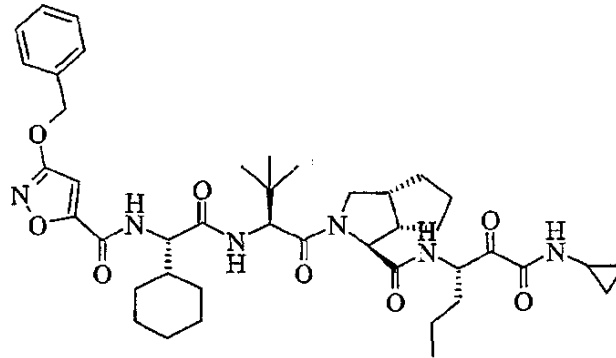
FB,



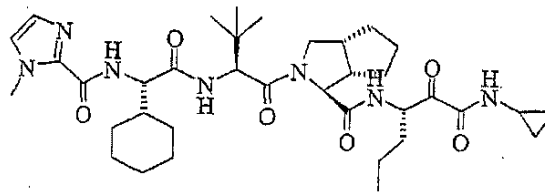
FC,



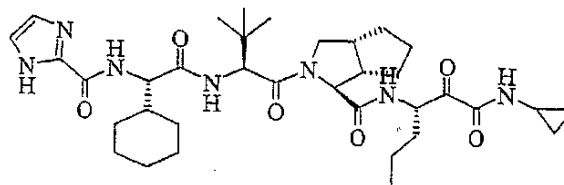
FD,



FE,

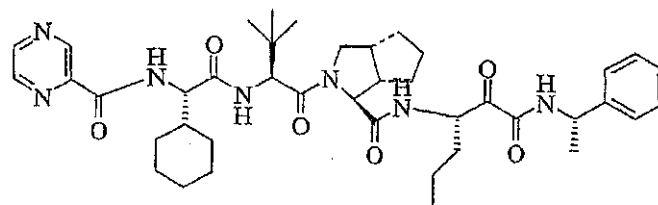


FF,



FG,

y



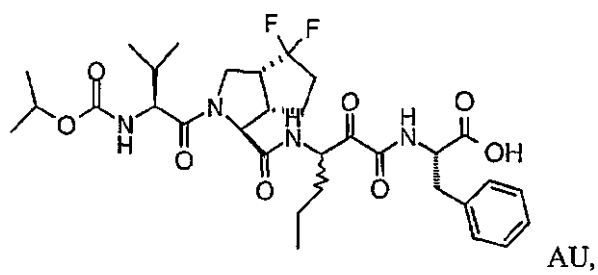
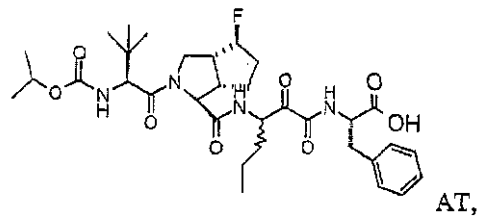
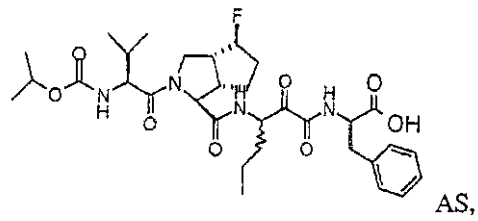
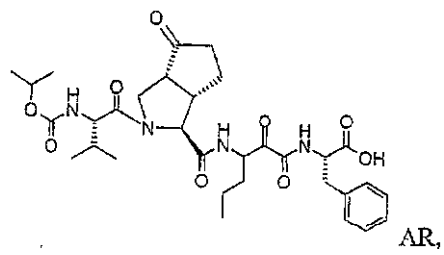
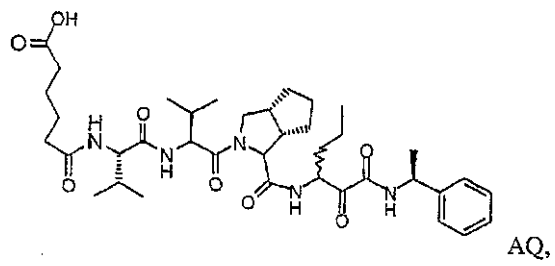
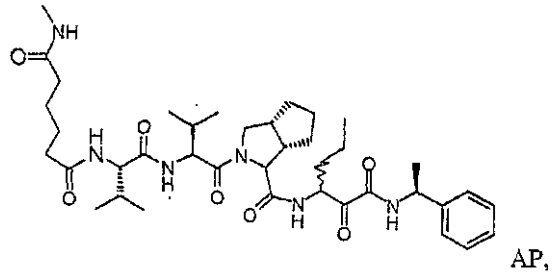
FH,

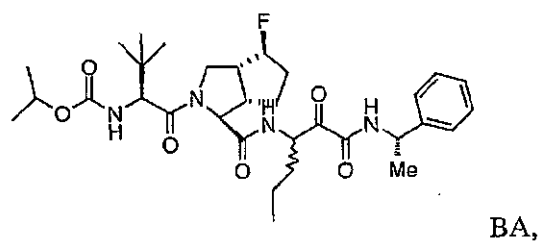
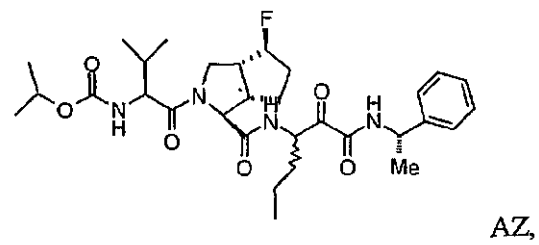
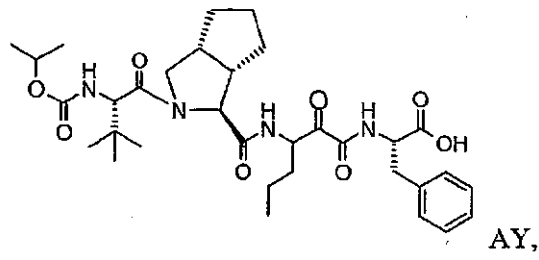
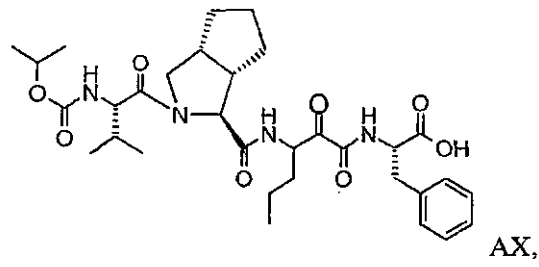
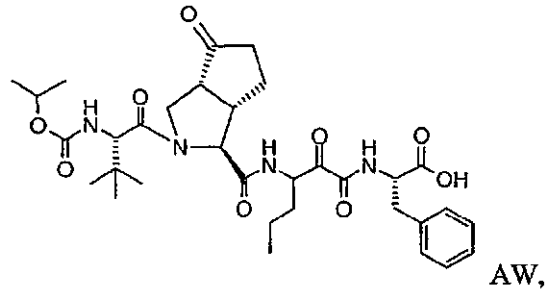
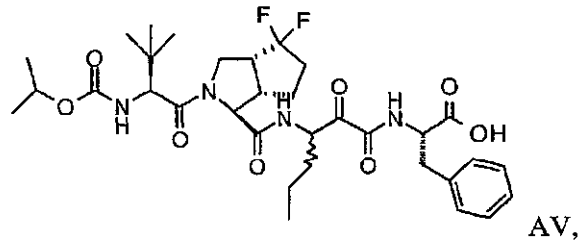
5 o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco.

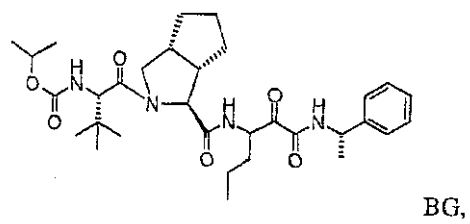
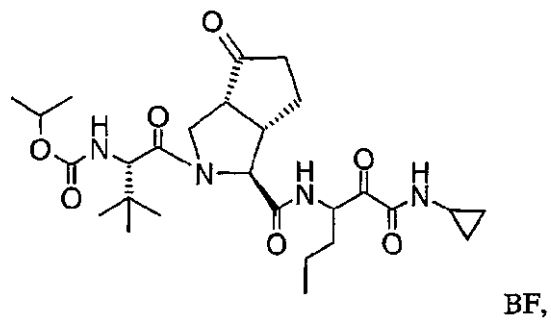
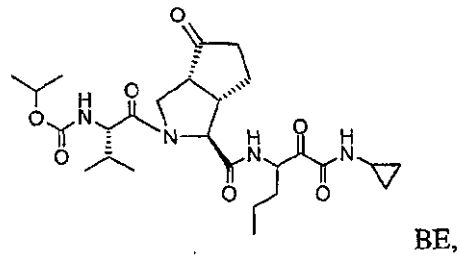
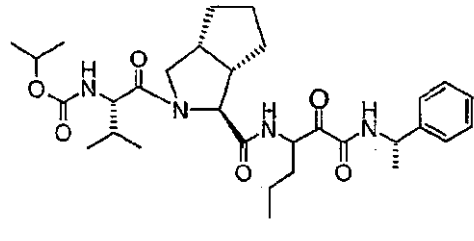
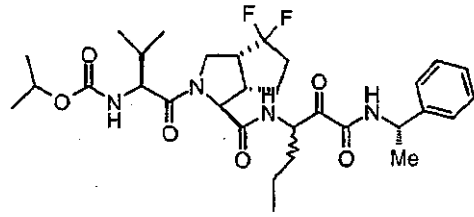
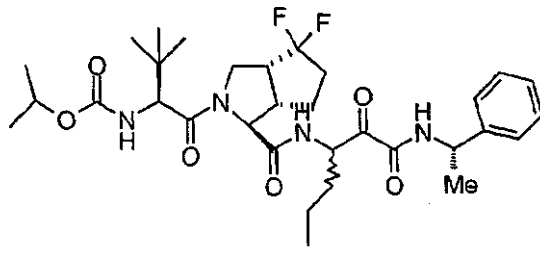
Un compuesto preferido es uno seleccionado entre el grupo que consiste en S, U, BW, BX, BY, BZ, CE, CU, CW, CY, DZ, EA, EC, EJ, FH, EW, EO, EZ, FG y EN, una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de dicho compuesto,

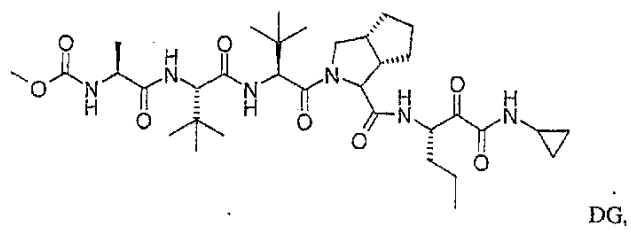
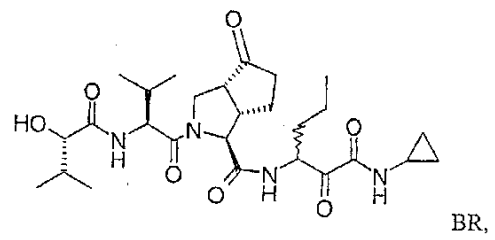
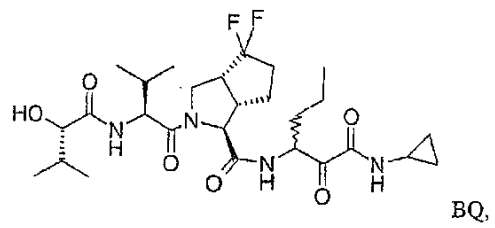
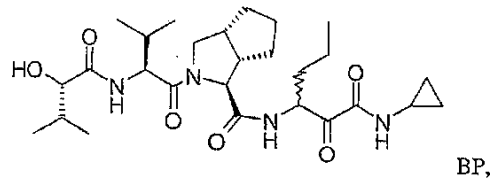
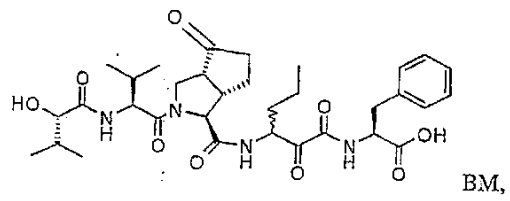
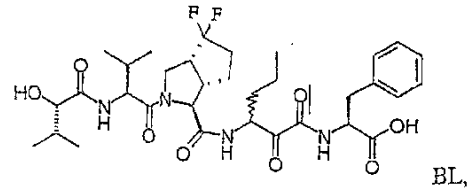
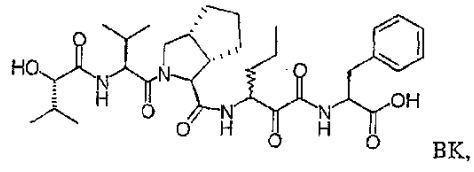
o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco.

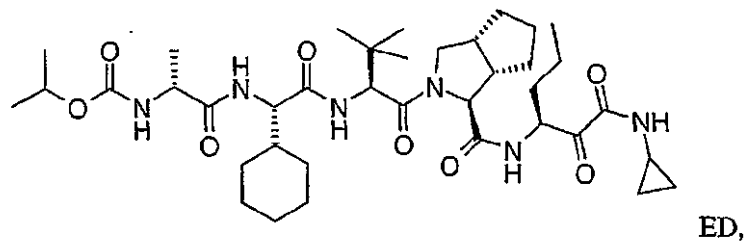
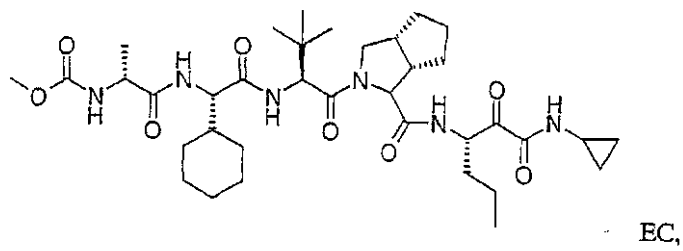
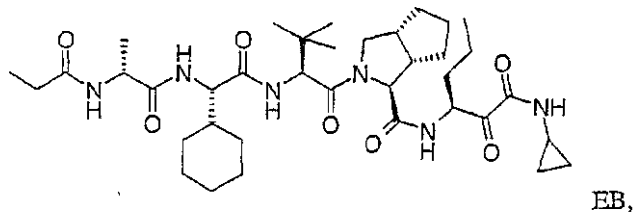
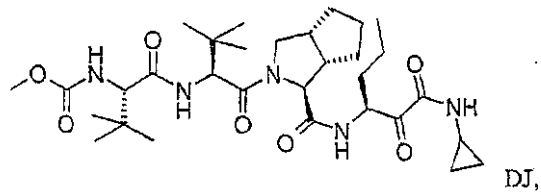
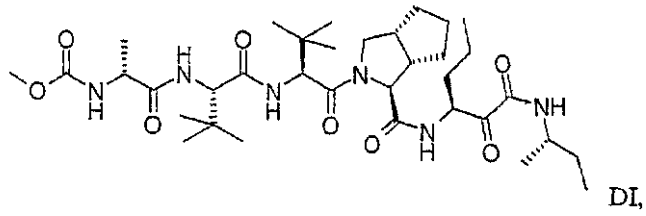
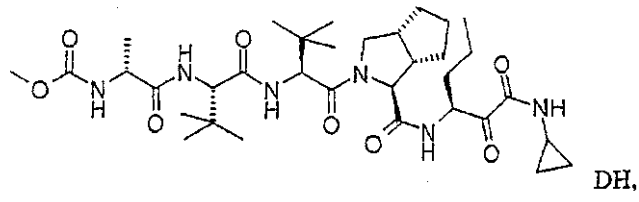
Otra realización preferente de la invención son compuestos seleccionados entre el siguiente grupo de compuestos:

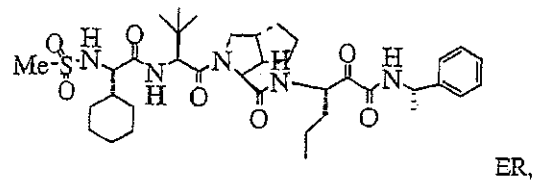
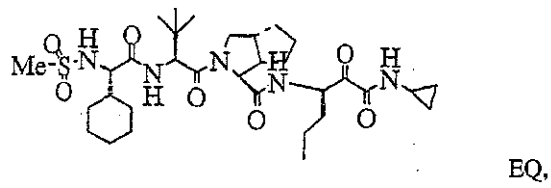
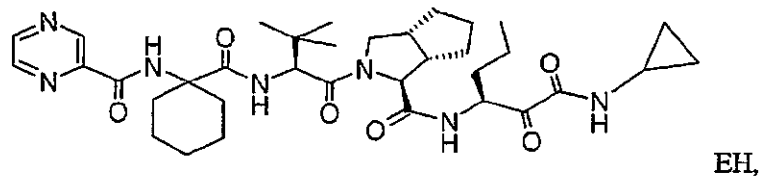
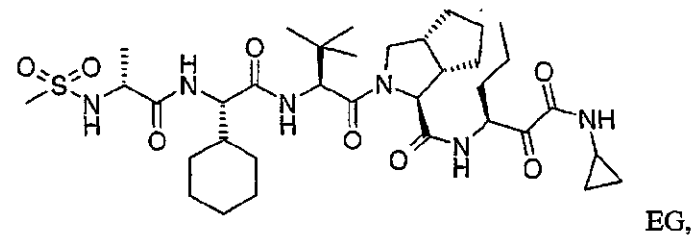
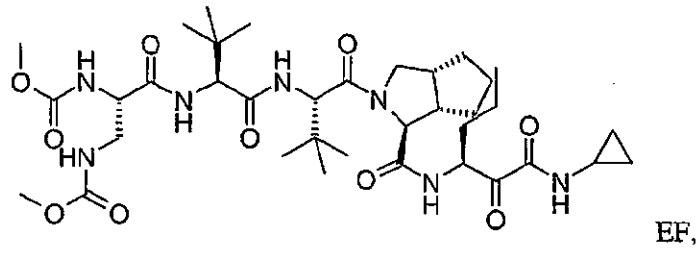
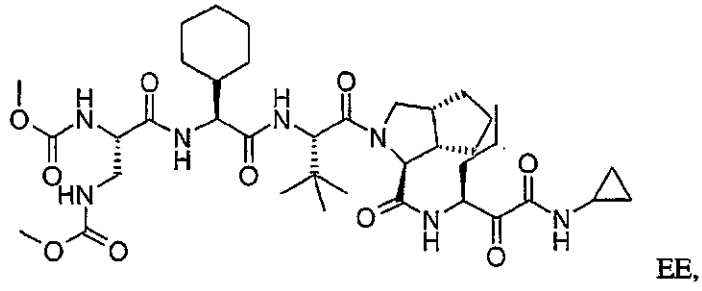


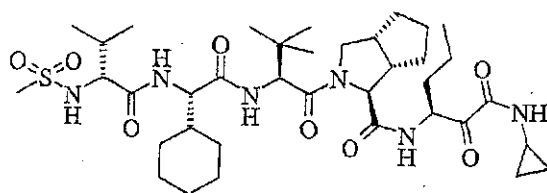




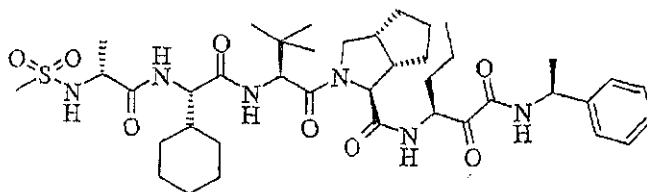




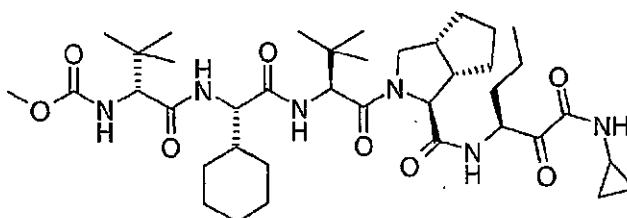




EW,



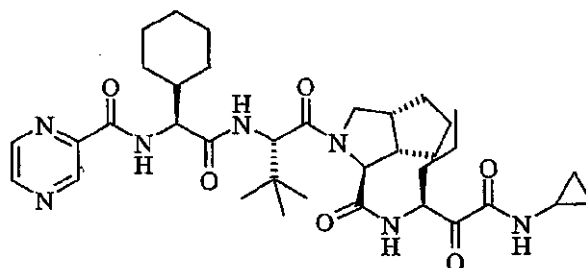
EX,



EY,

o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco.

Otra realización preferida de la invención es un compuesto de la fórmula



5

o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco.

Otra realización preferida de la invención es un compuesto de la fórmula 1, en la que:

- 10 R^0 es un enlace; R^1 es hidrógeno;
 R^2 es alquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático; o cicloalquilo inferior sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;
 R^3 y R^5 son cada uno independientemente metileno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático;
 R^4 , R^6 , R^8 y R^{10} son hidrógeno;
 15 R^7 es metileno sustituido con cicloalquilo, alquilo inferior o arilo; o (1,1- o 1,2-)cicloalquenoilino opcionalmente sustituido con cicloalquilo, alquilo inferior o arilo;
 R^9 es

alquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático; o

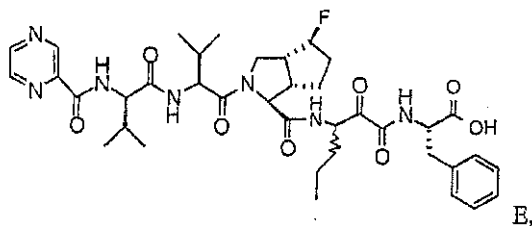
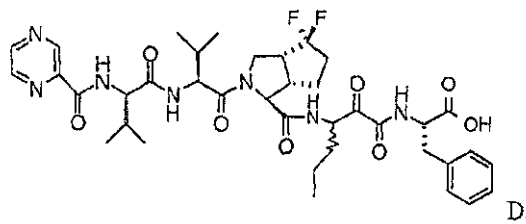
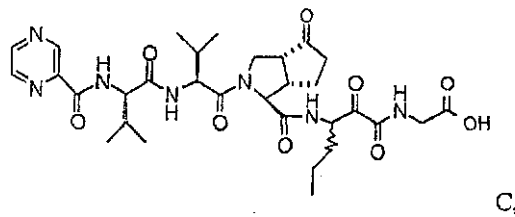
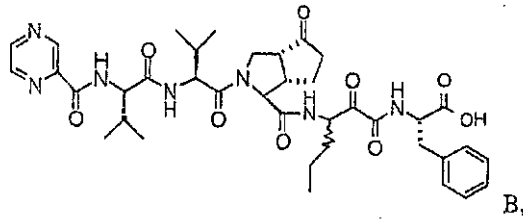
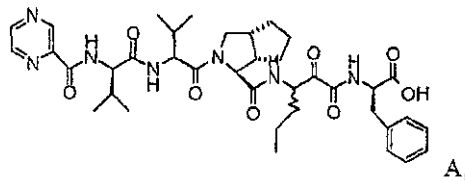
heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico, o heterocíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;

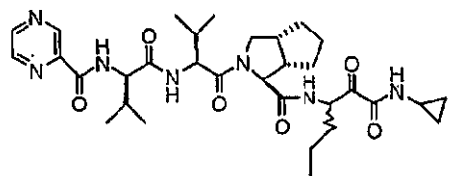


5 es azaheterociclilo monocíclico opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico; y L es

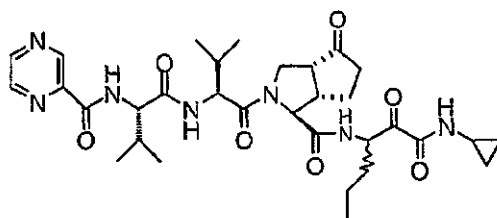
-C(O)-, -OC(O)-.

Otra realización preferente de la invención es un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

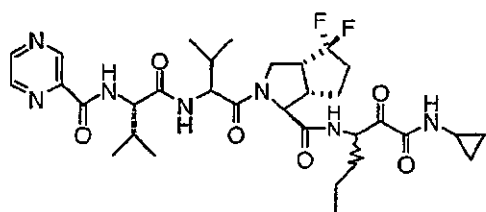




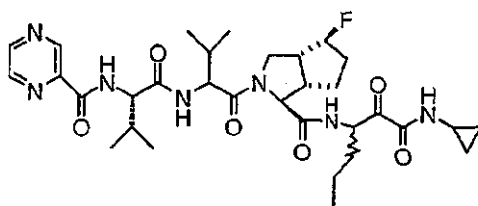
F,



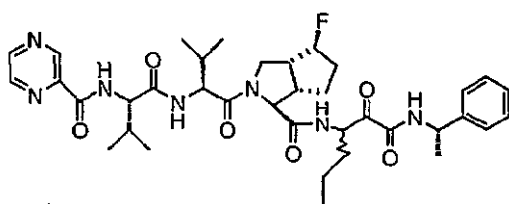
G,



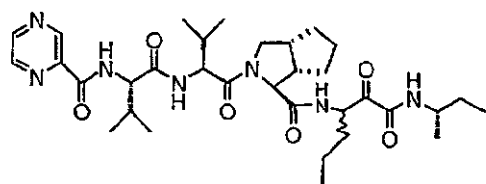
H,



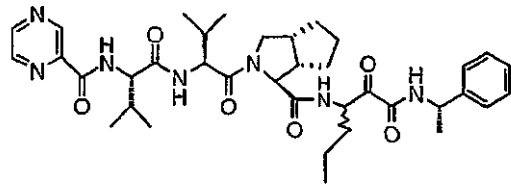
I,



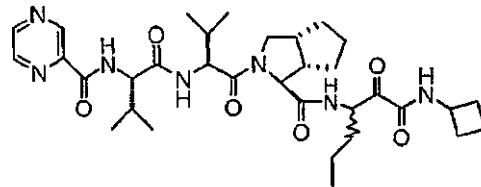
J,



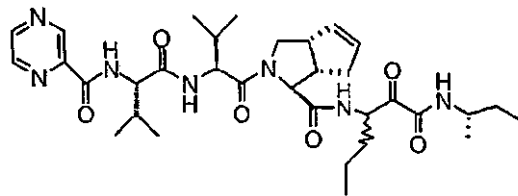
K,



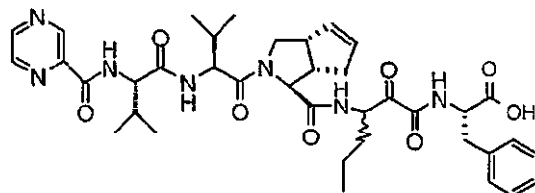
L,



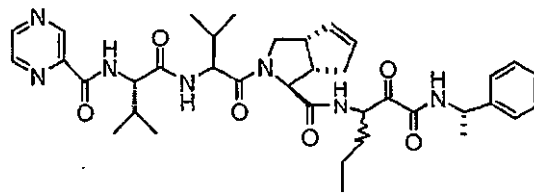
M,



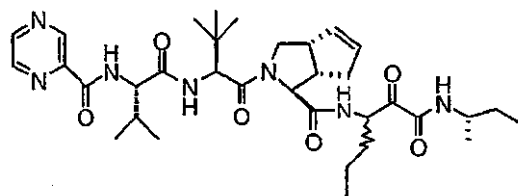
N,



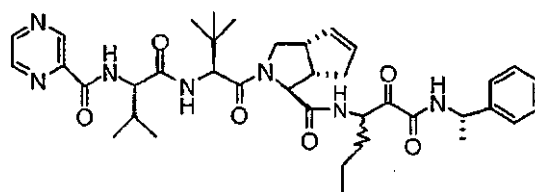
O,



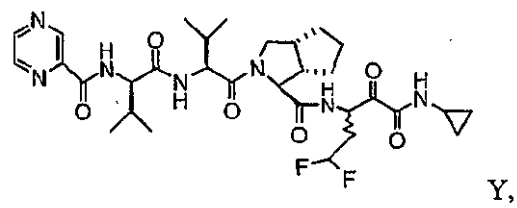
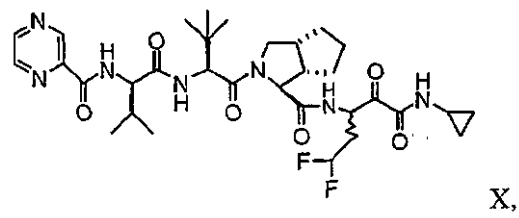
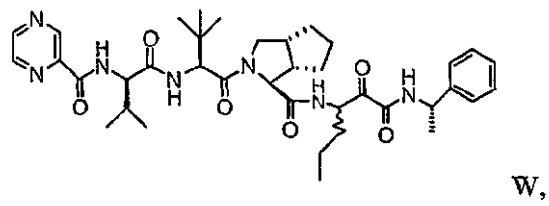
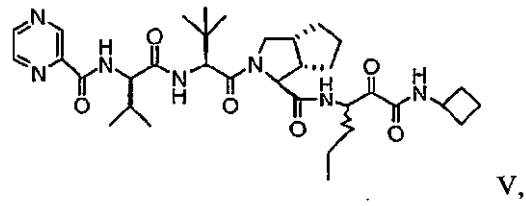
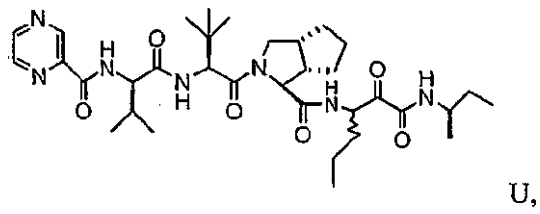
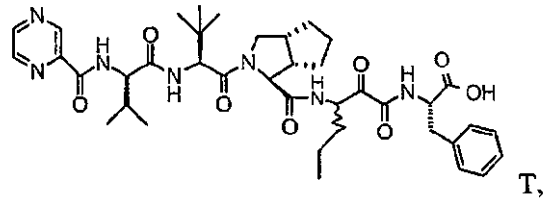
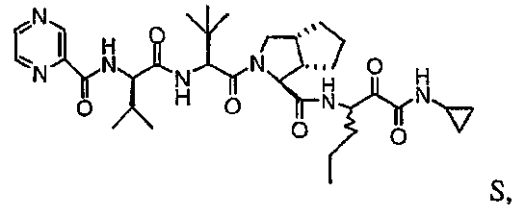
P,

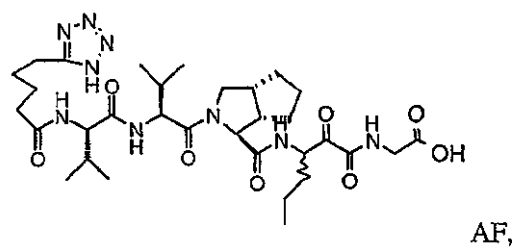
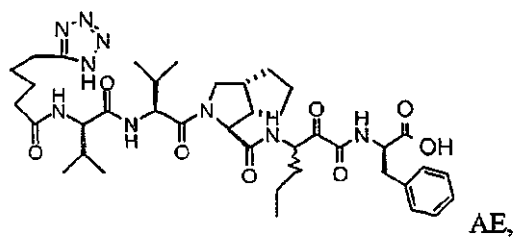
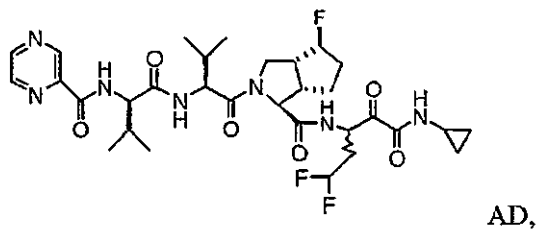
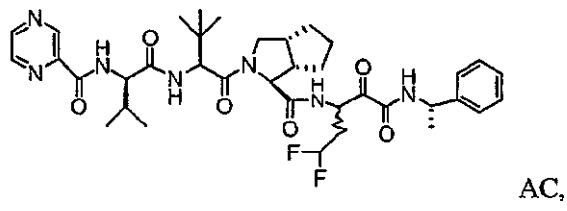
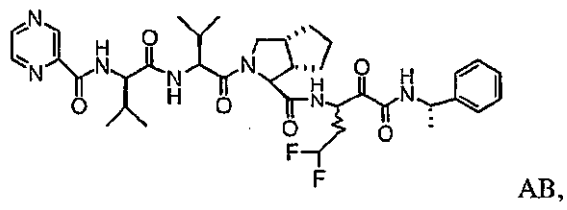
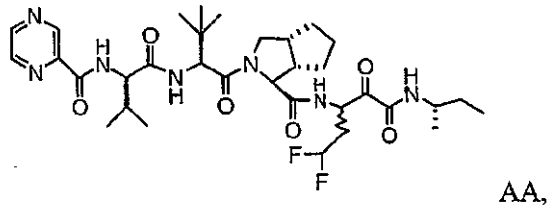
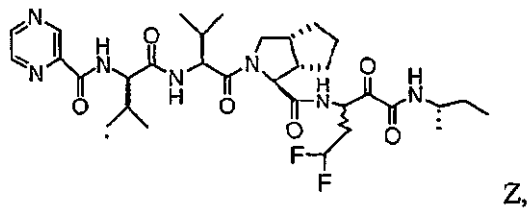


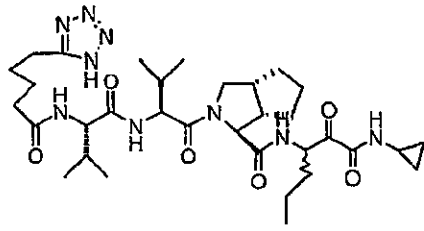
Q,



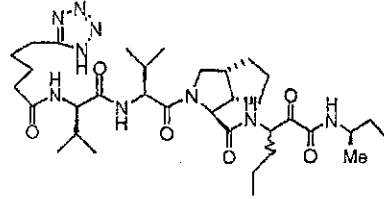
R,



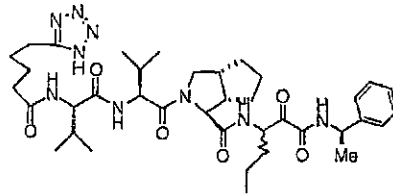




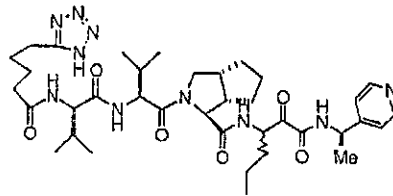
AG,



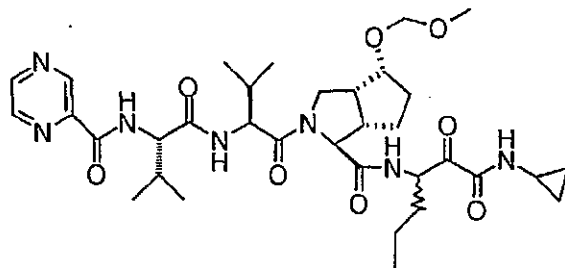
AH,



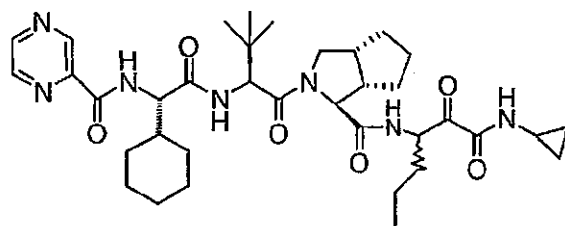
AI,



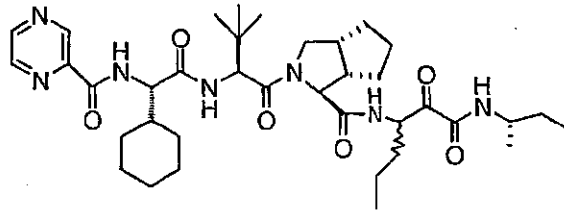
AJ,



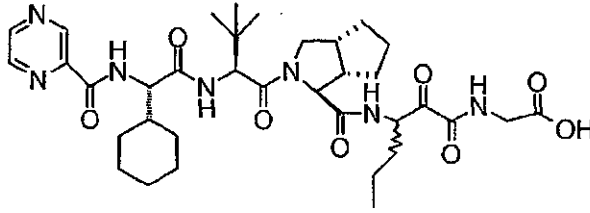
BV,



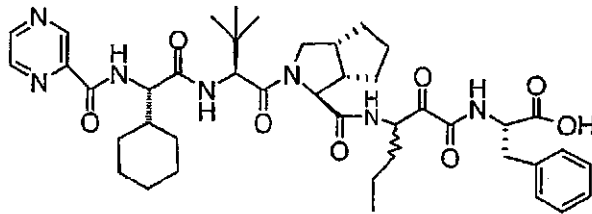
BW,



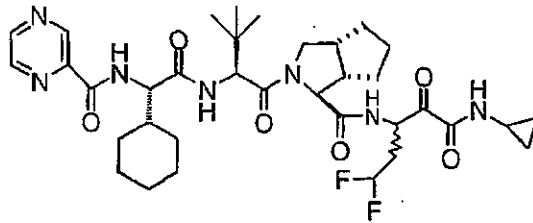
BX,



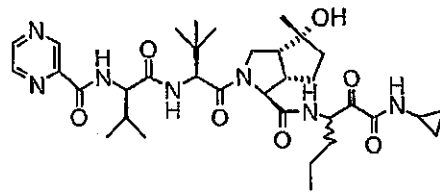
BY,



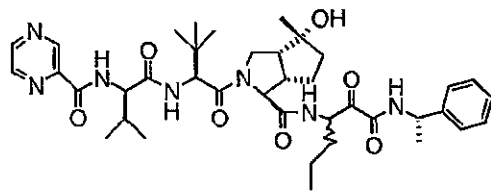
BZ,



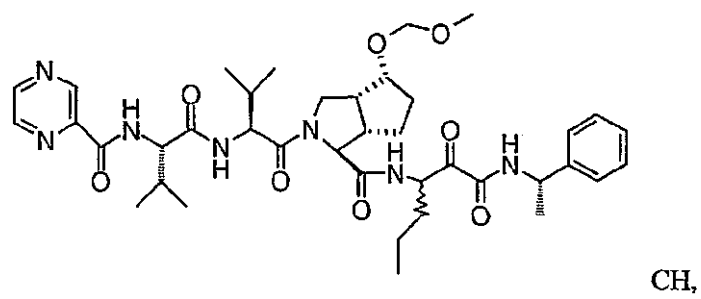
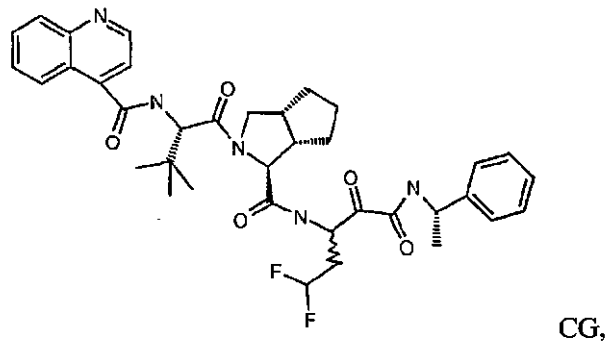
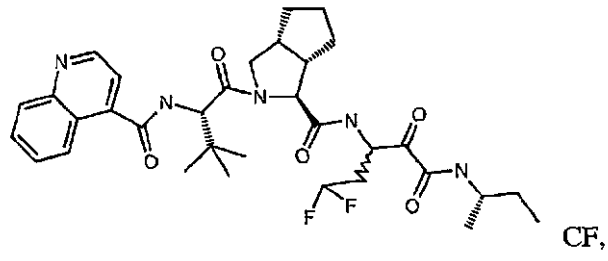
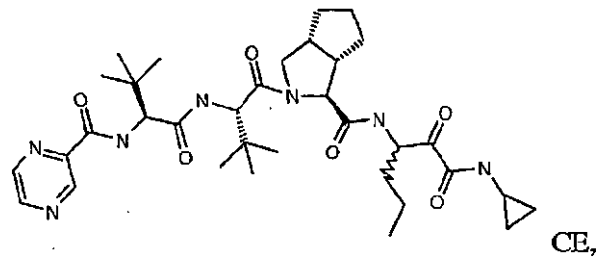
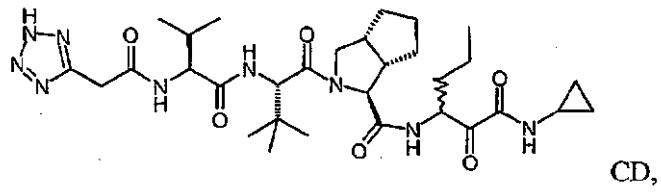
CA,

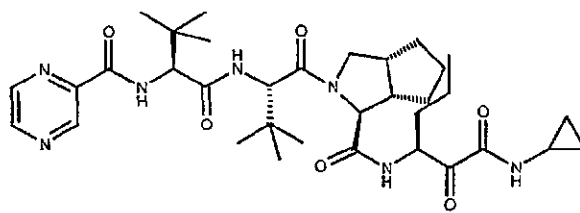


CB,

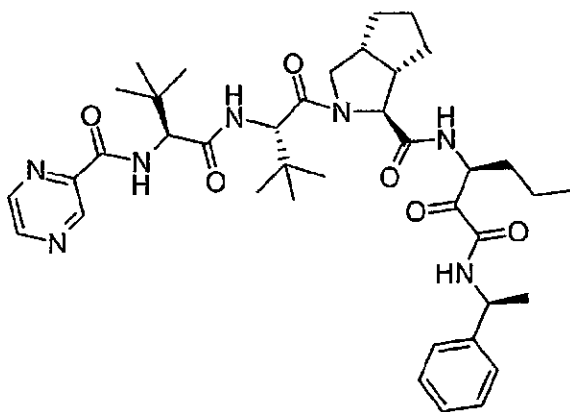


CC,

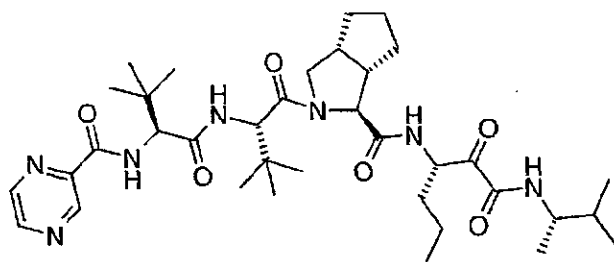




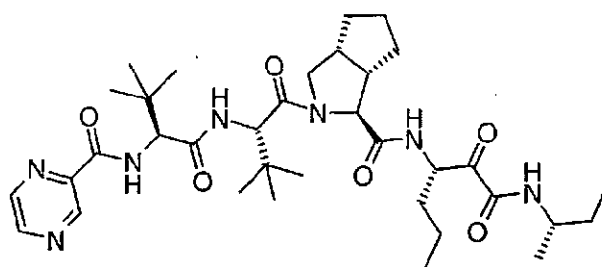
CI,



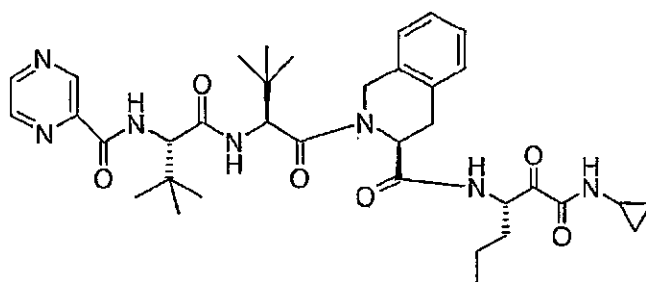
CJ,



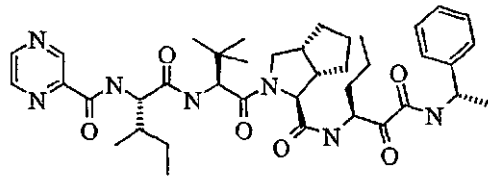
CK,



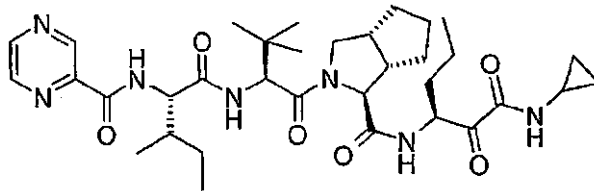
CL,



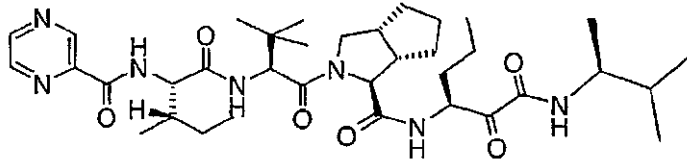
CM,



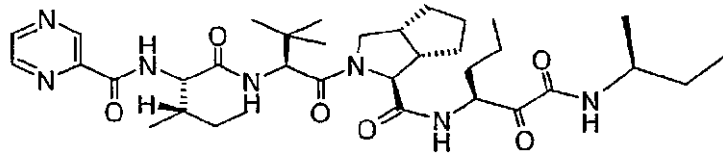
CN,



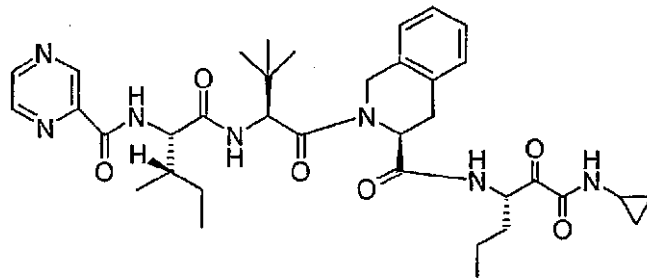
CO,



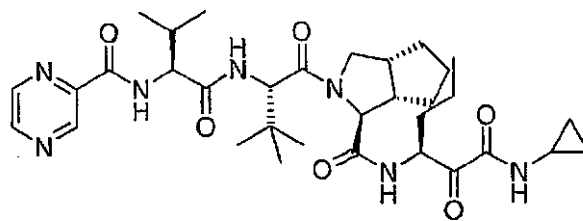
CP,



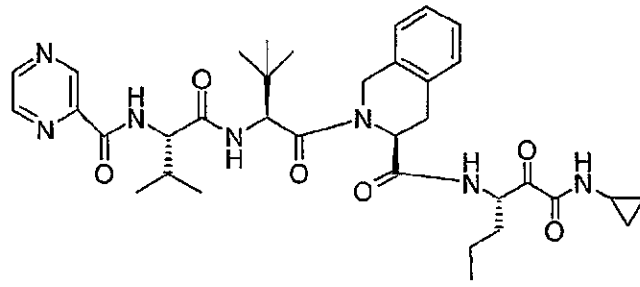
CQ,



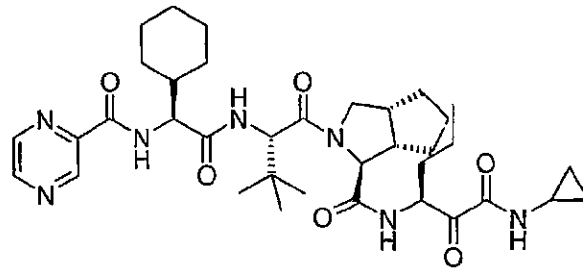
CR,



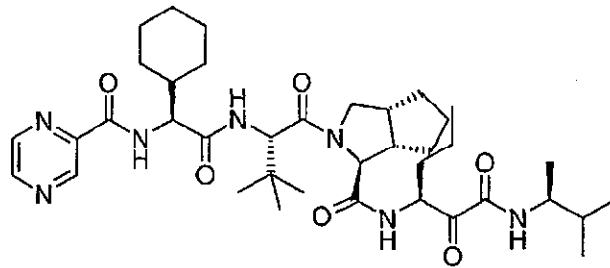
CS,



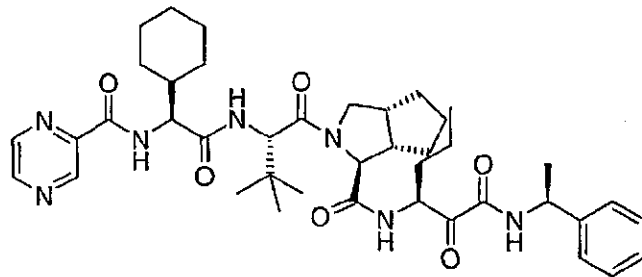
CT,



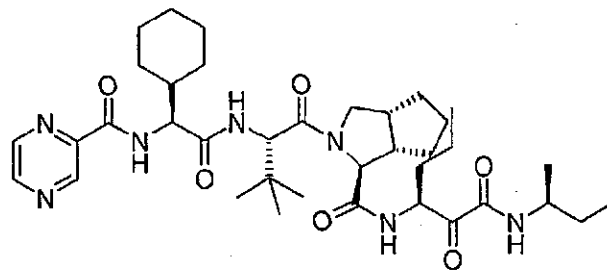
CU,



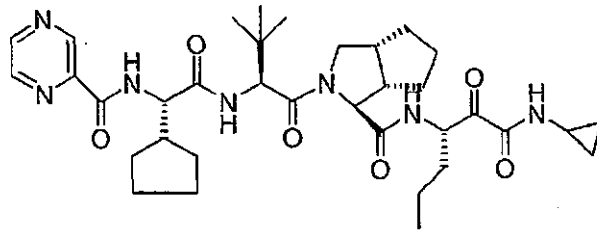
CV,



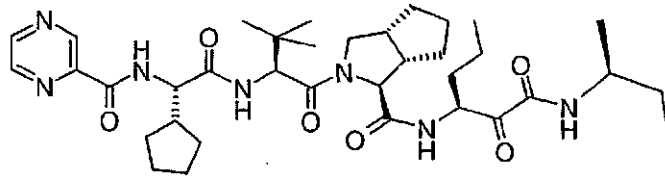
CW,



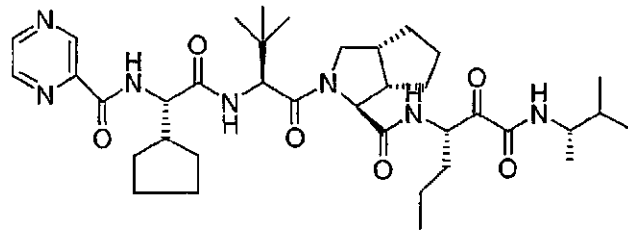
CX



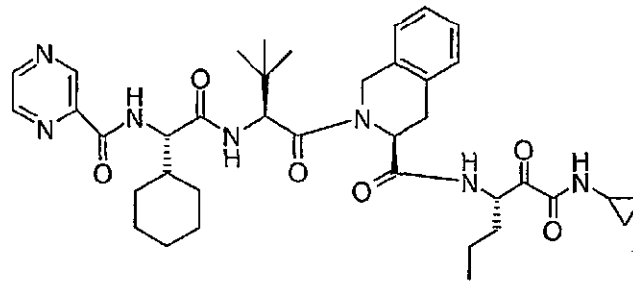
CY



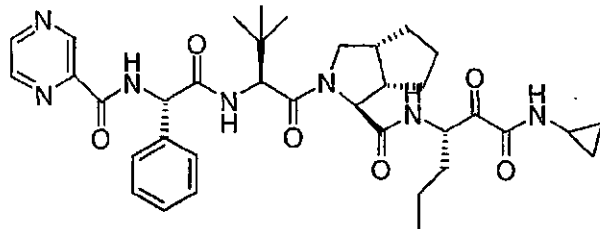
CZ,



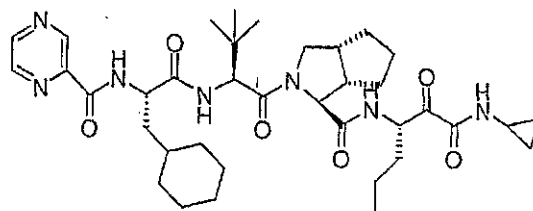
DA,



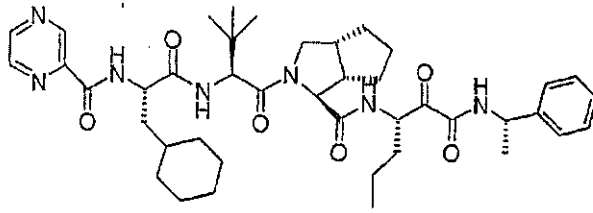
DB,



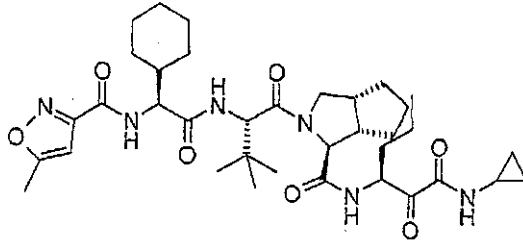
DC,



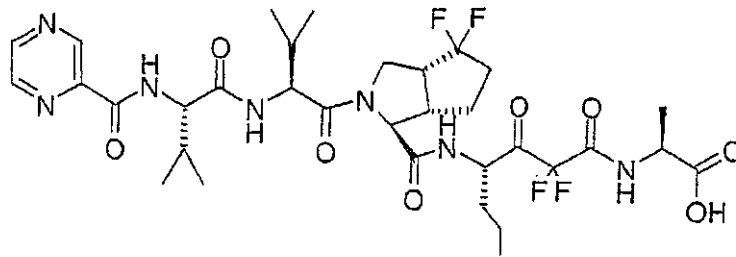
DD,



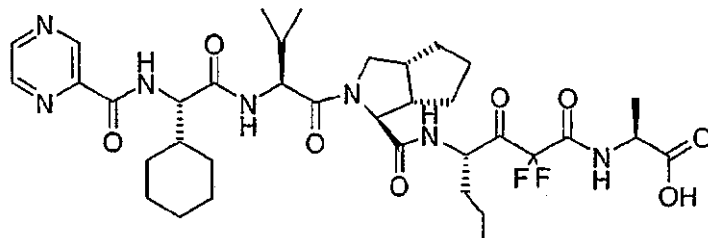
DE,



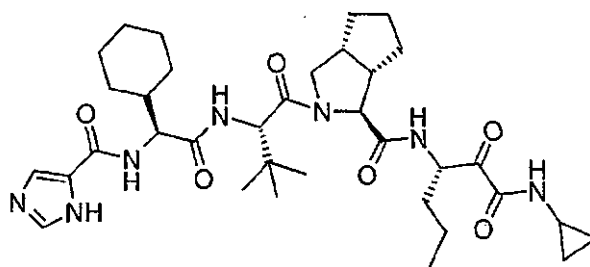
DF,



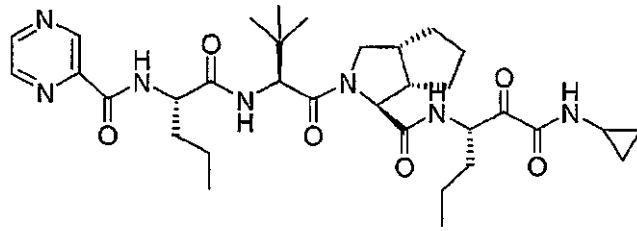
DR,



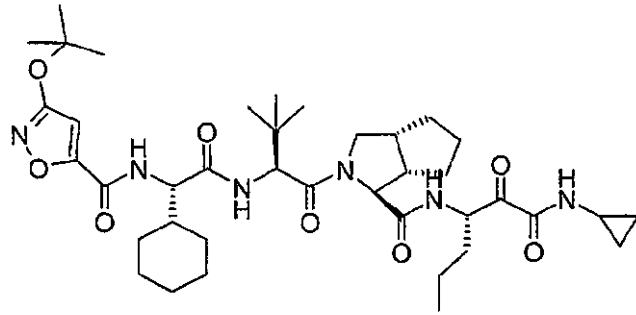
DS,



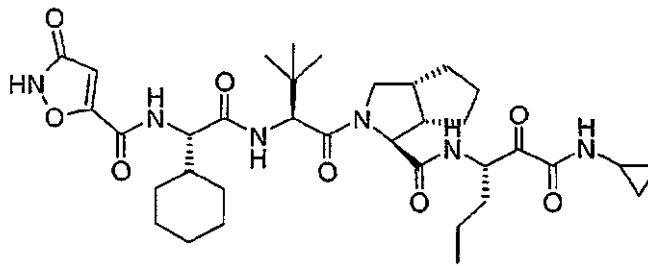
DT,



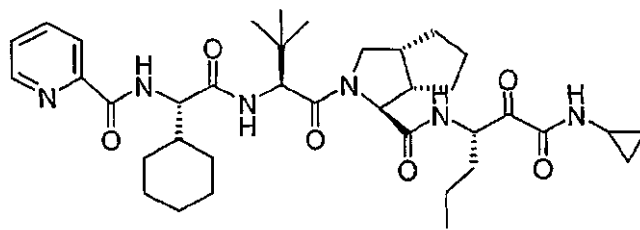
DU,



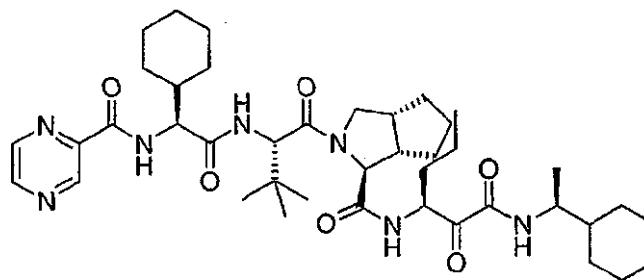
DV,



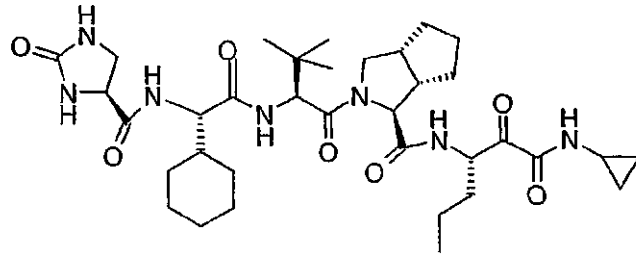
DW,



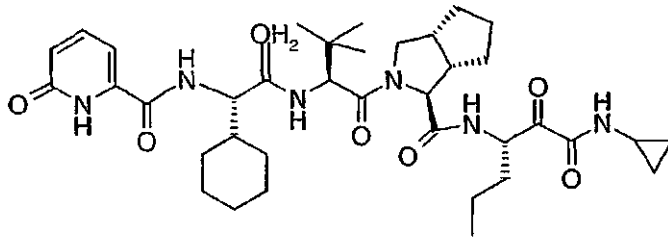
DX,



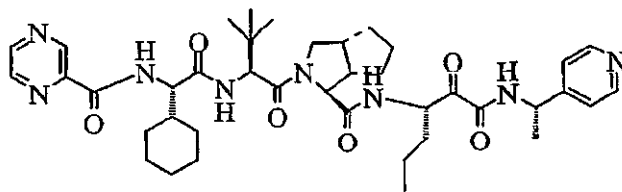
DY,



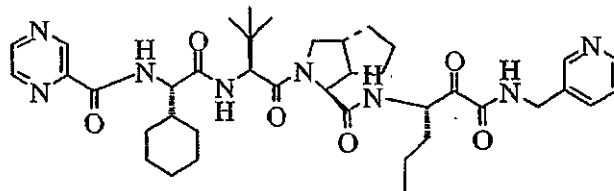
DZ,



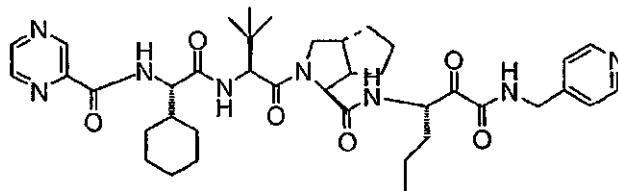
EA,



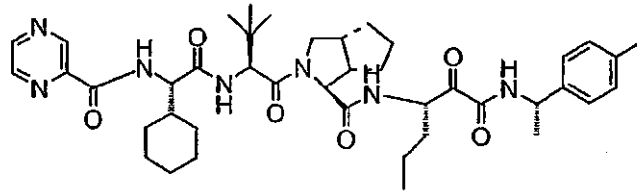
EJ,



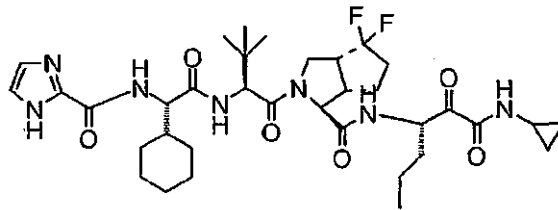
EK,



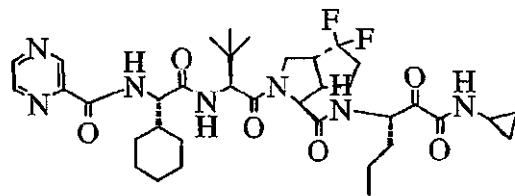
EL,



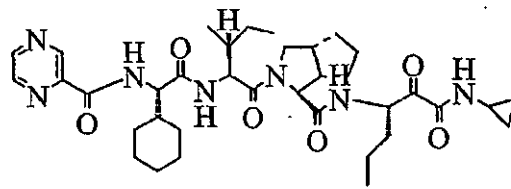
EM,



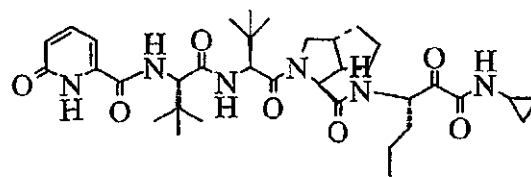
EN,



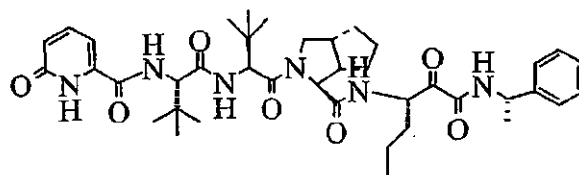
EO,



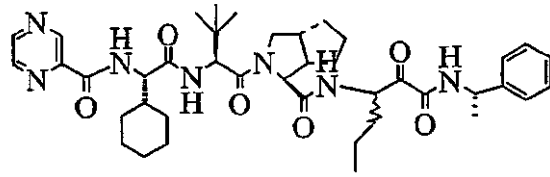
EP,



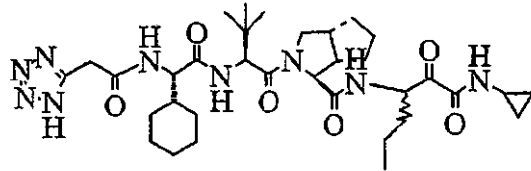
ES,



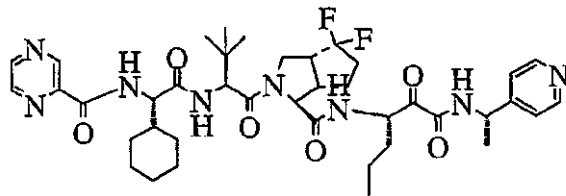
ET,



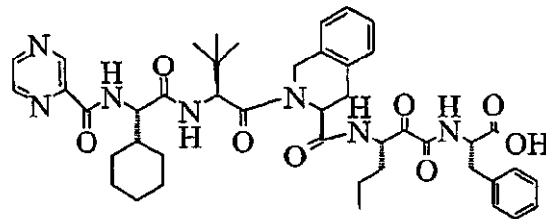
EU,



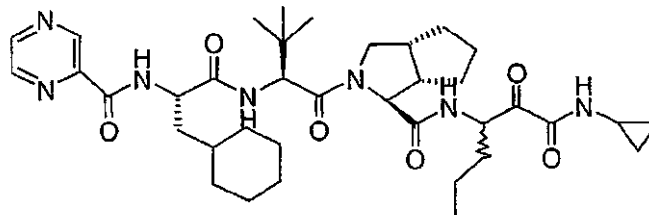
EV,



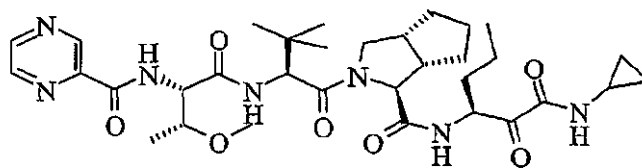
EZ,



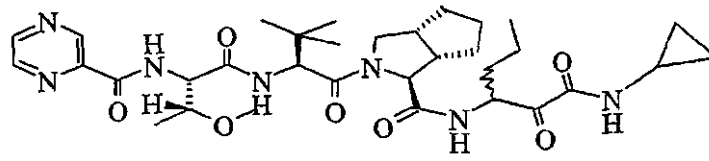
FA,



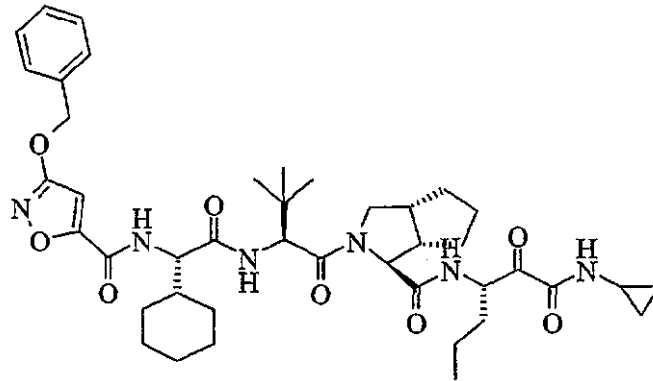
FB,



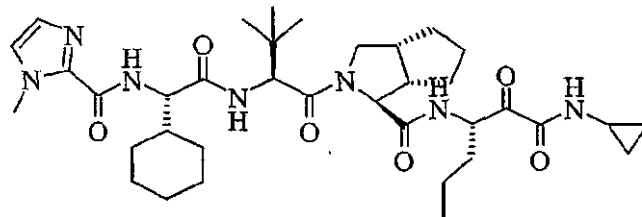
FC,



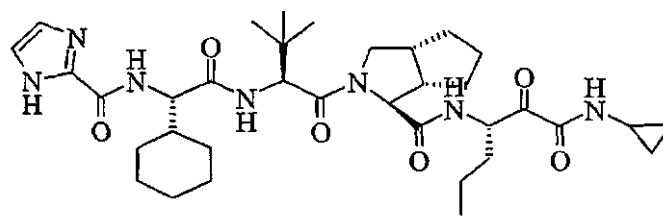
FD,



FE,

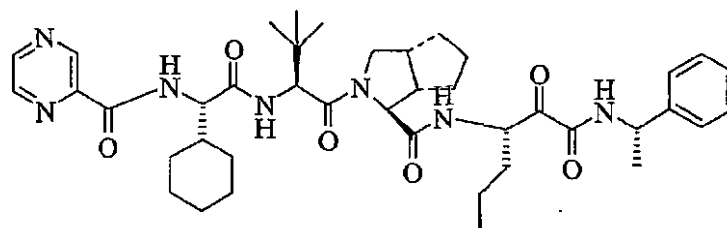


FF,



FG,

y



FH,

o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de los mismos, o un solvato de un compuesto de este tipo, su sal

o su profármaco.

Otra realización preferente de la invención es un compuesto de fórmula 1 en la que el grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido de R⁹ está sustituido con al menos un sustituyente de heteroarilo.

- 5 Otra realización preferente de la invención es un compuesto de fórmula 1 en la que el grupo aromático opcionalmente sustituido de R⁹ es heteroarilo opcionalmente sustituido.

Otra realización preferente de la invención es un compuesto de fórmula 1 en la que el grupo alifático opcionalmente sustituido de R⁹ es alquilheteroarilo opcionalmente sustituido.

- 10 Otra realización preferente de la invención es un compuesto en el que el heteroarilo opcionalmente sustituido de R⁹ es pirazinilo, tetrazolilo, quinolinilo, imidazolilo, isoxazolilo y piradonilo, opcionalmente sustituido con un sustituyente de grupo de anillo

- 15 Los compuestos de la invención se suministran de manera opcional como sales. Aquellas sales que son farmacéuticamente aceptables son de interés particular ya que son útiles en la administración de los compuestos precedentes para fines médicos. Las sales que no son farmacéuticamente aceptables son útiles en los procedimientos de fabricación, con fines de aislamiento y purificación y en algunos casos, para su uso en la separación de formas estereoisoméricas de los compuestos de esta invención. Esto último es especialmente cierto con sales de amina preparadas a partir de aminas ópticamente activas.

- 20 En los casos donde la invención contiene un grupo carboxi, o un bioisómero suficientemente ácido, pueden formarse sales de adición básicas y son únicamente una forma de uso más conveniente; y en la práctica, el uso de la forma de sal inherentemente incluye al uso de la forma de ácido libre.

Asimismo, en los casos donde el compuesto de la invención contiene un grupo básico, o un bioisómero suficientemente básico, pueden formarse sales de adición ácidas y son únicamente una forma de uso más conveniente; y en la práctica, el uso de la forma de sal inherentemente incluye al uso de la forma de base libre.

- 25 Una realización preferida de la presente invención es el uso de los compuestos de la invención para tratar a un paciente que padezca una infección por VHC o afecciones fisiológicas relacionadas con la infección que comprende administrar al paciente una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula 1.

- 30 Otra realización preferida es el uso de los compuestos de acuerdo con la presente invención para tratar a un paciente que padece una infección por VHC o una afección fisiológica relacionada con la infección que comprende administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula 1 en combinación con una cantidad farmacéuticamente efectiva de otro agente terapéutico anti VHC al paciente.

- 35 Otro objeto de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden, además de uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC, uno o más interferones que muestren actividad anti VHC y/o uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC, incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Otro objeto de la invención es proporcionar una composición farmacéutica que sea efectiva, en y por sí misma, para su utilización en una terapia de combinación beneficiosa ya que incluye una pluralidad de principios activos que pueden utilizarse de acuerdo con la invención.

- 40 La invención también proporciona kits o paquetes unitarios que combinan dos o más principios activos útiles en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente. Un kit puede proporcionar (solo o en combinación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable), el compuesto de fórmula 1 y el principio activo adicional (solo o en combinación con el diluyente o vehículo) otro agente terapéutico anti VHC.

- 45 Los compuestos de fórmula 1 pueden prepararse mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos tal como se usan hasta ahora o descritos en la bibliografía, o mediante procedimientos de acuerdo con esta invención en el presente documento.

- 50 Otro objeto de la presente invención es proporcionar compuestos para su uso en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente que los necesite, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad farmacéuticamente efectiva de una combinación de uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC; uno o más interferones que muestren actividad anti VHC; y/o uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC, incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC.

Otro objeto de la presente invención es el uso de uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC en combinación con uno o más interferones que muestren actividad anti VHC y/o uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC, incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC, para preparar un medicamento para tratar o prevenir una infección por VHC en un paciente que lo

necesite.

Un objeto adicional de la presente invención es un kit o paquete farmacéutico para su uso en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente, en el que el kit o paquete farmacéutico comprende una variedad de recipientes separados, en el que al menos uno de dichos recipientes contiene uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC, al menos otro de dichos recipientes contiene uno o más interferones o compuestos que induzcan la producción de un interferón que muestre actividad anti VHC (solo o en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable), y, opcionalmente, al menos otro de dichos recipientes contiene uno o más compuestos que tengan actividad anti VHC (solos o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable o diluyente), incluyendo compuestos inmunomoduladores como citoquinas inmunoestimuladoras que muestren actividad antiviral contra VHC,

Otro objeto más de la presente invención es proporcionar un procedimiento para inhibir la replicación del virus de la hepatitis C en una célula *in vitro*, que comprende poner en contacto a dicha célula, un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C y opcionalmente un interferón o compuestos que induzcan la producción de un interferón que tenga actividad contra el virus de la hepatitis C.

La cantidad de el (los) inhibidor(es) de la serín proteasa de VHC, interferón(es), o compuestos anti VHC en cualquiera de las aplicaciones precedentes puede ser una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad efectiva anti VHC subóptima, o una de sus combinaciones, siempre que la combinación final de inhibidor(es) de la proteasa de VHC, interferón(es), y/o el(los) compuesto(s) anti VHC comprenda una cantidad farmacéuticamente efectiva de compuestos que sea efectiva en el tratamiento o prevención de una infección por VHC en un paciente.

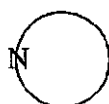
Es un objeto adicional de la invención proporcionar un procedimiento para preparar un compuesto quiral de bicicloprolinato que sea útil en la preparación del compuesto de fórmula 1.

Preparación de compuestos de la invención

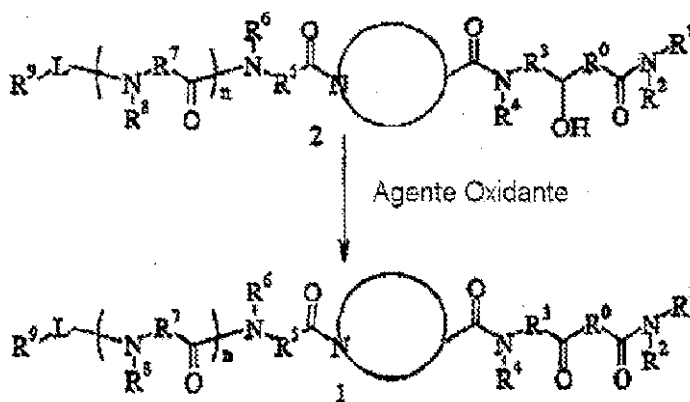
Los materiales de partida e intermedios de compuestos de la invención pueden prepararse mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos, por ejemplo, procedimientos como los que se describen en los Ejemplos de Referencia o sus equivalentes químicos obvios.

Pueden prepararse compuestos de la invención mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos, por los cuales se hace referencia a procedimientos usados con anterioridad o que se describen en la bibliografía, por ejemplo, los descritos por R.C. Larock en *Comprehensive Organic Transformations*, VCH publishers (1989).

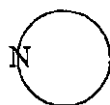
Un compuesto de la fórmula 1, en el que las variables y el resto



de las mismas son como se describen en el presente documento, pueden prepararse tratando un compuesto de la fórmula 2, en el que las variables

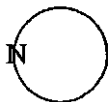


y el resto

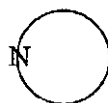


de las mismas son como se describen en el presente documento, con un agente de oxidación adecuado y en condiciones adecuadas. Un agente de oxidación particular es reactivo DMP. Las condiciones particulares incluyen realizar la oxidación en un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano a aproximadamente temperatura ambiente.

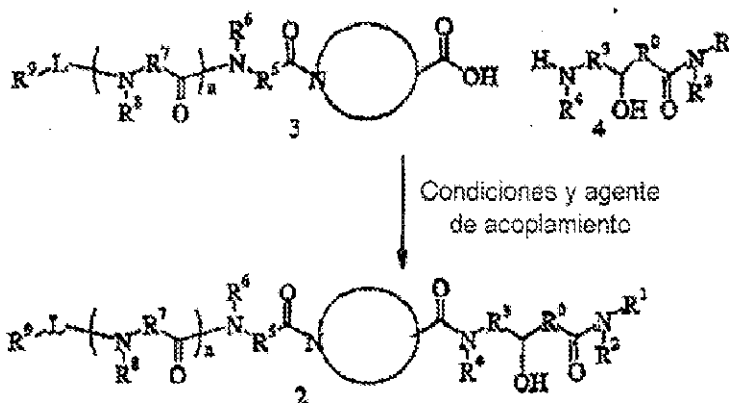
5 Un compuesto de la fórmula 2, en el que las variables y el resto



de las mismas son como se describen en el presente documento, pueden prepararse acoplado un compuesto de la fórmula 3, en el que las variables y el resto

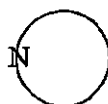


10 de las mismas son como se describen en el presente documento y un compuesto de la fórmula 4, en la que las variables de

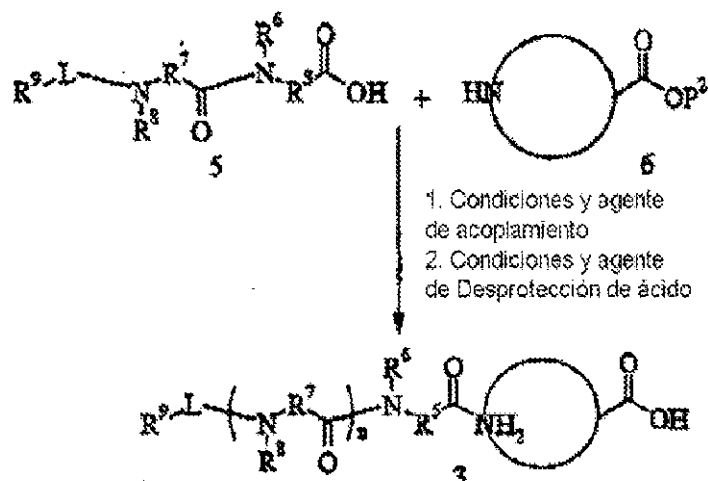


15 de la misma son como se describen en el presente documento, con un agente de acoplamiento adecuado y en condiciones adecuadas. Las condiciones y el agente de acoplamiento particular incluyen el uso de DIC y HOAt en un disolvente orgánico adecuado, tal como DMF a aproximadamente 0 °C o el uso de PyBop y DIPEA en un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano a aproximadamente temperatura ambiente.

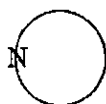
Un compuesto de la fórmula 3, en el que las variables y el resto



20 de las mismas son como se describen en el presente documento, pueden prepararse acoplado un compuesto de la fórmula 5, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento y un compuesto de la fórmula 6, en la que P² es un ácido

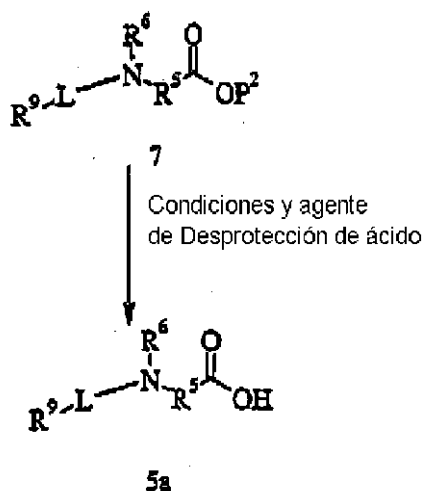


grupo protector y el resto



- 5 del mismo es tal como se describe en el presente documento, con un agente de acoplamiento apropiado y en condiciones de acoplamiento apropiadas, seguido de un agente de desprotección apropiado y en condiciones de desprotección apropiadas. Las condiciones y el agente de acoplamiento particulares incluyen el uso de DIC o DCC y HOAt en un disolvente orgánico apropiado, tal como DMF o diclorometano a de aproximadamente 0 °C a aproximadamente temperatura ambiente. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección apropiado que depende de la naturaleza del agente de protección, es decir, si este es retirable (lábil) bajo condiciones de
- 10 ácido, de base o de hidrogenación y otros restos reactivos en el compuesto que se está sometiendo a desprotección, es decir, un agente de desprotección se elige para llevar a cabo la desprotección sin afectar a los otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de ácido particulares alquilo inferior C₁ a C₈; más particularmente metilo. Un agente de desprotección particulares una base inorgánica tal como un hidróxido alcalino; más particularmente NaOH. Las condiciones de desprotección particulares engloban llevar a cabo la
- 15 desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol a aproximadamente temperatura ambiente.

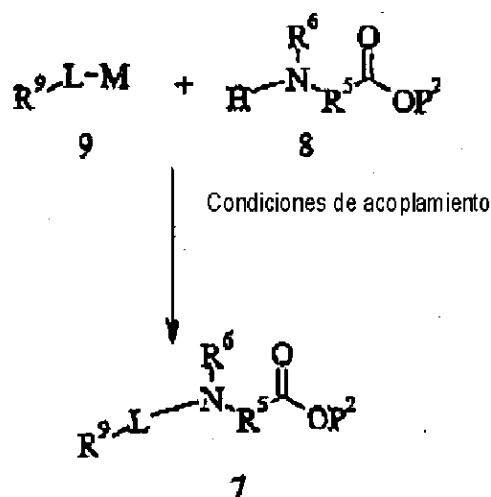
Un compuesto de la fórmula 5, en al que n es 0 y las otras variables son como se describen en el presente documento, es decir, el compuesto 5a, puede prepararse desprotegiendo un compuesto de la fórmula 7,



- 20 e en la que P² es un ácido grupo protector y las otras variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un agente de desprotección apropiado y en condiciones apropiadas. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección apropiado que depende de la naturaleza del agente de protección, es decir, si este es retirable (lábil) bajo condiciones de ácido, de base o de hidrogenación y otros restos reactivos en el compuesto que se está sometiendo a desprotección, es decir, un agente de desprotección se elige para llevar a cabo la desprotección

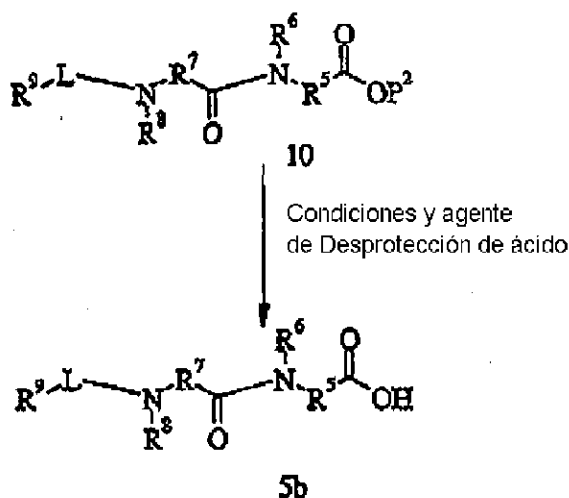
sin afectara los otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de ácido particular es alquilo inferior Ci a Cs; más particularmente metilo. Un agente de desprotección particular es una base inorgánica tal como un hidróxido alcalino; más particularmente NaOH. Las condiciones de desprotección particulares engloban llevar a cabo la desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol a aproximadamente temperatura ambiente.

Un compuesto de fórmula 7, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante la acilación de un compuesto de fórmula 8, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un compuesto de fórmula 9, en la que M es un resto desplazable y las otras variables



de la misma son como se describen en el presente documento, en condiciones adecuadas. Las condiciones de acoplamiento particulares incluyen el uso de DIC o DCC y HOAt en un disolvente orgánico adecuado, tal como DMF o diclorometano de aproximadamente 0 °C a aproximadamente temperatura ambiente, o PyBop y DIPEA en un disolvente orgánico adecuado, tal como DMF o diclorometano a aproximadamente temperatura ambiente; y preferentemente las últimas condiciones. Un L particular es carbonilo. Un M particular es hidroxil N-oxisuccinimida.

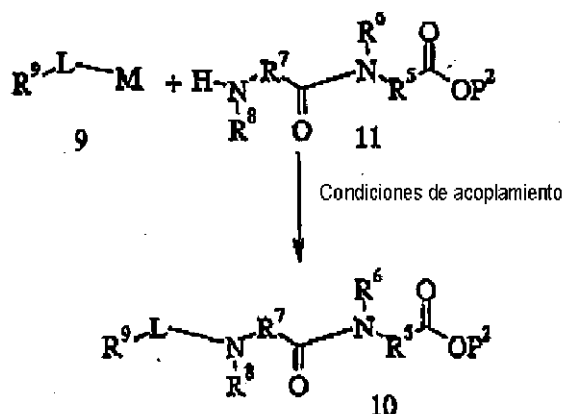
Un compuesto de la fórmula 5, en el que n es 1 y las otras variables son como se describen en el presente documento, es decir, el compuesto 5b, puede prepararse desprotegiendo un compuesto de la fórmula 10, en la que P² es un



un grupo protector de ácido y las otras variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un agente de desprotección apropiado y en condiciones apropiadas. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección apropiado que depende de la naturaleza del agente de protección de ácido es decir, si este es retirable (lábil) bajo condiciones de ácido, de base, o de hidrogenación y otros restos reactivos en el compuesto que se está sometiendo a desprotección, es decir, un agente de desprotección se elige para llevar a cabo la desprotección sin

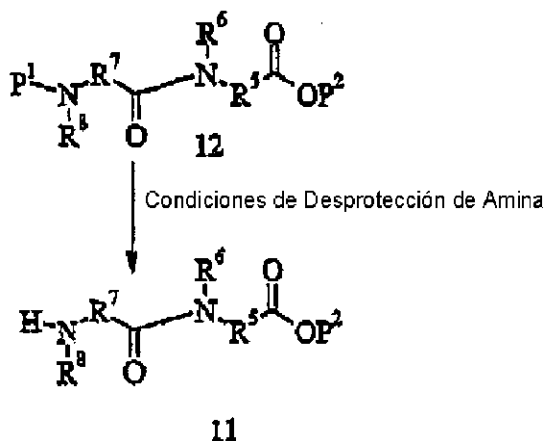
afectar a los otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de ácido particular es alquilo inferior C₁ a C₈; más particularmente metilo. Un agente de desprotección particular es una base inorgánica tal como un hidróxido alcalino; más particularmente NaOH. Las condiciones de desprotección particulares engloban llevar a cabo la desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol a aproximadamente temperatura ambiente.

Un compuesto de fórmula 10, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante la acilación de un compuesto de fórmula 11, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un compuesto de fórmula 9, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento,



bajo condiciones apropiadas. Las condiciones de acoplamiento particulares usan DIC o DCC y HOAT en un disolvente orgánico apropiado, tal como DMF o diclorometano a de aproximadamente 0 °C a aproximadamente temperatura ambiente, o PyBop y DIPEA en un disolvente orgánico apropiado, tal como DMF o diclorometano aproximadamente a la temperatura ambiente; y preferentemente estas últimas condiciones. Un L particular es carbonilo. Un M particulares hidroxilo o N-oxisuccinimida.

Un compuesto de fórmula 11, en la que las variables son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante la desprotección de un compuesto de fórmula 12, en la que P¹ es un grupo protector de amina



y las otras variables de las mismas son como se describen en el presente documento, con un agente de desprotección adecuado y en condiciones adecuadas. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección adecuado que depende de la naturaleza del agente de protección de amina, es decir, tanto si es retirable (lábil) en condiciones ácidas, básicas o de hidrogenación, y otros restos reactivos en el compuesto que experimenta desprotección, es decir, se selecciona un agente de desprotección para realizar la desprotección sin afectar a otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de amina particular es Cbz o BOC; de manera más particular Cbz. Un agente de desprotección particular es un ácido, tal como HCl o H₂/Pd(OH)₂; de manera más particular H₂/Pd(OH)₂. Las condiciones de desprotección particulares abarcan realizar la desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol o un disolvente de alcanato de alquilo, tal como acetato de etilo a aproximadamente temperatura ambiente.

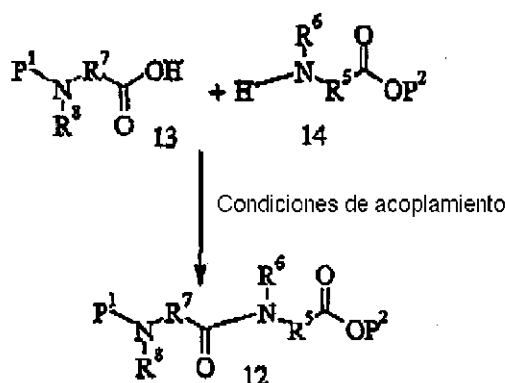
y las otras variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un agente de desprotección apropiado y en condiciones apropiadas. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección apropiado

que depende de la naturaleza del agente de protección de amina, es decir, si este es retirable (lábil) bajo condiciones de ácido, de base o de hidrogenación y otros restos reactivos en el compuesto que se está sometiendo a desprotección, es decir, un agente de desprotección se elige para llevar a cabo la desprotección sin afectar a los otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de amina particular es Cbz o BOC; más particularmente Cbz. Un agente de desprotección particular es ácido tal como HCl o $H_2ZPd(OH)_2$; más particularmente $H_2ZPd(OH)_2$. Las condiciones de desprotección particulares engloban llevar a cabo la desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol o un disolvente de alcanato de alquilo tal como acetato de etilo a aproximadamente temperatura ambiente.

5

10

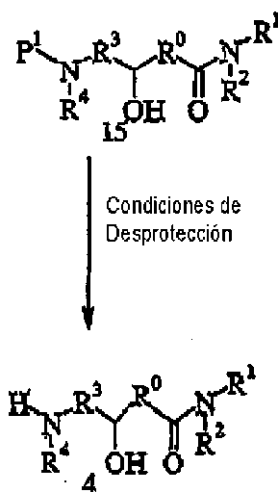
Un compuesto de fórmula 12, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante el acoplamiento de un compuesto de fórmula 13, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un compuesto de fórmula 14, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento,



15

bajo condiciones apropiadas. Las condiciones de acoplamiento particulares usan HOAt/DIC y DIPEA en un disolvente orgánico apropiado, tal como THF a aproximadamente temperatura ambiente.

Un compuesto de fórmula 4, en el que las variables son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante la desprotección de un compuesto de fórmula 15, en el que las variables del mismo son

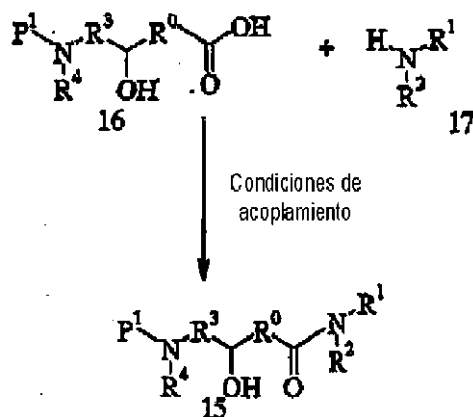


20

25

tal como se describe en el presente documento, con un agente de desprotección apropiado y en condiciones apropiadas. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección apropiado que depende de la naturaleza del agente de protección de amina, es decir, si este es retirable (lábil) bajo condiciones de ácido, de base o de hidrogenación y otros restos reactivos en el compuesto que se está sometiendo a desprotección, es decir, un agente de desprotección se elige para llevar a cabo la desprotección sin afectar a los otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de amina particular es Cbz o BOC; más particularmente Cbz. Un agente de desprotección particular es un ácido tal como HCl o $H_2ZPd(OH)_2$; más particularmente $H_2/Pd(OH)_2$. Las condiciones de desprotección particulares engloban llevar a cabo la desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol o un disolvente de alcanato de alquilo tal como acetato de etilo a aproximadamente temperatura ambiente.

Un compuesto de fórmula 15, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante el acoplamiento de un compuesto de fórmula 16, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un compuesto de fórmula 17, en el que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento,

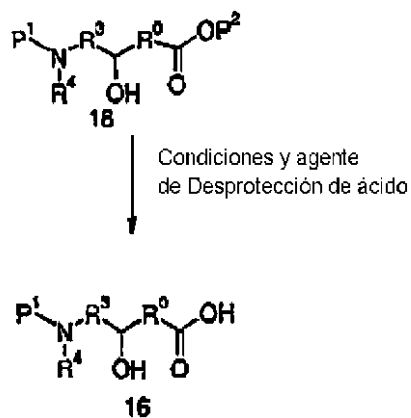


5

bajo condiciones apropiadas. Un agente de protección de amina particular es Cbz o BOC; más particularmente Cbz. Las condiciones de acoplamiento particulares usan HOBT, PyBop y DIPEA en un disolvente orgánico apropiado, tal como diclorometano a de aproximadamente 0 °C a aproximadamente temperatura ambiente.

10

Un compuesto de la fórmula 16, en la que las variables son como se describen en el presente documento pueden Un compuesto de fórmula 16, en el que las variables son tal como se describe en el presente documento puede prepararse mediante la desprotección de un compuesto de fórmula 18, en el que las otras variables del mismo son



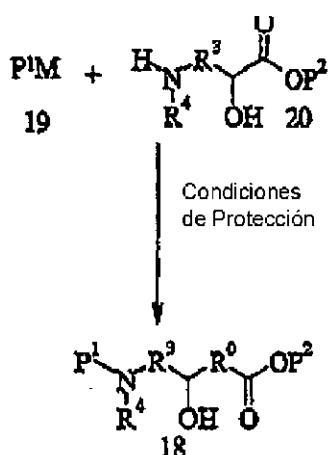
15

tal como se describe en el presente documento, con un agente de desprotección apropiado y en condiciones apropiadas. La desprotección se realiza usando un agente de desprotección apropiado que depende de la naturaleza del agente de protección de ácido, es decir, si este es retirable (lábil) bajo condiciones de ácido, de base o de hidrogenación y otros restos reactivos en el compuesto que se está sometiendo a desprotección, es decir, un agente de desprotección se elige para llevar a cabo la desprotección sin afectar a los otros restos reactivos a menos que se desee una reacción concomitante. Un agente de protección de amina particular es Cbz. Un agente de protección de ácido particular es alquilo inferior C₁ a C₈; más particularmente metilo. Un agente de desprotección particular es una base inorgánica tal como un hidróxido alcalino; más particularmente NaOH. Las condiciones de desprotección particulares engloban llevar a cabo la desprotección en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol a aproximadamente temperatura ambiente.

20

25

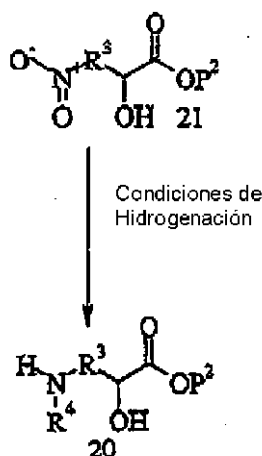
Un compuesto de fórmula 18, en la que R⁰ es un enlace y las otras variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante la protección de un compuesto de fórmula 20, que las variables del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un compuesto de fórmula 19, en el que, las variables



del mismo son tal como se describe en el presente documento, bajo condiciones apropiadas. Un agente de protección de amina particular es Cbz o BOC. Las condiciones de acoplamiento particulares usan un disolvente orgánico apropiado, tal como diclorometano a de aproximadamente 0 °C a aproximadamente temperatura ambiente.

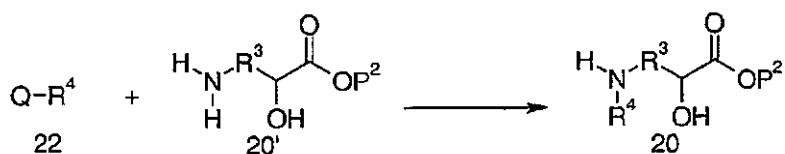
5

Un compuesto de fórmula 20, en la que R⁴ es hidrógeno y las otras variables son tal como se describe en el presente documento, puede prepararse mediante la hidrogenación de un compuesto de fórmula 21, en el que las variables



del mismo son tal como se describe en el presente documento, con un agente de hidrogenación apropiado y en condiciones apropiadas. Un agente de hidrogenación particular es H₂ZPd(OH)₂. Las condiciones de hidrogenación particulares engloban llevar a cabo la hidrogenación en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol o un disolvente de alcanoato de alquilo tal como acetato de etilo a aproximadamente temperatura ambiente.

Un compuesto de la fórmula 20, en la que R⁴ es alifático opcionalmente sustituido y las otras variables son como se describen en el presente documento puede prepararse alquilando el compuesto 20', en el que las variables son como se describen en el presente documento, con el compuesto 22 (agente de alquilación), en el que R⁴ es alifático opcionalmente sustituido y Q es un grupo desplazable, tal como haluros, tosilatos o sulfonatos, en condiciones adecuadas.

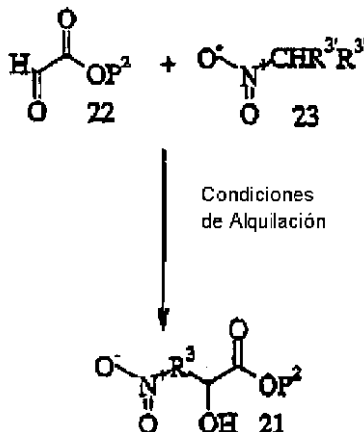


Los agentes de alquilación adecuados incluyen alifáticos (haluros, tosilatos o sulfonatos). Las condiciones de alquilación adecuadas abarcan realizar la alquilación en un disolvente orgánico adecuado, tal como un disolvente alcohólico, por ejemplo, metanol o etanol, o disolvente etérico, por ejemplo, éter o tetrahidrofurano de

20

aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente reflujo.

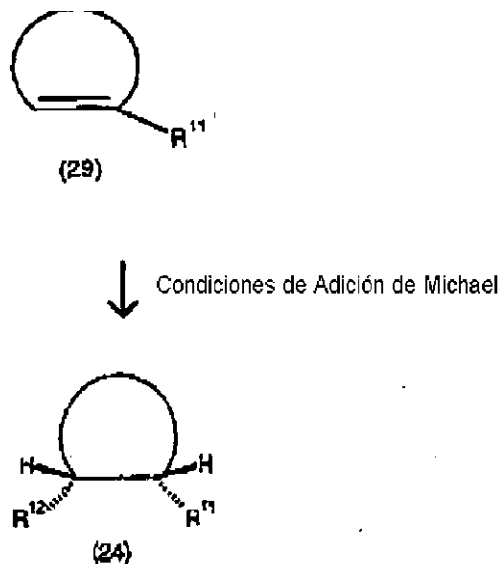
Un compuesto de la fórmula 21, en la que las variables son como se describen en el presente documento, puede prepararse alquilando un compuesto de la fórmula 22, en la que la variable de la misma es como se describe en el presente documento, con un compuesto de la fórmula 23, en la que las R^3 son opcional e independientemente



5

grupo alifático sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido como se describe en el presente documento, en condiciones adecuadas. Las condiciones de alquilación particulares abarcan realizar la alquilación usando una base fuerte, tal como t-butoxido potásico en un disolvente alcohólico, tal como metanol o etanol a aproximadamente temperatura ambiente.

- 10 Un compuesto de la fórmula 24, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento, puede prepararse realizando una adición de Michael en un aceptor de Michael de la fórmula 29, en la que la variable de la misma es como se describe en el presente documento, con un derivado imínico de glicinamida.



- 15 Las condiciones de Michael comprenden disolventes polares adecuados, bases alcalinas de hidróxido de metilo y temperaturas adecuadas. Para adiciones de Michael, véase Corey, E.J.; Noe, M.C.; Xu, F. Tetrahedron Letter 1998, 39, 5347. Para las síntesis de catalizadores de transferencia de fase quiral, véase Corey, E.J.; Noe, M.C.; Xu, F. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 12414. Los disolventes adecuados incluyen DCM, ACN, o THF dependiendo de las condiciones de reacción. Las bases adecuadas incluyen CsOH, NaOH, KOH y LiOH. Las temperaturas adecuadas varían de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 0 °C, más particularmente a aproximadamente -60 °C. En el
- 20 presente documento se describen glicinimidias útiles en la invención. Una glicinimida imínica preferida es éster *tert*-butilico de N-(difenilmetil)glicina. . Además, pueden realizarse condiciones de adición de Michael con o sin un catalizador de transferencia de fases (PTC) (quiral y no quiral). Un PTC preferido es bromuro de O-[9] alil-N-9-antracencilmetilcinconidio.

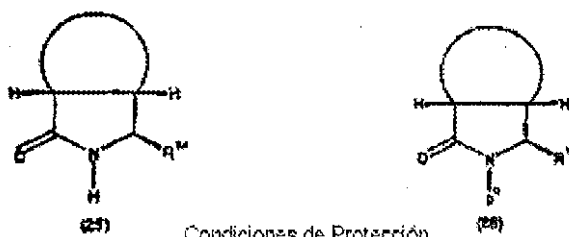
- 25 Un compuesto de la fórmula 25, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento, puede prepararse por escisión de imina y cliclación del compuesto de fórmula 24.



Condiciones de Escisión y de Ciclación

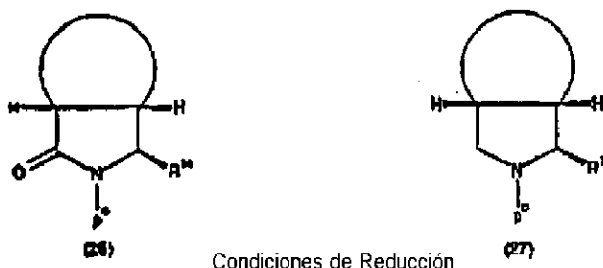
5 Para procedimientos de escisión y ciclación, véase Javidan, A.; Schfer, K.; Pyne, S. Synlett 1996, 100; Tatsukawa, A.; Dan, M.; Ohbatake, M.; Kawatake, K.; Fukata, T.; Wada, E.; Kanemase, S.; Kakei, S. J. Org. Chem. 1993, 58, 4221. Las condiciones de escisión y ciclación incluyen el uso de disolventes polares, reactivos ácidos y temperaturas de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 150 °C. Las condiciones adecuadas incluyen el uso de EtOH, AcONa y NH₂OH.HCl y una temperatura de aproximadamente el punto de ebullición para el disolvente usado.

10 Un compuesto de la fórmula 26, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento, puede prepararse protegiendo la amida del compuesto de la fórmula 25, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento, con un grupo de protección de amida adecuado, tal como BOC. Otros grupos de protección adecuados incluyen CBZ, -CO₂alquilo. Véase también, Greene, T.W.; P.G.M. en Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, Nueva York, 1991 para otros grupos protectores de amina. Las condiciones de protección incluyen el uso de disolventes apróticos polares, bases orgánicas como catalizadores y temperaturas de aproximadamente 0 °C - 100 °C. Las condiciones preferidas incluyen el uso de ACN, dimetilaminopiridina y una temperatura de aproximadamente temperatura ambiente.



Condiciones de Protección

15 Un compuesto de la fórmula 27, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento, puede prepararse reduciendo el compuesto protegido de fórmula 26, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento.



Condiciones de Reducción

20 Se realizan, de hecho, dos reducciones. La primera reducción es la de la amida a una hemiamida usando DIBALH o superhidruro [LiBEt₃H]. La segunda reducción es del hemiaminal a la amina usando Et₃SiH y BF₃•OEt₂. Véase Collado, I.; Ezquerra, J.; Mateo, A.I.; Rubio, A., J. Org. Chem. 1998, 63 1995-2001 y Ezquerra, J.; Pedregal, C.; Yrretagoyena, B.; Rubio, A.; Carreno, M.C.; Escribano, A.; Garcia Ruano, J.L. J. Org. Chem. 1995, 60,2925 para condiciones de reducción. Otras condiciones habituales para convertir piroglutamatos en pirrolidinas son el uso de BH₃•SMe₂.

25 Un compuesto de la fórmula 28, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento, puede prepararse desprotegiendo el compuesto de fórmula 27, en la que las variables de la misma son como se describen en el presente documento.



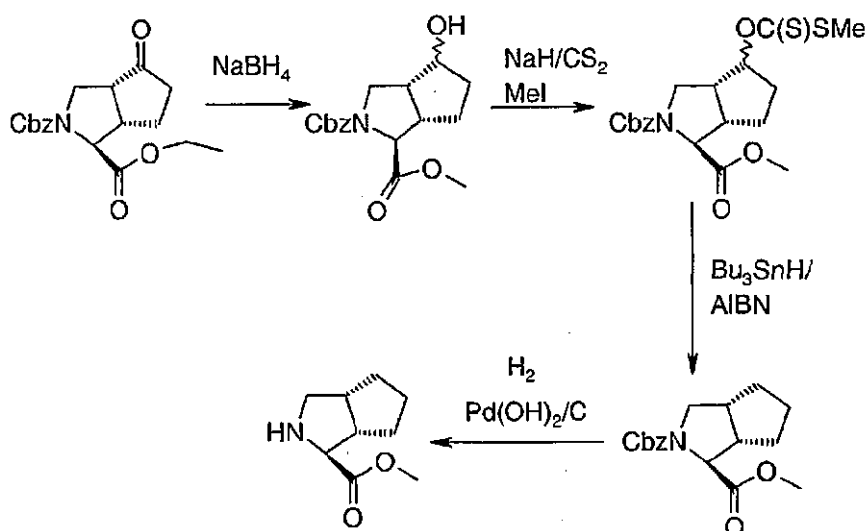
Véase Gibson, F.G.; Bermeier, S.C.; Rapoport, H., J. Org Chem. 1994, 59, 3216-3218 para las condiciones para la retirada selectiva del grupo protector N-Boc en presencia de éster *tert*-butílico. Un experto en la materia sabría que las condiciones de desprotección dependerán de la elección del grupo protector. Por ejemplo, si se usa CBz, pueden usarse condiciones de hidrogenación o básicas. Preferentemente, si se usa Boc, puede usarse HCl 1 N en acetato de etilo. Véase, Greene, T.W.; P.G.M. en Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, Nueva York, 1991.

El experto en la materia apreciará que un compuesto de la fórmula 3 puede prepararse acoplado un compuesto de la fórmula 5 con un compuesto de la fórmula 28 en las condiciones descritas anteriormente en el presente documento.

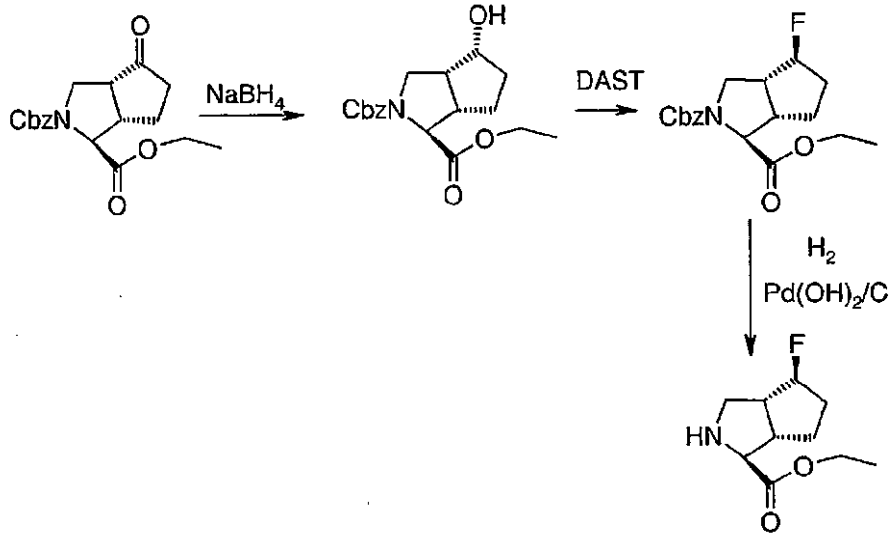
Los procedimientos para preparar R^3 , R^5 o R^7 como restos de etanodiilo opcionalmente sustituidos incluyen aquellos conocidos para los expertos en la materia, por ejemplo, los procedimientos descritos en "The organic Chemistry of β -Lactams" editado por G. Georg, VCH Publishers, Inc. (1993), por ejemplo, páginas 240-241 y 303-305.

Los Esquemas 1-11 siguientes ilustran procedimientos variados para preparar un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido. Los procedimientos en los esquemas posteriores también pueden aplicarse a otros azaheterociclilos multicíclicos opcionalmente sustituidos que comprenden sustituyentes similares compatibles.

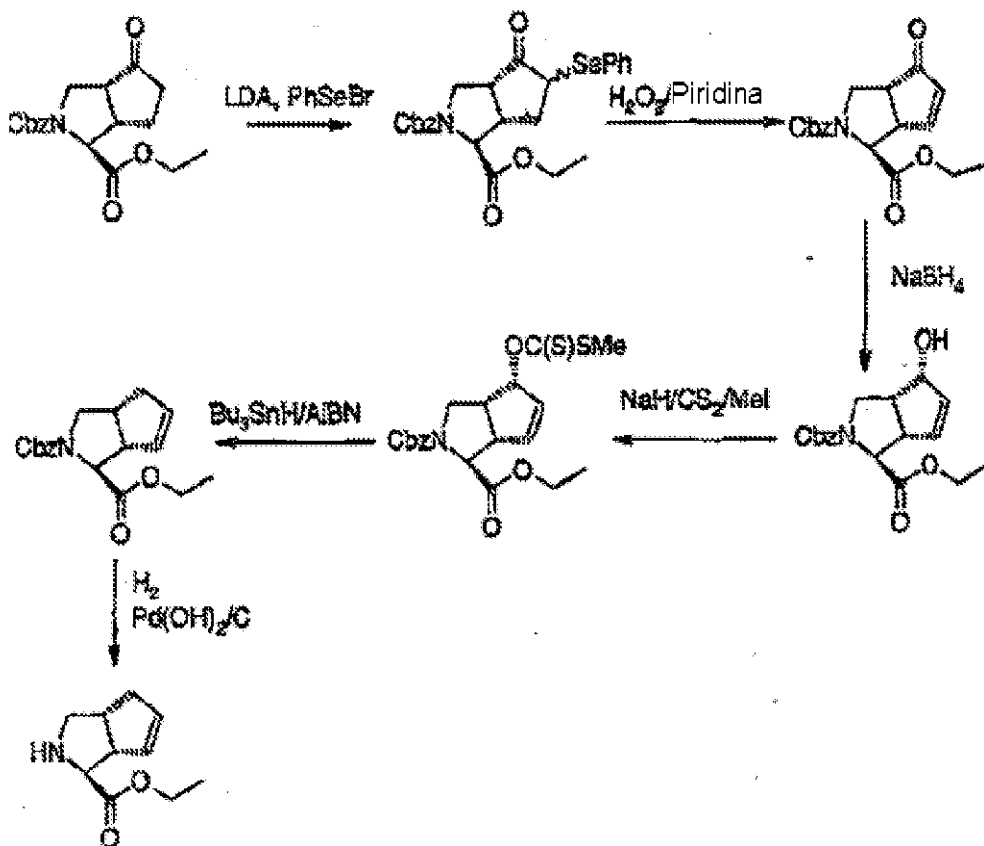
ESQUEMA 1



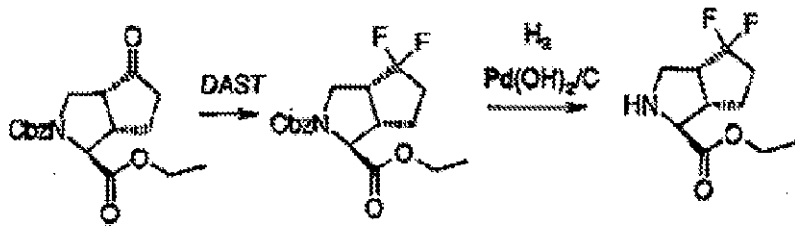
ESQUEMA 2



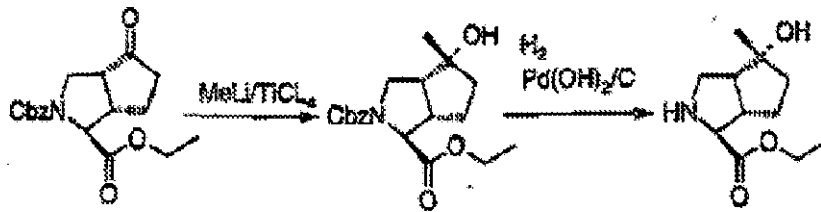
ESQUEMA 3



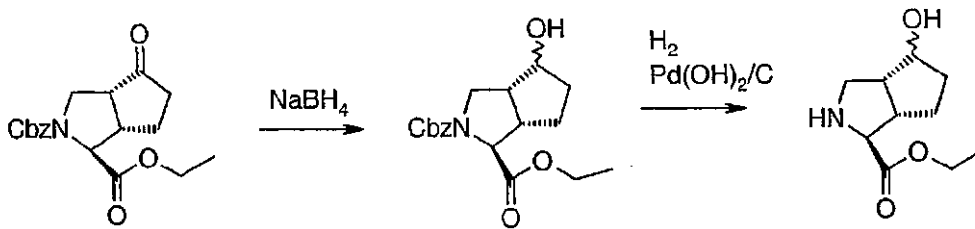
ESQUEMA 4



ESQUEMA 5

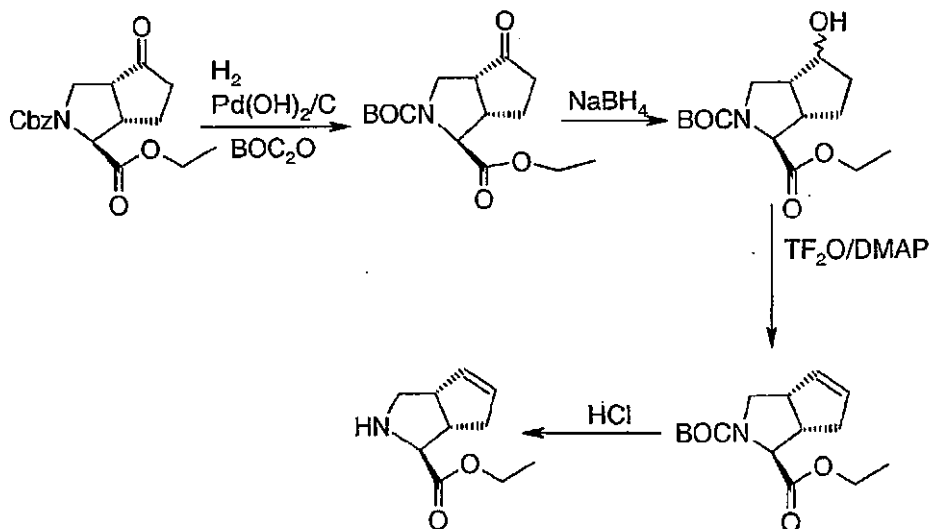


ESQUEMA 6

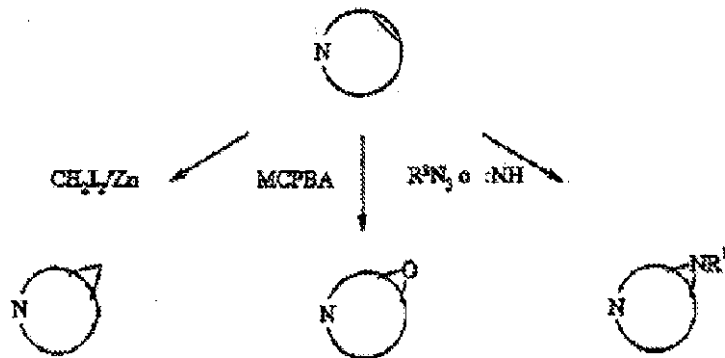


5

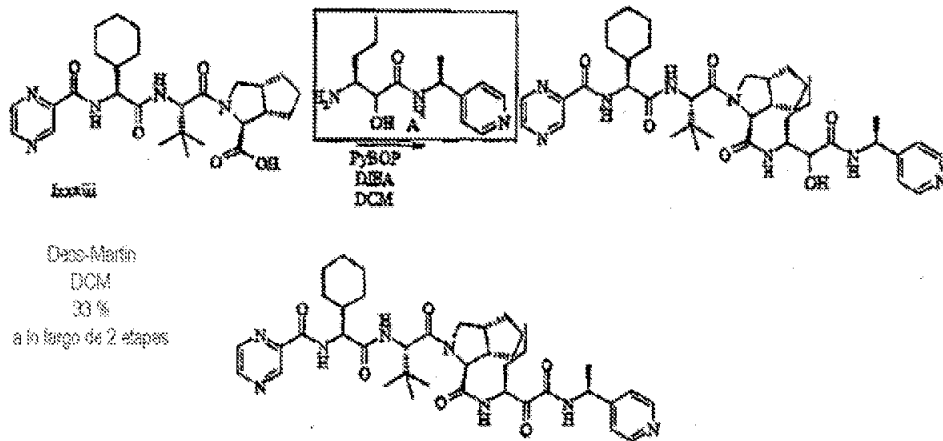
ESQUEMA 7



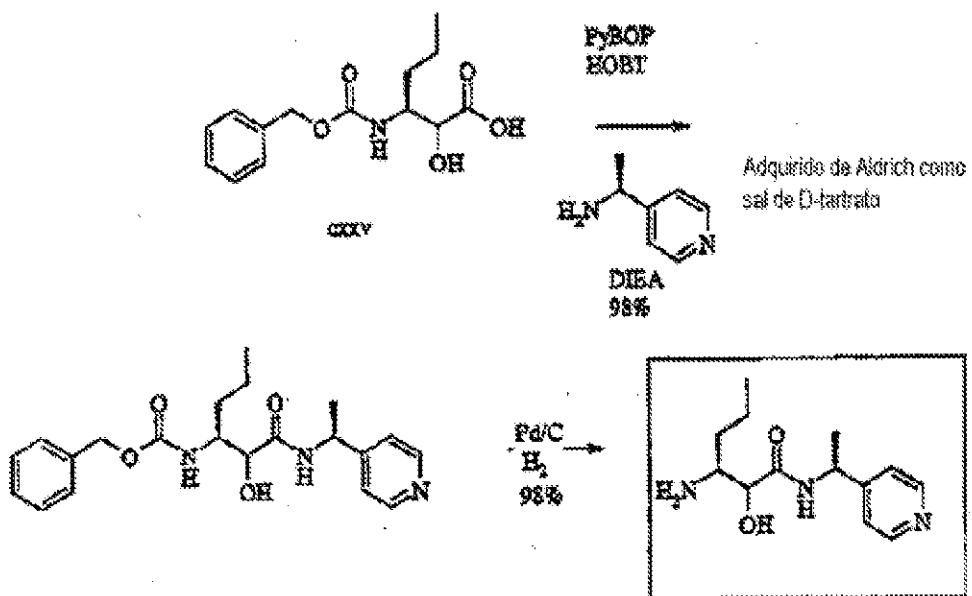
ESQUEMA 8



ESQUEMA 9

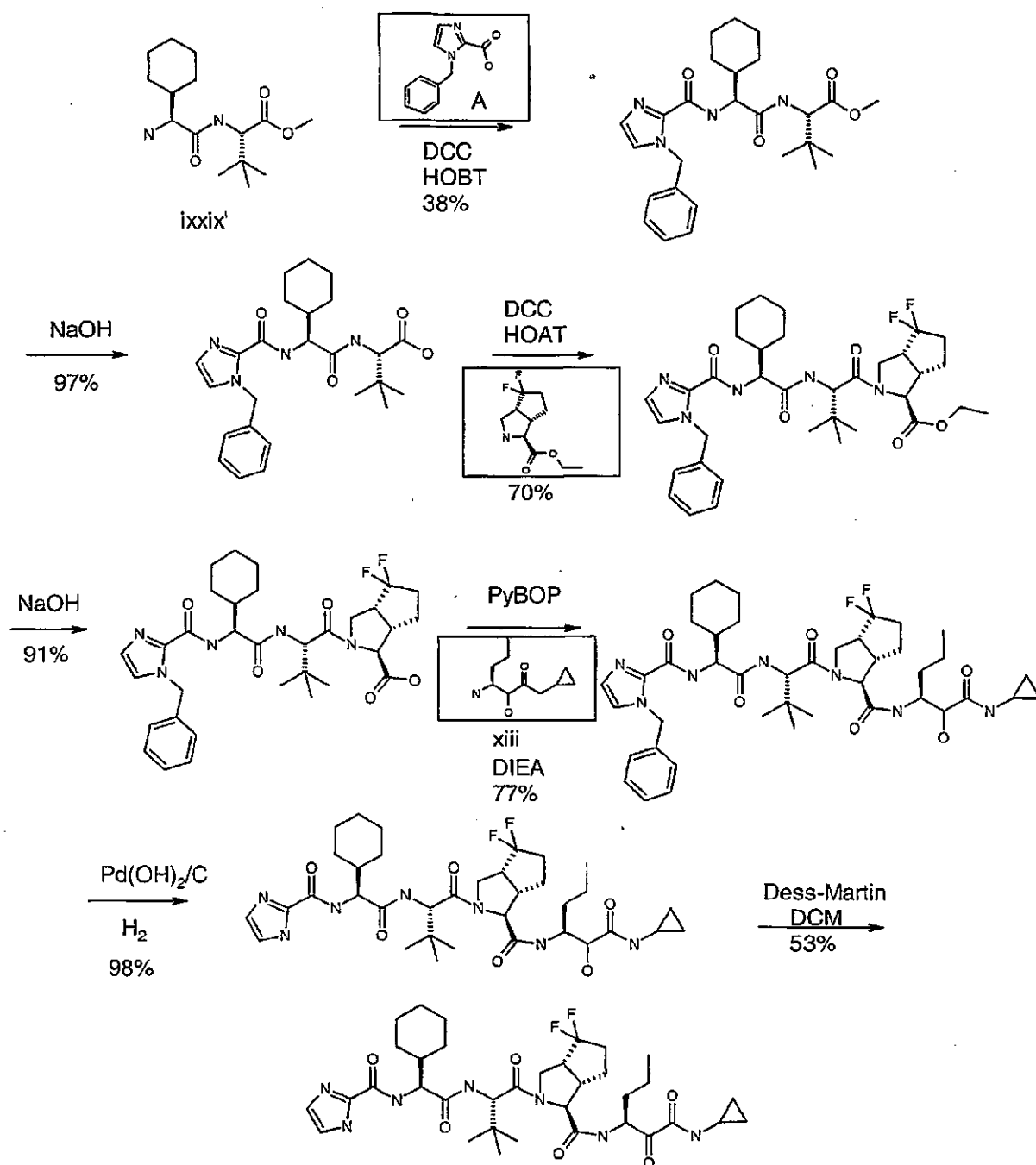


ESQUEMA 10



5

ESQUEMA 11



5 Un compuesto de fórmula 1 que incluye un grupo que contiene uno o más átomos de nitrógeno, preferentemente imina (=N-), puede convertirse en el compuesto correspondiente, en el que uno o más átomos de nitrógeno del grupo se oxidan en un N-óxido, preferentemente, mediante reacción con un perácido, por ejemplo, ácido peracético en ácido acético o ácido m-cloroperóxibenzoico en un disolvente inerte, tal como diclorometano, a una temperatura de aproximadamente temperatura ambiente a reflujo, preferentemente a una temperatura elevada.

10 En las reacciones que se describen más adelante en el presente documento puede ser necesario proteger grupos reactivos funcionales, por ejemplo hidroxilo, amino, imino, grupos tío o carboxilo, cuando estos se desean en el producto final, para evitar su participación indeseada en las reacciones. Pueden usarse grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica convencional, para ejemplos véase T.W. Green y P.G.M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons (1991); J.F.W. McOmie en "Protective Groups in Organic Chemistry" Plenum Press, 1973.

Un compuesto que se prepara como se describe en el presente documento puede recuperarse de la mezcla de reacción por medios convencionales. Por ejemplo, los compuestos pueden recuperarse retirando por destilación el disolvente de la mezcla de reacción o, si fuera necesario, después de retirar por destilación el disolvente de la mezcla de reacción, vertiendo el residuo en agua, seguido de extracción con un disolvente orgánico inmiscible en agua y retirando por destilación el disolvente del extracto. Adicionalmente, el producto puede, si se desea, purificarse adicionalmente por diversas técnicas bien conocidas, tales como recristalización, reprecipitación o las diversas técnicas cromatográficas, en especial cromatografía en columna o cromatografía preparativa de capa fina.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, pueden prepararse compuestos de la invención por interconversión de otros compuestos de la invención.

Como un ejemplo de los procedimientos de interconversión, los compuestos de la fórmula 1 que contienen engarces sulfóxido pueden prepararse mediante la oxidación de los compuestos correspondientes que contienen engarces -S-. Por ejemplo, la oxidación puede realizarse convenientemente por medio de reacción con un peroxiácido, por ejemplo, ácido 3-cloroperbenzoico, preferentemente en un disolvente inerte, por ejemplo, diclorometano, preferentemente a o cerca de temperatura ambiente, o como alternativa por medio de peroxomonosulfato de hidrógeno potásico en un medio, tal como metanol acuoso, tamponado a aproximadamente pH 5, a temperaturas entre aproximadamente 0 °C y temperatura ambiente. El último procedimiento se prefiere para compuestos que contienen un grupo lábil a ácidos.

Como otros ejemplos de los procedimientos de la invención, los compuestos de la fórmula 1 que contienen engarces sulfona pueden prepararse mediante la oxidación de los compuestos correspondientes que contienen engarces -S- o sulfóxido. Por ejemplo, la oxidación puede realizarse convenientemente por medio de reacción con un peroxiácido, por ejemplo, ácido 3-cloroperbenzoico, preferentemente en un disolvente inerte, por ejemplo, diclorometano, preferentemente a, o cerca de temperatura ambiente.

Se entenderá que la designación de aromaticidad con respecto a arilos y heteroarilos en el presente documento incluyen cualquier estructura de anillo insaturado altamente resonante. Como alternativa, la asignación de dobles enlaces, cuando se indica, representa una estructura potencial para el compuesto representado, pero se entenderá que incluye otros estados de resonancia del compuesto, así como especies protonadas y cargadas, solo una de las cuales puede mostrarse.

Se apreciará que los compuestos de la presente invención pueden contener centros asimétricos. Estos centros asimétricos pueden estar independientemente en la configuración R o S. Será evidente para los expertos en la materia que determinados compuestos de la invención también pueden mostrar isomerismo geométrico. Se entenderá que la presente invención incluye isómeros geométricos individuales y estereoisómeros y mezclas de los mismos, incluyendo mezclas racémicas, de compuestos de acuerdo con la invención. Dichos isómeros pueden separarse de sus mezclas, mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos, por ejemplo, técnicas cromatográficas y técnicas de recristalización, o pueden prepararse por separado a partir de isómeros adecuados de sus intermedios.

Para el propósito del presente documento se entiende que se incluyen formas tautoméricas en la enumeración de un grupo dado, por ejemplo, tioxo/mercapto u oxo/hidroxilo.

Las sales de adición de ácido se forman con los compuestos de la invención en los que una función básica tal como un grupo amino, alquilamino, o dialquilamino se encuentra presente. Son preferentes las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, es decir, no tóxicas. Las sales seleccionadas se seleccionan de manera óptima para que sean compatibles con los vehículos farmacéuticos habituales y se adaptan para administración oral o parenteral. Pueden prepararse sales de adición de ácidos de los compuestos de la invención de la presente invención mediante reacción de la base libre con el ácido adecuado, mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos. Por ejemplo, las sales de adición de ácidos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse tanto disolviendo la base libre en agua o una solución alcohólica acuosa como otros disolventes adecuados que contienen el ácido adecuado y aislando la sal mediante evaporación de la solución, o haciendo reaccionar la base libre y ácido en un disolvente orgánico, en cuyo caso, la sal se separa directamente o puede obtenerse por concentración de la solución. Algunos ácidos adecuados para su uso en la preparación de dichas sales son ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, varios ácidos carboxílicos y sulfónicos orgánicos, tales como ácido acético, ácido cítrico, ácido propiónico, ácido succínico, ácido benzoico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido mandélico, ácido ascórbico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácidos grasos, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, bisulfato, butirato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanesulfonato, glicerofosfato, picrato, pivalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, tiocianato, 2-naftalenosulfonato, undecanoato, nicotinato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, alcanforato, alcanforsulfonato y otros.

Las sales de adición de ácidos de los compuestos de esta invención pueden regenerarse a partir de sus sales mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos. Por ejemplo, puede regenerarse compuestos precursores de la invención a partir de sus sales de adición de ácidos por tratamiento con un álcali, por ejemplo, una solución acuosa de bicarbonato sódico o solución acuosa de amoniaco.

Los compuestos de la presente invención pueden regenerarse a partir de sus sales de adición de bases mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos. Por ejemplo, puede regenerarse compuestos precursores de la invención a partir de sus sales de adición de bases por tratamiento con un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico.

- 5 Pueden formarse sales de adición de bases cuando el compuesto de la invención contiene un grupo carboxi, o un bioisómero suficientemente ácido. Las base que pueden usarse para to preparar las sales de adición de bases incluyen preferentemente aquellas que producen, cuando se combinan con el ácido libre, sales farmacéuticamente aceptables, es decir, sales cuyos cationes son no tóxicas para el paciente en una dosis farmacéutica de las sales, de manera que los efectos inhibidores beneficiosos inherentes en la base libre no se vicien por efectos secundarios atribuibles a los cationes. Las sales farmacéuticamente aceptables, incluyendo las obtenidas a partir de sales de metal
- 10 alcalino y alcalinotérreo, dentro del alcance de la invención incluyen las obtenidas a partir de las siguientes bases:

hidruro sódico, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido cálcico, hidróxido de aluminio, hidróxido de litio, hidróxido de magnesio, hidróxido de cinc, amoniaco, etilendiamina, N-metil-glucamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaina, dietanolamina, procaína, N-bencilfenetilamina, dietilamina, piperazina, tris(hidroxiometil)-aminometano, hidróxido de tetrametilammonio y similares.

- 15 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente, o formarse durante los procedimientos de la invención, en forma de solvatos (por ejemplo, hidratos). Pueden prepararse convenientemente hidratos de compuestos de la presente invención por recristalización en una mezcla de disolvente acuoso/orgánico, usando disolventes orgánicos, tales como dioxano, tetrahidrofurano o metanol.

- 20 Los materiales de partida e intermedios pueden prepararse mediante la aplicación o adaptación de procedimientos conocidos, por ejemplo, procedimientos como los que se describen en los Ejemplos de Referencia o sus equivalentes químicos obvios.

Los compuestos de la invención, sus procedimientos de preparación y su actividad biológica se harán más claros a partir del examen de los siguientes ejemplos, que se presentan únicamente a modo de ilustración y no deben considerarse como limitantes del alcance de la invención.

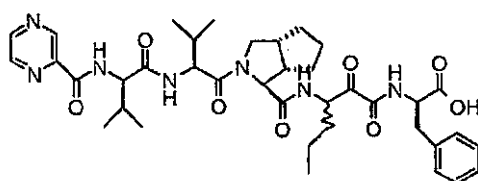
- 25 Las muestras se analizaron por TLC, RMN, RP-HPLC o EA.

Los compuestos de la invención, sus procedimientos de preparación y su actividad biológica se harán más claros a partir del examen de los siguientes ejemplos, que se presentan únicamente a modo de ilustración y no deben considerarse como limitantes del alcance de la invención.

Las muestras se analizaron por TLC, RMN, RP-HPLC o EA.

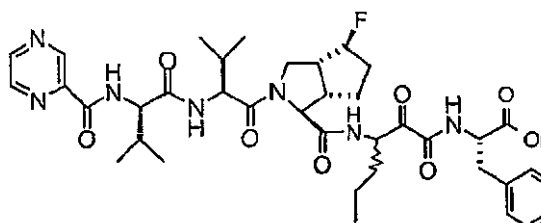
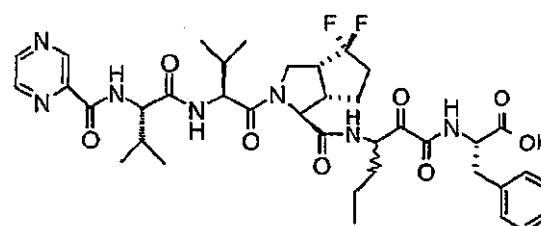
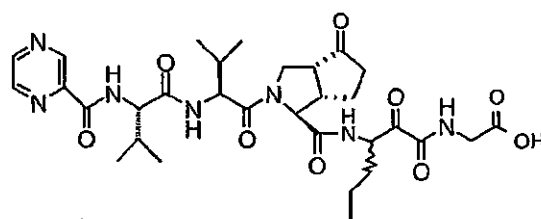
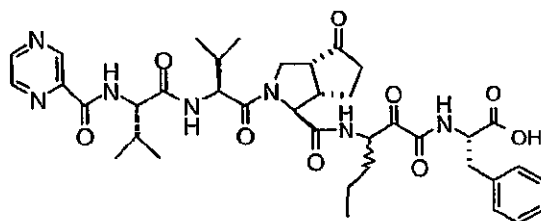
30 **Ejemplo 1 - Compuestos A-E:**

A una solución en DCM (10 ml) del compuesto xi (310 mg, 0,39 mmol) se le añadió TFA (4 ml). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 5 horas. En ese momento, el disolvente se retiró al vacío, El residuo resultante se purificó por HPLC de fase inversa para dar 195 mg (68 %) del compuesto A,



35

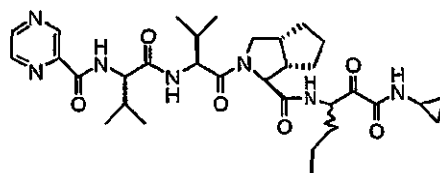
Siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos B-E:



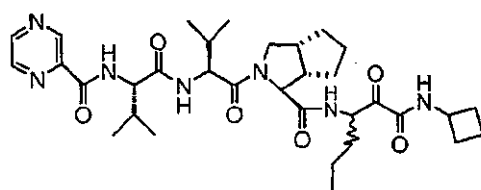
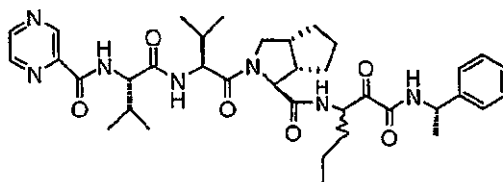
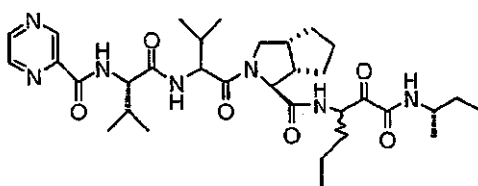
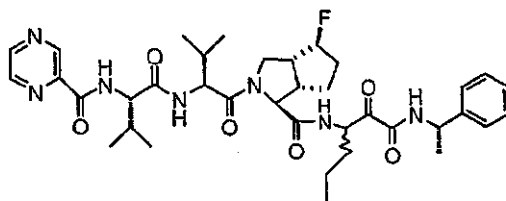
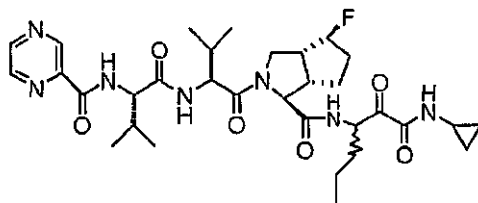
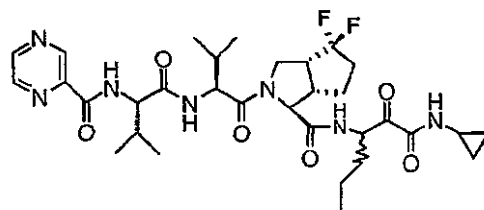
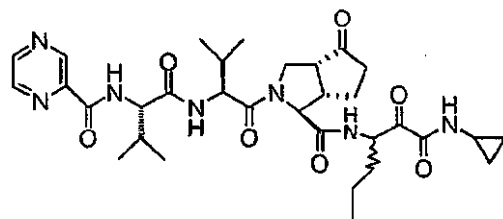
5 Ejemplo 2 - Compuestos F-M:

A una solución en DCM (10 ml) del compuesto xii (350 mg, 0,56 mmol) se le añadió reactivo DMP (307 mg, 0,73 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas y después se detuvo con Na_2SO_3 al 10 % durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (75 ml) y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80-90 %/Hexanos) para proporcionar 248 mg (71 %) del compuesto F

10

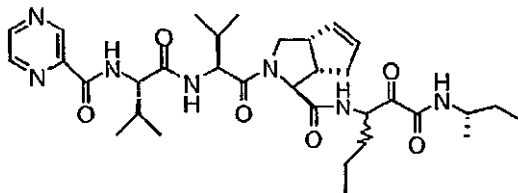


Siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos G-M:

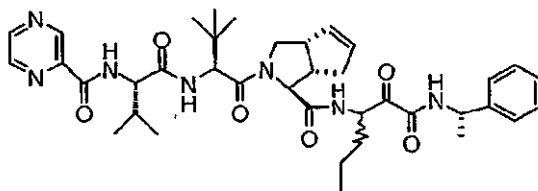
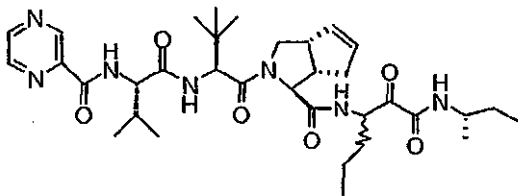
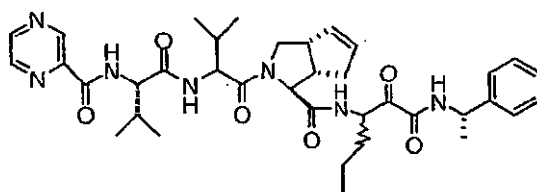
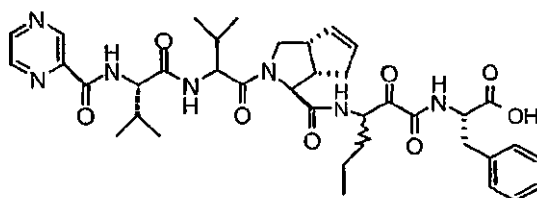


Ejemplo 3 - Compuestos N-R:

5 A una solución en DCM (4 ml) del compuesto xix (~0,22 mmol) se le añadió reactivo DMP (146 mg, 0,34 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas, la reacción se detuvo con Na₂SO₃ al 10 %. Después, la mezcla de reacción se diluyó con DCM. La fase orgánica se separó y se lavó dos veces con Na₂SO₃ al 10 % y salmuera. La fase orgánica resultante se secó y se concentró al vacío para dar un residuo, que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 % /EtOAc) para proporcionar 78 mg (56 %) del compuesto deseado N



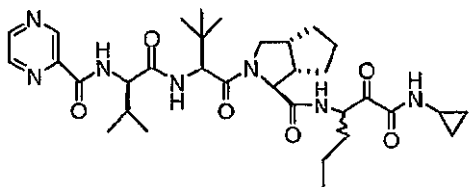
Si siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos O-R:



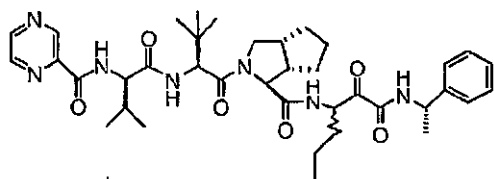
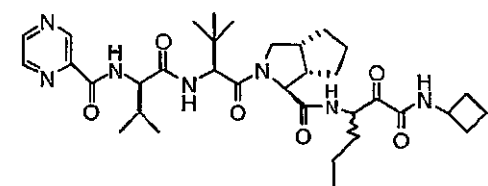
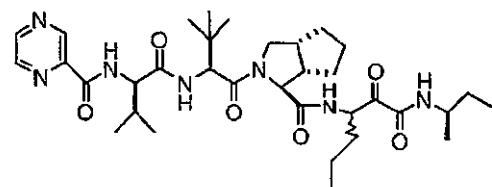
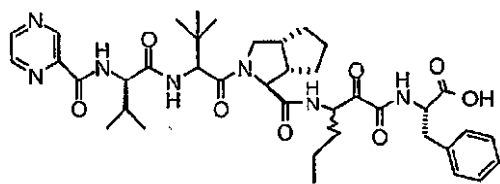
10

Ejemplo 4 - Compuestos S-W:

15 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto xxv (320 mg, 0,5 mmol) se le añadió reactivo DMP (272 mg, 0,65 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas y se detuvo con Na₂SO₃ al 10 % durante 20 minutos. Después, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80 %/Hexanos) para proporcionar 170 mg (53 %) del compuesto S,



Seguendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos T-W:

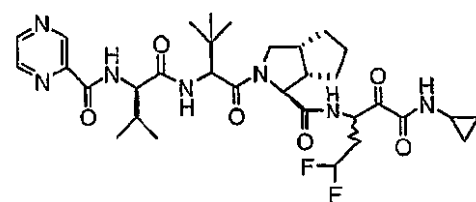


5

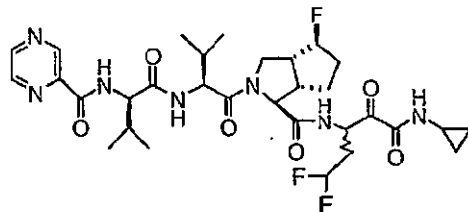
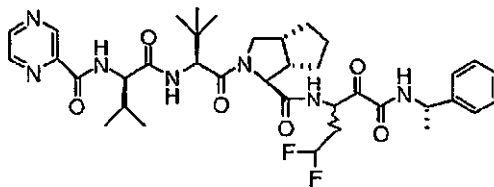
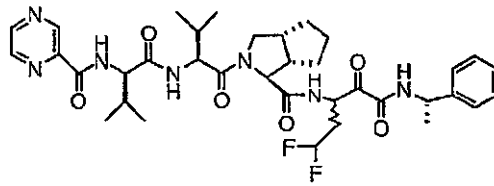
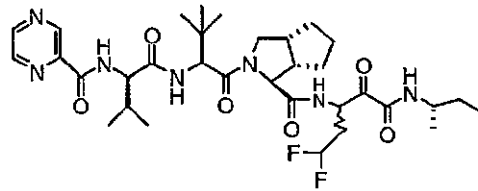
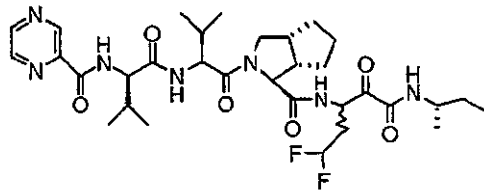
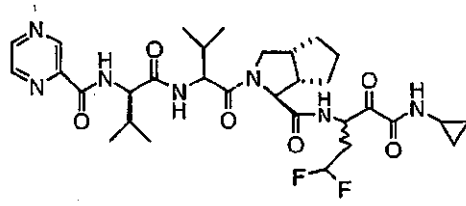
Ejemplo 5 - Compuestos X-AD:

A una solución en DCM (20 ml) del compuesto xxvi (400 mg, 0,6 mmol) se le añadió reactivo DMP (329 mg, 0,78 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 1,5 horas y se detuvo con Na_2SO_3 al 10 % durante 20 minutos. Después, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 70-100 %/Hexanos) para proporcionar 210 mg (53 %) del compuesto X,

10

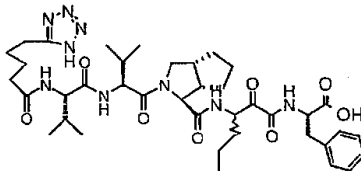


Seguendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos y -AD:

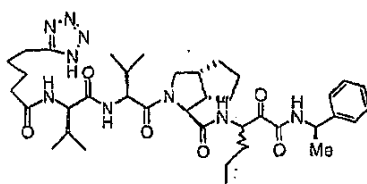
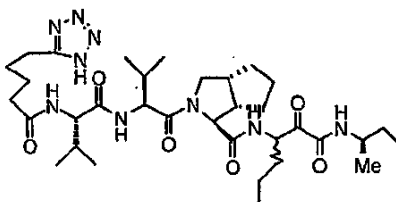
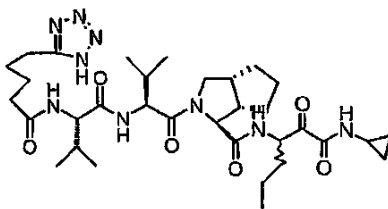
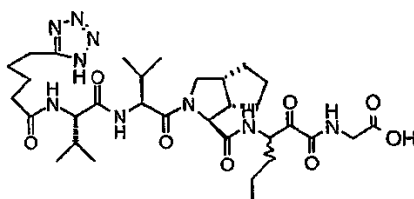


Ejemplo 6 - Compuestos AE-AI:

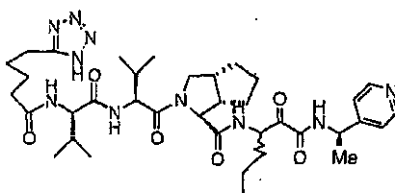
El compuesto xxxiii (150 mg; 0,076 mmol) se disolvió en 5 ml de TFA y se agitó durante dos días. El producto se purificó por RP-HPLC para producir 40 mg (rendimiento del 33 %) del compuesto AE,



- 5 Siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos AF-AI:

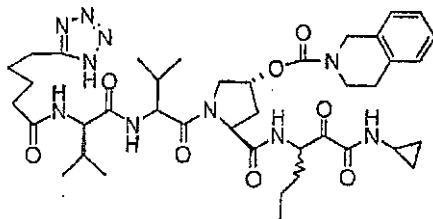
**Ejemplo 7 - Compuesto AJ:**

- 10 El compuesto xxxviii (180 mg; 0,21 mmol) se disolvió TFA puro (5 ml) y se dejó durante 3 días a temperatura ambiente. En ese momento, la mezcla de reacción se concentró al vacío para dar un residuo, que se purificó por HPLC de fase inversa para dar 50 mg (32 %) del compuesto AJ,

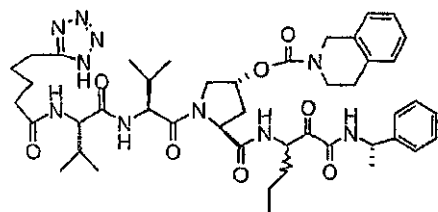
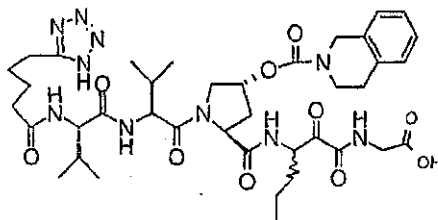


Ejemplo 8 - Compuestos de Comparación AK-AM:

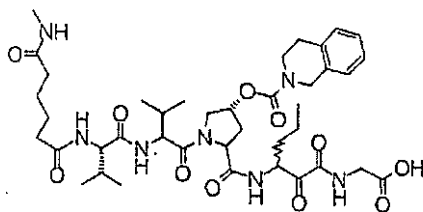
El compuesto xxxiii (150 mg; 0,16 mmol) se disolvió en 4,5 ml de TFA y se agitó durante tres días. El producto se purificó por RP-HPLC para producir 70 mg (rendimiento del 54 %) del compuesto AK,



- 5 Siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos AI-AM:

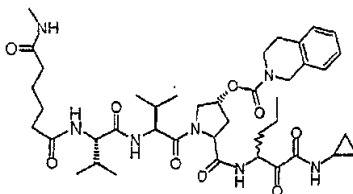
**Ejemplo 9 - Compuestos de Comparación AN:**

- 10 El compuesto lii (80 mg) se disolvió en 3 ml de TFA y 3 ml de DCM. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 5 horas. El disolvente se retiró por evaporación. El residuo resultante se purificó por HPLC para dar 62 mg (83 %) del compuesto AN,

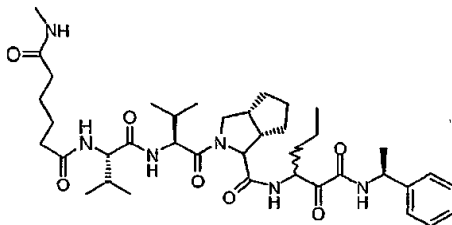


Ejemplo 10 - Compuestos de Comparación AO:

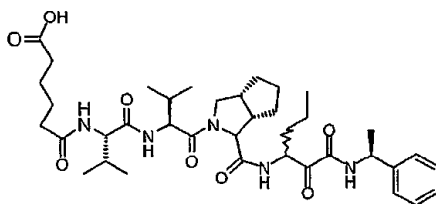
5 El compuesto liii (160 mg; 0,2 mmol) se disolvió en 5 ml de DCM y se añadió reactivo DMP (170 mg; 0,4 mmol). La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante tres horas. El disolvente se retiró por evaporación y el residuo se disolvió en acetonitrilo al 50 %/agua y se purificó por RP-HPLC para producir 51 mg (32 %) del compuesto AO,

**Ejemplo 11 - Compuestos AP:**

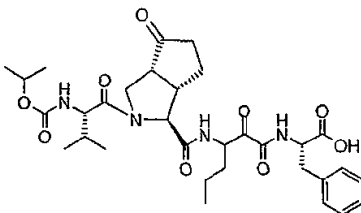
10 El compuesto lxi (162 mg; 0,22 mmol) se disolvió en 8 ml de DCM y se añadió reactivo DMP (189 mg; 0,44 mmol). La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se retiró por evaporación y el producto se purificó por RP-HPLC para producir 41 mg (25 %) del compuesto AP,

**Ejemplo 12 - Compuestos AQ:**

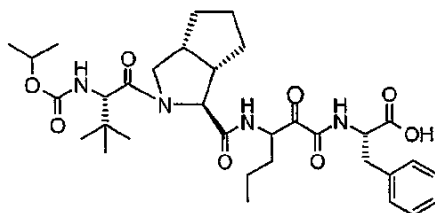
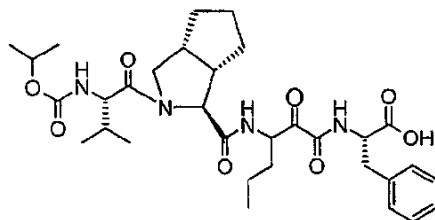
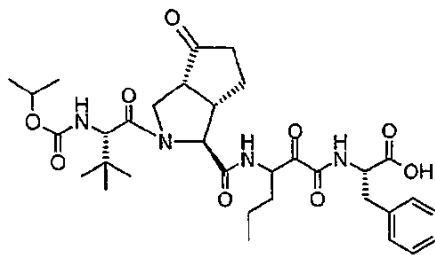
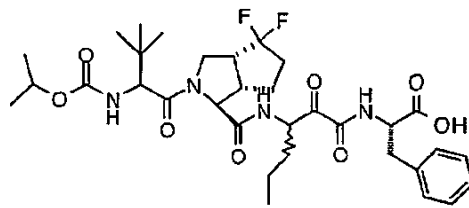
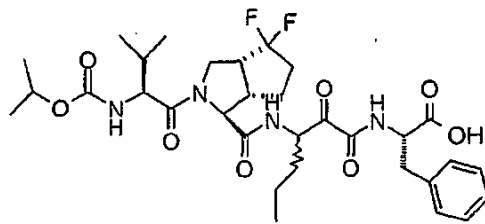
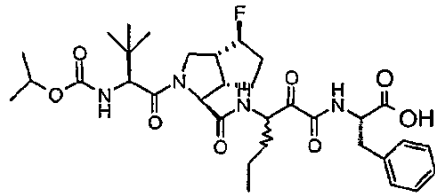
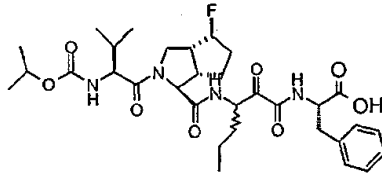
15 El compuesto 1x (70 mg; 0,09 mmol) se disolvió en 5 ml de TFA y 5 ml de DCM. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en acetonitrilo al 50 %/agua y se liofilizó para producir el compuesto AQ en forma de un polvo,

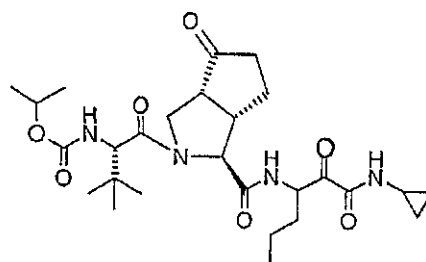
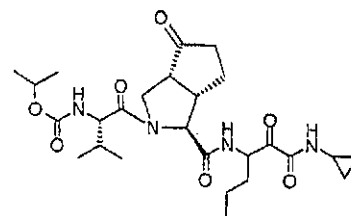
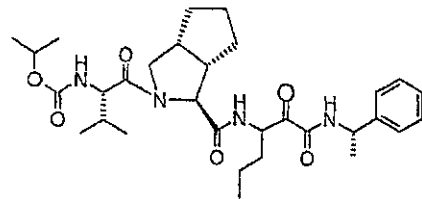
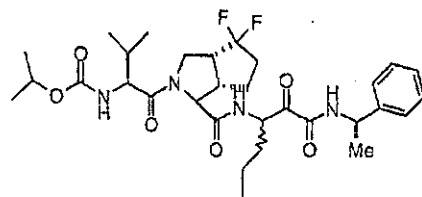
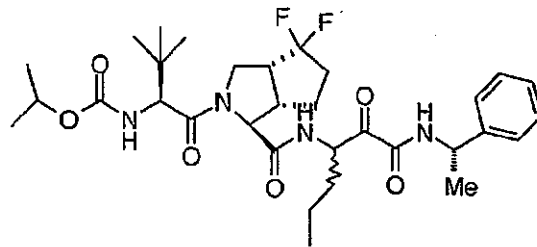
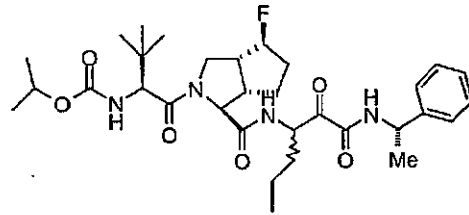
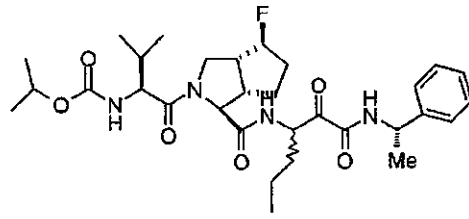
**Ejemplo 13 - Compuestos AR-BG:**

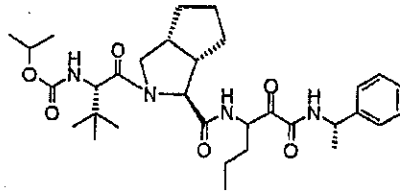
20 El compuesto lxvi (223 mg; 0,326 mmol) se agitó en una solución de TFA (5 ml) y DCM (5 ml) durante 4 horas. El análisis de TLC (gel de sílice: MeOH al 2 %/EtOAc) mostró la conversión completa en el producto más lento. El disolvente se retiró a presión reducida y el producto se liofilizó para dar 198 mg (97 %) del compuesto AR,



Si siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos AS-BG:

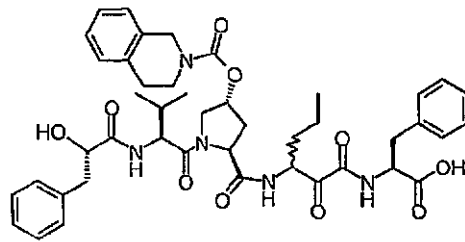




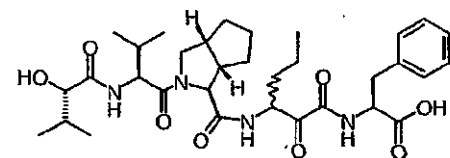
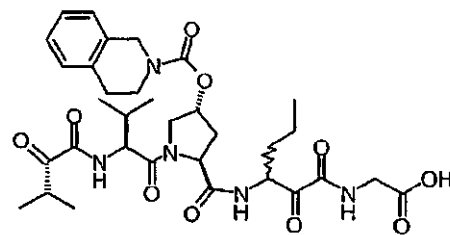
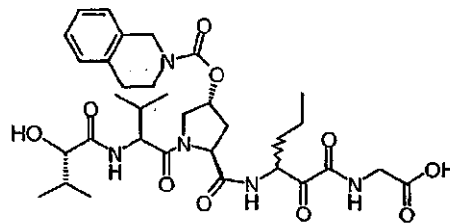


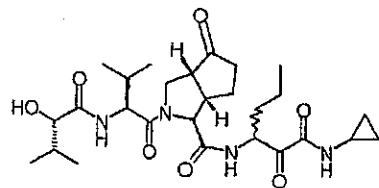
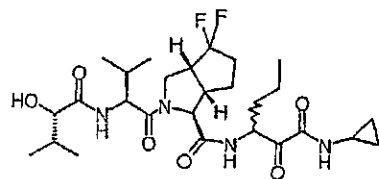
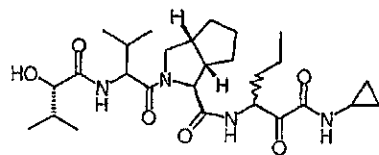
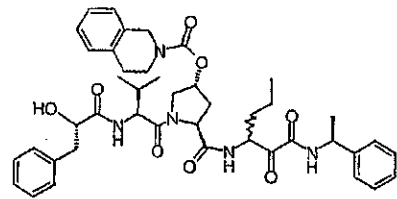
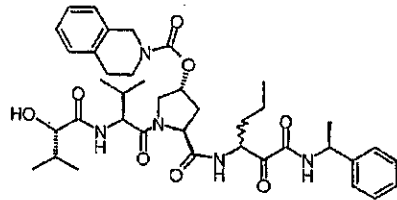
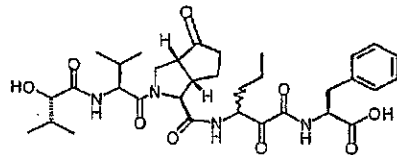
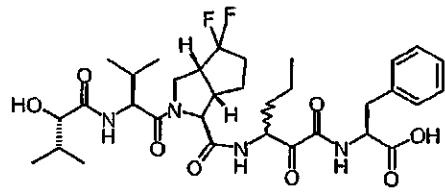
Ejemplo 14- Compuestos BK-BM, BP-BR y compuestos de comparación BH-BJ, BN, BO y BS

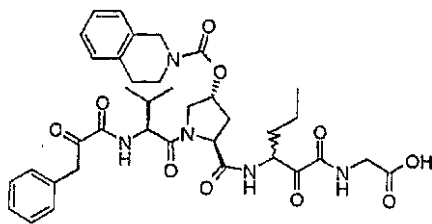
El compuesto lxxiii (150 mg; 0,15 mmol) se recogió en DCM (3 ml). A esta solución se le añadió TFA (1,5 ml). La solución resultante se agitó durante la noche. En ese momento, la reacción se concentró al vacío para dar un residuo, El residuo se purificó por HPLC de fase inversa y se liofilizó para dar 60 mg (50 %) del compuesto BH,



Siguiendo el procedimiento anterior y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos BI-BS:

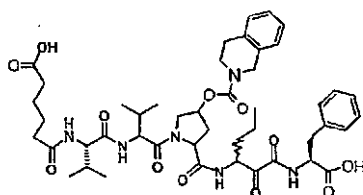
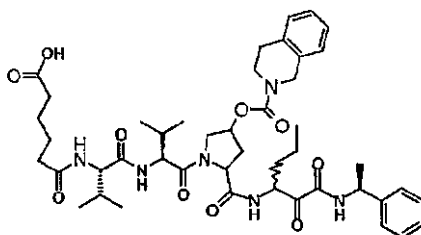






Ejemplo 15 - Compuestos de Comparación BT-BU:

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 12 y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos y BT-BU:

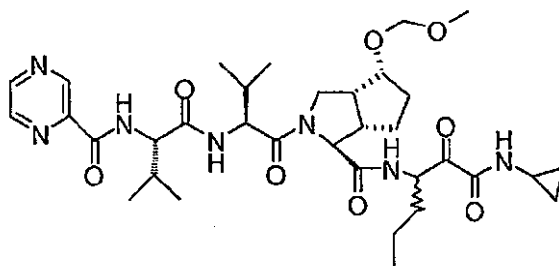


5

Ejemplo 16 - Compuesto BV:

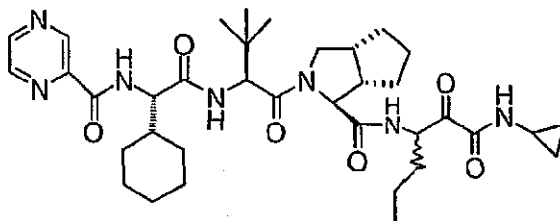
A una solución en diclorometano (4,2 ml) del compuesto Ixxvii (143 mg, 0,21 mmol) se le añadió reactivo DMP (165 mg, 0,39 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas y se detuvo con Na_2SO_3 (ac.) al 10 % durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con MgSO_4 y se concentró para dar un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 % /EtOAc) produjo 124 mg (79 %) del compuesto BV,

10

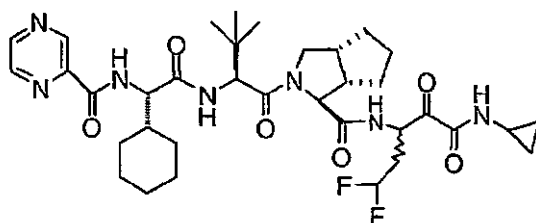
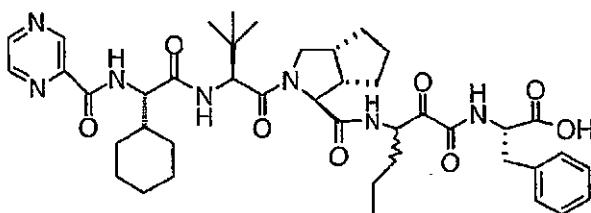
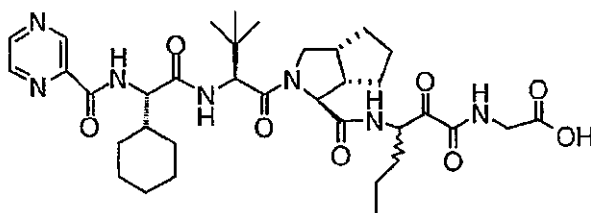
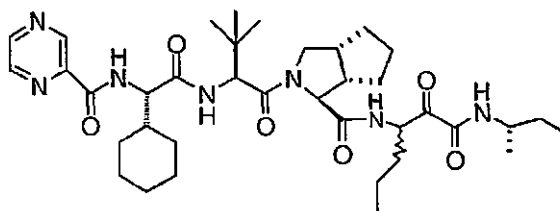


Ejemplo 17 - Compuestos BW-CA:

5 A una solución en diclorometano (20 ml) del compuesto lxxxix (420 mg, 0,62 mmol) se le añadió reactivo DMP (342 mg, 0,81 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 1 horas y se detuvo con Na_2SO_3 al 10 % durante 20 minutos. Después, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80 %/Hexanos) para proporcionar 208 mg (50 %) del compuesto BW,

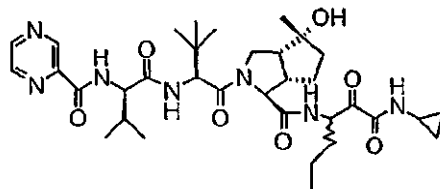


Siguiendo el procedimiento anterior pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos BX-CA:

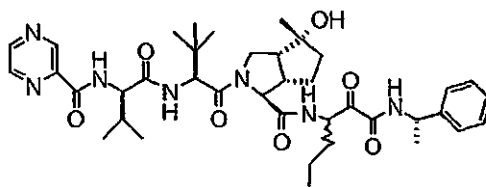


Ejemplo 18 - Compuestos CB-CC:

5 A una solución en diclorometano (6,5 ml) del compuesto lxxxvii (200 mg, 0,3 mmol) se le añadió reactivo DMP (227 mg, 0,54 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas y se detuvo con Na_2SO_3 (ac.) al 10 % durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con MgSO_4 y se concentró para dar un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 % /EtOAc) produjo 138 mg (70 %) del compuesto CB,



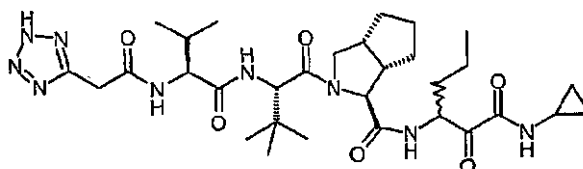
Si siguiendo el procedimiento anterior pero usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente compuesto CC:



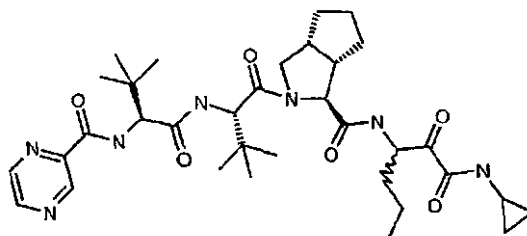
10

Ejemplo 19 - Compuesto CD:

El compuesto lxxxviii (40 mg; 0,05 mmol) se recogió en TFA (3 ml). La solución se agitó durante dos noches y se concentró. El residuo se purificó en una HPLC de fase inversa para dar 25 mg (74 %) del compuesto CD,

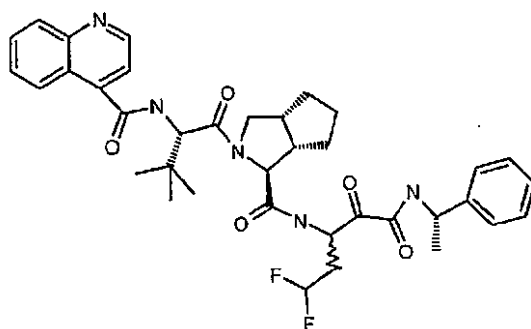
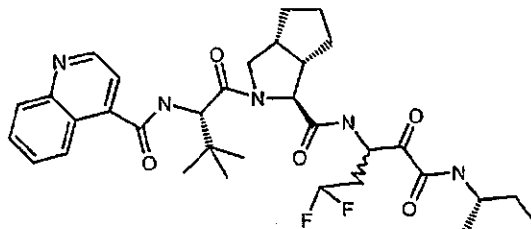
**Ejemplo 20 - Compuesto CE:**

Si siguiendo el procedimiento del Ejemplo 17 y usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente CE:



Ejemplo 21 - Compuestos CF-CG:

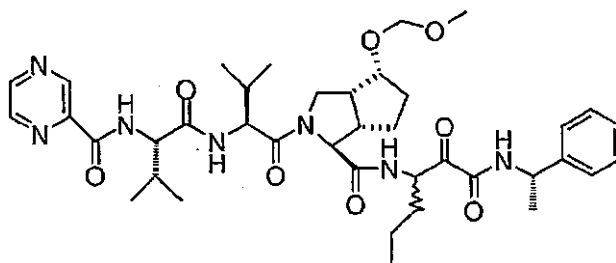
Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 14 y usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos consecutivos CF-CG:



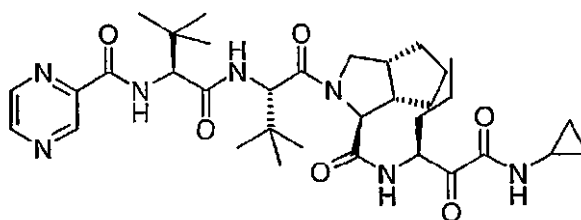
5

Ejemplo 22 - Compuesto CH:

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 16 y usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente CH:

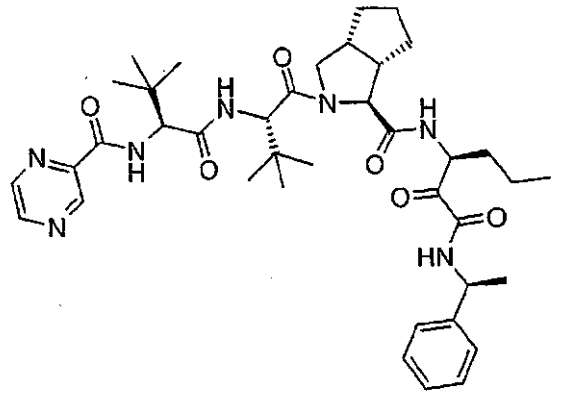
**Ejemplo 23 - Compuestos CI-CM**

- 10 El compuesto cxi (490 mg, 0,75 mmol) se disolvió en DCM (6 ml). Se añadió reactivo DMP (380 mg, 0,9 mmol) a esta solución y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con una solución al 10 % de Na_2SO_3 y después la fase orgánica se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 70 %/hexanos para producir el compuesto CI (325 mg, 66,4 %).

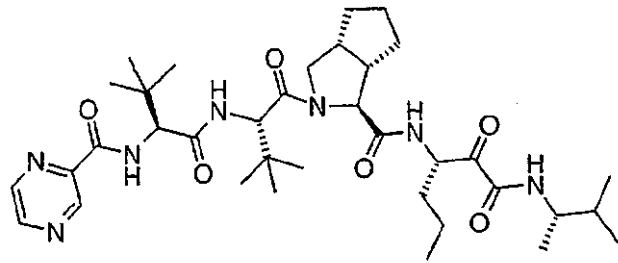


15

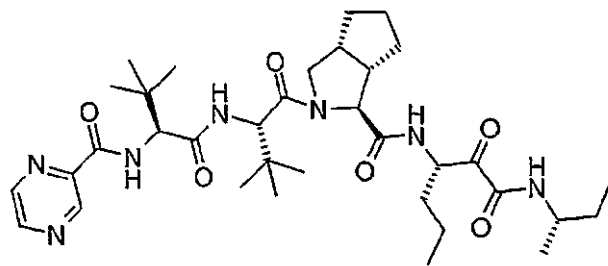
Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos CJ-CM:



;

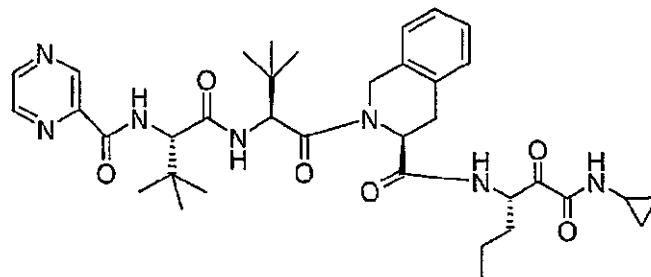


;



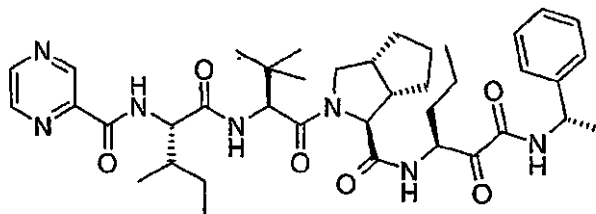
;

y

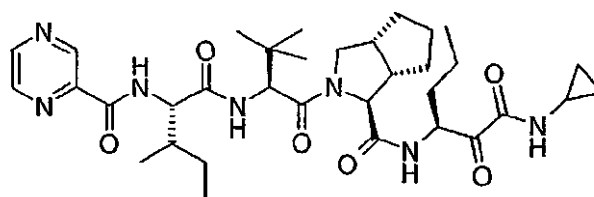


Ejemplo 24 - Compuestos CN

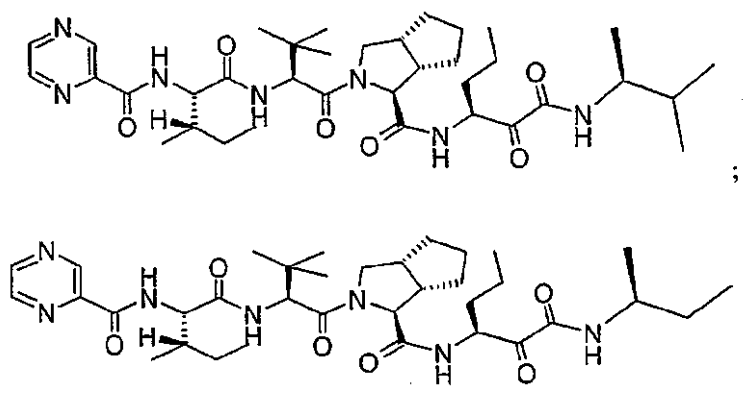
- 5 A una solución en DCM/THF (3 ml/3 ml) del compuesto cxviii (335 mg, 0,46 mmol) se le añadió reactivo DMP (300 mg, 0,69 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se inactivó con Na_2SO_3 (ac.) al 10 % durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se concentró para producir un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80 %/hexanos) produjo el compuesto CN (220 mg, 67 %).

**Ejemplo 25 - Compuestos CO-CR**

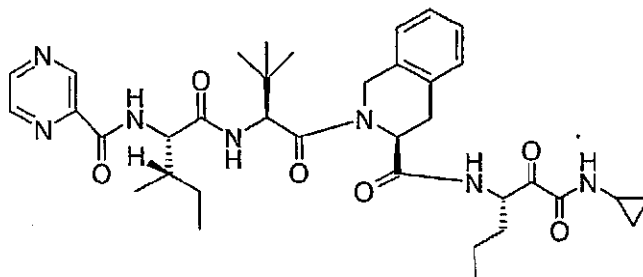
- 10 A una solución en DCM/THF (1,5 ml/1,5 ml) del compuesto cxix (164 mg, 0,25 mmol) se le añadió reactivo DMP (159 mg, 0,38 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se inactivó con Na_2SO_3 (ac.) al 10 % durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con MgSO_4 y se concentró para dar un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 70 %/hexanos) produjo el compuesto CO (100 mg, 61 %).



- 15 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos CP-CR:

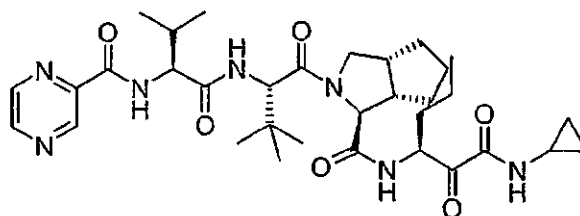


y

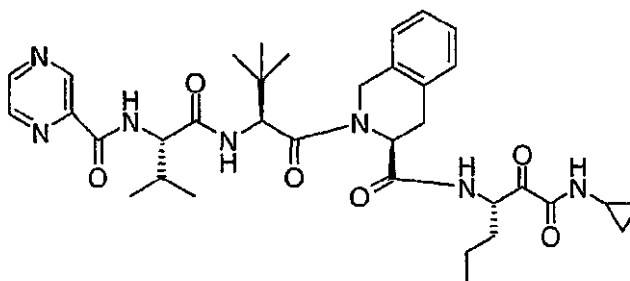


Ejemplo 26 - Compuestos CS-CT

5 El compuesto cxx se disolvió en DCM (3 ml). Se añadió reactivo DMP (180 mg, 0,41 mmol) y después se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con Na_2SO_3 al 10 % y después la fase orgánica se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo se purificó cromatográficamente con EtOAc al 100 % para producir el compuesto CS (95 mg, 43,7 %).

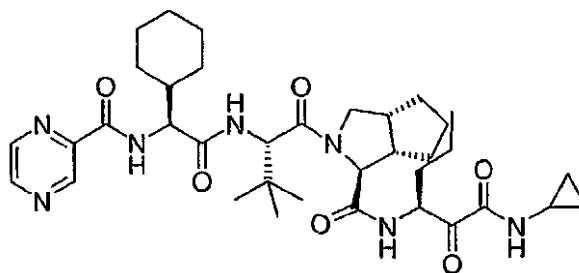


10 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente compuesto CT:

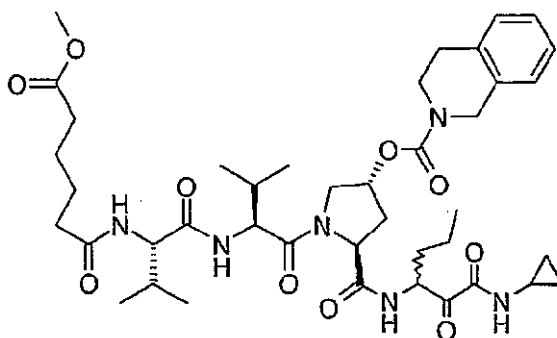


Ejemplo 27 - Compuestos CU, EI, EK-EM, EO-EZ y FA-FG

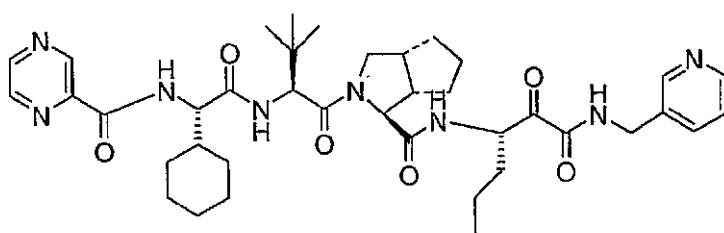
15 El compuesto cxxviii (356 mg, 0,52 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Se añadió reactivo DMP (270 mg, 0,63 mmol) a esta solución y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con Na_2SO_3 al 10 % y después la fase orgánica se separó y se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. Después de la concentración del disolvente, el residuo se purificó cromatográficamente con EtOAc al 100 % para producir el compuesto CU (200 mg, 56,3 %). pf 225 - 235 °C.



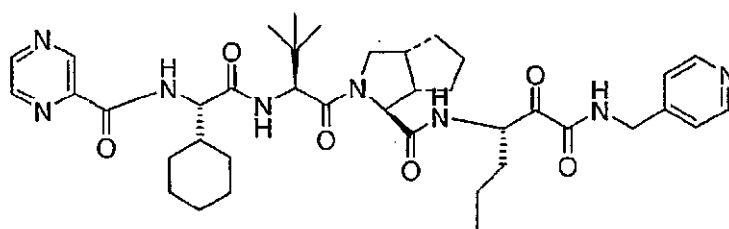
20 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos consecutivos EI, EK-EM, EO-EZ y FA-FH:



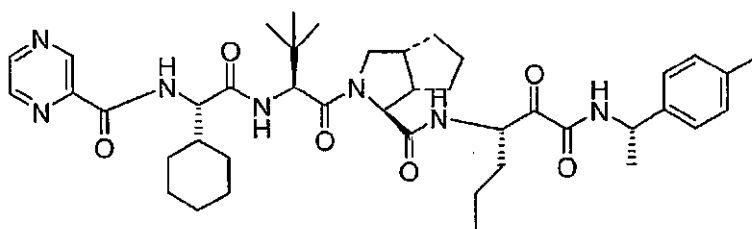
EI,



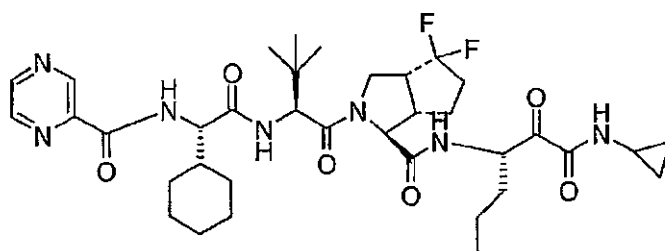
EK,



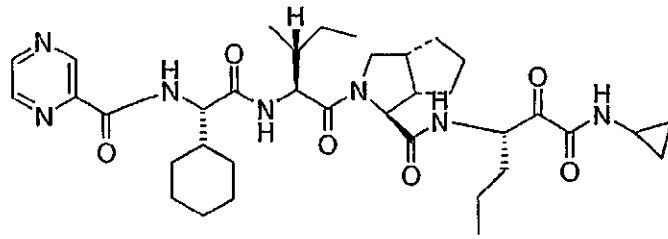
EL,



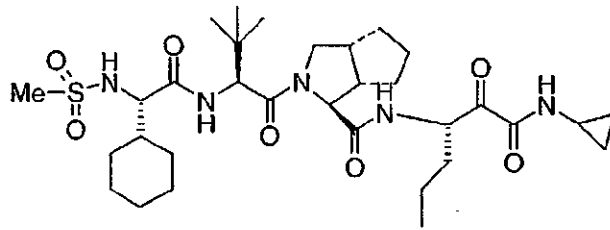
EM,



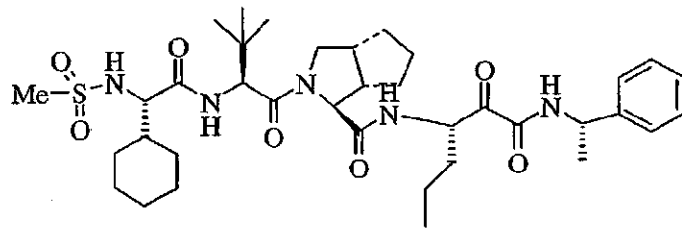
EO,



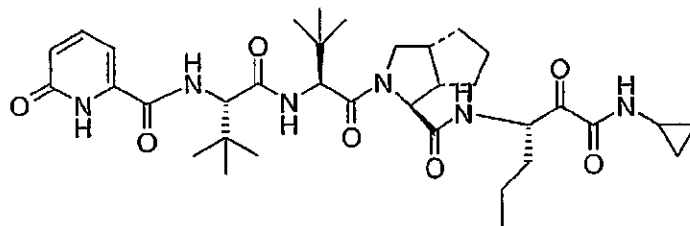
EP,



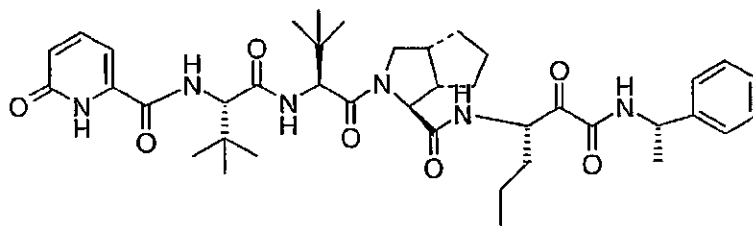
EQ,



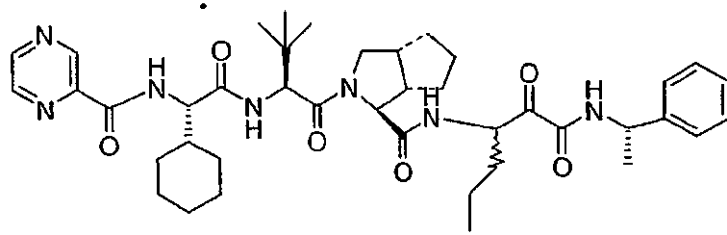
ER,



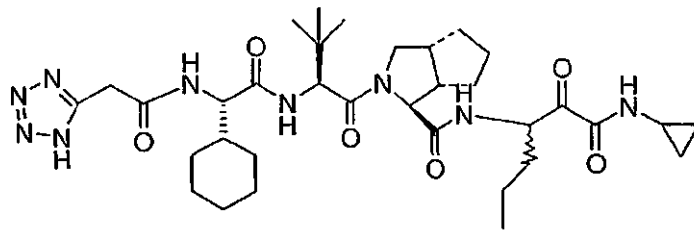
ES,



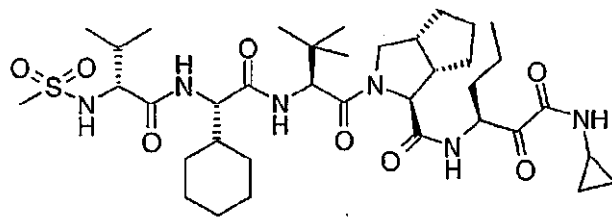
ET,



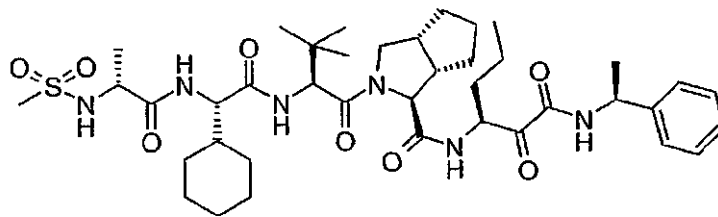
EU,



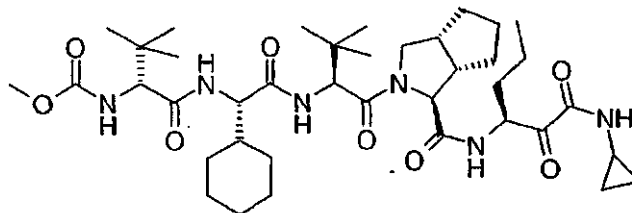
EV,



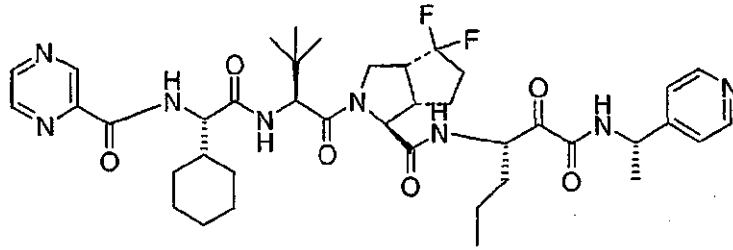
EW,



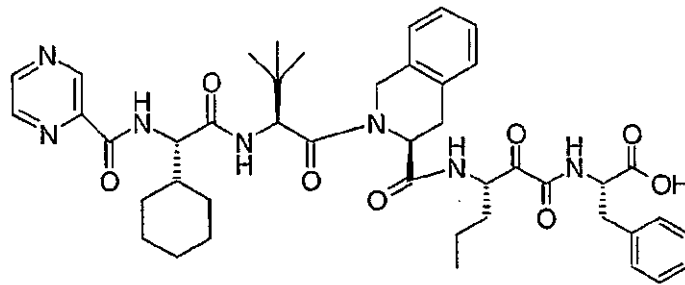
EX,



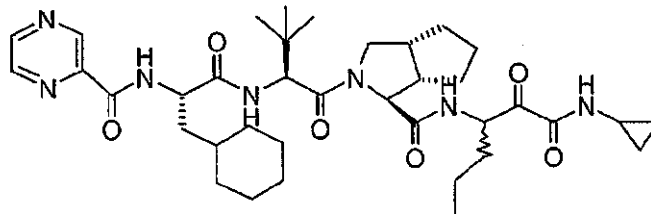
EY,



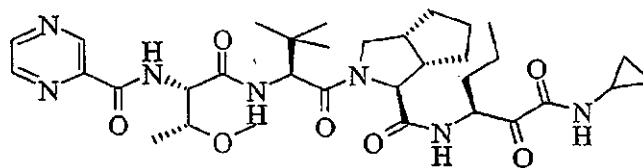
EZ,



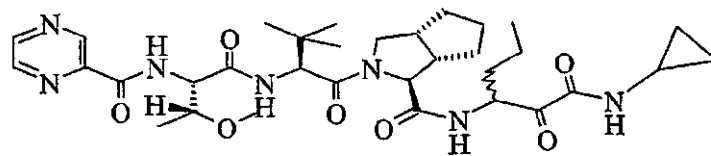
FA,



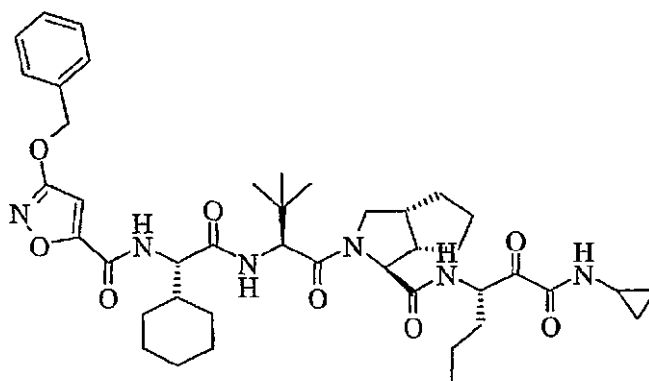
FB,



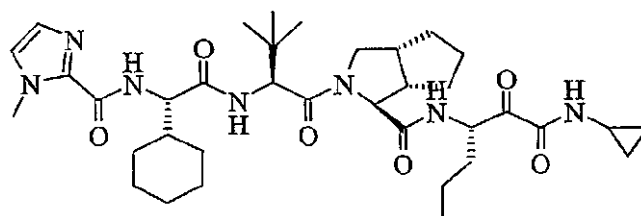
FC,



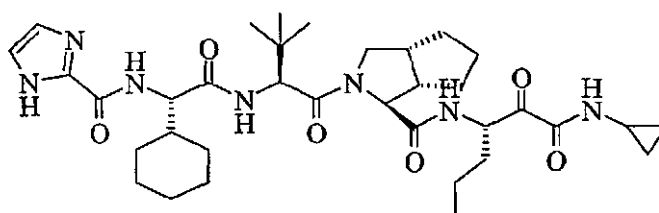
FD,



FE,

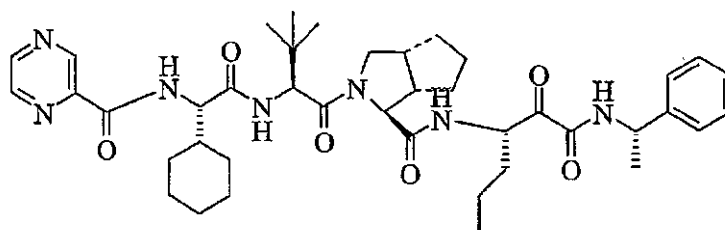


FF,



FG,

y

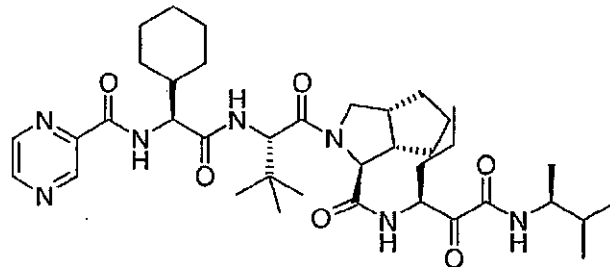


FH.

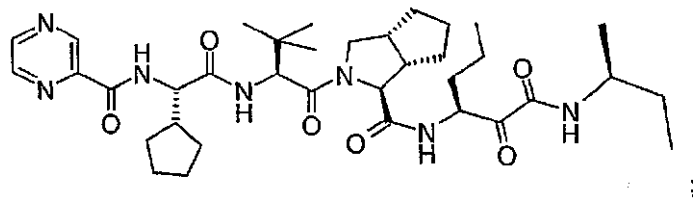
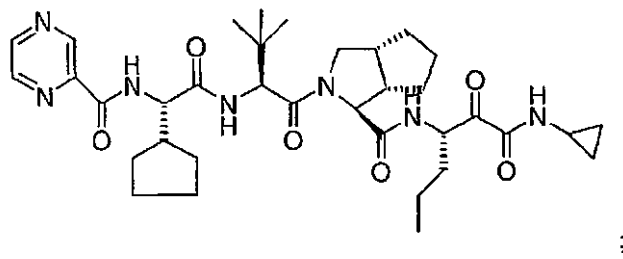
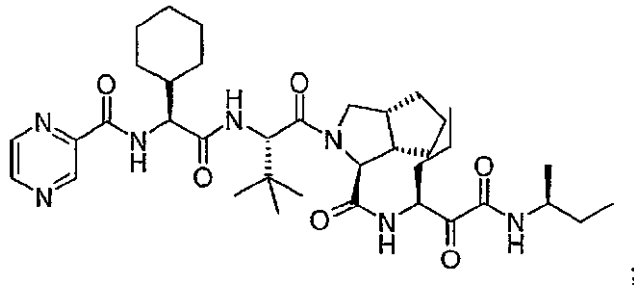
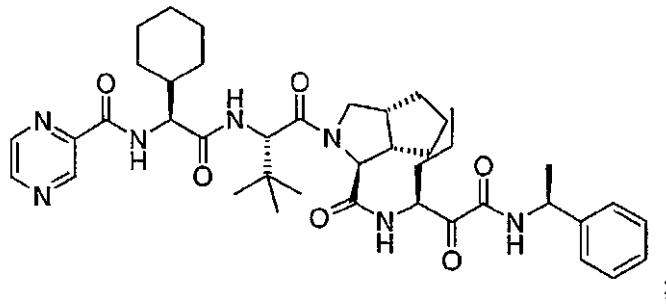
Ejemplo 28 - Compuestos CV-DC

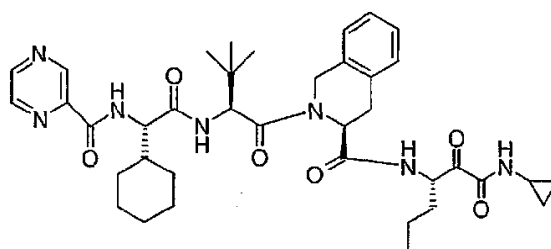
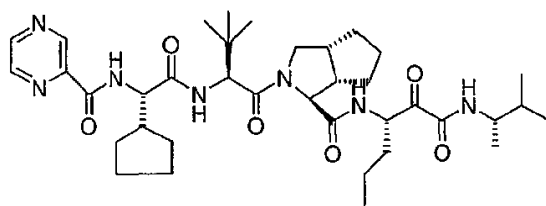
- 5 El compuesto cxxx (330 mg, 0,46 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Se añadió reactivo DMP (240 mg, 0,56 mmol) a esta solución y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con Na_2SO_3 al 10 % y la fase orgánica se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera.

Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 100 % para producir el compuesto cxxx (280 mg, 85,9 %).

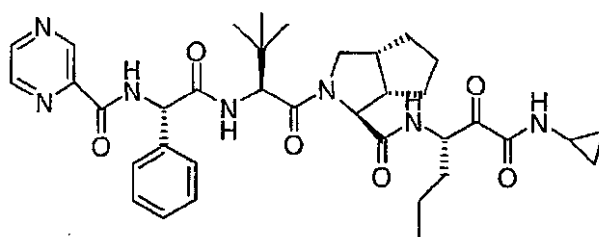


Seguindo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos CW-DC:

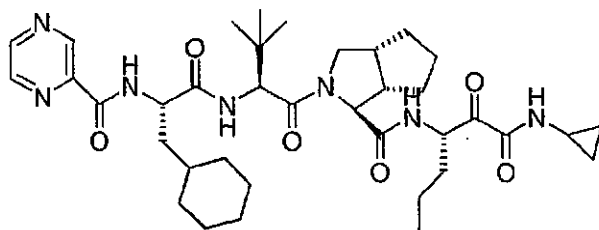




y

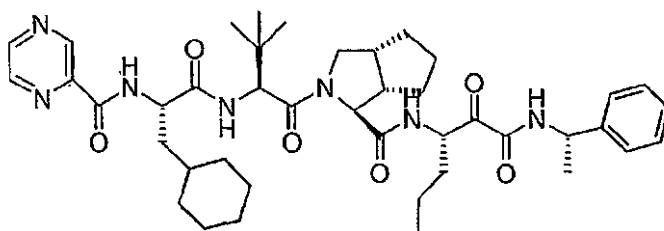
**Ejemplo 29 - Compuestos DD-DE**

- 5 A una solución en DCM (6 ml) del compuesto cxxxviii (400 mg, 0,57 mmol) se le añadió reactivo DMP (362 mg, 0,85 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se inactivó con Na_2SO_3 (ac.) al 10 % durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica extraída se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se concentró para producir un aceite de color amarillo. La purificación con gel de sílice (EtOAc al 70 %/hexanos) produjo el compuesto DD (201 mg, 51 %).



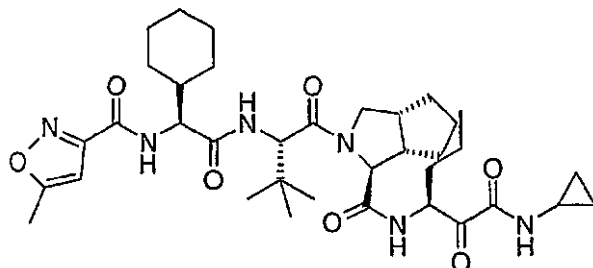
10

Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente compuesto DE:

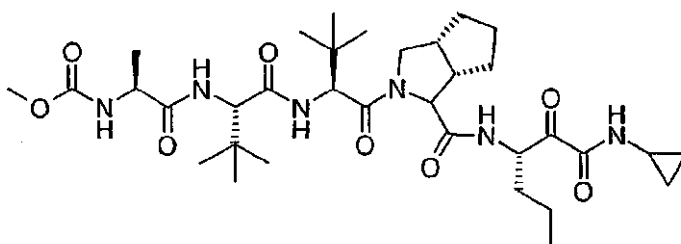


Ejemplo 30 - Compuesto DF

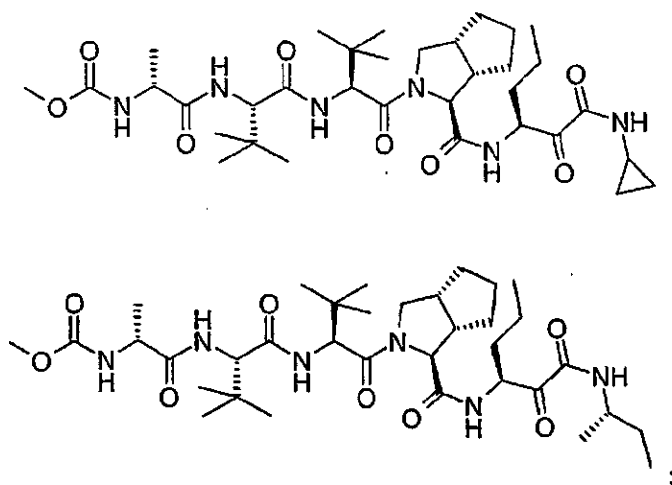
El compuesto cxxxxiii (165 mg, 0,24 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Se añadió reactivo DMP (125 mg, 0,29 mmol) a la solución de reacción y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con Na_2SO_3 al 10 % y la fase orgánica se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 70 %/hexanos para producir el compuesto DF (108 mg, 65,6 %).

**Ejemplo 31- Compuestos DG-DJ**

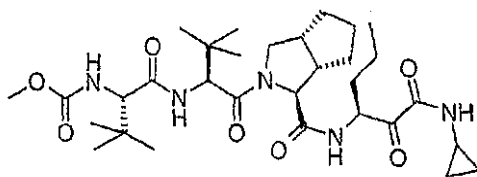
A una solución del compuesto cil (0,350 g, 0,516 mmol) en DCM (15 ml) enfriada con un baño de hielo se le añadió reactivo DMP (0,281 g, 0,671 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se inactivó con una solución al Na_2SO_3 10 % y se agitó durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 20 ml) y el extracto orgánico se secó (MgSO_4). Después de filtración para retirar MgSO_4 , el filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna (acetato de etilo al 70 %/hexanos) para producir el compuesto final DG (0,265 g, 76 %) en forma de un sólido de color blanco.



15 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos DH-DJ:

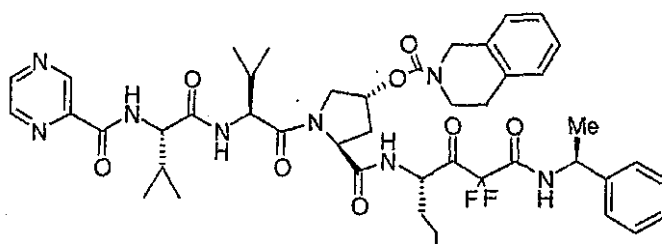


20 y

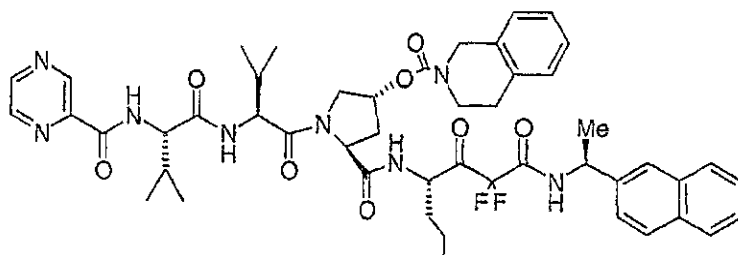
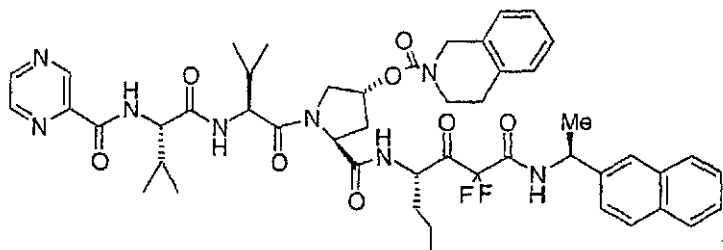


Ejemplo 32 - Compuestos de Comparación DK-DN

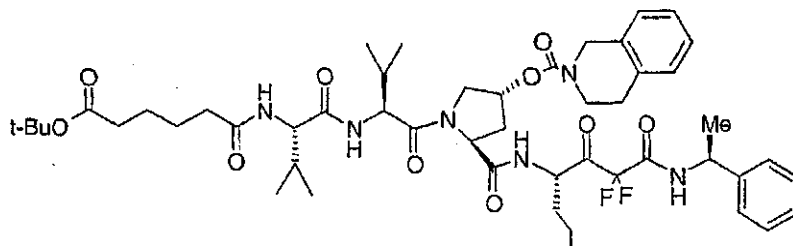
- 5 Una solución en DCM del compuesto clx (108 mg, 0,123 mmol) se trató con reactivo DMP (78 mg, 0,185 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (50 ml) y después se inactivó con Na₂SO₃ al 10 %. Después de agitar durante 30 minutos, la fase orgánica se separó y se lavó con NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80 %/hexanos) para producir el compuesto DK (84 mg, 78 %).



- 10 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos DL-DN.

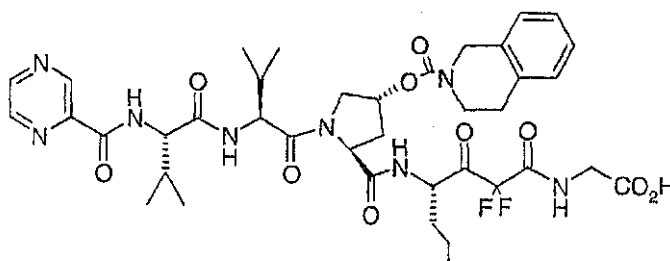


y

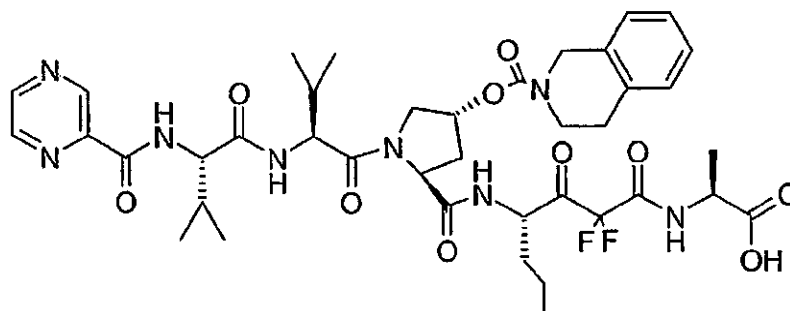


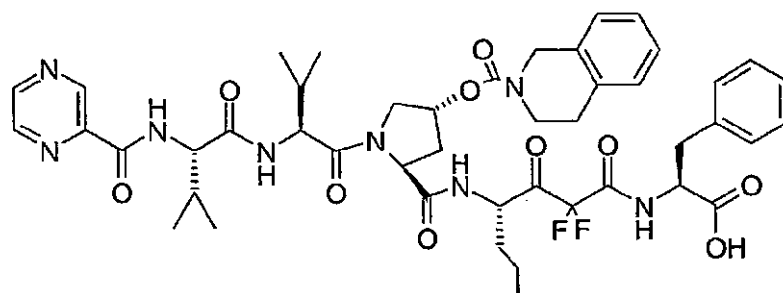
Ejemplo 33 - compuestos DR-DS y compuestos de comparación DO - DQ

5 Una solución en EtOH (10 ml) del compuesto cxii (174 mg, 0,189 mmol) se hidrogenó usando Pd/C (30 % equiv., 60 mg, contenido de paladio 10 %) durante 2,5 horas. Después, el catalizador se retiró por filtración. El filtrado resultante se concentró al vacío para producir un residuo que se purificó por cromatografía semipreparativa de fase inversa y se liofilizó para proporcionar el compuesto DO con un rendimiento del 70 %.

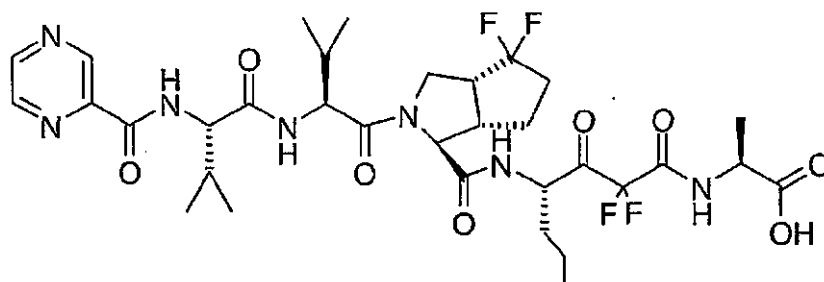


10 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos DP-DS.



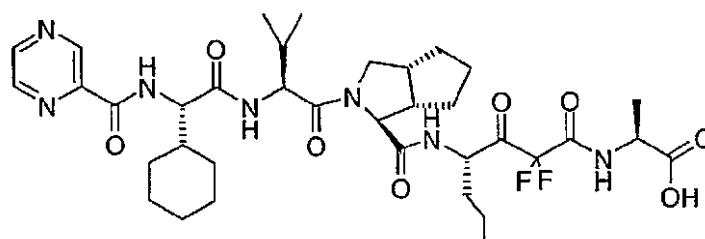


;



;

y

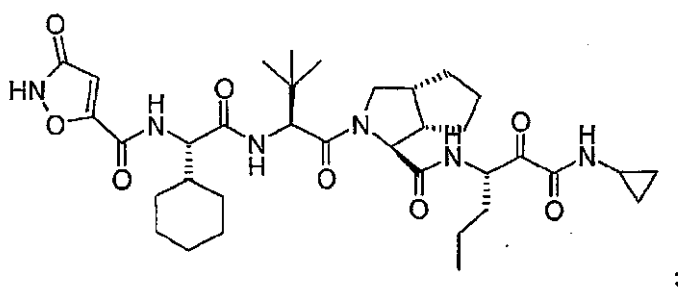
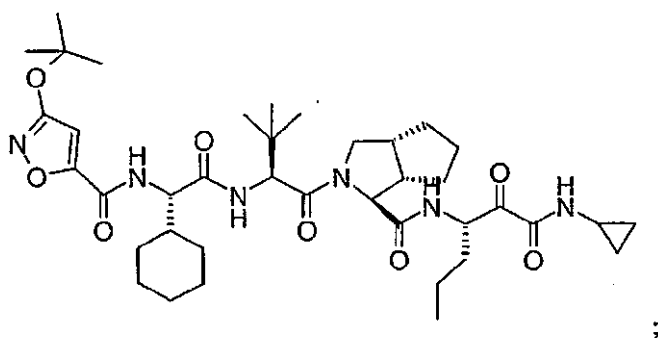
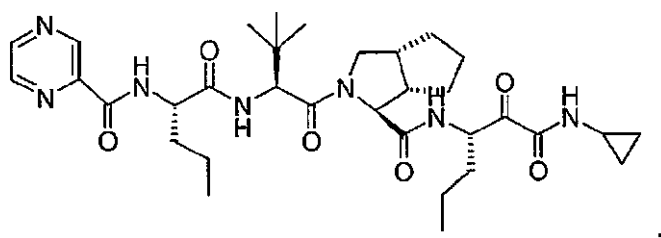
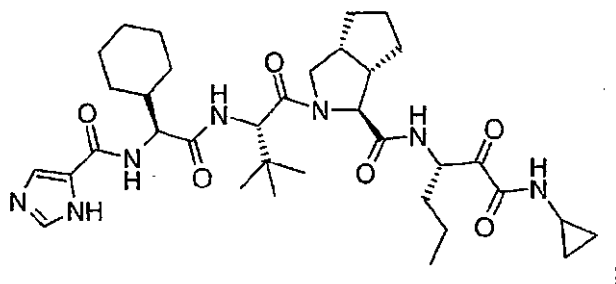
**Ejemplo 34 - Compuesto CW:**

- 5 El compuesto clxiii (175 mg, 0,24 mmol) se recogió en DCM (3 ml). Se añadió reactivo DMP (120 mg, 0,28 mmol) a esta solución y se agitó durante 1 hora. La reacción se inactivó con Na_2SO_3 al 10 % y se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. La purificación con EtOAc al 70 % produjo el compuesto CW (134 mg, 75 %).

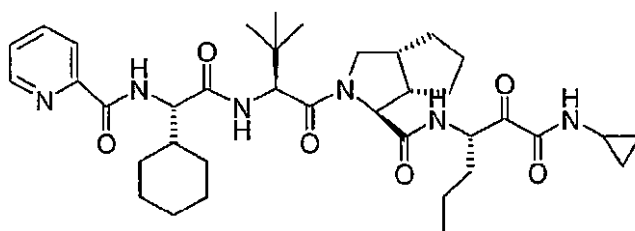
Ejemplo 35 - Compuestos CY y DT-DX:

- 10 A una solución en DCM (15 ml) del compuesto clxxii (290 mg, 0,43 mmol) se le añadió reactivo DMP (239 mg, 0,56 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se detuvo con Na_2SO_3 al 10 % durante 20 minutos. Después, la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 8-100 %/Hexanos) para proporcionar el compuesto CY (151 mg, 52 %).

- 15 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos DT-DX.



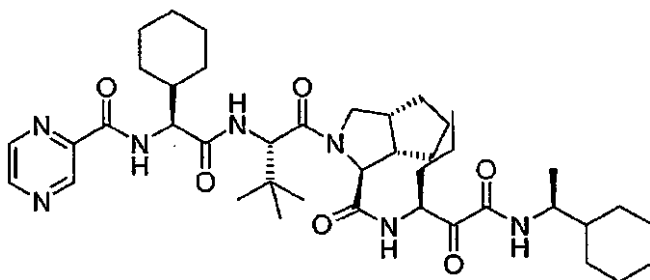
y

**Ejemplo 36 - Compuestos DY:**

- 5 El compuesto lxxxv (1,17 mmol) se recogió en DCM (5 ml). Se añadió reactivo DMP (545 mg, 1,3 mmol) a esta solución y se agitó durante 1 hora. La reacción se detuvo con P-Na₂SO₃ (resina 1,5 mmol/g) y se agitó durante una hora. Se añadió resina* eliminadora de P-TBD (resina 2,5 mmol/g) y se agitó durante 45 minutos. La mezcla resultante se filtró

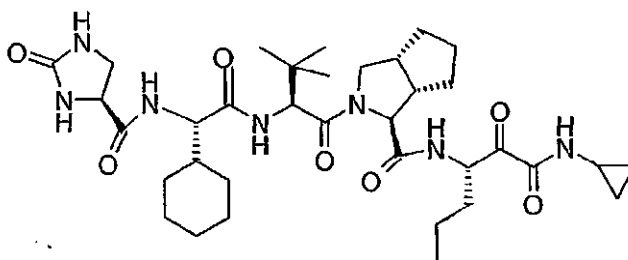
y se purificó con **EtOAc al 50 %** para dar el compuesto DY (440 mg, 50,2 % en dos etapas).

*Referencia para resina eliminadora de P-TBD: J. Parlow y col. Tetrahedron, 55, 6785-6796 (1999),



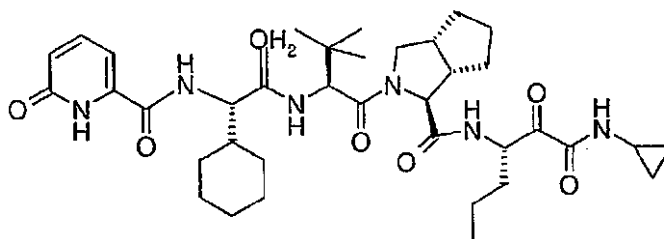
Ejemplo 37 - Compuesto DZ:

- 5 El material de partida, compuesto clxxxxi, (94 mg, 0,14 mmol) se disolvió en una mezcla de THF (10 ml) y DCM (20 ml). Después, se añadió, el reactivo DMP (118 mg, 0,28 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la reacción se volcó en un embudo de separación que contenía Dri Solv THF (120 ml). La reacción se lavó con Na₂SO₃ al 10 % (50 ml) y después con salmuera (75 ml). Después, la fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a presión reducida. Después de cromatografía (gel de sílice: elusión con Dri Solv THF al 50 %/EtOAc y después MeOH al 4 %/THF). Las fracciones se comprobaron por análisis EM. Las fracciones adecuadas se liofilizan para producir el compuesto DZ (38,8 mg, 41 %).
- 10

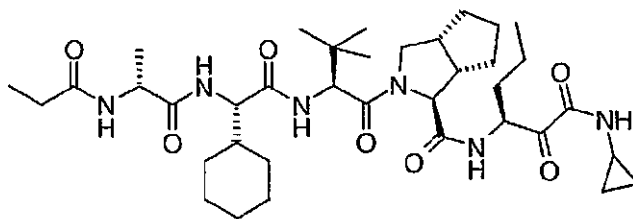


Ejemplo 38 - Compuestos EA-EB:

- 15 El compuesto de partida clxxxxv (185 mg, 0,26 mmol) se disolvió en THF (20 ml). Después, se añadió el reactivo DMP (219 mg, 0,52 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, el análisis TLC mostró conversión completa en cetona (MeOH al 5 %/THF). La reacción se volcó en un embudo de separación que contenía Dri Solv THF (120 ml). La reacción se lavó con Na₂SO₃ al 10 % (50 ml) y después con salmuera (75 ml). Después, la fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a presión reducida para producir un residuo que se purificó por cromatografía (gel de sílice: elusión con Dri Solv THF al 50 %/EtOAc y después MeOH al 4 %/THF) y las fracciones se comprobaron por UV y EM. Las fracciones adecuadas se liofilizaron para producir el compuesto EA (159 mg, 88 %).
- 20

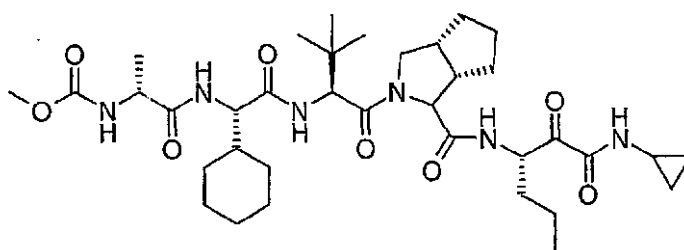


Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente compuesto EB:

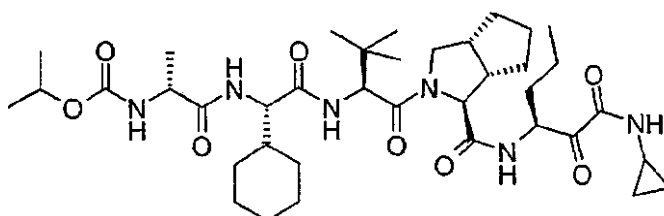
**Ejemplo 39 - Compuestos EC-ED:**

5 A una solución del compuesto clxxxviii (0,341 g, 0,503 mmol) en DCM (15 ml) enfiada en un baño de hielo se le añadió reactivo DMP (0,277 g, 0,654 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se inactivó con una solución al Na_2SO_3 10 % y se agitó durante 20 minutos.

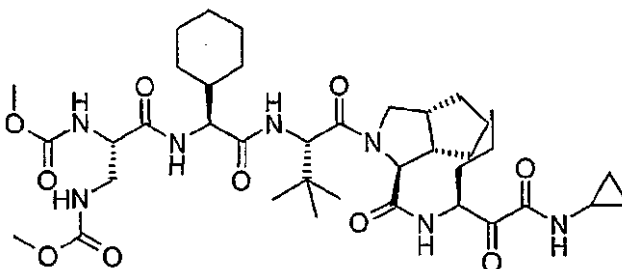
La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 20 ml) y el extracto orgánico se secó (MgSO_4). Después de filtración para retirar MgSO_4 , el filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 70 %/hexano) para dar el compuesto EC (0,183 g, 54 %) en forma de un sólido de color blanco.



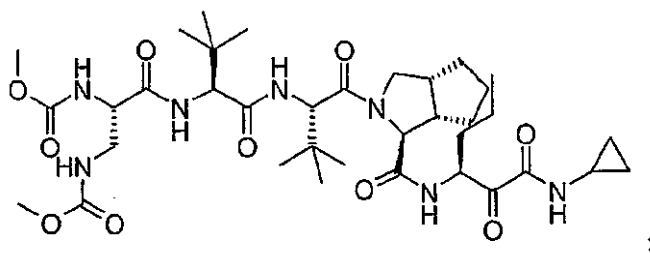
10 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se preparó el siguiente compuesto ED:

**Ejemplo 40 - Compuestos EE-EG:**

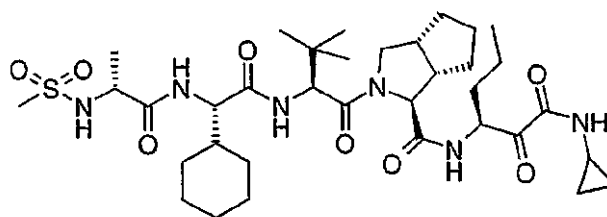
15 El compuesto ccii (290 mg, 0,37 mmol) se recogió en DCM (5 ml). Se añadió reactivo DMP (175 mg, 0,41 mmol) a esta solución y se agitó durante 1 hora. La reacción se detuvo con P- Na_2SO_3 (resina 1,5 mmol/g) y se agitó durante 1 hora. El reactivo de DMP inactivado se eliminó con P-TBD (resina 2,5 mmol/g) y se agitó durante 1 hour. La mezcla resultante se filtró, se enjuagó con DCM, antes de concentrarse para dar un residuo. El residuo resultante se purificó con EtOAc al 50 %/Hex para producir el compuesto EE (440 mg, 28 %).



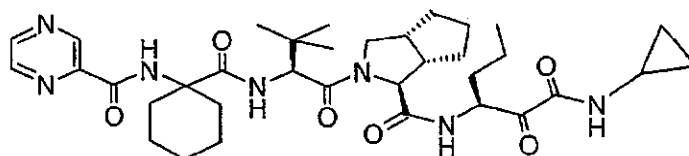
20 Siguiendo el procedimiento anterior para la preparación del compuesto anterior y procedimientos relacionados para preparar el intermedio del mismo, pero usando los materiales de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos EF-EG:



y

**Ejemplo 41 - Compuesto EH:**

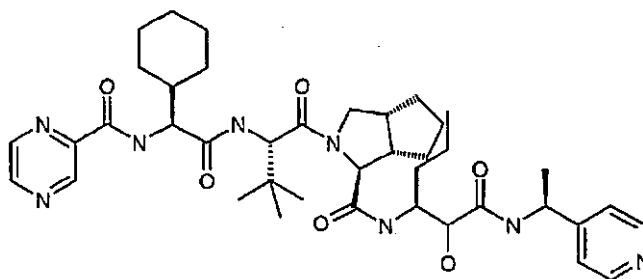
- 5 A una solución en DCM (3 ml) del compuesto cciii (140 mg, 0,2 mmol) se le añadió reactivo DMP (133 mg, 0,3 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se detuvo con Na_2SO_3 (ac.) al 10 % durante 20 minutos. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con MgSO_4 , se concentró a un aceite de color amarillo que se purificó con gel de sílice (EtOAc al 70 %/hexano) y después se liofilizó para producir el compuesto EH (50 mg, 38 %).



10

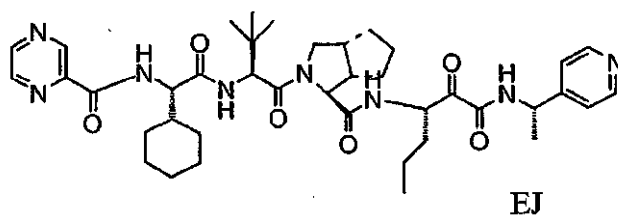
Ejemplo 42 - Compuesto EJ

- 15 El compuesto ixixiii (520 mg, 1 mmol) se recogió en DCM (5 ml). Se añadió PyBOP (624 mg, 1,2 mmol) a la solución anterior y se agitó durante 5 minutos. El compuesto cdviii (300 mg, 1,2 mmol) en THF (5 ml) se añadió gota a gota a esta solución, seguido de DIPEA (0,22 ml, 1,2 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche en una atmósfera de nitrógeno. En ese momento, la reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. La fase orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar el intermedio acoplado en bruto cdix.



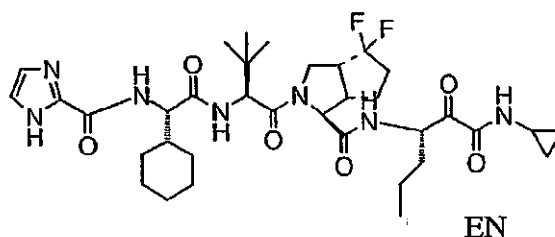
cdix

- 20 Este intermedio cdix (~1 mmol) se recogió en DCM (10 ml). Se añadió peryodinano de Dess-Martin (466 mg, 1,1 mmol) a esta solución. Tras agitar durante 1 h a temperatura ambiente, la reacción se detuvo con un Na_2SO_3 enlazado a polímero (740 mg, 1,5 mmol, resina DMP/ g) y se agitó durante 45 minutos. Después, la mezcla de reacción se eliminó con resina TBD enlazada a polímero (440 mg, 2,5 mmol, resina DMP/ g). La mezcla resultante se agitó durante 45 minutos y después se filtró. La purificación se consiguió en EtOH al 5 %/EtOAc para producir el compuesto EJ (245 mg, 32 % en 2 etapas). Puede encontrarse bibliografía de referencia para el procedimiento de tratamiento en Tetrahedron
- 25 55 (1999) 6785-6796.



Ejemplo 43 - Compuesto EN

- 5 El compuesto intermedio cdvii (415 mg, 0,59 mmol) se recogió en DCM (10 ml) y se añadió THF (10 ml). Se añadió *t*-BuOH (300 ul), siguió de peryodinato de Dess-Martin (750 mg, 1,77 mmol). La reacción se agitó durante 50 minutos y después se detuvo con P-Na₂SO₃ (1,5 mmol DMP / g de resina). Tras agitar durante 20 minutos a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se eliminó con P-TBD (2,5 mmol DMP/ g de resina). Después de agitar durante 1 hora, la mezcla resultante se filtró y se concentró. El producto se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc del 50 % al 70 %/Hexanos) para producir el compuesto EN (220 mg, 53 %).



- 10 Se obtuvieron espectros de masas [M] para los siguientes compuestos como se muestra en la Tabla 1 a continuación.

TABLA 1

LY N° Ejemplo	Masa encontrada
A	733,3
B	747,2
C	657,2
D	769,4
E	733,4
F	625,4
G	639,3
H	661,4
I	643,4
J	707,3
K	641,3
L	689,3
M	639,3
N	639,4
O	731,4
P	687,4
Q	653,4

ES 2 489 115 T3

(continuación)

LY N° Ejemplo	Masa encontrada
R	701,4
S	639,3
T	747,1
U	655,4
V	653,4
D	703,4
X	661,3
S	647,3
Z	663,3
AA	667,4
AB	711,4
AC	725,4
AD	647,3
AE	779,4
AF	689,3
AG	671,4
AK	806,4
AH	687,5
AI	735,4
AJ	736,5
AM	870,4
AN	813,3
AP	724,4
AQ	653,4
AR	628,2
AW	642,2
AX	614,2
AY	628,3
BD	570,3
BE	520,2
BF	534,3
BG	584,3
BU	890,3

ES 2 489 115 T3

(continuación)

LY N° Ejemplo	Masa encontrada
BV	685,4
BW	679,3
BX	695,3
BY	697,3
BZ	787,4
CA	701,3
CB	669,4
CC	733,5
CD	643,3
CE	653,5
CH	749,4
CI	653,3
CJ	717,5
CK	683,4
CL	669,3
CM	675,2
CN	717,2
CO	653,3
CP	683,3
CQ	669,3
CR	675,2
CT	661,8
CS	639,3
CU	679,2
CV	709,3
CW	743,3
CX	695,3
CY	665,2
CZ	681,3
DA	695,3
DB	701,2
DC	673,3
DD	693,3

ES 2 489 115 T3

(continuación)

LY N° Ejemplo	Masa encontrada
DE	757,4
DF	682,3
DG	676,3
DH	676,2
DI	692,5
DJ	605,2
DK	874,4
DL	924,5
DM	924,2
DN	952,7
DO	830
DP	842,5
DT	667,4
DU	639,2
DV	740,3
DW	684,2
DX	678,5
DY	749,3
DZ	685,3
EA	649,3
EB	700,3
EC	702,3
ED	730,3
EE	775,3
EF	749,3
EG	722,3
EH	665,2
EI	796,4
EJ	744,3
EK	730,5
EL	730,5
EM	757,3
EN	703,5

ES 2 489 115 T3

(continuación)

LY Nº Ejemplo	Masa encontrada
EO	715,5
EP	679,2
EQ	651,3
ER	715,3
ES	668,5
ET	732,5
EU	743,3
EV	683,3
EW	750,4
EX	786,4
EY	744,5
EZ	780,4
FB	693,4
FC	655,3
FD	655,3
FE	774,4
FF	681,5
FG	667,5

Se obtuvieron espectros de masas de alta resolución (HRMS) de los siguientes compuestos como se muestra en la Tabla 2.

TABLA 2

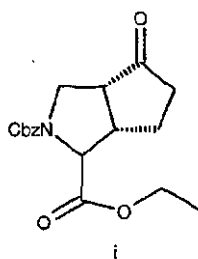
Ejemplo	Fórmula molecular (M+1)	EM calculado (M+1)	Masa encontrada (M+1)
L	C37H52N7O6	690,3979	690,3986
M	C33H50N7O6	640,3822	640,3822
Z	C32H48F2N7O6	664,3634	664,3627
AB	C36H48F2N7O6	712,3634	712,3649
CE	C34H52N7O6	654,3979	654,3967
EN	C35H52N7O6F2	704,3947	704,3945
EK	C37H63N6O8S	751,4428	750,4350 (M)
EC	C36H59N6O8	703,4395	703,4382
CA	C35H50N7O6F	702,3790	702,3801
EZ	C40H55N8O6F	781,4213	781,4196

(continuación)

Ejemplo	Fórmula molecular (M+1)	EM calculado (M+1)	Masa encontrada (M+1)
EU	C36H52N7O6F2	716,3947	716,3929
CY	C35H52N7O6	666,3979	666,3966
BX	C37H58N7O6	696,4448	696,4432
S	C33H50N7O6	640,3823	640,3831
BW	C36H54N7O6	680,4136	680,4126
CU	C36H54N7O6	680,4136	680,4128
EJ	C40H57N8O6	745,4401	745,4417
EM	C35H54N7O6	668,4136	668,4139
Ninguno	C41H58N7O6	744,4448	744,4691

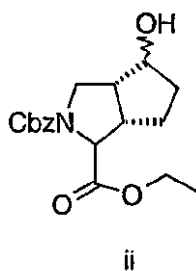
Ejemplo intermedio 1 - Compuesto ii

A una solución en etanol (40 ml) del compuesto i (8,1 g, 24,4 mmol) se le añadió NaBH₄



5

(924 mg, 24,4 mmol) a -10 °C. La reacción se agitó a esa temperatura durante 30 minutos y después se detuvo con AcOH (3 ml). La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (250 ml) y se lavó con NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró para producir un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 50 %/hexanos) para proporcionar 7,85 g (97 %) del compuesto ii,

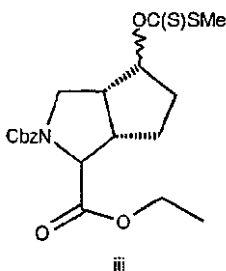


10

Ejemplo Intermedio 2 - Compuesto iii

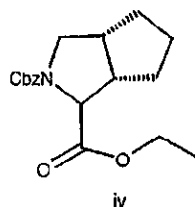
A una solución en THF (40 ml) del compuesto ii (4,48 g, 13,4 mmol) se le añadió, a 0 °C, NaH (699 mg, 60 %, 17,42 mmol). Después de agitar a esa temperatura durante 40 minutos, se añadió MeI puro (1,25 ml, 20,1 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, la reacción se detuvo cuidadosamente con una solución saturada de NH₄Cl a 0 °C. La mezcla de reacción se extrajo con Et₂O y EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, salmuera y se secó con Na₂SO₄. La fase orgánica así obtenida se concentró al vacío para proporcionar el compuesto de xantato iii,

15



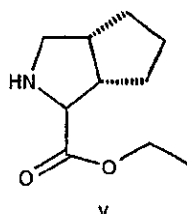
Ejemplo Intermedio 3 - Compuesto iv

- 5 El compuesto de xantato iii (~13,4 mmol) se disolvió en tolueno (100 ml). A esta solución se le añadió AIBN (216 mg, 1,34 mmol). La solución resultante se degasificó con nitrógeno seco y después se trató con *n*-Bu₃SnH (5,4 ml, 20,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 3 horas. En ese momento, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 15-20 %/Hexanos) para proporcionar 2,8 g (66 % total del compuesto ii) del compuesto iv,



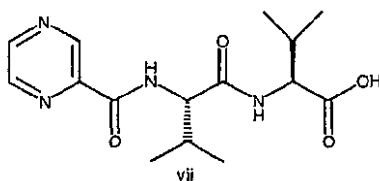
Ejemplo Intermedio 4 - Compuesto v

- 10 A una solución en etanol (24 ml) del compuesto iv (1 g, 3,15 mmol) se le añadió Pd(OH)₂/C (655 mg, 20 %, 0,95 mmol) en una corriente de nitrógeno. La mezcla resultante se sometió a hidrogenación convencional (1,5 atm). Después de 5 horas, la fuente de hidrógeno se retiró y la reacción se filtró. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto de amina libre v,

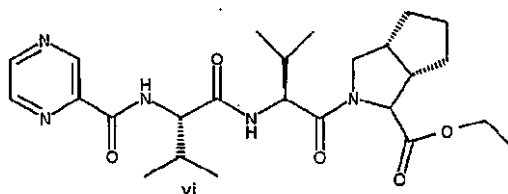


15 Ejemplo Intermedio 5 - Compuesto vi

A una solución en DCM (10 ml) del compuesto vii (629 mg, 1,95 mmol) se le añadió a aproximadamente

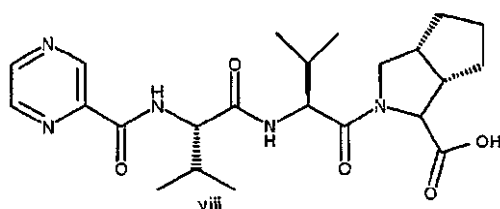


- 20 temperatura ambiente HOAt (265 mg, 1,95 mmol) y se siguió de una solución 1 M de DCC en DCM (1,95 ml, 1,95 mmol). Después de agitar durante 30 minutos, se añadió una solución en DCM (3 ml) del compuesto v (1,5 mmol) al ácido activado con HOAt anterior. La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, la reacción se filtró a través de Celite. El filtrado se diluyó con EtOAc (75 ml) y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 70-80 %/Hexanos) para proporcionar 620 mg (85 %) del compuesto vi,



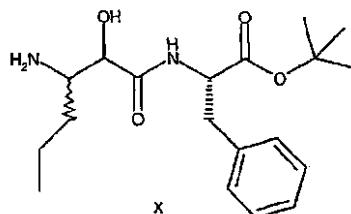
Ejemplo Intermedio 6 - Compuesto viii

- 5 A una solución en etanol (10 ml) del compuesto vi (615 mg, 1,26 mmol) se le añadió una solución acuosa 2 N de NaOH (1,26 ml, 2,52 mmol). La reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente y después se acidificó a pH 3 usando resinas ácidas de Dowex. Los sólidos se retiraron por filtración y los filtrados se concentraron al vacío para dar un residuo que se redisolvió en 1:1 de CH₃CN/H₂O. Esta solución se sometió a liofilización para proporcionar 495 mg (85 %) del compuesto viii,

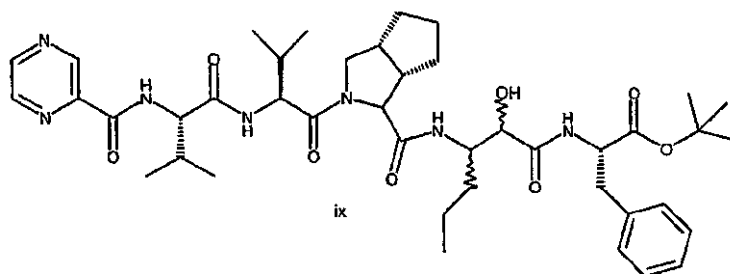


Ejemplo Intermedio 7 - Compuesto ix

- 10 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto viii (230 mg, 0,5 mmol) se le añadió PyBop (417 mg, 0,8 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió una solución en THF (5,25 ml) del compuesto x (263 mg, 0,75 mmol) y se siguió de

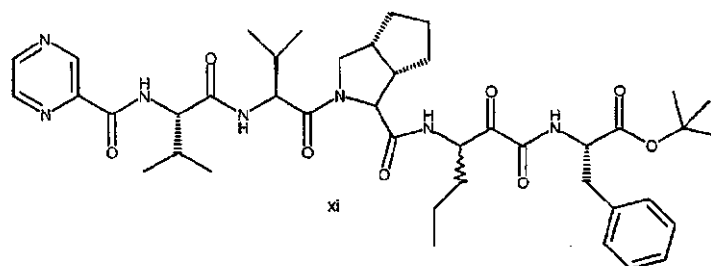


- 15 DIPEA (0,174 ml, 1 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (30 ml) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó y concentró al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) para proporcionar ~400 mg (100 %) del compuesto ix,



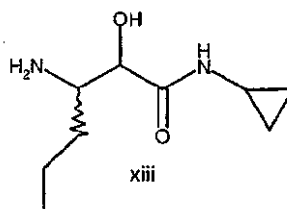
Ejemplo Intermedio 8 - Compuesto xi

- 20 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto ix (396 mg, 0,5 mmol) se le añadió reactivo DMP (278 mg, 0,65 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 1 hora y después se detuvo con Na₂SO₃ al 10 % durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (75 ml) y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 70 %/Hexanos) para proporcionar 320 mg (81 %) del compuesto xi,

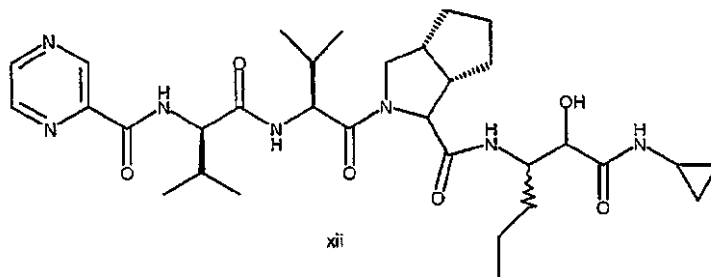


Ejemplo Intermedio 9 - Compuesto xii

5 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto viii (230 mg, 0,5 mmol) se le añadió PyBop (417 mg, 0,8 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió una solución en THF (3,5 ml) del compuesto xiii (140 mg, 0,75 mmol) y

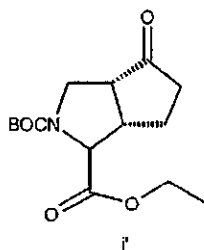


10 se siguió de DIPEA (0,174 ml, 1 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (30 ml) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (75 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó y concentró al vacío para proporcionar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) para proporcionar el compuesto xii con rendimiento cuantitativo,



Ejemplo Intermedio 10 - Compuesto i'

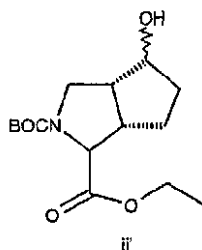
15 A una solución en metanol (30 ml) del compuesto i (5 g, 15,1 mmol) se le añadió (BOC)₂O (3,3 g, 15,1 mmol) y H₂/Pd(OH)₂/C (1,6 g, contenido de 10 % de Pd). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y después se filtró dos veces a través de Celite. El lecho de Celite se enjuagó con DCM. Los filtrados combinados se concentraron al vacío para producir un residuo oleoso que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 40 %/hexanos) para dar 3,8 g (85 %) del compuesto i',



Ejemplo intermedio 11 - Compuesto ii

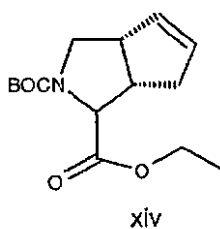
20 A una solución en metanol (111 ml) del compuesto i' (3,7 g, 12,5 mmol) se le añadió, a 0 °C, NaBH₄ (0,805 g, 21 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 2,5 horas, el disolvente de reacción se evaporó lentamente al vacío para producir un

residuo que se diluyó con EtOAc. Después, la solución se lavó dos veces con agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con $MgSO_4$ y se filtraron y concentraron al vacío para producir un residuo que se purificó con cromatografía para proporcionar 3,76 g (99 %) del compuesto ii',



5 Ejemplo Intermedio 12 - Compuesto xiv

A una solución en DCM (180 ml) del compuesto ii' (3,76 g, 12,3 mmol) se le añadió, a 0 °C, DMAP (5 g, 40,1 mmol) y después se siguió de Tf_2O (4 ml, 23,7 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 1 h y a aproximadamente temperatura ambiente durante 1,5 horas más. Después, la mezcla de reacción se lavó dos veces con $NaHCO_3$ al 5 % y se secó con $MgSO_4$. La fase orgánica así obtenida se concentró al vacío para proporcionar el triflato en bruto. El triflato resultante (2,7 g, 6 mmol) se disolvió en DCM (120 ml). A esta solución se le añadió DMAP (2,5 g, 20,5 mmol). La mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo durante una noche. En ese momento, la mezcla de reacción se concentró a temperatura ambiente y se lavó dos veces con $NaHCO_3$ al 5 %. La mezcla de reacción se secó con $MgSO_4$, se filtró y se concentró al vacío para producir un residuo oleoso de color parduzco que se purificó (MeOH al 1 %/DCM) para dar 500 mg (30 %) del compuesto xiv,

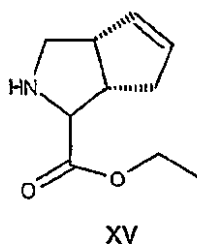


15

Ejemplo Intermedio 13 - Compuesto xv

El compuesto xiv (500 mg, 1,8 mmol) se disolvió en HCl 4 N en dioxano (6,75 ml). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante ~4 horas. En ese momento, el disolvente se retiró al vacío. El residuo resultante se trituyó dos veces con éter dietílico para dar con un rendimiento prácticamente cuantitativo la sal HCl del compuesto xv,

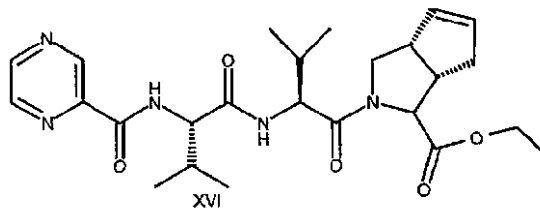
20



Ejemplo Intermedio 14 - Compuesto xvi

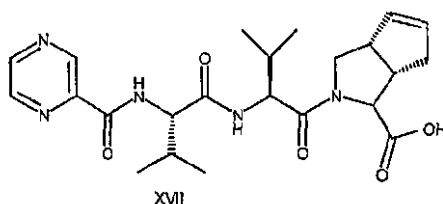
A una solución en THF (7 ml) del compuesto vii (579 mg, 1,8 mmol) se le añadió HOAt (245 mg, 1,8 mmol) y DCC (1,8 ml, 1 M en DCM). Se formó una suspensión. Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 15 minutos, se añadió una solución de THF (6 ml) del compuesto xv (1,8 mmol) y DIPEA (0,63 ml, 3,6 mmol) a la suspensión anterior. Se añadió más cantidad de DIPEA (0,8 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente. En ese momento, los sólidos de color blanco así formados se retiraron por filtración. Los sólidos de color blanco se enjuagaron con THF. Los filtrados combinados y los lavados se concentraron al vacío para dar el producto en bruto que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 100 %) para proporcionar 665 mg (76 %) del compuesto xvi,

30



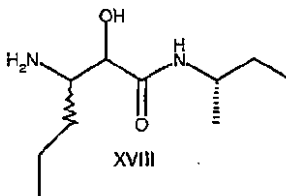
Ejemplo Intermedio 15 - Compuesto xvii

5 A una solución en etanol (8 ml) de 7 (665 mg, 1,37 mmol) se le añadió NaOH acuoso 1 N (2,4 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente y después se acidificó a pH 3 usando resinas ácidas de Dowex. Los sólidos se filtraron. Los filtrados resultantes se concentraron al vacío para dar un residuo de color amarillo pálido que se redisolvió en 1:1 de CH₃CN/H₂O y se liofilizó para dar 467 mg (74 %) del compuesto xvii,

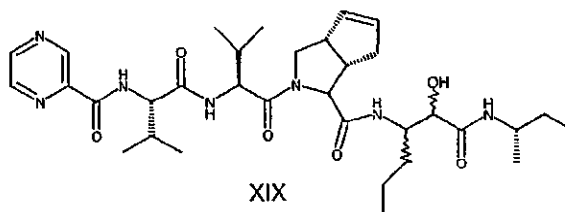


Ejemplo Intermedio 16 - Compuesto xix

10 Una solución en DCM (4 ml) del compuesto xvii (100 mg, 0,22 mmol) se trató con PyBop (207 mg, 0,4 mmol) a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos. En ese momento, la solución anterior se trató con una solución en THF (2,6 ml) del compuesto xviii (65 mg, 0,32 mmol), seguido de DIPEA

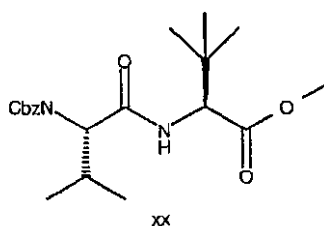


15 (0,076 ml). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 7 horas, la reacción se detuvo con agua. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (60 ml), La fase orgánica se separó y se lavó dos veces con salmuera y se secó con MgSO₄. Después de filtración, concentración y cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc), se obtuvieron 148 mg (~100 %) del compuesto xix.



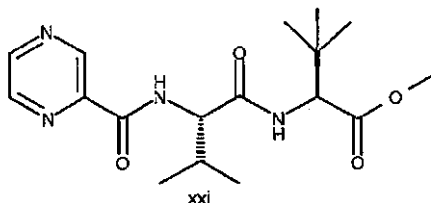
Ejemplo Intermedio 17 - Compuesto xx

20 A una solución en THF (100 ml) de N-Cbz-L-valina (14,4 g, 57,2 mmol) se le añadió HOBt (7,72 g, 57,2 mmol) y EDCI (10,98 g, 57,2 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos, se añadió una solución en THF (50 ml) que contenía metil éster clohidrato de *terc*-L-Leucina (10,4 g, 57,2 mmol) y se añadió DIPEA (11,9 ml, 68,7 mmol) a la solución anterior. La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. Después de tratamiento acuoso convencional y cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 30 %/Hexanos) se obtuvieron 14 g (64 %) del compuesto xx.



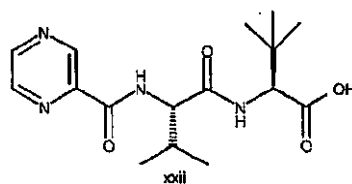
Ejemplo Intermedio 18 - Compuesto xxi

5 A una solución en metanol (80 ml) de xx (6,71 g, 17,7 mmol) se le añadió (en una corriente de N₂) Pd/C (1,88 g, contenido de 10 % de Pd). El recipiente de reacción se sometió a hidrogenación (1 atm de H₂) durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente. En ese momento, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se concentró al vacío para proporcionar la amina libre en bruto correspondiente para la siguiente etapa. Una solución en THF de esta amina (~17,7 mmol) se añadió a una solución en THF (46 ml) y DMF (5 ml) que contenía ácido 2-pirazincarboxílico (2,85 g, 23 mmol), Hobbit (3,12 g, 23 mmol) y EDCI (4,41 g, 23 mmol). Después, a la mezcla resultante se le añadió DIPEA (3,08 g, 17,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente y después se inactivó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera y se concentró para producir un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 40-50 %/hexanos) para proporcionar 3,9 g (63 %) del compuesto xxii,



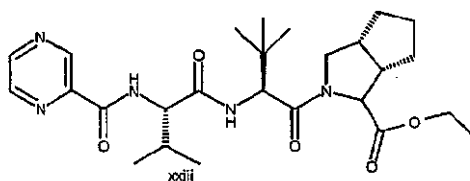
Ejemplo Intermedio 19 - Compuesto xxii

15 A una solución en metanol (40 ml) del compuesto xxi (4,67 g, 13,34 mmol) se le añadió NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas. En ese momento, se añadió una cantidad adicional de NaOH 2 N (3,3 ml, 6,67 mmol) a la mezcla de reacción. Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche, la reacción se acidificó a pH 3 usando una resina ácida. Después, la reacción se filtró y los filtrados se concentraron al vacío para producir un residuo que se disolvió en 1:1 de CH₃CN/H₂O para liofilización. Se obtuvieron 4,15 g (93 %) del compuesto xxii.



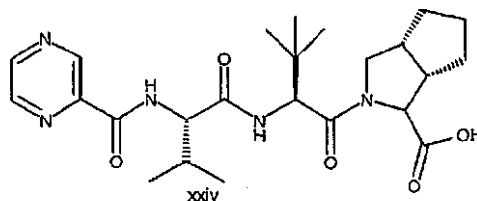
Ejemplo Intermedio 20 - Compuesto xxiii

25 Una solución en DCM (10 ml) del compuesto xxii (917 mg, 2,73 mmol) se trató con HOAt (371 mg, 2,73 mmol) y DCC (2,73 ml, 1 M, 2,73 mmol). Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución en THF (10 ml) del compuesto v (500 mg, 2,73 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche, los sólidos de color blanco (urea) se filtraron. Los filtrados se concentraron al vacío para dar una resina que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 60-70 %/Hexanos) para proporcionar 1,06 g (77 %) del compuesto xxiii,

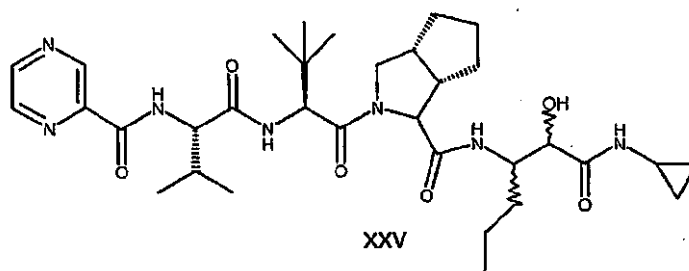


Ejemplo Intermedio 21 - Compuesto xxiv

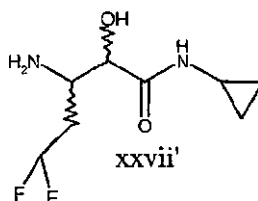
Una solución en etanol (20 ml) del compuesto xxiii (1,06 g, 2,11 mmol) se trató con NaOH 2 N (2,11 ml, 4,23 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche, la mezcla de reacción se acidificó a pH 3 con una resina ácida. Los sólidos se retiraron por filtración. Los filtrados resultantes se concentraron al vacío para dar un residuo que se liofilizó para dar ~1 g (100 %) del compuesto xxiv,

**Ejemplo Intermedio 22 - Compuesto xxv**

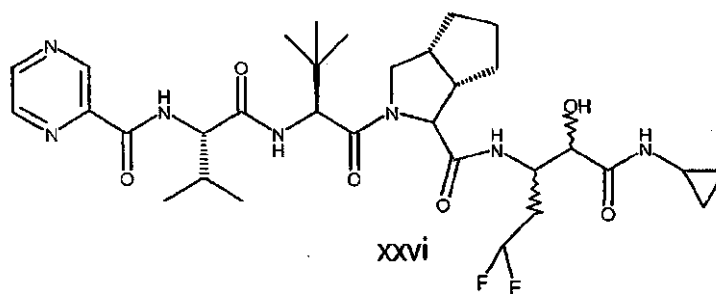
Una solución en DCM (10 ml) del compuesto xxiv (236,7 mg, 0,5 mmol) se trató con PyBop (417 mg, 0,8 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución en DMF (5,6 ml) del compuesto xiii (139,5 mg, 0,75 mmol), se siguió de DIPEA (0,174 ml, 1 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 8 horas, la reacción se detuvo con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó y concentró al vacío para dar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) para proporcionar ~320 mg (100 %) del compuesto xxv,

**Ejemplo Intermedio 23 - Compuesto xxvi**

Una solución en DCM (15 ml) del compuesto xxv (355 mg, 0,75 mmol) se trató con PyBop (622 mg, 1,2 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución en THF (10 ml) del compuesto xxvii' (156 mg, 0,75



mmol), seguido de DIPEA (0,26 ml, 1,5 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche, la reacción se detuvo con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó y concentró al vacío para dar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 2 %/EtOAc) para proporcionar ~400 mg (80 %) del compuesto xxxvi,



Ejemplo Intermedio 24 - 5-Cianopentanoato de metilo

5 Se disolvió cianuro potásico (4 g, 61,44 mmol) en 70 ml de agua y 200 ml de metanol. A la solución se le añadieron 10 g (51,2 mmol) de 5-bromopentanoato de metilo y la mezcla se sometió a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a sequedad. Al residuo se le añadieron 100 ml de EtOAc para extraer el producto. La fase orgánica se lavó tres veces con agua, se secó y se concentró para producir 5,37 g (74 %) de 5-cianopentanoato de metilo en forma de un aceite.

Ejemplo Intermedio 25 - 5-tetrazol-5-ilpentanoato de metilo

10 Se disolvió 5-cianopentanoato de metilo (4,8 g, 34 mmol) en tolueno, cloruro de trietilamonio (14 g, 102 mmol) y se añadió azida sódica (6,63, 102 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadió agua (3 x 100 ml) para extraer 5-tetrazol-5-ilpentanoato de metilo de la fase orgánica. A la fase acuosa se le añadió HCl concentrado para ajustar el pH a 2. El producto se extrajo de la solución acuosa con EtOAc (3 x 50 ml). La fase orgánica se combinó, se secó y se concentró para producir 4,25 g (68 %) de 5-tetrazol-5-ilpentanoato de metilo.

15 Ejemplo Intermedio 26 - 5-[N-(1,1-dimetilbencil)tetrazol-5-il]pentanoato de metilo

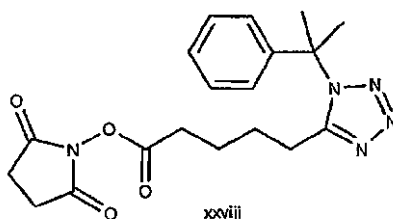
20 Se disolvieron 5-tetrazol-5-ilpentoato de metilo (4,23 g, 23 mmol) y ácido clorhídrico (8,69 g, 53 mmol) en 50 ml de CHCl_3 . Se añadió gota a gota α -metilestireno (2,72, 23 mmol) a la solución y la mezcla de reacción se dejó en agitación a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc a 250 ml y la fase orgánica se lavó con KOH acuoso al 10 % y salmuera. La fase orgánica se secó, se concentró. El producto se purificó por cromatografía ultrarrápida para producir 6,6 g (95 %) de 5-[N-(1,1-dimetilbencil)tetrazol-5-il]pentanoato de metilo.

Ejemplo Intermedio 27 - ácido 5-[N-(1,1-dimetilbencil)tetrazol-5-il]pentanoico

25 Se disolvió 5-[N-(1,1-dimetilbencil)tetrazol-5-il]pentanoato de metilo (6,6 g, 21,8 mmol) en metanol (100 ml) y se añadieron 23 ml de NaOH acuoso 1 N. La mezcla se agitó durante una noche y se concentró para retirar metanol. El residuo se disolvió en agua (100 ml) y la solución se neutralizó añadiendo el mismo equivalente de HCl acuoso 1 N. El producto se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). El extracto orgánico se secó y se concentró para producir 4,75 g (75 %) de ácido 5-[N-(1,1-dimetilbencil)tetrazol-5-il]pentanoico.

Ejemplo Intermedio 28 - Compuesto xxviii

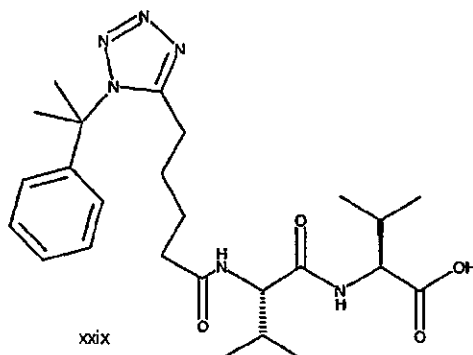
30 Se disolvió ácido 5-[N-(1,1-dimetilbencil)tetrazol-5-il]pentanoico (4,75 g, 16,5 mmol) en DCM (100 ml), se añadieron 4,8 g (24,8 mmol) de EDCI y 6 ml de DIPEA. A la mezcla se le añadió N-hidroxilsuccinimida (3,8 g, 33 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante tres horas a aproximadamente temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con DCM a 200 ml y la solución se lavó tres veces con agua. El extracto orgánico se secó y se concentró para producir 4,79 g (75 %) del compuesto xxviii,



35 Ejemplo Intermedio 29 - Compuesto xxix

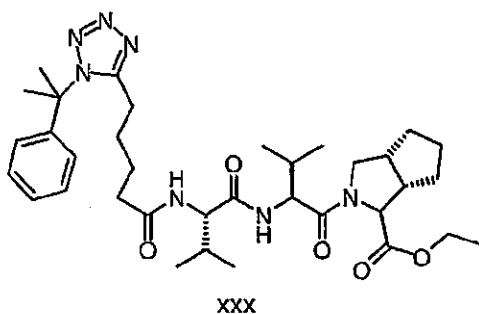
El dipéptido H-Val-Val-OH (3,22 g, 14,9 mmol) se suspendió en 50 ml de N,N-dimetilformamida (DMF) y se añadieron

4,75 g (12,42 mmol) del compuesto xxviii, seguido de la adición de 3,4 ml (18,63 mmol) de diisopropiletilamina (DIPEA). La mezcla se calentó a 40 °C y se agitó durante una noche. El disolvente se evaporó a alto vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con HCl 1 N y salmuera para producir 5,52 g (91 %) del compuesto xxix,



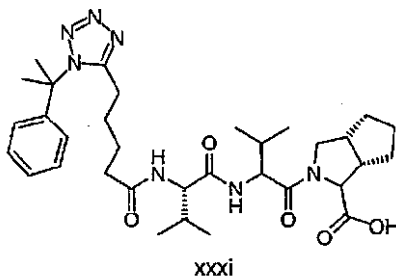
5 Ejemplo Intermedio 30 - Compuesto xxx

Se disolvieron 1,6 g (3,29 mmol) del compuesto xxix en 20 ml de DCM, se añadieron 3,3 ml de una solución 1 M de DCC en THF. A la mezcla, se le añadieron 500 mg (2,73 mmol) del compuesto v. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó con EtOAc a 100 ml y se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ y salmuera. Se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 50 %/hexano) para producir 1,02 g (58 %) del compuesto xxx,



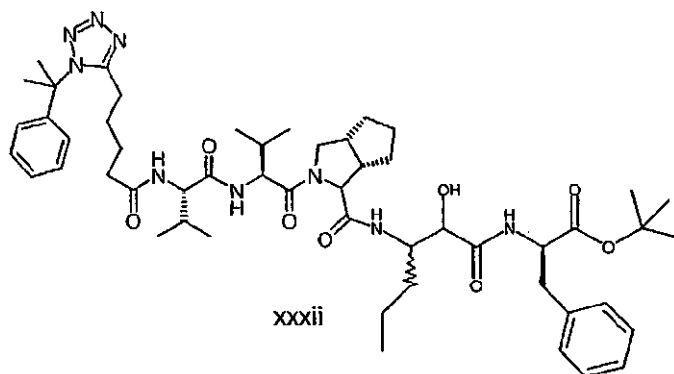
Ejemplo Intermedio 31 - Compuesto xxxi

El compuesto xxx (1,02 g, 1,57 mmol) se disolvió en 10 ml de MeOH y se añadieron 2 ml de NaOH acuoso 1 N. La mezcla se agitó durante una noche. El metanol se retiró por evaporación y el residuo se disolvió en agua y se neutralizó con 2 ml de HCl. Siguiendo extracción con EtOAc, se obtuvieron 1,00 g (~100 %) del compuesto xxxi.



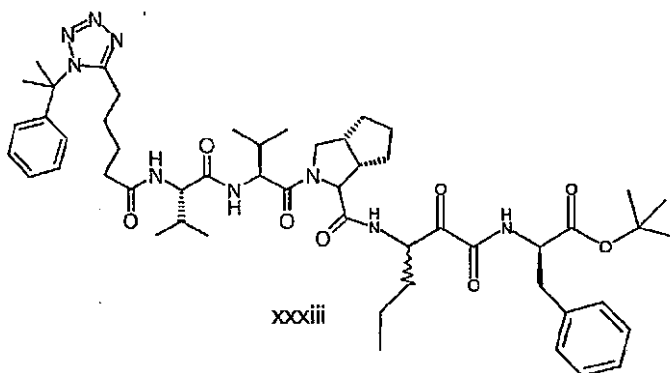
Ejemplo Intermedio 32 - Compuesto xxxii

El compuesto xxxi (300 mg, 0,48 mmol) y PyBop (300 mg, 0,58 mmol) se disolvieron en 10 ml de DCM. Después, se le añadió a la solución el compuesto x (201 mg, 0,58 mmol) y después se añadió DIPEA (104 µl). La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc a 100 ml y se lavó con HCl 1 N, dos veces con NaHCO₃ y tres veces con salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó con cromatografía en columna (EtOAc al 100 %) para proporcionar 450 mg (98 %) del compuesto xxxii,



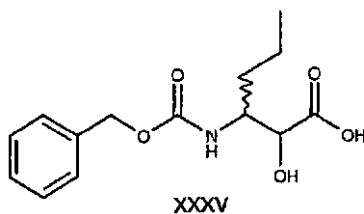
Ejemplo Intermedio 33 - Compuesto xxxiii

5 El compuesto xxxii 360 mg (0,38 mmol) se disolvió en 8 ml de DCM y se añadieron 240 mg (0,57 mmol) de reactivo DMP. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante tres horas. La mezcla se diluyó con EtOAc a 50 ml y se lavó tres veces con salmuera. El producto se purificó con cromatografía en columna (EtOAc al 25 %) para proporcionar 300 mg (83 %) del compuesto xxxiii,

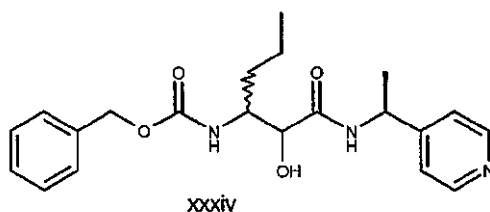


Ejemplo Intermedio 34 - Compuesto xxxiv

A una solución en DCM (10 ml) de xxxv (790 mg, 2,80 mmol) se le añadió PyBop (1,7 g,



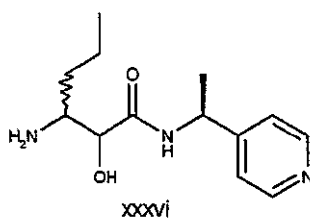
10 3,36 mmol) y Hobbit (450 mg, 3,36 mmol). La solución resultante se enfrió a 0 °C y se trató con una solución en DCM (3 ml) de (s)- α -(4-piridil)etilamina (410 mg, 3,36 mmol). Esto se siguió de la adición de DIPEA (0,5 ml, 3,36 mmol). La reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente. En ese momento, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc. El conjunto se lavó con NaHCO₃ saturado y saturada. La fase orgánica así obtenida se
15 secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) para proporcionar 630 mg (58 %) del compuesto xxxiv,



Nota: se obtiene (s)- α -(4-piridil)etilamina a partir de su sal D-tartrato por lavado con una base (NaOH 1 N) y posterior extracción con EtOAc. La tasa de recuperación fue del 89 %.

Ejemplo Intermedio 35 - Compuesto xxxvi

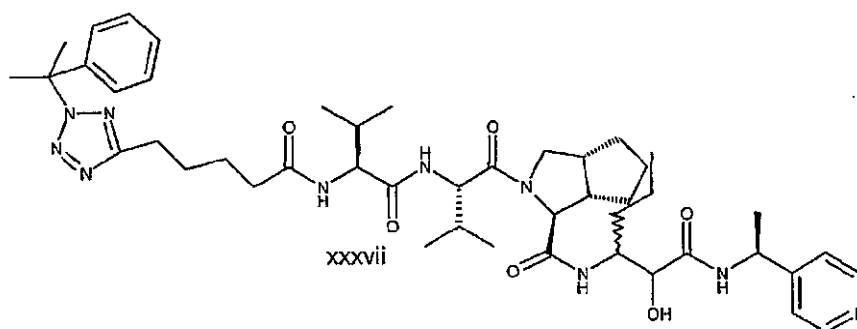
- 5 A una solución en metanol (15 ml) del compuesto xxxiv (630 mg, 1,64 mmol) se le añadió, en una atmósfera de N₂, Pd/C (150 mg, contenido de paladio 10 %). La reacción se concentró en una atmósfera de H₂ durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite® 521. Los filtrados se concentraron al vacío para proporcionar 420 mg (~100 %) del compuesto xxxvi,



10 Ejemplo Intermedio 36 - Compuesto xxxvii

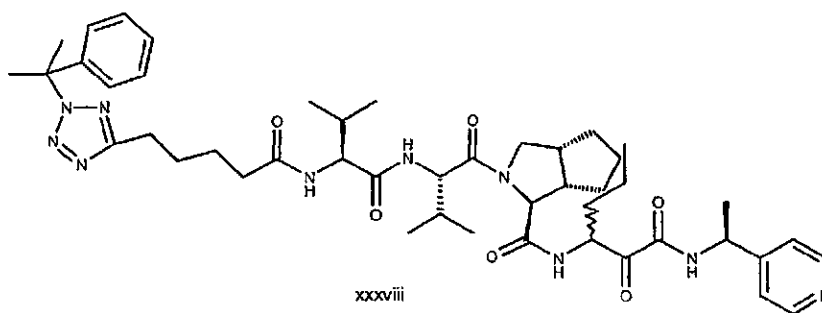
A una solución en DCM (3 ml) del compuesto xxvi (270 mg, 0,43 mmol) se le añadió PyBop (270 mg, 0,52 mmol). Esto se siguió de la adición del compuesto xxxvi (160 mg, 0,64 mmol) y DIPEA (0,09 ml, 0,52 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, la reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl 0,1 N, seguido de NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica resultante se secó y se concentró para dar el compuesto xxxvii (masa total 430 mg) para la siguiente etapa

15



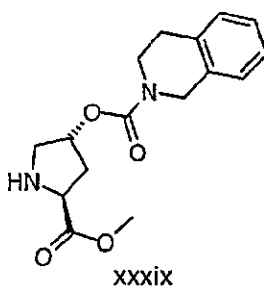
Ejemplo Intermedio 37 - Compuesto xxxviii

- 20 A una solución en DCM (3 ml) del compuesto xxxvii (370 mg, 0,43 mmol) se le añadió reactivo DMP (280 mg, 0,65 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas y después se detuvo con Na₂SO₃ al 10 %. Después de agitar durante 30 minutos, la reacción se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica resultante se secó y se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) para proporcionar 180 mg (49 % para dos etapas) del compuesto xxxviii,

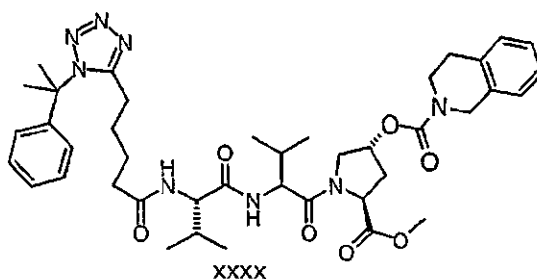


Ejemplo Intermedio 38 - Compuesto xxxx

5 El compuesto xxix (2,5 g, 5 mmol) se disolvió en 40 ml de DCM, se añadieron a la solución 5,1 ml de una solución 1 M de DCC en THF. A la mezcla, se añadieron 1,08 g (3,53 mmol) del compuesto xxxix. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche.

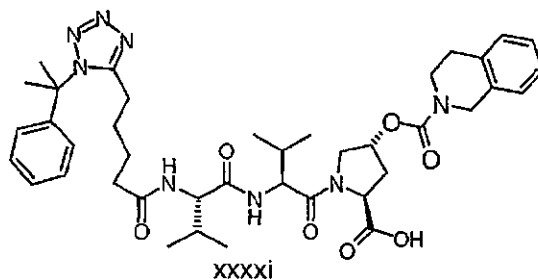


La mezcla se diluyó con EtOAc a 100 ml, se lavó secuencialmente con HCl 1 N, NaHCO₃ y salmuera y después se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 80 %/hexano) para producir 2,59 g (95 %) del compuesto xxxx,



10 Ejemplo Intermedio 39 - Compuesto xxxxi

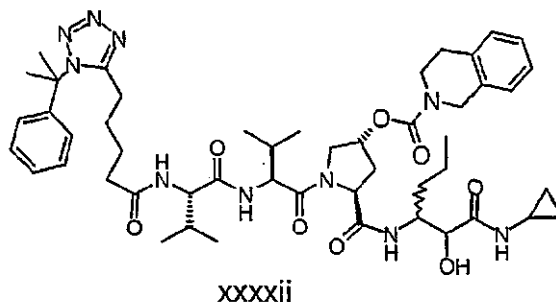
El compuesto xxxx (2,59 g, 3,35 mmol) se disolvió en 20 ml de MeOH y se añadieron 4 ml de NaOH acuoso 1 N. La mezcla se agitó durante una noche y después se evaporó rotatoriamente para dejar un residuo. El residuo se disolvió en agua y se neutralizó con 2 ml de HCl. Después, la solución neutralizada se extrajo con EtOAc para producir 2,49 g (~100 %) del compuesto xxxxi,



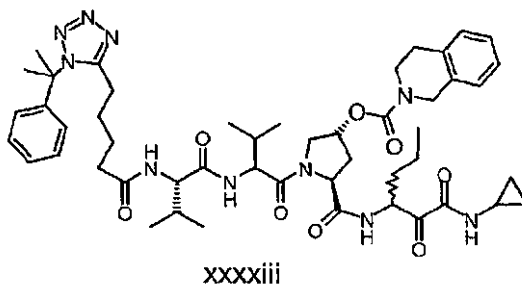
15

Ejemplo Intermedio 40 - Compuesto xxxxii

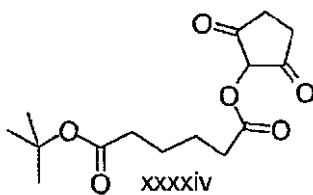
- 5 El compuesto xxxxi (847 mg, 1,16 mmol) y 724 mg (1,39 mmol) de PyBop se disolvieron en 10 ml de DCM. A la solución, se le añadió el compuesto xiii (260 mg, 1,39 mmol) y después se siguió de la adición de DIPEA (209 ml). La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc a 100 ml y se lavó con HCl 1 N, dos veces con NaHCO₃ y tres veces con salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó con cromatografía en columna (EtOAc al 5 %) para proporcionar 930 mg (86 %) del compuesto xxxxii,

**Ejemplo Intermedio 41 - Compuesto xxxxiii**

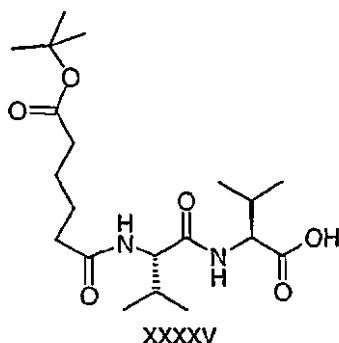
- 10 El compuesto xxxxii (350 mg, 0,38 mmol) se disolvió en 10 ml de DCM y se añadieron 242 mg (0,57 mmol) de reactivo DMP. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante tres horas. La mezcla se diluyó con EtOAc a 50 ml y se lavó tres veces con salmuera. El producto se purificó con cromatografía en columna (EtOAc al 100 %) para proporcionar 180 mg (51 %) del compuesto xxxxiii,

**15 Ejemplo Intermedio 42 - Compuesto xxxxiv**

Se suspendió H-Val-Val-OH (5 g, 23 mmol) en 100 ml de DMF, se añadió el compuesto xxxxiv

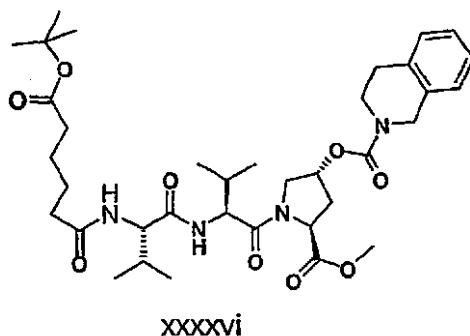


- 20 (8,3 g, 27,6 mmol) y después se añadieron 6,2 ml (35,5 mmol) de DIPEA. La mezcla se agitó a 40 °C durante dos días. El disolvente se retiró a alto vacío y el residuo se disolvió en 100 ml de EtOAc y se lavó tres veces con HCl 1 N y dos veces con salmuera. Se produjeron 9,14 g (99 %) del compuesto xxxv.



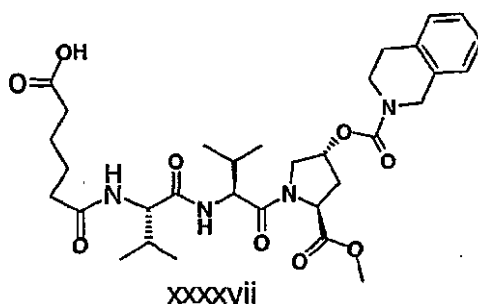
Ejemplo Intermedio 43 - Compuesto xxxxvi

- 5 El compuesto xxxxi (2,8 g, 7 mmol) y 954 mg (7 mmol) de HOAt se disolvieron en 100 ml de DCM. Se añadieron 7 ml de DCC 1 M/DCM. A la mezcla de reacción se le añadió el compuesto xxxix (2,15 g) y la mezcla de reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en EtOAc y se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 100 %) para producir 4,57 g (95 %) del compuesto xxxxvi,



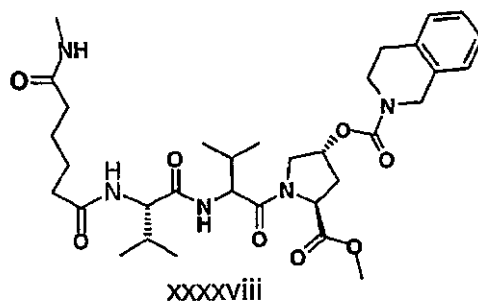
Ejemplo Intermedio 44 - Compuesto xxxxvii

- 10 El compuesto xxxxvi (4,57 g, 6,65 mmol) se disolvió en 10 ml de TFA y 10 ml de DCM. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 4 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en 50:50 de acetonitrilo/agua y se liofilizó para producir el compuesto xxxxvii en forma de un polvo,

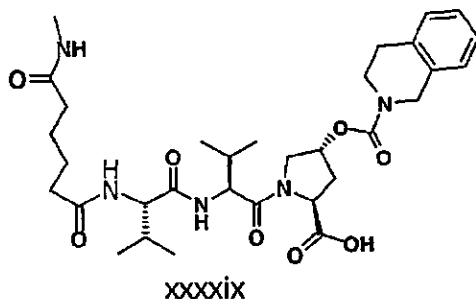


Ejemplo Intermedio 45 - Compuesto xxxxviii

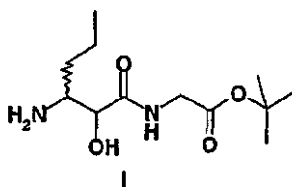
- 15 El compuesto lxxxviii (1 g, 1,59 mmol) y 990 mg (2,28 mmol) de PyBop se disolvieron en 20 ml de DCM y se añadieron 1,6 ml de metilamina 1 M en THF. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó a 100 ml con EtOAc y se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ y salmuera. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (EtOH al 10 %/EtOAc) para producir 1 g (98 %) del compuesto xxxxviii,

**Ejemplo Intermedio 46 - Compuesto xxxxi**

5 El compuesto xxxviii (1 g, 1,55 mmol) se disolvió en 10 ml de MeOH y se añadieron 2 ml de NaOH 1 N. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se retiró por evaporación. El residuo se disolvió en agua, se neutralizó y se extrajo con EtOAc para producir 960 mg (98 %) del compuesto xxxix,

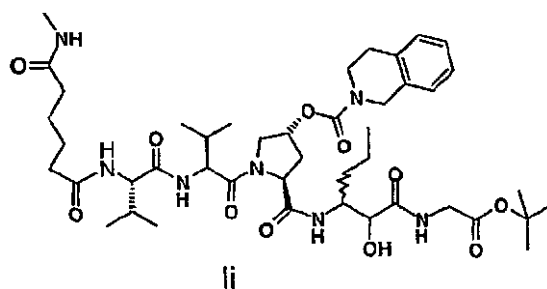
**Ejemplo Intermedio 47 - Compuesto li**

El compuesto xxxix (315 mg, 0,5 mmol) y 312 mg (0,6 mmol) de PyBop se disolvieron en 10 ml de DCM. Se añadieron el compuesto 1 (56 mg, 0,6 mmol) y 108 μ l de DIPEA. La mezcla

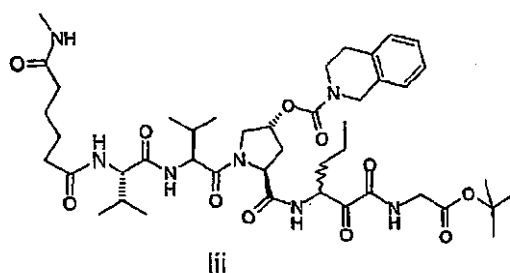


10

se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche y se diluyó a 100 ml con EtOAc y se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ y salmuera. Se purificó por cromatografía en columna (EtOH al 15 %/EtOAc) para producir 400 mg (92 %) del compuesto li,

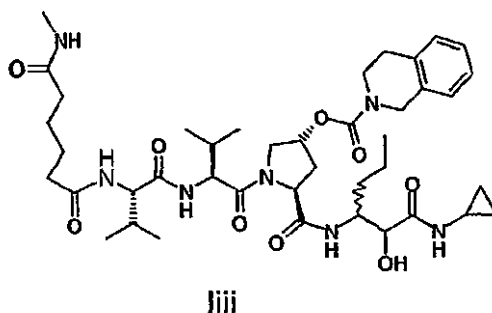
**15 Ejemplo Intermedio 48 - Compuesto lii**

El compuesto li (400 mg, 0,46 mmol) se disolvió en 10 ml de DCM y se añadieron 292 mg (0,69 mmol) de reactivo DMP. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se retiró por evaporación y el producto se purificó por RP-HPLC para producir 130 mg (32 %) del compuesto lii,



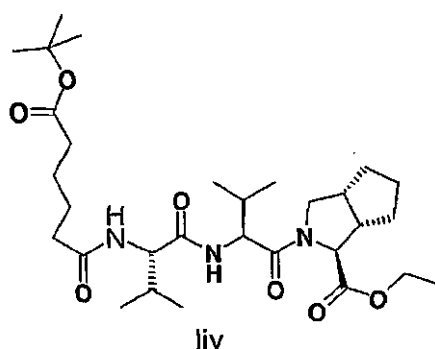
Ejemplo Intermedio 49 - Compuesto liii

- 5 El compuesto xxxix (210 mg, 0,33 mmol) y 208 mg (0,4 mmol) de PyBop se disolvieron en 10 ml de DCM. El compuesto xiii (154 mg, 0,83 mmol) se añadió a la solución, seguido de la adición de DIPEA (72 μ l, 0,4 mmol). La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó a 100 ml con EtOAc, se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ y salmuera y después se purificó por cromatografía ultrarrápida (EtOH al 10 %/EtOAc) para producir 250 mg (95 %) del compuesto liii,

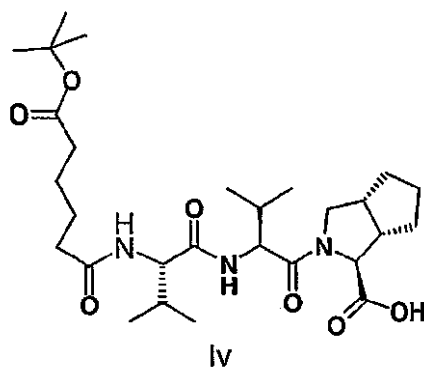


Ejemplo Intermedio 50 - Compuesto liv

- 10 El compuesto xxxxi (755 mg, 1,88 mmol) y 255 mg (1,88 mmol) de HOAt se disolvieron en 20 ml de DCM. Se añadieron 1,88 ml de DCC 1 M/DCM. A la mezcla de reacción se le añadió el compuesto v (288 mg) y la mezcla de reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en EtOAc y se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 80 %/hexanos) para producir 800 mg (90 %) del compuesto liv,

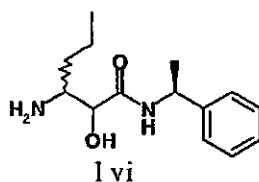


- 15
20 **Ejemplo Intermedio 51 - Compuesto lv**
- El compuesto liv (800 mg, 1,41 mmol) se disolvió en 10 ml de MeOH y se añadieron 2 ml de NaOH 1 N. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en agua y se neutralizó con 2 ml de HCl 1 N. El producto se extrajo con EtOAc. La evaporación del disolvente de extracción proporcionó 760 mg (~100 %) de lv,



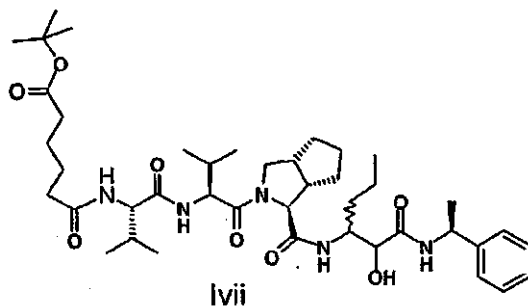
Ejemplo Intermedio 52 - Compuesto Ivii

El compuesto Iv (760 mg, 1,41 mmol) y 880 mg (1,69 mmol) de PyBop se disolvieron en 5 ml de DCM. El compuesto Ivi (530 mg, 2,12 mmol) se añadió a la solución y después se añadieron 0,31



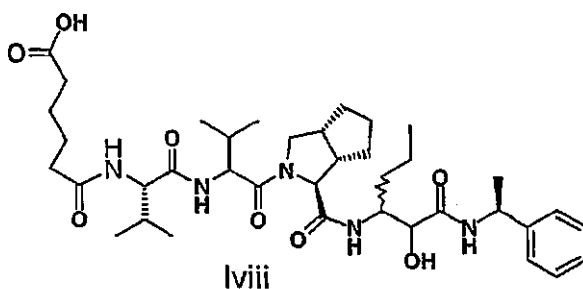
5

de DIPEA. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó a 100 ml con EtOAc, se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ y salmuera y después se purificó por cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 100 %) para producir 870 mg (80 %) del compuesto Ivii,



10 Ejemplo Intermedio 53 - Compuesto Iviii

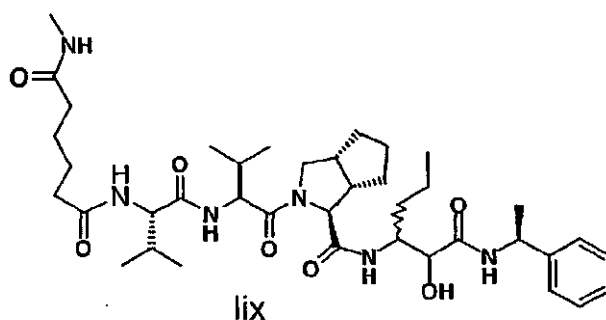
El compuesto Ivii (350 mg, 0,45 mmol) se disolvió en 5 ml de TFA y 5 ml de DCM y la mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se retiró por evaporación y el producto se purificó por RP-HPLC para producir 220 mg (69 %) del compuesto Iviii,



15 Ejemplo Intermedio 54 - Compuesto Ilix

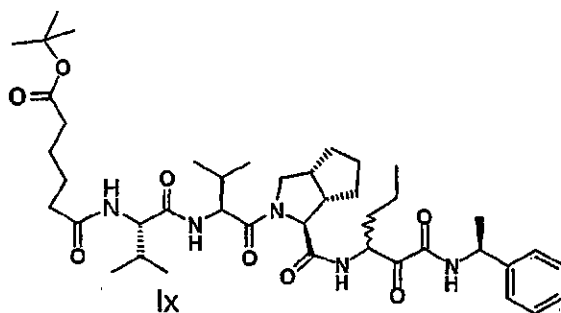
El compuesto Iviii (200 mg, 0,28 mmol) y 218 mg (0,42 mmol) de PyBop se disolvieron en 5 ml de DCM. Se añadió metilamina (0,28 ml de 2 M en THF). La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche.

La mezcla se diluyó a 100 ml con EtOAc, se lavó con HCl, NaHCO₃ y salmuera y después se purificó por cromatografía en columna (EtOH al 15 %/EtOAc) para producir 168 mg (79 %) del compuesto lix,



Ejemplo Intermedio 55 - Compuesto lix

- 5 El compuesto lviii (200 mg, 0,26 mmol) se disolvió en 4 ml de DCM y se añadieron 165 mg (0,39 mmol) de reactivo DMP. La mezcla se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se retiró por evaporación. El residuo se disolvió en acetonitrilo al 50 %/agua y se filtró y purificó por RP-HPLC para producir 140 mg (70 %) del compuesto lix,

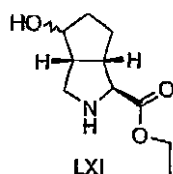


10 Ejemplo intermedio 56 - Compuesto ii

- Una solución en DCM (30 ml) y EtOH (30 ml) del compuesto i (4 g, 12,1 mmol), en una atmósfera de N₂, se enfrió a -10° C. Se añadió NaBH₄ (458 mg, 12,1 mmol) y la solución se agitó a -10 °C durante 50 minutos. La TLC (EtOAc al 50 %/hexano) mostró la conversión total en una mancha de realización más lenta. La reacción se detuvo cuidadosamente con hielo y después con una solución saturada fría de NH₄Cl (10 ml). La mezcla se vertió en DCM (300 ml). La fase orgánica se lavó una vez con una solución saturada de NH₄Cl (60 ml) y dos veces con salmuera (60 ml). Después, la fase orgánica se separó, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío, para producir 3,5 g del compuesto ii (87 %)

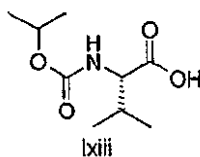
Ejemplo Intermedio 57 - Compuesto lxi

- 20 En un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un globo de H₂, una solución etanólica (50 ml) del compuesto ii (3,5 g, 10,5 mmol) se sometió a condiciones de hidrogenación convencionales [Pd(OH)₂ al 20 %/C (1,47 g, 2,1 mmol)] durante 5 horas a aproximadamente temperatura ambiente. El catalizador se retiró por filtración a través de Celite y se lavó con DCM. Después, el disolvente se retiró a presión reducida para producir 2 g (96 %) del compuesto lxi,

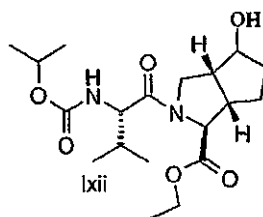


Ejemplo Intermedio 58 - Compuesto lxii

- 25 En una atmósfera inerte, una solución del compuesto lxi (200 mg, 1 mmol), el compuesto lxiii,

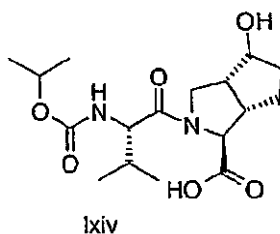


5 (233 mg, 1,1 mmol), HOAt (1-hidroxi-7-azabenzotriazol) (156 mg, 1,15 mmol) en DMF anhidra (6 ml) se agitó durante 20 minutos. Después, la temperatura se disminuyó a 0 °C, seguido de la adición de DIC (0,18 ml, 1,15 mmol). La reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente. La solución se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con HCl 1 N, dos veces con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se limpió por cromatografía (gel de sílice: EtOAc al 70 %/DCM) para dar, con un rendimiento del 45 %, el compuesto Ixii.



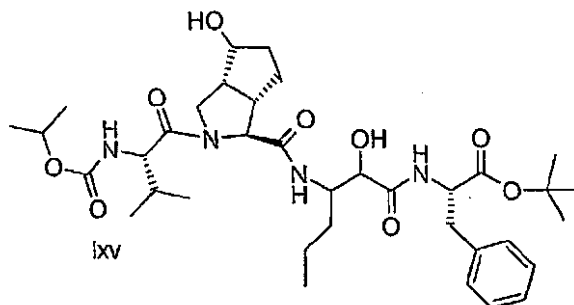
Ejemplo Intermedio 59 - Compuesto Ixiv

10 Una solución del compuesto Ixii (777 mg, 2 mmol) en dioxano (6 ml) y NaOH 0,5 M (6 ml) se agitó durante 5 horas a aproximadamente temperatura ambiente. El examen por TLC (EtOAc al 100 %) mostró conversión completa en una mancha al principio. La reacción se enfrió con un baño de hielo, seguido de la adición de HCl 1 N (4 ml). Después, se añadió NaCl sólido y el total de la mezcla se extrajo dos veces con EtOAc (2 x 150 ml). Después, los extractos se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a presión reducida para dar el compuesto Ixiv con un
15 rendimiento del 92 %.



Ejemplo Intermedio 60 - Compuesto Ixv

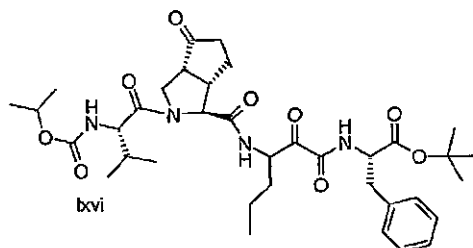
20 En una atmósfera inerte, una solución del compuesto x (203 mg, 0,58 mmol), el compuesto Ixiv (276 mg, 0,775 mmol), HOAt (1-hidroxi-7-azabenzotriazol) (126 mg, 0,93 mmol) en DMF anhidra (6 ml) se agitó durante 20 minutos. Después, la temperatura se disminuyó a 0 °C, seguido de la adición de DIC (0,14 ml, 0,93 mmol). La reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente. La solución se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con HCl 1 N, dos veces con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice: EtOAc al 50 %/DCM a 80:19:1 de EtOAc/DCM/MeOH) para dar el compuesto Ixv con un rendimiento del 62 %.



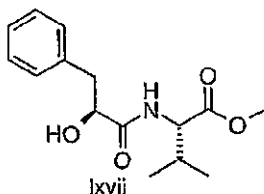
25

Ejemplo Intermedio 61 - Compuesto Ixvi

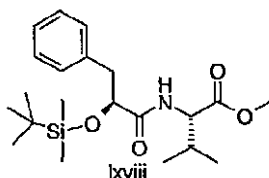
En una atmósfera inerte, a una solución del compuesto Ixv (287 mg, 0,42 mmol) en DCM anhidro (15 ml) se le añadió el reactivo DMP (605 mg, 1,43 mmol). La reacción se agitó durante 2 horas a aproximadamente temperatura ambiente. (Nota - La duplicación de la cantidad de reactivo de DMP y el tiempo de reacción se realizó para garantizar que los dos grupos alcohol se oxidaban completamente para dar los grupos ceto correspondientes). El examen por TLC (gel de sílice: MeOH al 2 %/EtOAc) mostró la conversión completa en el producto más rápido. La reacción se diluyó con DCM (150 ml) y después se lavó dos veces con una solución acuosa al 10 % de sulfito sódico (2 x 50 ml), dos veces con NaHCO₃ acuoso saturado y con salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice: EtOAc al 50 %/DCM a 80:19:1 de EtOAc/DCM/MeOH) para dar, con un 77 % de rendimiento, el compuesto Ixvi.

**Ejemplo Intermedio 62 - Compuesto Ixvii**

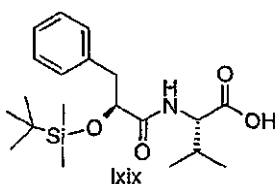
A una solución en DCM (60 ml) de ácido L-3 fenil láctico (2 g, 12 mmol) se le añadió PyBOP (7,5 g, 14,4 mmol). A esta solución se le añadió una solución en DCM (20 ml) que contenía éster metílico de L-valina HCl (2,4 g, 14,4 mmol) y DIPEA (2,06 ml, 14,4 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente. En ese momento, la reacción se diluyó con EtOAc (30 ml), se lavó con NaHCO₃ (30 ml) y salmuera (15 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La purificación se consiguió en EtOAc al 50 %/Hex sobre gel de sílice para dar 2,97 g (89 %) del compuesto Ixvii,

**Ejemplo Intermedio 63 - Compuesto Ixviii**

El compuesto Ixvii (2,97 g, 10,6 mmol) se recogió en DCM (50 ml) y se enfrió con un baño de hielo. Se añadió TBSCl (2,1 g, 13,8 mmol) a esta solución, seguido de imidazol (0,94 g, 13,8 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche. Después, la reacción se diluyó con EtOAc (50 ml), se lavó con NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La purificación se consiguió en EtOAc al 20 %/Hexano sobre gel de sílice para dar 3,79 g (90 %) del compuesto Ixviii,

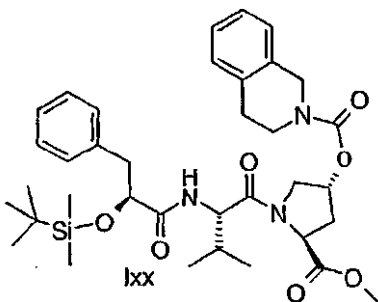
**Ejemplo Intermedio 64 - Compuesto Ixix**

A una solución en metanol (50 ml) del compuesto Ixviii (3,78 g, 9,6 mmol) se le añadió NaOH acuoso 1 N (14,4 ml, 14,4 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche. El disolvente se retiró parcialmente al vacío. Después, el pH de la mezcla de reacción se disminuyó a 3 usando una solución acuosa 1 N de HCl. La solución se diluyó con EtOAc y salmuera. El producto deseado se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar 3,5 g (96 %) del compuesto Ixix,



Ejemplo Intermedio 65 - Compuesto lxx

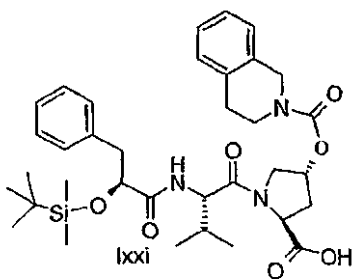
5 A una solución en DCM (15 ml) que contenía el compuesto xix (1,1 g, 2,9 mmol) se le añadió HOAt (0,44 g, 3,2 mmol), seguido de una solución 1 M de DCC (3,2 ml, 3,2 mmol) en DCM. Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos, se añadió una solución en DCM (15 ml) del compuesto xxxix (970 mg, 3,2 mmol). La reacción se agitó durante una noche en una atmósfera de N₂. Después, la reacción se diluyó con EtOAc (30 ml), se filtró a través de un lecho de gel de sílice, se lavó con HCl 0,1 N, NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. La purificación se consiguió en EtOAc al 50%/Hex sobre gel de sílice para dar 1,5 g (77 %) del compuesto lxx,



10

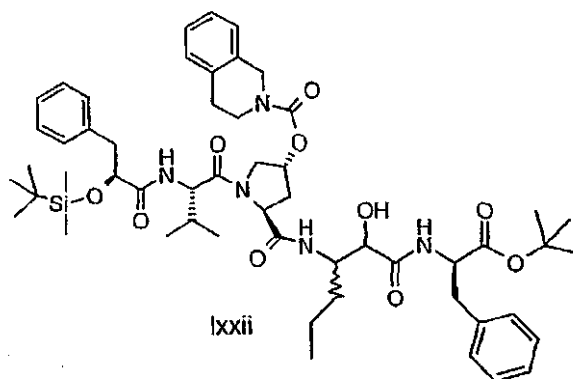
Ejemplo Intermedio 66 - Compuesto lxxi

15 A una solución en metanol (30 ml) del compuesto xxi (1,5 g, 2,4 mmol) se le añadió NaOH acuoso 1 N (3,6 ml, 3,6 mmol). La solución resultante se agitó durante una noche. En ese momento, el disolvente se retiró parcialmente y el pH de la mezcla de reacción se ajustó a 3 usando HCl acuoso 1 N. Después, la reacción se diluyó con EtOAc (50 ml) y salmuera (20 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 1,3 g (92 %) del compuesto lxxi,



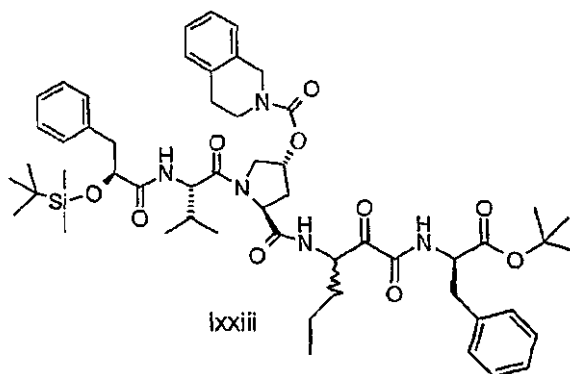
Ejemplo Intermedio 67 - Compuesto lxxii

20 A una solución de DCM (2 ml) que contenía el compuesto lxxi (180 mg, 0,28 mmol) se le añadió PyBOP (175 mg, 0,34 mmol) y DIPEA (0,06 ml, 0,34 mmol), seguido de la adición de una solución en DCM (10 ml) del compuesto x (150 mg, 0,41 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. Después, la reacción se diluyó con EtOAc (30 ml), se lavó con NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La purificación se consiguió en EtOAc al 100 % sobre gel de sílice para dar 270 mg (98 %) del compuesto lxxii,



Ejemplo Intermedio 68 - Compuesto Ixxiii

- 5 A una solución en DCM (3 ml) del compuesto Ixxii (270 mg, 0,27 mmol) se le añadió reactivo DMP (140 mg, 0,33 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 1,5 horas, la reacción se detuvo con Na₂SO₃ al 10 % (10 ml). La reacción se diluyó con EtOAc (30 ml) y se agitó durante 10 minutos. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La purificación se consiguió en EtOAc al 60 %/Hex. para dar 150 mg (56 %) del compuesto Ixxiii,

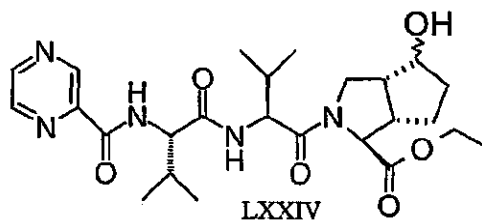


Ejemplo Intermedio 69 - Compuesto Ixi

- 10 A una solución en etanol (50 ml) del compuesto ii (3,5 g, 10,5 mmol) se le añadió, en una corriente de nitrógeno, Pd(OH)/C (1,47 g, contenido de Pd del 20 %, 2,1 mmol). La reacción se sometió a hidrogenación a una presión de 1 atm. Hasta la finalización, los catalizadores se retiraron a través de un lecho de Celite y se lavaron con diclorometano. Los filtrados se concentraron al vacío para dar 2 g (96 %) del compuesto Ixi.

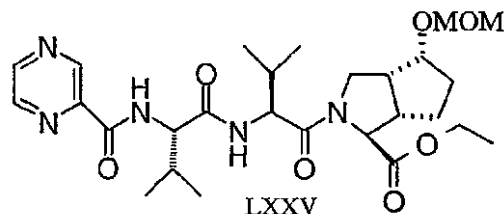
Ejemplo Intermedio 70 - Compuesto Ixxiv

- 15 A una solución en DMF (60 ml) del compuesto vii (9,1 g, 28,2 mmol) se le añadió HOAt (4 g, 29,4 mmol) y 1,3-disiopropilcarbodiimida (3,7 g, 29,4 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 30 minutos, una solución en DMF (10 ml) del compuesto Ixi (5,1 g, 25,6 mmol) se añadió a la solución anterior. La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, los sólidos de color blanco se retiraron por filtración. Los filtrados se concentraron al vacío para dar una resina que se purificó por cromatografía de gel de sílice para dar 9,5 g (67 %) del compuesto Ixxiv,
- 20



Ejemplo Intermedio 71 - Compuesto lxxv

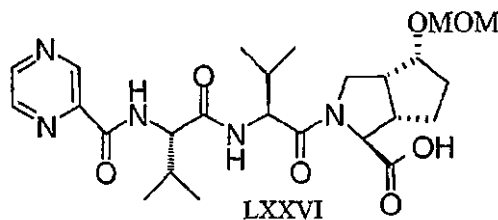
5 A una solución del compuesto lxxiv (1,5 g, 3 mmol) en THF anhidro (25 ml) se le añadió $\text{Et}_3\text{Pr}_2\text{N}$ (0,78 ml, 4,5 mmol) a aproximadamente temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota MOMCl (1,5 ml, 19,7 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Después, la solución se diluyó con éter y se lavó con agua (3 veces). Las fases acuosas se extrajeron adicionalmente con éter y todas las fases orgánicas se secaron sobre MgSO_4 antes de concentrarse para proporcionar un aceite de color amarillo. El isómero deseado del compuesto lxcv se aisló por cromatografía de gel de sílice (EtOAc/Hexanos



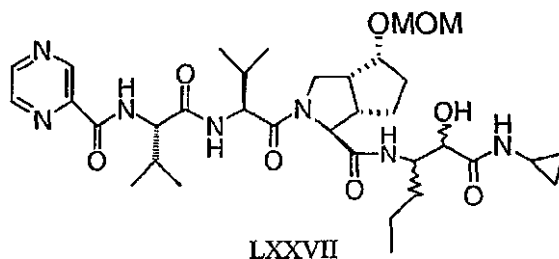
5/2) con un rendimiento del 40 % con una separación clara de diastereómeros.

10 Ejemplo Intermedio 72 - Compuesto lxxvi

15 A una solución del compuesto lxxv (502 mg, 0,9 mmol) en EtOH (5 ml) se le añadió gota a gota NaOH acuoso 2 N (0,9 ml, 1,8 mmol) a 0 °C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Después de que se completara la saponificación, la solución se acidificó a pH 3 con una resina ácida Dowex 50W8X-200. Los sólidos se retiraron por filtración y el filtrado resultante se concentró al vacío para dar un residuo oleoso que se liofilizó para dar 370 mg (80 %) del compuesto lxxvi,

**Ejemplo Intermedio 73 - Compuesto lxxvii**

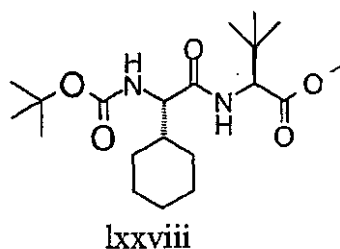
20 Una solución en diclorometano (4 ml) del compuesto lxxvi (110 mg, 0,21 mmol) se trató con PyBOP (200 mg, 0,35 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 30 minutos, la mezcla de reacción se cargó con una solución en THF (3,2 ml) del compuesto xiii (60 mg, 0,32 mmol), seguido de $\text{Et}_3\text{Pr}_2\text{N}$. Después de agitar durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente, la reacción se detuvo con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO_4 , antes de concentrarse para dar un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 % /EtOAc) produjo 143 mg (100 %) del compuesto lxxvii,



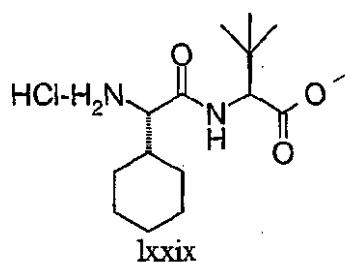
25

Ejemplo Intermedio 74 - Compuesto lxxviii

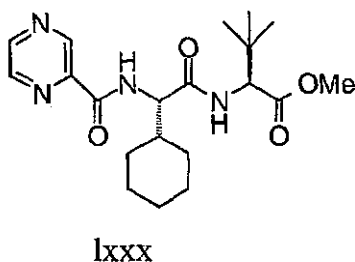
30 A una solución en THF (50 ml) de H-Chg-OH 2 (5 g, 19,4 mmol) se le añadió HOBt (2,63 g, 19,4 mmol) y EDCI (3,72 g, 19,4 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos, se añadió una solución de THF (19 ml) y DMF (10 ml) que contenía metil éster clorhidrato de *tert*-L-Leucina (19,4 mmol) and DIPEA (6,75 ml, 38,8 mmol) a la solución anterior. La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. El tratamiento acuoso convencional y la cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc al 15 - 20 %/Hexanos) produjeron 2,27 g (30 %) del compuesto lxxviii,

**Ejemplo Intermedio 75 - Compuesto lxxix**

5 A una solución en THF (12 ml) del compuesto lxxviii (2,27 g, 5,91 mmol) se le añadió una solución 4 N de HCl en dioxano (7,38 ml, 29,5 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, el disolvente se retiró a presión reducida, produciendo el compuesto lxxix que se usó directamente para la siguiente reacción.

**Ejemplo Intermedio 76 - Compuesto lxxx**

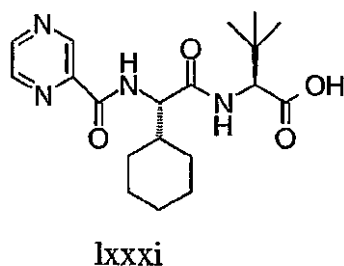
10 A una solución en THF del compuesto lxxix (5,9 mmol) se le añadió una solución en THF (20 ml) que contenía ácido 2-pirazincarboxílico (878 mg, 7,08 mmol), HOBt (957 mg, 7,08 mmol) y EDCI (1,36 g, 7,08 mmol). Después, a la mezcla resultante se le añadió DIPEA (2,05 ml, 11,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente y después se inactivó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera y se concentró para producir un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 40-50 %/hexanos) para proporcionar 1 g (36 %) del compuesto lxxx,



15

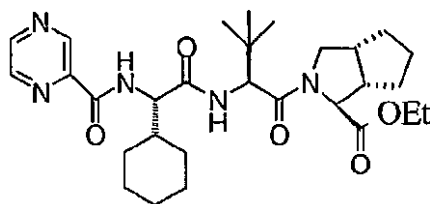
Ejemplo Intermedio 77 - Compuesto lxxxi

20 A una solución en metanol (20 ml) del compuesto lxxx (1 g, 2,56 mmol) se le añadió NaOH 2 N (3,2 ml, 6,4 mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, la reacción se acidificó a pH 3 usando HCl 5 N. La reacción se diluyó con EtOAc (75 ml) y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica así obtenida se secó y se concentró al vacío para dar un residuo que se disolvió en 1:1 de CH₃CN/H₂O para liofilización. Se obtuvo un total de ~1 g (100 %) del compuesto lxxxi.



Ejemplo Intermedio 78 - Compuesto lxxxii

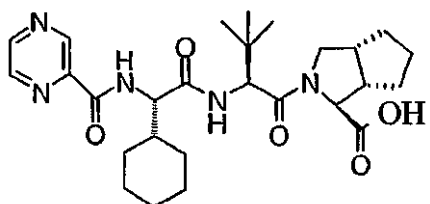
Una solución en diclorometano (10 ml) del compuesto lxxxi (2,56 mmol) se trató con HOAt (348 mg, 2,56 mmol) y DCC (2,56 ml, 1 M, 2,56 mmol). Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución en THF (5 ml) del compuesto v (2,56 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche, los sólidos de color blanco (urea) se retiraron por filtración. Los filtrados se concentraron al vacío para dar una resina que se purificó por cromatografía de gel de sílice para proporcionar 1,4 g (100 %) del compuesto lxxxii,



lxxxii

Ejemplo Intermedio 79 - Compuesto lxxxiii

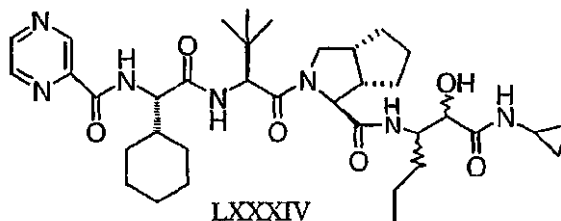
Una solución en etanol (15 ml) del compuesto lxxxii (1,4 g, 2,58 mmol) se trató con NaOH 2 N (2,58 ml, 5,17 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche, la mezcla de reacción se acidificó a pH 3 con una resina ácida. Los sólidos se retiraron por filtración. Los filtrados resultantes se concentraron al vacío para dar un residuo que se liofilizó para dar 1,32 g (~100 %) del compuesto lxxxiii,



lxxxiii

Ejemplo Intermedio 80 - Compuesto lxxxiv

Una solución en diclorometano (15 ml) del compuesto lxxxiii (360 mg, 0,7 mmol) se trató con PyBOP (582 mg, 1,12 mmol). Después de agitar a aproximadamente temperatura ambiente durante 20 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución en THF (5,6 ml) del compuesto xiii (195,6 mg, 1,05 mmol), seguido de DIPEA (0,25 ml, 1,40 mmol). Después de agitar durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente, la reacción se detuvo con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó y concentró al vacío para dar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 3 %/EtOAc) para proporcionar 420 mg (88 %) del compuesto lxxxiv,

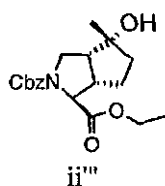


LXXXIV

Ejemplo intermedio 81 - Compuesto ii'''

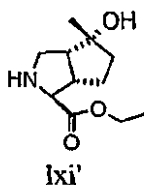
Una mezcla de diclorometano anhidro y éter (20 ml: 20 ml) se enfrió a -78 °C en una atmósfera de N₂ (g). A la solución se le añadió TiCl₄ (1 M en diclorometano, 10 ml, 10 mmol) y después se añadió secuencialmente MeLi (1,4 M en éter, 7,1 ml, 10 mmol) con agitación durante 30 minutos más a -78 °C. Una solución de i (2 g, 6 mmol) en 10 ml de diclorometano se añadió gota a gota a la mezcla de reacción a la misma temperatura durante 15 minutos. La solución se calentó lentamente hasta -40 °C durante 10 minutos y después a 0 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó vertiendo la mezcla en una mezcla de agua/éter (1:1) y después se dejó que se separaran las fases. La fase acuosa se extrajo adicionalmente dos veces con éter. Todas las fases orgánicas se lavaron con agua, salmuera y se secaron

sobre MgSO₄ antes de concentrarse a un aceite de color amarillo. El compuesto deseado ii''' se aisló por cromatografía de gel de sílice (EtOAc/Hexanos 2/1) con un rendimiento del 83 %



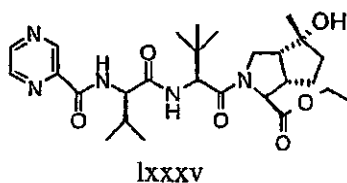
Ejemplo Intermedio 82 - Compuesto lxi'

- 5 Al compuesto ii''' (1,7 g, 5 mmol) se le añadió Pd al 10 % en peso sobre C (0,53 g, 0,5 mmol), seguido de la adición de MeOH (17 ml). Se pasó gas hidrógeno a través de la mezcla de reacción y el gas hidrógeno se mantuvo para la reacción a 1 atm durante una noche. Después, la mezcla de reacción se filtró y se concentró para proporcionar 929 mg (87 %) del compuesto lxi' en forma de un aceite incoloro.



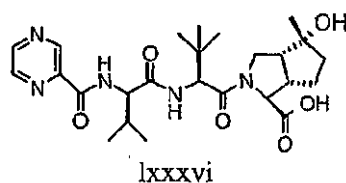
10 Ejemplo Intermedio 83 - Compuesto lxxxv

- A una solución en THF (16 ml) del compuesto xxii (1 g, 3 mmol) se le añadió, a aproximadamente temperatura ambiente, HOAt (0,41 g, 3 mmol) y se siguió de una solución 1 M en DCC de diclorometano (3 ml, 3 mmol). Tras agitar durante 30 minutos a aproximadamente temperatura ambiente, se añadió una solución en diclorometano (6 ml) del compuesto lxi' al ácido activado con HOAt anterior. La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, la reacción se filtró a través de Celite. El filtrado se diluyó con EtOAc (120 ml) y se lavó con agua y después salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró para dar aceite de color amarillo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 100 %/hexanos) para proporcionar 1 g (65 %) del compuesto lxxxv,
- 15



20 Ejemplo Intermedio 84 - Compuesto lxxxvi

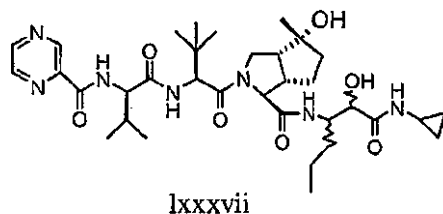
- A una solución en etanol (8 ml) del compuesto lxxxv (920 mg, 1,7 mmol) se le añadió una solución acuosa 2 N de NaOH (1,7 ml, 3,4 mmol). La reacción se agitó durante una noche a aproximadamente temperatura ambiente y después se acidificó a pH 3 con resina ácida de Dowex. Los sólidos se retiró por filtración y el filtrado se concentró para dar un aceite incoloro, que se redisolvió en 1:1 de CH₃CN/H₂O y se liofilizó para proporcionar 800 mg (93 %) del compuesto lxxxvi. El análisis HPLC mostró un sólo pico de producto.
- 25



Ejemplo Intermedio 85 - Compuesto lxxxvii

- A una solución en diclorometano (4 ml) del compuesto lxxxvi (150 mg, 0,3 mmol) se le añadió PyBOP (250 mg, 0,47 mmol). La solución se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió una solución en THF (3,5 ml) del compuesto xiii (84 mg, 0,45 mmol), seguido de Et₃N (0,1 ml, 0,6
- 30

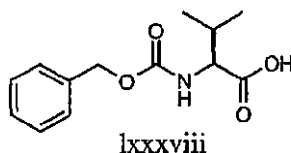
mmol). La reacción se agitó a aproximadamente temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (30 ml) durante 25 minutos. Después, la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, antes de concentrarse para dar un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 % /EtOAc) produjo 200 mg (100 %) del compuesto lxxxvii,



5

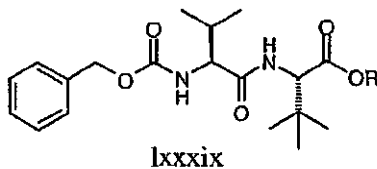
Ejemplo Intermedio 86 - Compuesto lxxxix

El compuesto lxxxviii, N-Cbz-L-Valina, (2,5 g, 9,9 mmol) se recogió en THF (30 ml).



10

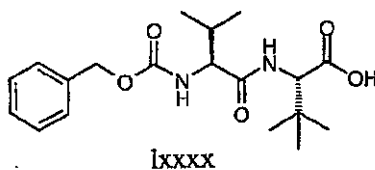
Se añadieron EDCI (2,29 g, 11,9 mmol) y HOBt (1,62 g, 11,9 mmol) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. Se añadió clorhidrato de éster metílico de L-terc-Leucina (2,17 g, 11,9 mmol) en THF (23,9 ml), seguido de DIPEA (2,1 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con HCl 1 N, bicarbonato sódico saturado y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo concentrado se purificó en acetato de etilo al 25 %/hexano para proporcionar 1,1 g (29 %) del compuesto lxxxix,



15

Ejemplo Intermedio 87 - Compuesto lxxxx

El compuesto lxxxix se hidrolizó en condiciones convencionales usando alcohol metílico (0,3 M) y NaOH 1 N (1,5 equiv.) para proporcionar 1,03 g (95 %) del compuesto lxxxx,

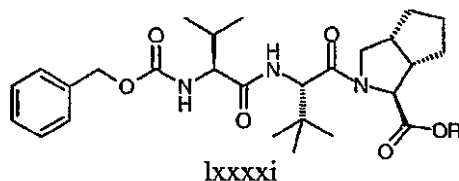


20

Ejemplo Intermedio 88 - Compuesto lxxxxi

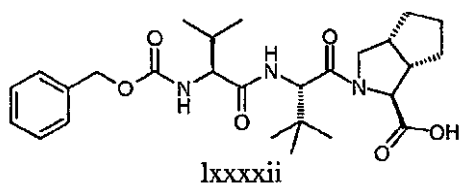
El compuesto lxxxx (385 mg, 1,06 mmol) se recogió en diclorometano (3 ml). Se añadió DCC (1,4 mmol), seguido de HOAt (190 mg, 1,4 mmol). Después, se añadió el compuesto v (260 mg, 1,4 mmol) en diclorometano (3 ml). La mezcla resultante se agitó durante una noche en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se diluyó con acetato de etilo, se filtró a través de gel de sílice y se concentró. El residuo se purificó en acetato de etilo al 50 %/hexano para proporcionar 440 mg (80 %) del compuesto lxxxxi,

25



Ejemplo Intermedio 89 - Compuesto lxxxxii

El compuesto lxxxxi se hidrolizó en condiciones convencionales usando alcohol etílico (0,3 M) y NaOH 1 N (1,5 equiv.) para proporcionar 390 mg del compuesto lxxxxii,

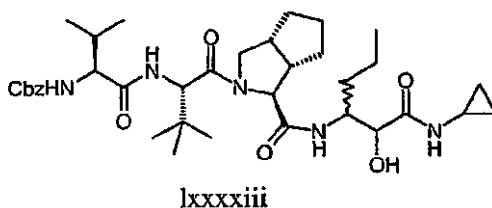


5

Ejemplo Intermedio 90 - Compuesto lxxxxiii

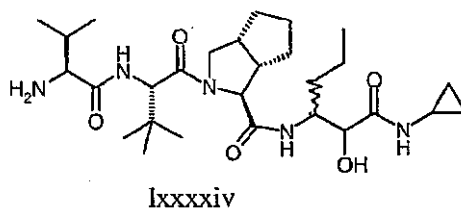
El compuesto lxxxxii (350 mg, 0,7 mmol) se recogió en diclorometano (3 ml). Se añadió PyBOP (480 mg, 0,91 mmol), seguido del compuesto xiii (170 mg, 0,91 mmol). Se añadió DIPEA (0,16 ml, 0,91 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se concentró y se purificó en acetato de etilo al 100 % para proporcionar 420 mg (90 %) del compuesto lxxxxiii,

10



Ejemplo Intermedio 91 - Compuesto lxxxxiv

El compuesto lxxxxiii se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (1 % mol) en alcohol metílico, en una atmósfera de hidrógeno, para proporcionar 335 mg (100 %) del compuesto lxxxxiv,

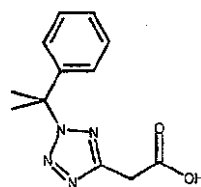


15

Ejemplo Intermedio 92 - Compuesto lxxxxv

Se recogió 1H-tetrazol-5-acetato de etilo (5 g, 32 mmol) en cloroformo (80 ml). Se añadió ácido tricloroacético (12,03 g, 73,65 mmol), seguido de alfa metil estireno (3,78 g, 32 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche. Al día siguiente, la solución se diluyó con acetato de etilo, se lavó con KOH al 10 % y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para proporcionar 8 g (96 %) del tetrazol-5-acetato de etilo N-protégido correspondiente. Este material se sometió a condiciones de hidrogenación convencionales usando alcohol etílico (0,3 M) y NaOH 1 N (3 equiv.) para proporcionar 7 g (99 %) del compuesto lxxxxv,

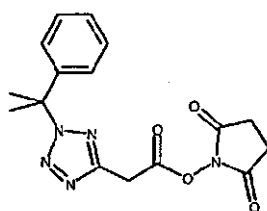
20



lxxxxv

Ejemplo Intermedio 93 - Compuesto lxxxxvi

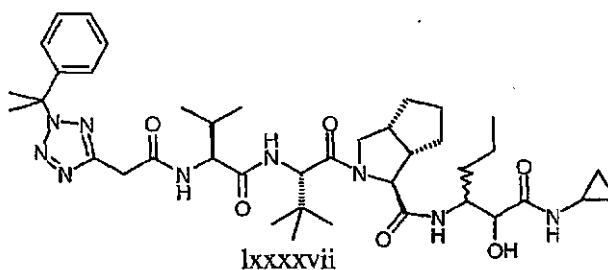
5 El compuesto lxxxxv (3,62 g, 14,7 mmol) se recogió en diclorometano (50 ml). Se añadieron EDCI (4,32 g, 22,1 mmol) y DIPEA (5,1 ml, 29,4 mmol) y se agitó durante cinco minutos. Se añadió N-hidroxi succinimida (3,38 g, 29,4 mmol) y se agitó durante 3 horas. La reacción se diluyó con diclorometano y se lavó tres veces con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para proporcionar 3,66 g (73 %) del compuesto lxxxxvi,



lxxxxvi

Ejemplo Intermedio 94 - Compuesto lxxxxvii

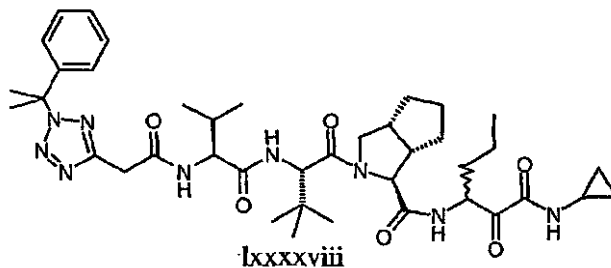
10 El compuesto lxxxxiv (335 mg, 0,62 mmol) y el compuesto lxxxxvi (343 mg, 1 mmol) se recogieron en diclorometano (6 ml). Se añadió DIPEA (0,17 ml, 1 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche. La reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con bicarbonato sódico saturado, salmuera y se concentró. El residuo se purificó en alcohol etílico al 5 %/acetato de etilo para dar 80 mg (16 %) del compuesto lxxxxvii,



lxxxxvii

Ejemplo Intermedio 95 - Compuesto lxxxxviii

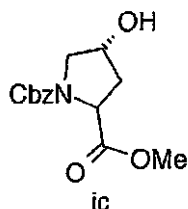
15 El compuesto lxxxxvii (80 mg, 0,11 mmol) se recogió en diclorometano (3 ml). Se añadió reactivo DMP (55 mg, 0,13 mmol) y se agitó durante una hora. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se detuvo con una solución al 10 % de sulfito sódico. La fase orgánica se lavó con bicarbonato sódico saturado y salmuera. La fase orgánica se concentró y el residuo resultante se purificó en acetato de etilo al 100 % para proporcionar 40 mg (48 %) del compuesto lxxxxviii,



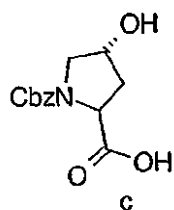
lxxxxviii

Ejemplo Intermedio 96 - Compuesto xxxix

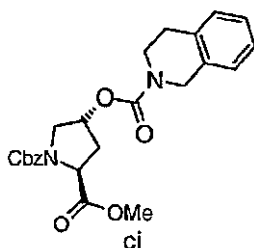
El compuesto ic, éster metílico de N-Cbz-4-hidroxi Pro, (2,1 g, 7,9 mmol se preparó con



rendimiento cuantitativo a partir del compuesto c, N-Cbz-4-hidroxi Pro), se disolvió en DCM (25



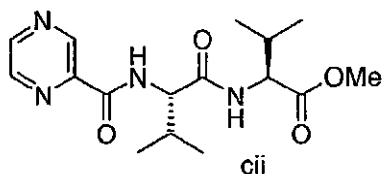
5 ml). Se añadieron CDI (1,54 g, 9,5 mmol) y DIPEA (1,7 ml, 9,5 mmol) a la solución y se agitó durante 10 minutos. Se añadió gota a gota 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (TIQ) (1,2 ml, 9,5 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó durante. La fase orgánica se lavó con agua, HCl 1 N y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 40 %/hexanos para producir el compuesto ci, éster metílico de N-Cbz-4-TIQcarboniloxi Pro, (2,5 g, 75 %).



15 El compuesto ci (2,5 g, 5,9 mmol) se disolvió en MeOH (5 ml). La solución se enjuagó con N₂ y se añadió Pd/C (10 %, 300 mg). La mezcla de reacción se enjuagó con H₂ y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró para producir el compuesto xxxix, 4-(TIQ-carboniloxi)-Pro, éster metílico, (1,49 g, 83 %).

Ejemplo Intermedio 97 - Compuesto vii

El compuesto cii, éster metílico de N-pirazin-2-ilcarbonil-Val-Val, (10,9 g, 32,4 mmol) se

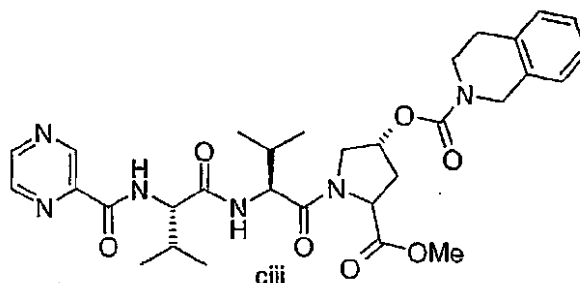


20 disolvió en THF (80 ml), y después se añadió NaOH (48,6 ml, 48,6 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 48 horas, y después se añadió más cantidad de NaOH (16,3 ml, 16,3 mmol) y la mezcla se calentó a 40 °C durante tres horas. Después, el pH de la mezcla de reacción se disminuyó a 3 y la fase acuosa se extrajo con EtOAc y después se concentró para producir el compuesto vii en bruto, ácido N-pirazin-2-ilcarbonil-Val-Val (10,6 g, 100 %).

Ejemplo Intermedio 98 - Compuesto ciii

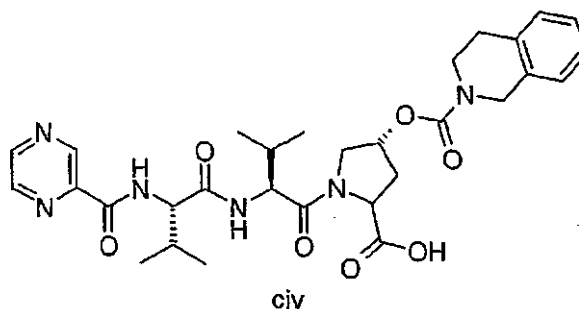
25 El compuesto cii (4,1 g, 12,7 mmol) se disolvió en DCM (20 ml). Se añadieron HOAt (1,73 g, 12,7 mmol) y DCC (12,7 mmol) a esta solución y la solución se agitó durante una hora. El compuesto xxxix (3,22 g, 10,6 mmol) se añadió a la mezcla de reacción en DCM (10 ml). La mezcla resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla

de reacción se filtró a través de gel de sílice y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía del gel de sílice (gradiente de EtOAc del 50 % al 80 %/Hexanos) para producir el compuesto ciii, éster metílico de N-pirazin-2-ilcarbonil-Val-Val-4-(TIQcarboniloxi)-Pro, (5,27 g, 81,7 %).



5 Ejemplo Intermedio 99 - Compuesto ciii

El compuesto ciii (650 mg, 1,29 mmol) se disolvió en THF (5 ml). Se añadió NaOH acuoso (1,42 ml, 1,42 mmol) a la solución y después se agitó durante una noche. El pH de la solución se disminuyó a 3 y la fase orgánica se aisló y se concentró para producir un residuo. El residuo se purificó usando HPLC de fase inversa en acetonitrilo/agua para producir el compuesto civ, ácido N-pirazin-2-ilcarbonil-Val-Val-4-(TIQcarboniloxi)-Pro, (600 mg, 95 %).

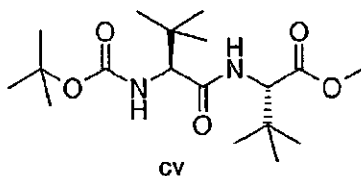


10

Ejemplo Intermedio 100 - Compuesto cv

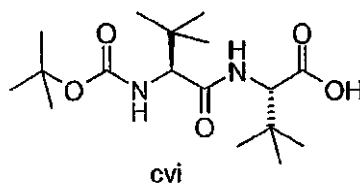
Se combinaron N-Boc-L-*terc*-Leucina (2,3 g, 10 mmol) y clorhidrato de éster metílico de L-*terc*-Leucina (2 g, 11 mmol) en DMF (30 ml). Después, se añadió HOAt (1,6 g, 11,5 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 20 minutos en una atmósfera de N₂ y después se disminuyó a 0 °C, momento en el que se añadieron DIC (1,8 ml, 11,5 mmol) y 2,4,6-colidina (1,45 ml, 11 mmol). La solución resultante se agitó durante una noche con calentamiento a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con un gradiente de EtOAc al 20 % - 30 %/hexanos para producir el compuesto cv (3,3 g, 92 %).

15



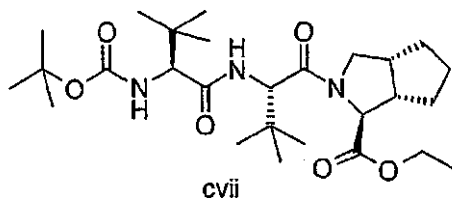
20 Ejemplo Intermedio 101- Compuesto cvi

El compuesto cv (3,3 g, 9,2 mmol) se hidrolizó usando dioxano (40 ml) y NaOH 0,5 N (37 ml, 18,4 mmol) para producir el compuesto cvi (2,9 g, 92 %).

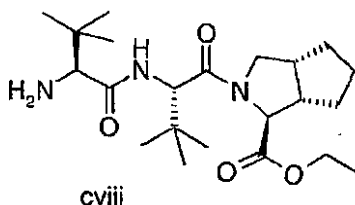


Ejemplo Intermedio 102 - Compuesto cvii

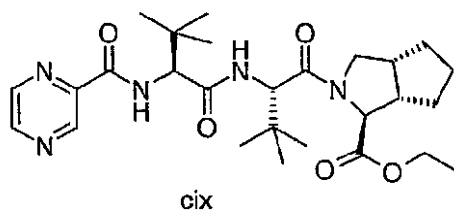
El compuesto cvi (2 g, 5,8 mmol) y el compuesto v (1 g, 5,5 mmol) se disolvieron en DMF (20 ml). Después, se añadieron HOAt (832 mg, 6,6 mmol) y DIC (1,1 ml, 6,6 mmol) a la solución. La solución resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con un gradiente de EtOAc al 20 % - 30 %/hexanos para producir el compuesto cvii (2,4 g, 81 %).

**Ejemplo Intermedio 103 - Compuesto cviii**

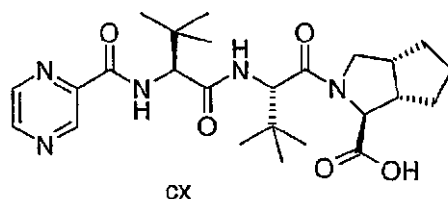
El compuesto cvii (2,4 g, 4,72 mmol) se disolvió en DCM (10 ml). Se añadió TFA (10 ml) a la solución. La solución resultante se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró, se disolvió en EtOAc y después la fase orgánica se lavó con NaOH 1 N y salmuera. La fase orgánica se concentró para producir el compuesto cviii (1,084 g, 56,1 %).

**Ejemplo Intermedio 104 - Compuesto cix**

Se disolvieron ácido 2-pirazincarboxílico (181 mg, 1,46 mmol) y el compuesto cviii (541 mg, 1,325 mmol) en DMF (15 ml). Se añadieron HOAt (207 mg, 1,52 mmol) y DIC (0,24 ml, 1,52 mmol) a la solución. La solución resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con un gradiente de EtOAc al 20 % - 30 % - 35 %/hexanos para producir el compuesto cix (430 mg, 63 %).

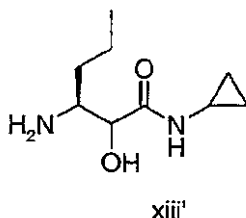
**Ejemplo Intermedio 105 - Compuesto cx**

El compuesto cix se hidrolizó usando EtOH (7 ml) y NaOH 1 N (4,7 ml, 4,7 mmol) para producir el compuesto cx (700 mg, 91,6 %).

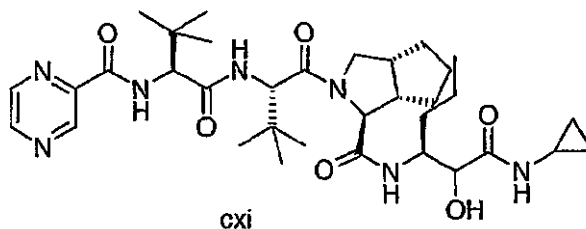


Ejemplo Intermedio 106 - Compuesto xiii'

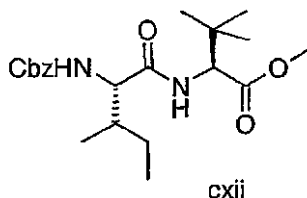
El compuesto cx (690 mg, 1,42 mmol) se disolvió en DCM (9 ml). Después se añadió PyBOP (890 mg, 1,7 mmol) a la solución, seguido de la adición del Compuesto xiii' (320



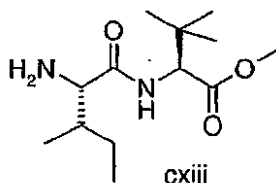
- 5 mg, 1,7 mmol). A la mezcla resultante se le añadió DIPEA (0,3 ml, 1,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. Después, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 100 % para producir el compuesto cxi (490 mg, 52,7 %).

**10 Ejemplo Intermedio 107 - Compuesto cxiv**

El compuesto cxii (1,2 g, 3,06 mmol) se disolvió en MeOH (12 ml). Después de enjuagar vigorosamente

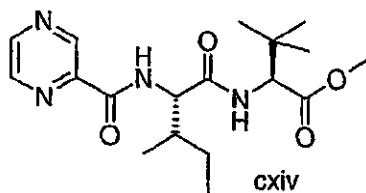


- 15 con N₂, se añadió Pd(OH)₂ al 10 % en peso sobre carbono (0,6 g) y la mezcla se hidrogenó durante una noche, momento en el que se mostró una mezcla de reacción completa por TLC (EtOAc al 30 %/hexanos). La solución se aisló del material sólido por filtración y se concentró en el compuesto desprotegido correspondiente cxiii en forma de un aceite incoloro (100 %)



que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

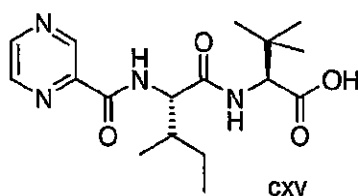
- 20 Se disolvió ácido 2-pirazincarboxílico (400 mg, 3,2 mmol, 1,1 equiv.) en DCM/THF (4 ml/4 ml) y después se añadieron HOAt (440 mg, 3,2 mmol) y DCC (343 mg, 1 M en DCM). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, el compuesto cxiii (0,96 g, 3,2 mmol) obtenido previamente se disolvió en DCM (6,4 ml) y se añadió a la mezcla activada. Después de agitar durante una noche a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite and y el compuesto cxiv se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 30 %/hexanos)



par producir un sólido de color blanco (0,8 g, 80 %).

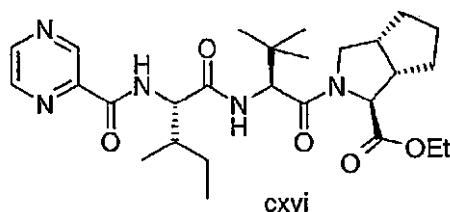
Ejemplo Intermedio 108 - Compuesto cxv

- 5 El compuesto cxiv (0,8 g, 2,2 mmol) se disolvió en MeOH (10 ml), y después se añadió NaOH 2 N (ac.) (3,3 ml, 6,6 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante una noche, momento en el que se indicó la finalización de la mezcla de reacción por TLC (EtOAc al 50 %/hexanos). Se realizó acidificación a pH 3 con HCl 5 N y se diluyó con EtOAc, seguido de extracción de la fase orgánica. La fase orgánica extraída se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄ para producir el compuesto cxv (0,74, 95 %) después de concentración.



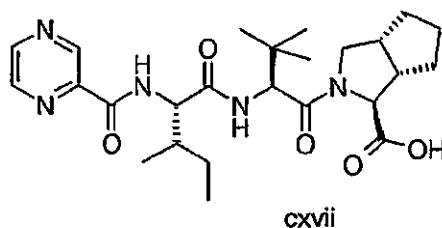
10 Ejemplo Intermedio 109 - Compuesto cxvi

- 15 A una solución en DCM (6 ml) del compuesto cxv (0,74 g, 2,1 mmol) a temperatura ambiente se le añadió HOAt (290 mg, 2,1 mmol), seguido de la adición de una solución 1 M de DCC en DCM (2,2 ml, 2,2 mmol). Tras agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió una solución en THF (10,5 ml, 0,2 M) de compuesto v (2,1 mmol) al ácido activado con HOAt anterior. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. En ese momento, la mezcla de reacción se filtró a través de celite. El filtrado se diluyó con EtOAc (120 ml) y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró a un aceite de color amarillo que se purificó por cromatografía de gel de sílice de (EtOAc al 50 %/hexanos) para producir el compuesto cxvi (0,714 g, 66 %).



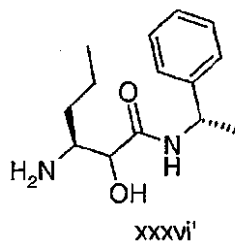
Ejemplo Intermedio 110 - Compuesto cxvii

- 20 A una solución en EtOH del compuesto cxvi (0,7 g, 1,4 mmol) se le añadió una solución acuosa 2 N de NaOH (2 ml, 4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente, después se acidificó a pH 3 con HCl 5 N y se diluyó con EtOAc, seguido de extracción de la fase orgánica. La fase orgánica extraída se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄ para producir el compuesto cxvii (95 %) después de concentración.

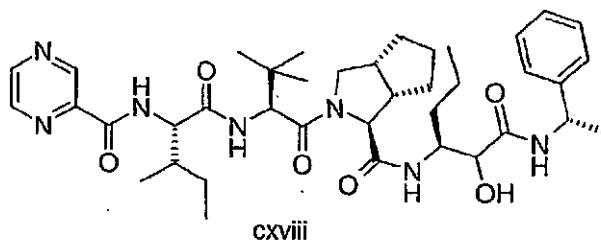


Ejemplo Intermedio 111 - Compuesto xxxvi'

A una solución en DCM/THF (10 ml/2 ml) del compuesto cvii (300 mg, 0,6 mmol) se le añadió PyBOP (416 mg, 0,8 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió el compuesto xxxvi' (200 mg, 0,8 mmol), seguido de DIPEA

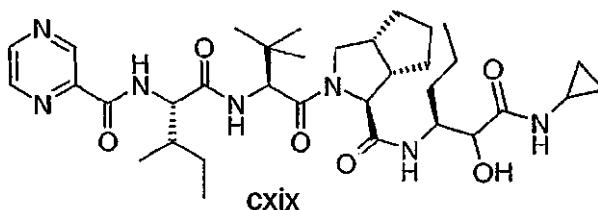


5 (0,22 ml, 1,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (25 ml) durante 30 minutos. Después, la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, antes de concentrarse para producir un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 3-5 %/EtOAc) produjo el compuesto cxviii (335 mg, 76 %).



10 **Ejemplo Intermedio 112 - Compuesto cxix**

15 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto cxvii (340 mg, 0,6 mmol) se le añadió PyBOP (470 mg, 0,9 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió el compuesto xiii' (170 mg, 0,9 mmol), seguido de DIPEA (0,24 ml, 1,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (25 ml) durante 30 minutos. Después, la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, antes de concentrarse para dar un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 3-5 %/EtOAc) produjo el compuesto cxix (164 mg, 36 %).

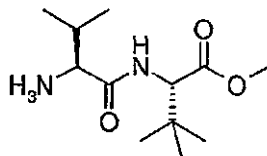


20 **Ejemplo Intermedio 113 - Compuesto xx**

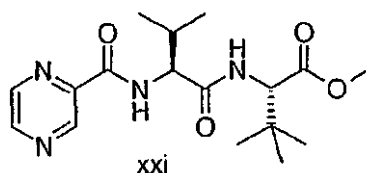
25 Se disolvió N-Cbz-L-Valina (6,28 g, 25 mmol) en DCM (30 ml). Se añadieron HOBT (3,38 g, 25 mmol) y DCC (25 ml, solución 1 M) a esta solución y se agitaron durante cinco minutos. Se añadió clorhidrato de éster metílico de L-*terc*-Leucina (25 ml, solución 1 M) a esta mezcla y se agitó durante una noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂O₄ se filtró y se concentró. El residuo se purificó cromatográficamente con EtOAc al 20 % - 30 %/hexanos para producir el compuesto xx (2,96 g, 31 %).

Ejemplo Intermedio 114 - Compuesto xxi

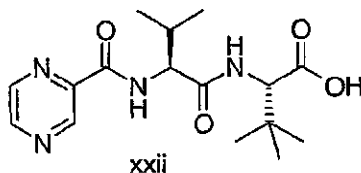
El compuesto xx (2,95 g, 7,8 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (800 mg) en MeOH (40 ml) en una atmósfera de H₂ para producir más adelante la amina libre correspondiente (1,9 g, 100 %).



- 5 Se disolvió ácido 2-pirazin-carboxílico (970 mg, 7,8 mmol) en DCM (20 ml). PyBOP (4,06 g, 7,8 mmol) a esta solución. La amina libre (1,9 g, 7,8 mmol) en DCM (15 ml) se añadió a la solución, y después se añadió DIPEA (1,36 ml, 7,8 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica,
10 el residuo se purificó cromatográficamente con EtOAc al 30 % - 40 %/Hexanos para producir el compuesto xxi (2,07 g, 75,8 %).

**Ejemplo Intermedio 115 - Compuesto xxii**

El compuesto xxi se hidrolizó usando MeOH (20 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.) para producir el compuesto xxii (1,82 g, 93,9 %).



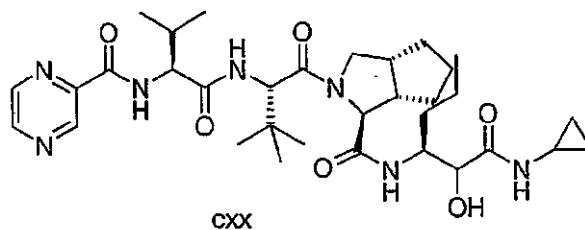
- 15
- Ejemplo Intermedio 116 - Compuesto xxiii**
- El compuesto xxii (895 mg, 2,66 mmol) se disolvió en DCM (10 ml). Se añadió DCC (3,2 mmol) a la solución, y después se añadió HOAt (435 mg, 3,2 mmol). Después, se añadió el compuesto v (3,2 mmol) en THF (16 ml). La mezcla resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se filtró a través de gel de sílice y se concentró. El residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 50 %/hexanos para producir el compuesto xxiii (730 mg, 54,8 %).
- 20

Ejemplo Intermedio 117 - Compuesto xxiv

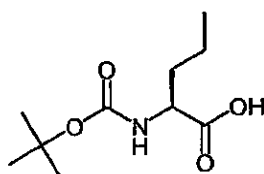
El compuesto xxiii se hidrolizó usando EtOH (5 ml) y NaOH 1 N (1,5 equiv.) para producir el compuesto xxiv (690 mg, 100 %).

Ejemplo Intermedio 118 - Compuesto cxx

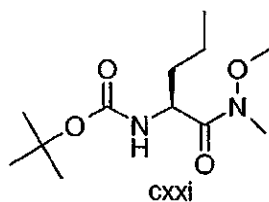
- 25
- El compuesto xxiv (245 mg, 0,52 mmol) se disolvió en DCM (3 ml). Después se añadió PyBOP (330 mg, 0,62 mmol) a la solución, y después se añadió el compuesto xiii' (120 mg, 0,62 mmol). A la mezcla resultante se le añadió DIPEA (0,11 ml, 0,62 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica,
30 el residuo se purificó cromatográficamente con EtOH al 5 %/EtOAc para producir el compuesto cxx (220 mg, 60 %).

**Ejemplo Intermedio 119 - Compuesto xiii'**

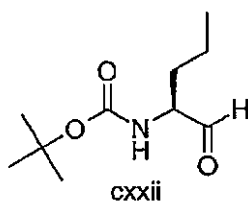
Se disolvió Boc-NVA-OH (24,96 g, 114,9 mmol) en THF, (200 ml). Se añadió en porciones CDI (22,35, 137,8



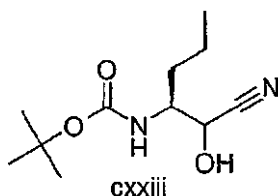
- 5 mmol) a la solución y la solución se agitó durante 30 minutos. Se disolvió clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (12,33 g, 126,4 mmol) en DMF (50 ml) y después se añadió DIPEA (22 ml, 126,4 mmol) a la solución. La solución de DMF se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos y después se añadió a una solución de THF. La mezcla resultante se agitó durante un fin de semana en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se concentró al vacío a un volumen total de 100 ml. Esta fase orgánica se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica se concentró para producir el compuesto cxxi en bruto (25,3 g).
- 10



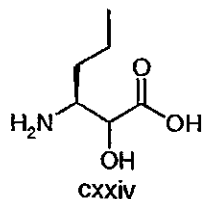
- Se añadió LAH (107,3 mmol) a un matraz seco de fondo redondo de 1 l en una atmósfera de N₂ en una solución 1 M de Et₂O. La solución se disminuyó a 0 °C y después se añadió gota a gota el compuesto cxxi (97,5 mmol) en Et₂O (100 ml). Después de que se completara la adición, la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos. La mezcla de reacción se inactivó a 0 °C añadiendo lentamente EtOAc (50 ml), seguido de adición lenta de una solución al 5 % de KHSO₄ (50 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos. La fase orgánica se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica se concentró para producir el compuesto cxxii en bruto (22,28 g).
- 15



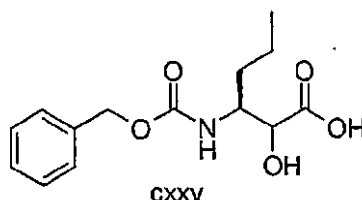
- El compuesto cxxii se disolvió en MeOH (100 ml). Se disolvió Na₂S₂O₄ (16,82 g, 96,6 mmol) en agua (100 ml) y después se añadió a una solución del compuesto cxxii a 0 °C. Esta mezcla se almacenó en el refrigerador (5 °C) durante una noche. Se añadió KCN (7,53 g, 115,9 mmol) en agua (100 ml) a la mezcla de reacción y se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El compuesto se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (3 x 50 ml), se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró para producir el compuesto cxxiii en bruto (15,86 g).
- 20



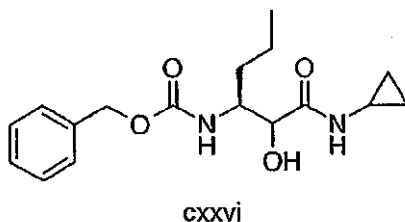
El compuesto cxxiii (15,86 g) se disolvió en dioxano (100 ml). Se añadió HCl concentrado (37 %, 100 ml) a esta solución, seguido de anisol (10 ml) y se estableció reflujo (110 °C). La reacción se agitó durante 1,5 horas. Cuando la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío para producir una pasta seca. El residuo se secó durante una noche a alto vacío para producir el compuesto cxxiv en bruto.



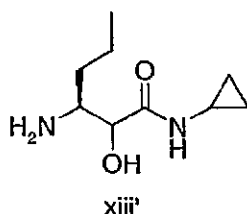
5 El compuesto cxxiv (69,6 mmol) se disolvió en DMF (60 ml) y THF (60 ml). Se añadió N-(benciloxicarboniloxi)succinimida (17,33 g, 69,6 mmol) a la mezcla, seguido de la adición de DIPEA (12,1 ml, 69,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla se concentró a un volumen reducido (50 ml) y se diluyó con EtOAc. La fase orgánica se lavó con HCl 0,1 N (2 x 100 ml) y salmuera para producir el compuesto cxxv (17,5 g, 54,2 % en cinco etapas).



15 El compuesto cxxv (5,66 g, 20,14 mmol) se disolvió en DCM (60 ml). Se añadieron PyBOP (12,57 g, 24,2 mmol) y HOBT (3,27 g, 24,2 mmol) a esta solución y se agitó durante cinco minutos. La mezcla resultante se disminuyó a 0 °C, y después se añadieron ciclopropilamina (1,67 ml, 24,2 mmol) y DIPEA (4,2 ml, 24,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche calentando a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó con HCl 0,1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. Después, la fase orgánica se concentró y se purificó cromatográficamente usando EtOAc al 70 %/Hexanos para producir el compuesto cxxvi (3,18 g, 49,3 %).

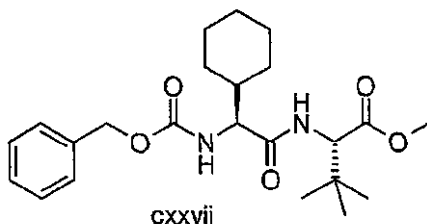


20 El compuesto cxxvi (3,18 g, 9,94 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (600 mg) en MeOH (70 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de H₂, se filtró a través de celite y se concentró para producir el compuesto xiii' en bruto (2,1 g, 100 %).

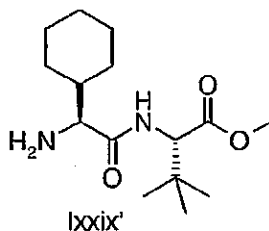


Ejemplo Intermedio 120 - Compuesto cxxvii

25 Se disolvió N-Cbz-L-Ciclohexilglicina (3 g, 10,3 mmol) en DCM (36 ml). Se añadieron HOAt (1,5 g, 11,28 mmol) y DCC (11,28 ml, 11,28 mmol) a esta solución y se agitó durante cinco minutos. Se añadió clorhidrato de éster metílico de L-*terc*-Leucina (103 ml, solución 1 M, 10,3 mmol) a esta mezcla y se agitó durante una noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, se enjuagó con EtOAc y se concentró a un residuo que se purificó usando EtOAc al 20 % - 30 %/hexanos para producir el compuesto cxxvii (2,2 g, 52 %).

**Ejemplo Intermedio 121 - Compuesto lxxix'**

El compuesto cxxvii (2,2 g, 5,2 mmol) se hidrogenó usando Pd(OH)₂ al 20 %/C (1 g) en MeOH (15 ml) en una atmósfera de H₂ para producir el compuesto lxxix' (1,4 g, 98 %).



5

Ejemplo Intermedio 122 - Compuesto lxxx

Se disolvió ácido 2-pirazincarboxílico (360 mg, 2,9 mmol) en DCM (10 ml). Se añadió PyBOP (1,81 g, 3,5 mmol) a la solución. Después, el compuesto lxxix' (825 mg, 2,9 mmol) en THF (10 ml) se añadió a la solución, seguido de la adición de DIPEA (0,5 ml, 2,9 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. El residuo resultante de la concentración de la fase orgánica se purificó cromatográficamente con EtOAc al 30 %/Hexanos para producir el Compuesto lxxx (780 mg, 69 %).

10

Ejemplo Intermedio 123 - Compuesto lxxxi

El compuesto lxxx se hidrolizó usando MeOH (10 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.) para producir el compuesto lxxxi (615 mg, 81,8 %).

15

Ejemplo Intermedio 124 - Compuesto lxxxii

El compuesto lxxxi (610 mg, 1,6 mmol) se disolvió en DCM (10 ml). Después, se añadió DCC (1,94 ml, 1,94 mmol) a la solución, seguido de la adición de HOAt (270 mg, 1,94 mmol). Después, se añadió el compuesto v (1,94 mmol) en THF (19,4 ml) a la solución. La mezcla resultante se agitó durante dos noches en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se filtró a través de gel de sílice y se concentró. El residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 40 %/hexanos para producir el compuesto lxxxii (450 mg, 83,4 %).

20

Ejemplo Intermedio 125 - Compuesto lxxxiii

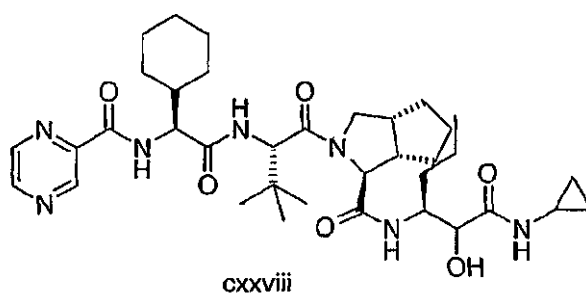
El compuesto lxxxi se hidrolizó usando EtOH (10 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.) para producir el compuesto lxxxiii (650 mg, 99 %).

25

Ejemplo Intermedio 126 - Compuesto cxxviii

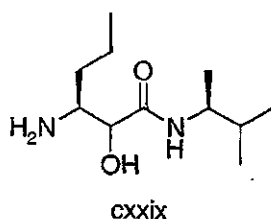
El compuesto lxxxiii (400 mg, 0,78 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Se añadió PyBOP (610 mg, 1,2 mmol) a la solución, seguido del Compuesto xiii' (230 mg, 1,2 mmol). A la mezcla resultante se le añadió DIPEA (0,2 ml, 1,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo se purificó cromatográficamente con un gradiente de EtOH al 100 % a EtOH al 5 %/EtOAc para producir el compuesto cxxviii (365 mg, 68,7 %).

30



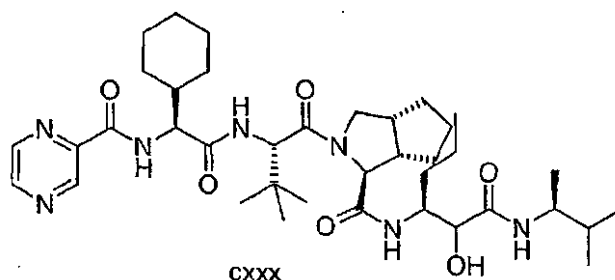
Ejemplo Intermedio 127 - Compuesto cxxx

El compuesto lxxxiii (365 mg, 0,7 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Se añadió PyBOP (440 mg, 0,84 mmol) a la solución, seguido de la adición del compuesto cxxix (0,84



5

mmol) en THP (8,4 ml). A la mezcla resultante se le añadió DIPEA (0,1 ml, 0,84 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con $NaHCO_2$ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo se purificó cromatográficamente con EtOAc al 100 % para producir el compuesto cxxx (350 mg, 70 %).

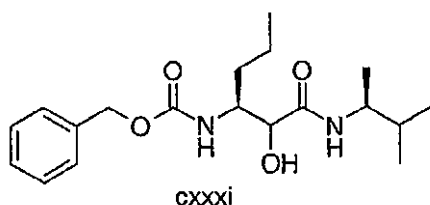


10

Ejemplo Intermedio 128 - Compuesto cxxxi

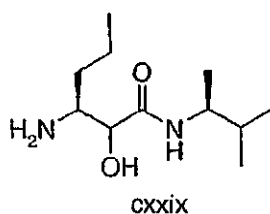
El compuesto cxxv (2,54 g, 9,05 mmol) se disolvió en DCM (30 ml). Se añadieron PyBOP (5,65 g, 10,9 mmol) y HOBT (1,47 g, 10,9 mmol) a la solución y se agitó durante cinco minutos. La mezcla resultante se disminuyó a 0 °C, momento en el que se añadieron (S)-(+)-3-metil-2-butilamina (1,27 ml, 10,9 mmol) y DIPEA (1,9 ml, 10,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche con calentamiento a temperatura ambiente. La fase orgánica se lavó con HCl 0,1 N, $NaHCO_3$ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 30 %/hexanos para producir el compuesto cxxxi (1,44 g, 45,5 %).

15

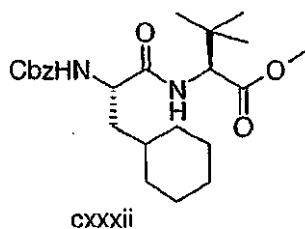


Ejemplo Intermedio 129 - Compuesto cxxix

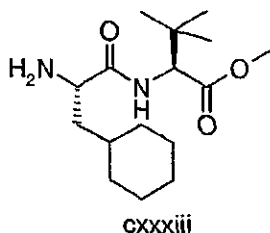
20 El compuesto cxxxi (1,3 g, 3,7 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (500 mg) en MeOH (40 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de H_2 . La mezcla de reacción se filtró a través de celite y la fase orgánica se concentró para producir el compuesto cxxix en bruto (800 mg, 100 %).

**Ejemplo Intermedio 130 - Compuesto cxxxiv**

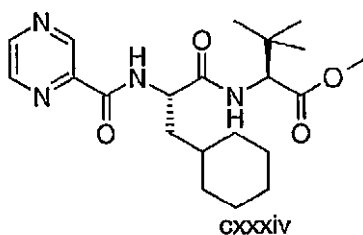
El compuesto cxxxii (1,6 g, 3,7 mmol) se disolvió en MeOH (12 ml). Después de enjuagar



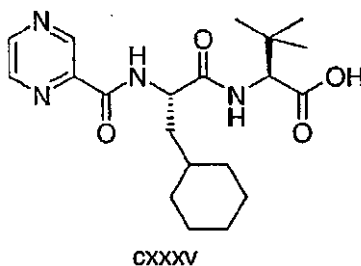
- 5 concienzudamente con N_2 , se añadió $Pd(OH)_2$ al 10 % en peso sobre carbono (0,74 g) y la mezcla se hidrogenó durante una noche, momento en el que se mostró una mezcla de reacción completa por TLC (EtOAc al 30 %/hexanos). La solución se aisló del material sólido por filtración y se concentró para producir el compuesto cxxxiii en forma de un aceite incoloro (100 %) que se usó en la siguiente



- 10 etapa sin purificación adicional. Se disolvió ácido 2-pirazincarboxílico (400 mg, 3,2 mmol, 1,1 equiv.) en DCM/THF (4 ml/4 ml) y después se añadió HOAt (440 mg, 3,2 mmol) y DCC (3,3 ml, 1 M en DCM). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, el compuesto cxxxiii (0,96 g, 3,2 mmol) obtenido previamente se disolvió en DCM (6,4 ml) y se añadió a la mezcla activada. Tras agitar durante 2 días a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró a un residuo que se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 50 %/hexanos)
- 15 para producir el compuesto cxxxiv en forma de un sólido de color blanco (1,06 g, 83 %).

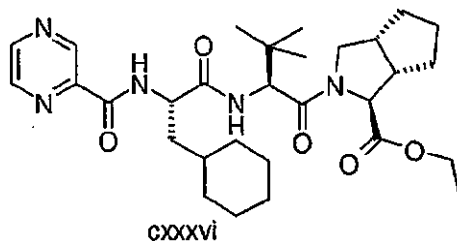
**Ejemplo Intermedio 131- Compuesto cxxxv**

- El compuesto cxxxiv (1,06 g, 2,6 mmol) se disolvió en MeOH (10 ml), y después se añadió NaOH 2 N (ac.) (4 ml, 8 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante una noche, momento en el que se indicó la finalización de hidrólisis por TLC (EtOAc al 50 %/hexanos). La solución se acidificó a pH 3 con HCl 5 N, se diluyó con EtOAc y después se extrajo la fase orgánica. La fase orgánica extraída se lavó con salmuera y se secó sobre $MgSO_4$ para producir el compuesto cxxxv (100 %) después de concentración.
- 20



Ejemplo Intermedio 132 - Compuesto cxxxvi

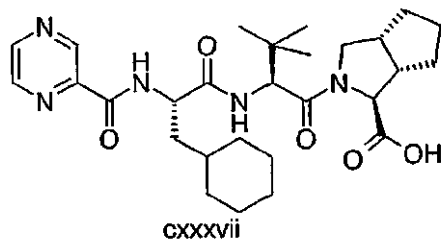
5 A una solución en DCM (8 ml) del compuesto cxxxv (1,44 g, 3,7 mmol) a temperatura ambiente se le añadió HOAt (500 mg, 3,7 mmol) y después una solución 1 M de DCC en DCM (3,7 ml, 3,7 mmol). Tras agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió una solución en THF (18,5 ml, 0,2 M) del compuesto v (3,7 mmol) al ácido activado con HOAt anterior. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite. El filtrado se diluyó con EtOAc (120 ml) y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró para producir un aceite de color amarillo que se purificó por cromatografía de gel de sílice de (EtOAc al 70 %/hexanos) para producir el compuesto cxxxvi (1 g, 71 %).



10

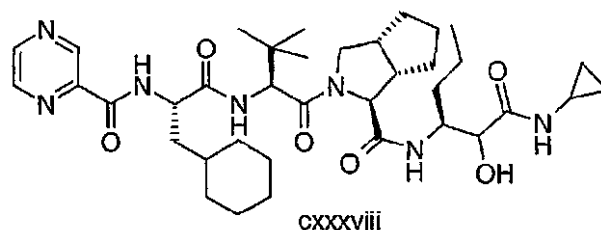
Ejemplo Intermedio 133 - Compuesto cxxxvii

15 A una solución en EtOH (8 ml) del compuesto cxxxvi (1 g, 1,8 mmol) se le añadió una solución acuosa 2 N de NaOH (2,7 ml, 5,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente, después se acidificó a pH 3 con HCl 5 N, se diluyó con EtOAc y después se extrajo la fase orgánica. La fase orgánica extraída se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄ para producir el compuesto cxxxvii (88 %) después de concentración.



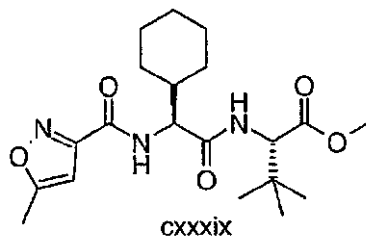
Ejemplo Intermedio 133 - Compuesto cxxxviii

20 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto cxxxvii (350 mg, 0,6 mmol) se le añadió PyBOP (450 mg, 0,86 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió el compuesto xiii' (160 mg, 0,86 mmol), seguido de DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (25 ml) durante 30 minutos. Después, la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica extraída se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, antes de concentrarse para producir un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) produjo el compuesto cxxxviii (407 mg, 88 %).



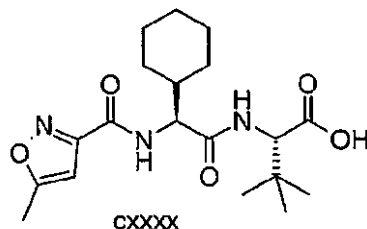
Ejemplo Intermedio 134 - Compuesto cxxxix

- 5 Se disolvió ácido 5-metilisoxazol-3-carboxílico (200 mg, 2,05 mmol) en DCM (5 ml). Se añadió PyBOP (1,07 g, 2,05 mmol) a la solución. El compuesto lxxix' (582 mg, 2,05 mmol) en DCM (5 ml) se añadió a la solución, seguido de la adición de DIPEA (0,36 ml, 2,05 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica se concentró, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 30 %/hexanos para producir el Compuesto cxxxix (495 mg, 61,4 %).



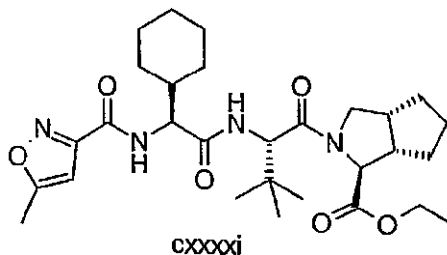
10 Ejemplo Intermedio 135 - Compuesto cxxxx

El compuesto cxxxix se hidrolizó usando MeOH (10 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.) para producir el compuesto cxxxx (430 mg, 90 %).



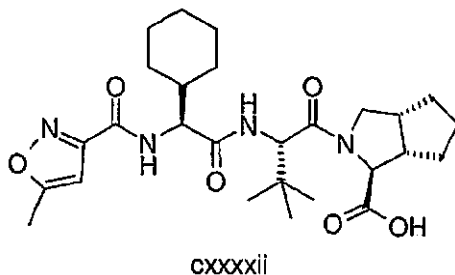
Ejemplo Intermedio 136 - Compuesto cxxxxi

- 15 El compuesto cxxxx (380 mg, 1 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Después, se añadió DCC (1,2 mmol) a la solución, seguido de la adición de HOAt (165 mg, 1,2 mmol). Después, el compuesto v (1,2 mmol) se añadió en THF (12 ml). La mezcla resultante se agitó durante la noche en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se filtró a través de gel de sílice y se concentró. El residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 35 %/hexanos para producir el compuesto cxxxxi (320 mg, 58 %).

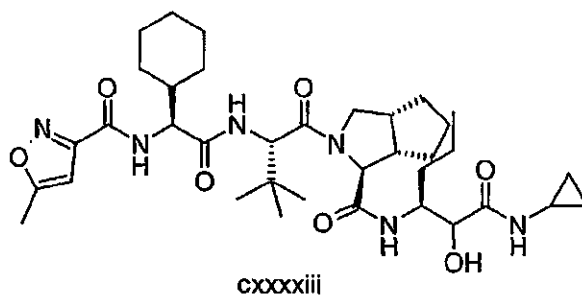


Ejemplo Intermedio 137 - Compuesto cxxxxii

El compuesto cxxxxi se hidrolizó usando EtOH (10 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.) para producir el compuesto cxxxxii (730 mg, 94,3 %).

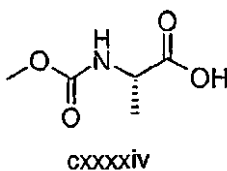
**5 Ejemplo Intermedio 138 - Compuesto cxxxxiii**

El compuesto cxxxxii (240 mg, 0,46 mmol) se disolvió en DCM (5 ml). Después se añadió PyBOP (295 mg, 0,56 mmol) a la solución, seguido de la adición del Compuesto xiii' (110 mg, 0,56 mmol). A la mezcla resultante se le añadió DIPEA (0,1 ml, 0,56 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante dos noches en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. Después de la concentración de la fase orgánica, el residuo resultante se purificó cromatográficamente con EtOAc al 90 %/hexanos para producir el compuesto cxxxxiii (168 mg, 53 %).

**Ejemplo Intermedio 139 - Compuesto cxxxxiv**

A una solución de NaOH (2 N, 42,1 ml, 84,2 mmol) a 5 °C se le añadió L-alanina (5,00 g, 56,1 mmol). Después de agitar durante 10 minutos, se añadieron simultáneamente gota a gota cloroforniato de metilo (6,5 ml, 84,2 mmol) y NaOH (2 N, 42,1 ml, 84,2 mmol). La solución se agitó en un baño de hielo durante 2 horas, después a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se lavó con Et₂O (2 x 50 ml), la fase acuosa se neutralizó a pH -2 con HCl 5 N y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml).

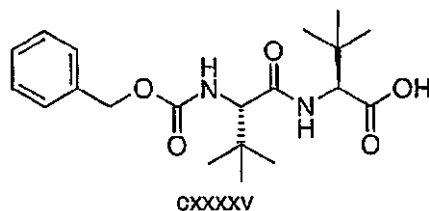
La fase orgánica extraída se lavó con salmuera, se secó con MgSO₄ y se concentró para producir el compuesto cxxaxiv,



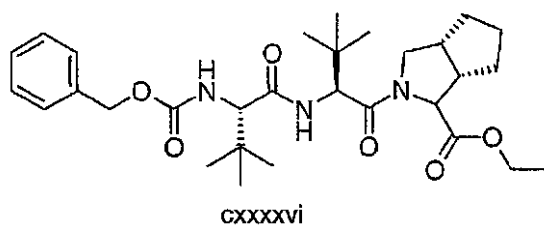
N-carbometoxi-L-alanina, (4,54 g, 54 %) en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo Intermedio 140 - Compuesto cxxxxv

Una solución del compuesto cxxxxv (3,57 g, 9,44 mmol) en THF a 5 °C se trató con HOAt



5 (1,28 g, 9,44 mmol) y después se añadió DCC (9,50 ml, 9,50 mmol). Después de agitar en un baño de hielo durante 45 minutos, se añadió una solución del compuesto v (104 ml, 10,4 mmol) en THF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se enfrió a 5 °C y se inactivó con NaHCO₃ saturado. Después de filtración para retirar el DCU precipitado, la mezcla se disolvió en EtOAc (100 ml), se lavó con NaHCO₃ saturado, salmuera y después se secó con MgSO₄ y se concentró a un residuo que se purificó por cromatografía en columna de sílice (EtOAc al 25 %/Hexanos) para producir el compuesto cxxxxvi (2,91 g, 57 %) en forma de una espuma gomosa.



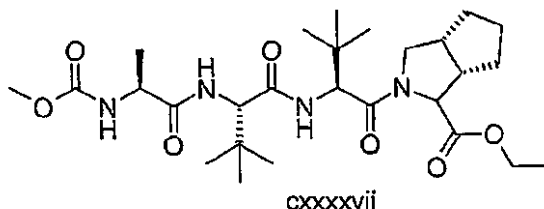
10

Ejemplo Intermedio 141 - Compuesto cviii

A una solución del compuesto cxxxxvi en MeOH (25 ml) enfriada con un baño de hielo en una corriente de N₂ se le añadió lentamente Pd/C. La mezcla se hidrogenó a 1 atm durante una noche. El catalizador se retiró por filtración, el filtrado se combinó con 5 ml de DMF y se secó al vacío para producir el compuesto cviii.

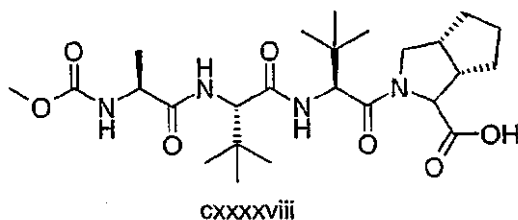
Ejemplo Intermedio 142 - Compuesto cxxxxvii

15 A una solución del compuesto cxxxxiv (0,298 g, 2,03 mmol) y HOAt (0,276 g, 2,03 mmol) en THF enfriado en un baño de hielo se le trató con DCC (2,05 ml, 2,05 mmol). Después de agitar en un baño de hielo durante 0,5 horas, se añadió una solución del compuesto cviii en THF, y después se añadió DIPEA (0,39 ml, 2,2 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche, después se enfrió en un baño de hielo y se inactivó con NaHCO₃ saturado. El DCU precipitado se filtró y el filtrado se disolvió en EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado, salmuera y después se secó con MgSO₄. Después de la retirada del disolvente orgánico, el residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (EtOAc al 60 %/Hexanos) para proporcionar el compuesto cxxxxvii (0,47 g, 48 %) en forma de una espuma gomosa.

**Ejemplo Intermedio 143 - Compuesto cxxxxviii**

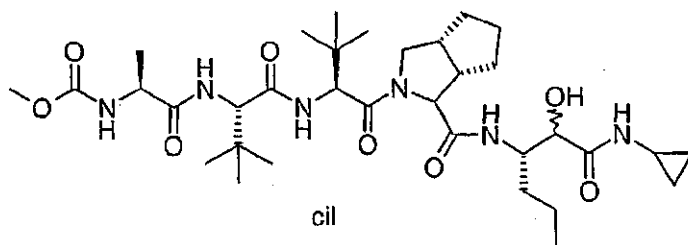
25 A una solución del compuesto cxxxxvii (0,47 g, 0,847 mmol) en EtOH (5 ml) a 5 °C se le añadió NaOH (2 N, 1,31 ml, 2,62 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución se acidificó a pH -2 con HCl (1 N) y el EtOH se retiró por evaporación rotatoria. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml) y el extracto combinado se lavó con salmuera y después se secó con MgSO₄. El disolvente se retiró y el residuo se secó al vacío para producir el compuesto cxxxxviii (0,366 g, 82 %) en forma de una espuma gomosa.

30



Ejemplo Intermedio 144 - Compuesto cil

5 Una solución del compuesto cxxxviii (0,366 g, 0,718 mmol) en DCM se enfrió en un baño de hielo y se trató con PyBop (0,599 g, 1,15 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 0,5 hora, la mezcla se enfrió con un baño de hielo y se trató con una solución del compuesto xiii' (0,200 g, 1,08 mmol) en THF y DIPEA (0,250 l, 1,44 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se inactivó con una solución de NH₄Cl. El disolvente se concentró y la mezcla se disolvió en EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado, salmuera y después se secó con MgSO₄. Después de la retirada del disolvente orgánico, el residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOH al 5 %/EtOAc) para producir el compuesto cil (0,35 g, 72 %)



10

Ejemplo Intermedio 145 - Compuesto cxxi

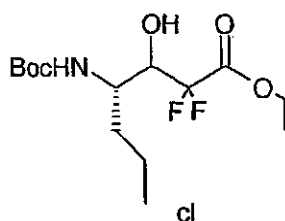
15 A una solución en THF (85 ml) de N-Boc-Nva-OH (compuesto 1) (8,68 g, 40 mmol) se le añadió CDI (7,79 g, 48 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La solución anterior se trató con una solución en DMF (25 ml) que contenía clorhidrato de N,O-dimetil-hidroxilamina (4,25 g, 44 mmol) y DIPEA (7,66 ml, 44 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo resultante se diluyó con EtOAc (300 ml). Esta solución se lavó secuencialmente con HCl 0,1 N (50 ml), NaHCO₃ saturado (3 x 50 ml) y salmuera. La fase orgánica se concentró para producir un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 40 %/Hexanos) para dar el compuesto cxxi (9,38 g, 94 %).

Ejemplo Intermedio 146 - Compuesto cxxii

20 A una solución en Et₂O dietílico (50 ml) del compuesto cxxi (9,38 g, 31,9 mmol) enfriada a 0 °C se le añadió (lentamente) LAH (34,7 ml, 1 M, 34,7 mmol). La temperatura del matraz de reacción se mantuvo por debajo de 5 °C durante la adición de LAH. Después de que se completara la adición, se añadió EtOAc (20 ml) a la reacción para inactivar el exceso de LAH. Después, se añadió gota a gota KHSO₄ acuoso (5 %, 20 ml) para mantener la temperatura por debajo de 5 °C. La fase orgánica se separó y después se lavó secuencialmente con HCl 1 N (3 x 30 ml), NaHCO₃ saturado (3 x 30 ml) y salmuera. La fase orgánica se concentró al vacío y se secó para producir el compuesto cxxii en bruto (5,18 g, 69 %).

Ejemplo Intermedio 147 - Compuesto cl

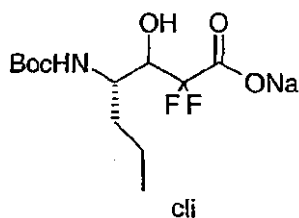
30 A una suspensión en THF (25 ml) de Zn (2,75 g, 42 mmol) se le añadieron a reflujo 0,2 ml de EtOC(O)CF₂Br. A esto le siguió la adición lenta de una solución en THF (25 ml) del compuesto cxxii (3,05 g, 15,0 mmol) y EtOC(O)CF₂Br (4,84 ml, 37,5 mmol). Después de que se completara la adición de ambos reactivos, la mezcla se sometió a reflujo adicionalmente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con DCM (200 ml). La fase orgánica se lavó con KHSO₄ 1 N. La fase orgánica se concentró y se secó al vacío para producir un residuo que se purificó por cromatografía del gel de sílice (EtOAc al 20 %/Hexano) para producir el compuesto cl (2,78 g, 57 %).



Esta preparación es esencialmente igual a la descrita por Thaisrivongs y col., J. Med. Chem., 29, 2080-2087 (1986),

Ejemplo Intermedio 148 - Compuesto cli

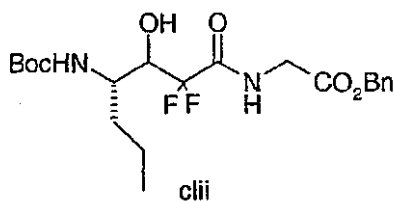
- 5 Una solución en THF (40 ml) del compuesto cli (2,78 g, 8,53 mmol) se trató con NaOH 1 N (12,8 ml, 12,8 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente una noche, el disolvente se retiró parcialmente al vacío. La mezcla de reacción restante se diluyó con agua (50 ml) y se liofilizó para producir el compuesto cli (2,82 g, >100 %) en forma de su sal de sodio.



Esta preparación es esencialmente igual a la descrita por Thaisrivongs y col., J. Med. Chem., 29, 2080-2087 (1986),

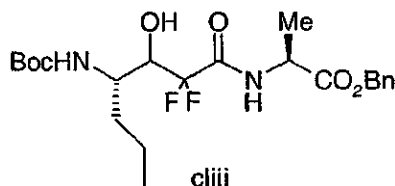
10 Ejemplo Intermedio 149 - Compuesto clii

- 15 Una solución en DCM (10 ml) del compuesto cli en bruto (516 mg, 1,61 mmol) se trató con HOBT (436 mg, 3,23 mmol) y DIC (0,328 ml, 2,09 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se trató con una solución en DCM (5 ml) que contenía benciléster de glicina-sal TsOH (815 mg, 2,42 mmol) y DIPEA (0,422 ml, 2,42 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, la mezcla de reacción se detuvo con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó y se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 40 %/hexanos) para producir el compuesto clii (495 mg, 69 %). RMN ¹H del compuesto clii (400 MHz, CDCl₃) δ 7,29-7,21 (m, 5H), 5,16, (s a, 2H), 4,89, (s a, 1H), 4,20-3,90 (m, 4H), 3,80, (s a, 1H), 1,75-1,42 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 0,87 (m, 3H).



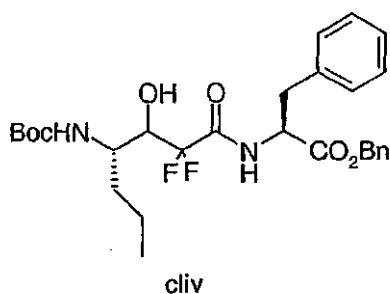
- 20 Partiendo del compuesto cli en bruto, se prepararon los compuestos cliii (83 %) y cliiv (50 %) mediante un procedimiento idéntico al descrito para el compuesto clii.

RMN ¹H del compuesto cliii (400 MHz, CDCl₃) δ 7,49 (s, 1H), 7,34-7,24 (m, 5H), 5,13 (AB c, J = 12,2 Hz, J' = 23,9 Hz, 2H), 4,88 (d a, J = 8,8 Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 1,65-1,20 [m, 16H, incluyendo un singlete a 1,37 (9H)], 0,86 (t, J = 7,3 Hz, 3H).



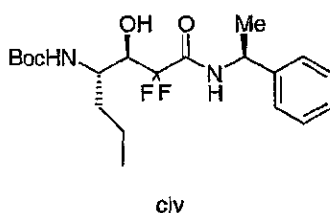
25

RMN ^1H del compuesto Cliv (400 MHz, CDCl_3) δ 7,60-7,0 (m, 10H), 5,30-5,00 (m, 2H), 5,00 - -4,75 (m, 2H), 4,15 - -3,70 (m, 3H), 3,30-3,00 (m, 2H), 1,75-1,20 [m, 13H, incluyendo un singlete a 1,36 (9H)], 0,86, (s a, 3H).



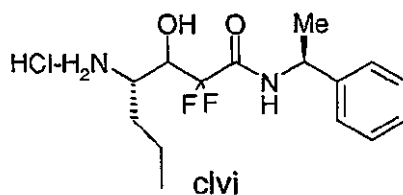
Ejemplo Intermedio 150 - Compuesto cliv

- 5 A una solución en DCM (10 ml) y THF (5 ml) del compuesto cli en bruto (1 g, 3,13 mmol) se le añadió HOBt (634 mg, 4,69 mmol) y EDCI (781 mg, 4,07 mmol) y después (s)- α -metilbencilamina (0,604 ml, 4,69 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente y después se inactivó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con Na_2SO_4 . La fase orgánica se concentró al vacío para producir un residuo que se purificó por cromatografía del gel de sílice (EtOAc al 20 %/Hexanos) para producir el compuesto clv (459 mg, 37 %). RMN ^1H del compuesto clv (400 MHz, CDCl_3) δ 7,32-7,21 (m, 6H), 5,00 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 1,65-1,15 [m, 16H, incluyendo doblete a 1,51 (J = 6,8 Hz, 3H), singlete a 1,39 (9H)], 0,82 (m, 3H).

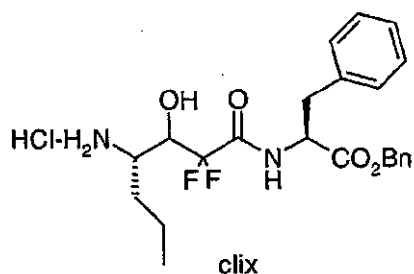
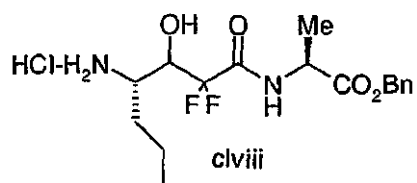
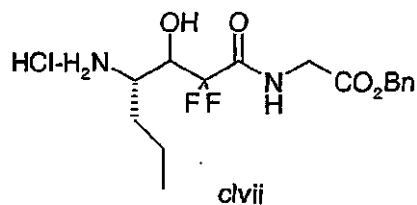


Ejemplo Intermedio 151 - Compuesto clvi

- 15 El compuesto clv (220 mg, 0,55 mmol) se disolvió en HCl 4 N en dioxano (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y después se concentró al vacío para dar el compuesto en bruto clvi (~100 %) en forma de su sal de HCl.

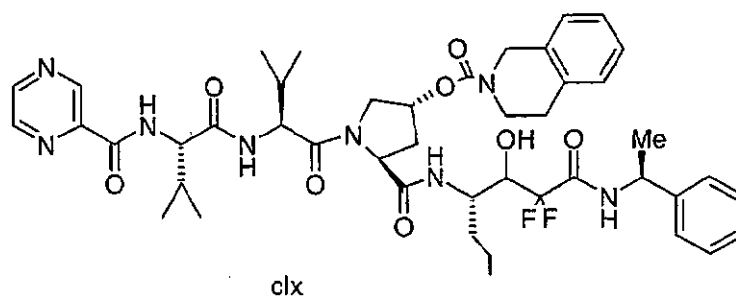


- 20 Siguiendo el procedimiento descrito para preparar el compuesto clvi, los compuestos clvii, clviii y clix se prepararon con un rendimiento prácticamente cuantitativo a partir del compuesto en bruto cli.



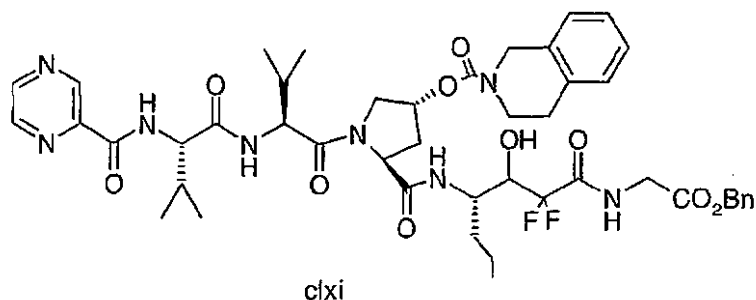
Ejemplo Intermedio 152 - Compuesto clx

Una solución en DCM (4 ml) del la sal de HCl del compuesto cli (96 mg, 0,144 mmol) se trató con PyBOP (120 mg, 0,23 mmol) y DIPEA (0,1 ml, 0,576 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La solución se trató con una solución de THF (4 ml) que contenía el compuesto clv (0,288 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 1,152 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (50 ml) y después la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ salmuera. La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía del gel de sílice (EtOAc al 80 %/Hexanos) para producir el compuesto clx (113 mg, 89 %).



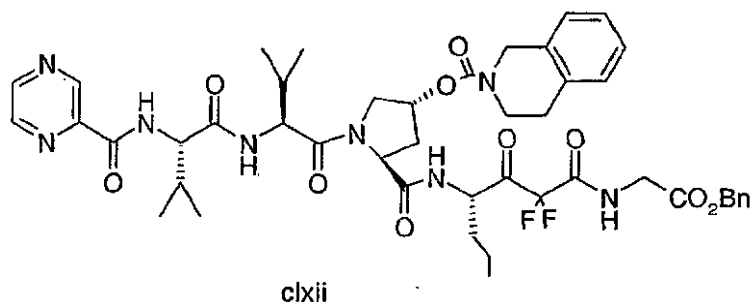
Ejemplo Intermedio 153 - Compuesto clxii

Una solución en DCM (6 ml) del compuesto vii (140 mg, 0,235 mmol) se trató con PyBOP (196 mg, 0,376 mmol) durante 30 minutos. Después, se añadió una solución en THF (6 ml) del compuesto clvii (~0,47 mmol) y DIPEA (0,327 ml, 1,88 mmol) a la solución anterior. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y se detuvo con agua (30 minutos). La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (50 ml). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ y salmuera. Las fases acuosas combinadas se extrajeron de nuevo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80-100 %/Hexanos) para proporcionar el compuesto clxi (104 mg, 48 %).



Ejemplo Intermedio 154 - Compuesto clxii

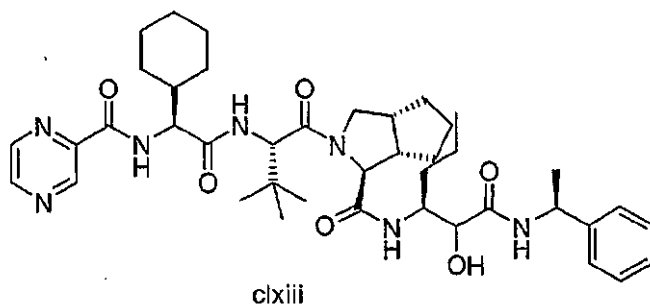
5 A una solución en DCM (10 ml) del compuesto clxi (280 mg, 0,304 mmol) se le añadió reactivo DMP (193 mg, 0,456 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se inactivó con Na_2SO_3 . La fase orgánica se lavó con NaHCO_3 y salmuera. La fase orgánica resultante se secó y se concentró al vacío para producir un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 80-100 %/hexanos) para producir el compuesto clxii (271 mg, 97 %).



Ejemplo Intermedio 155 - Compuesto clxiii

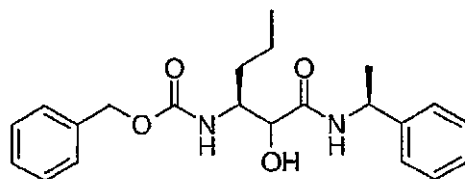
10 El compuesto lxxxiii (220 mg, 0,43 mmol) se recogió en DCM (5 ml). Después, se añadió PyBOP (270 mg, 0,51 mmol) a la solución en DCM y se agitó durante 5 minutos. El compuesto xxxvi' (0,51 mmol) en THF (5,1 ml) se añadió gota a gota a esta solución. Se añadió DIPEA (0,09 ml, 0,51 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó durante una noche en una atmósfera de N_2 . Al día siguiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO_3 saturado, se lavó con salmuera. La purificación con gradientes de EtOAc del 70 % al 90 % /Hexano produjo el compuesto clxiii (180 mg, 56 %).

15



Ejemplo Intermedio 156 - Compuesto clxiv

20 El compuesto cxxv (2,09 g, 7,4 mmol) se recogió en DCM (20 ml). Después, se añadieron PyBOP (4,64 g, 8,9 mmol) y HOBT (1,2 g, 8,9 mmol) a esta solución y se agitó durante cinco minutos. La mezcla resultante se disminuyó a 0 °C, momento en el que se añadieron S(-)- α -metilbenzamida (1,15 ml, 8,9 mmol) y DIPEA (1,55 ml, 8,9 mmol). La reacción se agitó durante una noche con calentamiento a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó con HCl 0,1 N, NaHCO_3 sat. y salmuera. La purificación con EtOAc al 30 %/hexanos produjo el compuesto clxiv (1,6 g, 56,3 %).



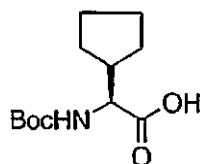
clxiv

Ejemplo Intermedio 157 - Compuesto xxxvi

5 El compuesto clxiv (1,48 g, 3,8 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (300 mg) en MeOH (50 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de H₂. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró para producir el compuesto xxxvi' (895 mg, 94,2 %).

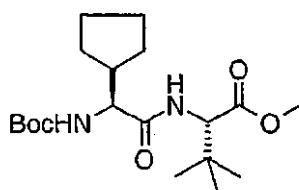
Ejemplo Intermedio 158 - Compuesto clxvi:

A una solución en DCM (15 ml) del compuesto clxiv (2 g, 8,2 mmol) se le añadió HOAt (1,34 g,



clxv

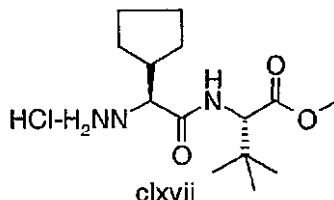
10 9,84 mmol) y DCC (9,84 ml, 1 M, 9,84 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, se añadió una solución de THF (9,84 ml) que contenía clorhidrato de éster metílico de *tert*-L-Leucine (9,84 mmol) y DIPEA (1,72 ml, 9,84 mmol) a la solución anterior. Después, se añadió DMAP (1 g, 8,2 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Siguiendo un tratamiento acuoso convencional y cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 20 %/Hexanos), se obtuvo el compuesto clxvi (1,75 g, 58 %).



clxvi

15 Ejemplo Intermedio 159 - Compuesto clxvii:

A una solución en THF (35 ml) del compuesto clxvi (1,75 g, 4,73 mmol) se le añadió una solución 4 N de HCl en dioxano (11,8 ml, 47,3 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. En ese momento, el disolvente se retiró a presión reducida para producir clxvii en bruto (~100 %), que se redisolvió en DMF y se usó directamente en la siguiente reacción.

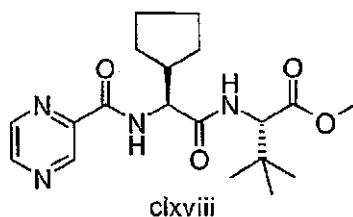


clxvii

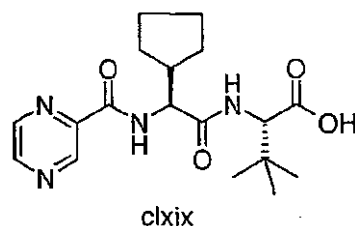
20

Ejemplo Intermedio 160 - Compuesto clxviii:

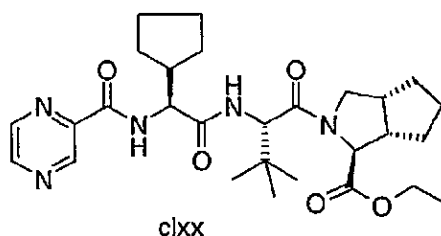
25 A una solución en DCM (15 ml) que contenía ácido 2-pirazincarboxílico (447 mg, 3,6 mmol), PyBOP (1,87 g, 3,6 mmol) se le añadió una solución en DMF (15 ml) del compuesto clxvii (811 mg, 3 mmol). Después, a la mezcla resultante se le añadió DIPEA (0,63 ml, 3,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente y después se inactivó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera y se concentró al vacío para dar un residuo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 40 %/hexanos) para producir el compuesto clcviii (0,93 g, 82 %).

**Ejemplo Intermedio 161 - Compuesto clxix:**

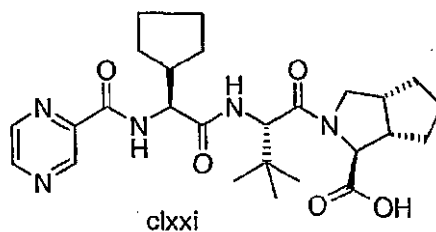
5 A una solución en MeOH (10 ml) del compuesto clxviii (0,93 g, 2,47 mmol) se le añadió NaOH 2 N (3,71 ml, 7,41 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, la reacción se acidificó a pH 3 usando HCl 1 N. La reacción se diluyó con EtOAc (75 ml) y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica así obtenida se secó y se concentró al vacío para dar el compuesto clxix (~100 %).

**Ejemplo Intermedio 162 - Compuesto clxx:**

10 Una solución en DCM (10 ml) del compuesto clxix (2,47 mmol) se trató con HOAt (436 mg, 3,21 mmol) y DCC (3,2 ml, 1 M, 3,2 mmol). Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución en THF (13,6 ml) del compuesto v (499 mg, 2,72 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente una noche, los sólidos de color blanco (urea) se filtraron. Los filtrados se concentraron al vacío para dar una resina que se purificó por cromatografía de gel de sílice para dar el compuesto clxx (0,99 g, 76 %).

**Ejemplo Intermedio 163 - Compuesto clxxi:**

15 Una solución en EtOH (20 ml) del compuesto clxx (0,99 g, 1,88 mmol) se trató con NaOH 2 N (2,81 ml, 5,63 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente una noche, la mezcla de reacción se acidificó a pH 3 con HCl 1 N. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (75 ml). La fase orgánica se secó y se concentró al vacío para dar el compuesto clxxi (772 mg, 82 %).

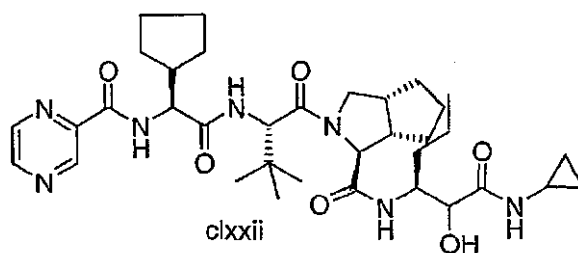


20

Ejemplo Intermedio 164 - Compuesto clxxi:

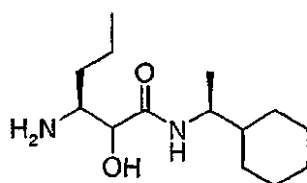
25 Una solución en DCM (10 ml) del compuesto clxxi (290 mg, 0,58 mmol) se trató con PyBOP (484 mg, 0,93 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos. La mezcla de reacción se trató con una solución en THF (7,5 ml) del compuesto xiii (140 mg, 0,75 mmol), se siguió de DIPEA (0,13 ml, 0,75 mmol). Después de agitar durante una noche a temperatura ambiente, la reacción se detuvo con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica

resultante se lavó con salmuera y se secó y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 5 %/EtOAc) para proporcionar 290 mg del compuesto clxxii (75 %).

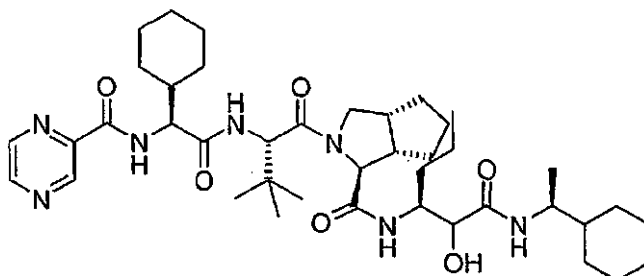


Ejemplo Intermedio 165 - Compuesto clxxiv:

- 5 El compuesto lxxiii (600 mg, 1,17 mmol) se recogió en DCM (4 ml). Se añadió PyBOP (670 mg, 1,3 mmol), se agitó durante cinco minutos y se enfrió a 0 °C. El compuesto clxxiii (333 mg, 1,3

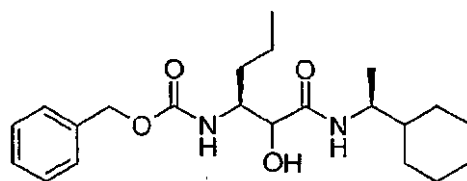


- 10 mmol) en THF (13 ml) se añadió gota a gota a esta solución. Se añadió DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol) a la mezcla de reacción y se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación durante dos noches. Al día siguiente, la reacción se concentró y se purificó por EtOH al 2 %/EtOAc para dar el compuesto en bruto clxxiv (900 mg, exceso de 100 %).



Ejemplo Intermedio 166 - Compuesto clxxvi:

- 15 El compuesto cxxv (3,01 g, 10,7 mmol) se recogió en DCM (30 ml) y la temperatura se disminuyó a -78 °C. Se añadieron PyBOP (6,1 g, 11,7 mmol) y HOBT (1,58 g, 11,7 mmol) a esta solución, seguido de (S)-(+)-1-ciclohexiletamina, el compuesto clxxv, (1,74 ml, 11,7 mmol) y DIPEA (2,1 ml, 11,7 mmol). La mezcla resultante se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con HCl 0,1 N, NaHCO₃ saturado y salmuera. El producto se purificó en EtOAc al 40 %/Hex para dar 2 g (47,8 %) del compuesto clxxvi.

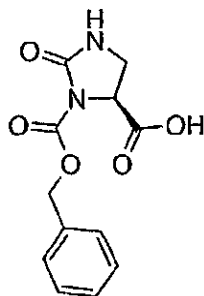


Ejemplo Intermedio 167 - Compuesto clxxiii:

El compuesto clxxvi (2 g, 5,13 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (500 mg) en MeOH (40 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de H₂. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró para producir el compuesto clxxiii (1,31 g, 99,8 %).

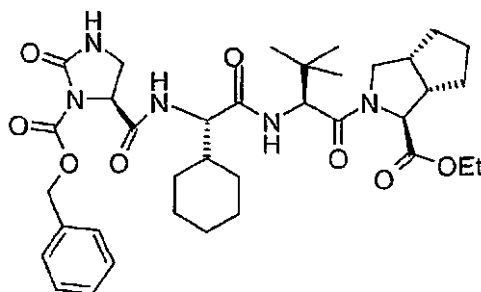
5 **Ejemplo Intermedio 168 - Compuesto clxxix:**

En un matraz de fondo redondo, en una atmósfera inerte, el compuesto clxxvii [1-bencil éster del ácido (S)-(-)-2-oxo 1,5



clxxvii

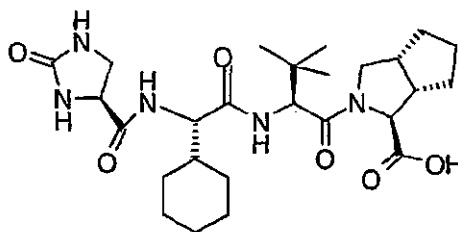
imidazolin dicarboxílico] (290 mg, 1,1 mmol) se disolvió en DMF anhidra (6 ml). HOAt (151 mg, 1,2 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 25 minutos. La reacción se enfrió en un baño de hielo. Después, se añadió DIC (0,2 ml, 0,16 g, 1,2 mmol), seguido de la adición del compuesto clxxviii (1 mmol, 435 mg) en DMF anhidra (4 ml). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 2 días. Después, la reacción se vertió en un embudo de separación que contenía 120 ml de EtOAc y se lavó 2 x con HCl 1 N (50 ml) y 1 x salmuera. La fase orgánica se separó, se secó con MgSO₄, El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (carga en DCM y eluido con EtOAc al 30 % después 50 %/DCM, después MeOH al 2 %/EtOAc) para producir el producto clxxix (434 mg, 64 %).



clxxix

Ejemplo Intermedio 169 - Compuesto clxxx:

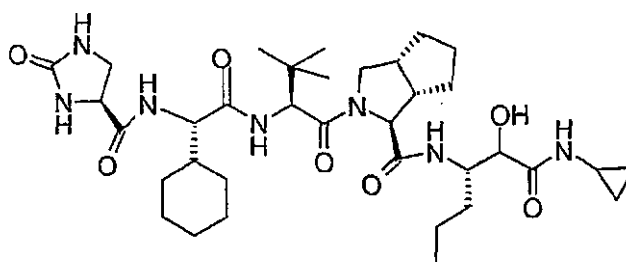
20 El material de partida, clxxix (434 mg, 0,64 mmol) se disolvió en dioxano (6 ml) y una solución acuosa 0,5 M de NaOH (4 ml, 3 equiv.). Se dejó proceder la reacción durante una noche. El análisis TLC en EtOAc al 100 % (usando tinción con PMA) mostró, además del producto de ácido esperado en principio, un producto de realización más rápida. La mezcla de reacción se acidificó a pH 2 con HCl 1 N y después se extrajo 2 x con EtOAc. Se añadió NaCl sólido a la solución acuosa para facilitar la extracción. Después, los extractos se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se evaporaron a presión reducida. La EM indicó que el grupo CBZ se retiró por la hidrólisis. El compuesto resultante clxxx (rendimiento cuantitativo) se usó como tal en la siguiente etapa.



clxxx

Ejemplo Intermedio 170 - Compuesto clxxx:

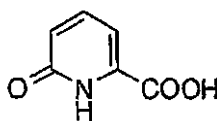
5 En un matraz de fondo redondo, en una atmósfera inerte, el compuesto clxxx (279 mg, 0,54 mmol) se disolvió en DMF anhidra (6 ml). Se añadió HOAt (82 mg, 0,65 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 25 minutos. La reacción se enfrió en un baño de hielo. Después, se añadió DIC (0,11 ml, 0,65 mmol), seguido de la adición del compuesto xiii' (0,7 mmol) en DMF anhidra (4 ml). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 21 horas. Después, la reacción se vertió en un embudo de separación que contenía 120 ml de EtOAc y se lavó 2 x con HCl 1 N (50 ml) y 1 x salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄. El disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se limpió por cromatografía sobre gel de sílice (carga en DCM y se eluyó con EtOAc al 50 %/Hexano, después MeOH al 3 %/EtOAc, después EtOH al 20 %/EtOAc). Después de la retirada del disolvente, El residuo se redisolvió en Dri Solv THF y se retiró para retirar cualquier cantidad de gel de sílice. Después, la retirada del disolvente produjo el compuesto clxxxi (434 mg, rendimiento del 64 %).



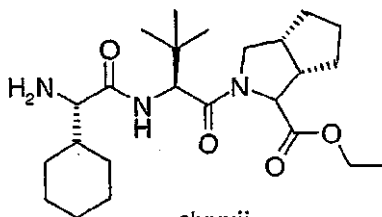
clxxxi

Ejemplo Intermedio 171- Compuesto clxxxvii:

15 En un matraz de fondo redondo, en una atmósfera inerte, se disolvió 6-hidroxi picolinico



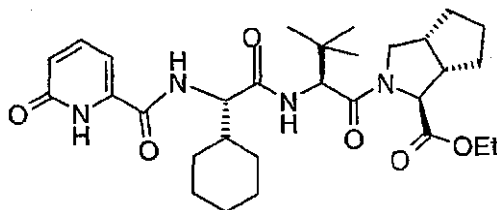
(153 mg, 1,1 mmol) en DMF anhidra (6 ml). Después, se añadió HOAt (151 mg, 1,2 mmol) y después la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 25 minutos. La reacción se enfrió en un baño de hielo. Después, se añadió DIC (0,2 ml, 0,16 g, 1,2 mmol), seguido de la adición del compuesto clxxxii (1,0 mmol, 435 mg) en DMF anhidra (4 ml). La



clxxxii

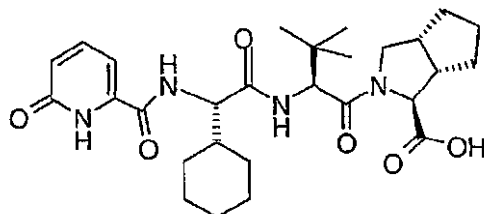
20 reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 2 días. Después, la reacción se vertió en un embudo de separación que contenía 120 ml de EtOAc y se lavó 2 x con HCl 1 N (50 ml) y 1 x con salmuera. La fase orgánica se separó, se secó con MgSO₄, El disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (carga en DCM, eluido con 30 %, después 50 % de EtOAc/DCM y después 2 % de

MeOH/EtOAc) para producir el compuesto clxxxiii recogido (314 mg, 56 %).



Ejemplo Intermedio 172 - Compuesto clxxxiv:

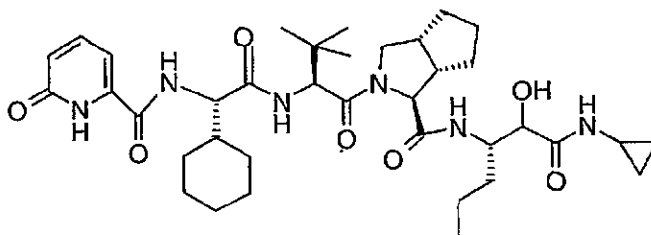
5 El material de partida clxxxiii (314 mg, 0,56 mmol) se disolvió en dioxano (5 ml) y NaOH 0,5 M (3,4 ml, 3 equiv.). Se dejó proceder la reacción durante una noche. El análisis TLC en EtOAc al 100 % (usando UV) mostró la conversión completa en el producto ácido de realización lenta en el origen. La reacción se acidificó a pH 2 con HCl 1 N y después se extrajo 2 x con EtOAc. Se añadió NaCl sólido al extracto acuoso para facilitar la extracción. Después, los extractos se combinaron, se secó con MgSO₄ y después se evaporaron a presión reducida para producir el compuesto clxxxiv (0,5 mmol, 89 %) que se usó como tal en la siguiente etapa.



clxxxiv

Ejemplo Intermedio 173 - Compuesto clxxxv:

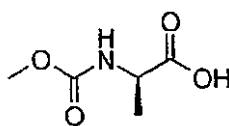
15 En un matraz de fondo redondo, en una atmósfera inerte, el compuesto de ácido clxxxiv (265 mg, 0,5 mmol) se disolvió en DMF anhidra (6 ml). HOAT (75,6 mg, 0,6 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 25 minutos. La reacción se enfrió en un baño de hielo. Después, se añadió DIC (0,1 ml, 0,6 mmol), seguido de la adición del compuesto xiii' (0,65 mmol) en DMF anhidra (4 ml). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 21 horas. Después, la reacción se vertió en un embudo de separación que contenía EtOAc (120 ml) y se lavó 2 x con HCl 1 N (50 ml) y 1 x con salmuera. La fase orgánica se separó, se secó con MgSO₄, El disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (carga en DCM, eluido con EtOAc al 50 %/Hexano, después EtOAc puro y después MeOH al 4 %/EtOAc) para producir el compuesto del título clxxxv (185 mg, 52 %).



clxxxv

Ejemplo Intermedio 174 - Compuesto cxxxiv':

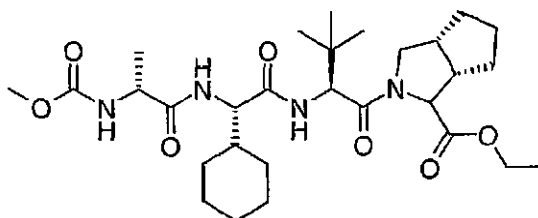
25 A una solución de D-alanina (5 g, 56,1 mmol) en NaOH 1 N (152 ml, 152 mmol) a 0 °C se le añadió una solución de MeOC(O)Cl (6,5 ml, 84,2 mmol) en éter dietílico (30 ml). La mezcla se agitó en un baño de hielo durante 3 horas y después se ajustó a pH 9 con NaOH 1 N. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla se lavó con éter (3 x 50 ml), se acidificó a pH ~2 con HCl 5 N, se extrajo con EtOAc (5 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con agua, salmuera y después se secó (MgSO₄). El disolvente se retiró al vacío para producir el compuesto cxxxiv', N-metoxicarbonil-D-alanina, en forma de un aceite incoloro (6,48 g, 79 %).



clxxxiv

Ejemplo Intermedio 175 - Compuesto clxxxvi:

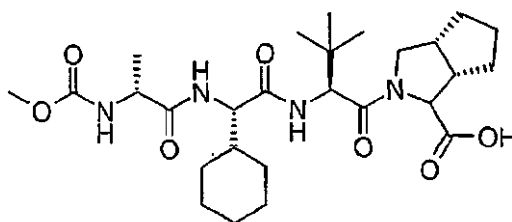
5 A una solución de N-metoxicarbonil-D-alanina (0,193 g, 1,31 mmol) y HOAt (0,177 g, 1,31 mmol) en DCM (10 ml) enfriada en un baño de hielo se le trató con DCC (1,31 ml, 1,31 mmol). Después de agitar en un baño de hielo durante 0,5 horas, se añadió una solución del compuesto clxxxii preparado (0,88 mmol) en THF (8,8 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante una noche, después se enfrió en un baño de hielo y se inactivó con una solución saturada de NaHCO₃. El precipitado se filtró y el filtrado se recogió en EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, salmuera y después se secó (MgSO₄). Después de la retirada del disolvente, el residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (EtOAc al 60 %/Hexano) para proporcionar el compuesto clxxxvi en forma de una espuma gomosa (0,321 g, 68 %).



clxxxvi

Ejemplo Intermedio 176- Compuesto clxxxvii:

15 A una solución del compuesto clxxxvi (0,321 g, 0,597 mmol) en EtOH (5 ml) a 5 °C se le añadió NaOH 2 N (1,05 ml, 2,1 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución se acidificó a pH ~2 con HCl 1 N y el EtOH se retiró por evaporación rotatoria. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml) y el extracto combinado se lavó con salmuera y después se secó (MgSO₄). El disolvente se retiró y el residuo se secó al vacío para producir el compuesto clxxxvii en forma de una espuma gomosa (0,235 g, 77 %).



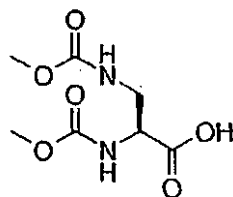
clxxxvii

Ejemplo Intermedio 177 - Compuesto clxxxviii:

20 Una solución del compuesto clxxxvii (0,363 g, 0,712 mmol) en DCM (10 ml) se enfrió en un baño de hielo y se trató con PyBOP (0,594 g, 1,14 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 0,5 hora, la mezcla se enfrió en un baño de hielo y se trató con una solución del compuesto xiii' (1,1 mmol) en THF (11 ml) y DIPEA (0,249 ml, 1,42 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y se inactivó con una solución de NH₄Cl. El disolvente se concentró y la mezcla se recogió en EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, salmuera y después se secó (MgSO₄). Después de la retirada del disolvente, el residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOH al 5 %/EtOAc) para dar clxxxviii (0,341 g, 71 %).

Ejemplo Intermedio 178 - Compuesto clxxxix:

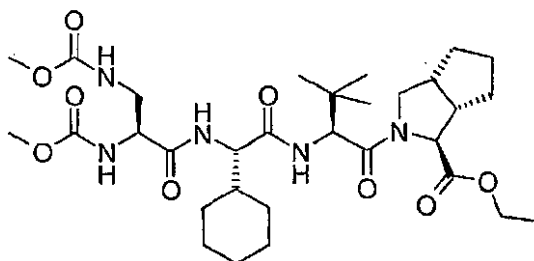
30 Se recogió ácido diaminopropiónico (3 g, 28,7 mmol) en NaOH 1 M (86,2 ml, 86,2 mmol) y se enfrió a 0 °C y después se añadió MeOC(O)Cl (5,54 ml, 71,75 mmol) en Et₂O (25 ml). La mezcla resultante se agitó durante una noche calentando a temperatura ambiente. El pH de la mezcla de reacción se disminuyó a 2 y la fase acuosa se extrajo 3 x con EtOAc. Los extractos se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para producir el compuesto clxxxix (3,09 g, 48,9 %).



clxxxix

Ejemplo Intermedio 179 - Compuesto cc:

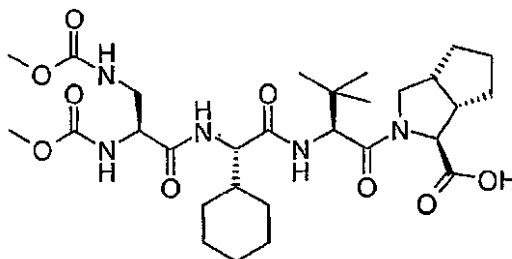
5 El compuesto clxxxix (340 mg, 1,55 mmol) se recogió en DCM (4 ml). Se añadieron DCC (1,7 mmol) y HOAt (235 mg, 1,7 mmol), seguido del compuesto clxxxii (1,7 mmol) en DCM (3,4 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de sílice y se concentró. La purificación se consiguió en EtAc al 75 %/Hex para dar el compuesto clxxxx (715 mg, 72,4 %).



clxxxx

Ejemplo Intermedio 180 - Compuesto clxxxixi:

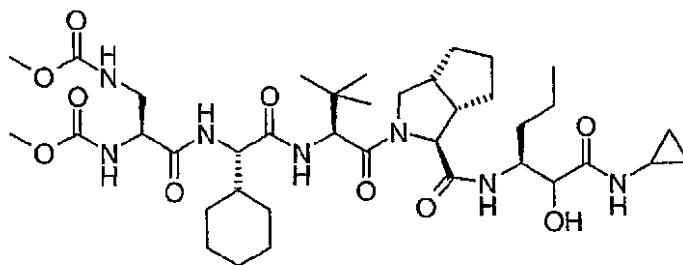
10 El compuesto clxxxx (715 mg, 1,12 mmol) se hidrolizó en condiciones convencionales usando EtOH (4 ml) y NaOH 1 N (3 equi.v) para producir el compuesto clxxxixi (600 mg, 88,0 %).



clxxxixi

Ejemplo Intermedio 181- Compuesto clxxxii:

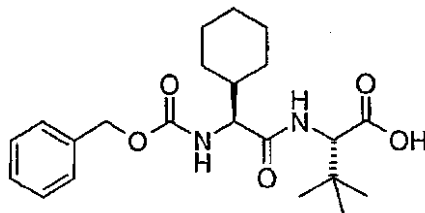
15 El compuesto clxxxixi (550 mg, 0,9 mmol) se recogió en DCM (8 ml). Se añadió PyBOP (675 mg, 1,3 mmol), seguido del compuesto xiii' (1,3 mmol) en THF (1,3 ml). Se añadió DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol) y la solución resultante se agitó durante una noche. Al día siguiente, la reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO₃ saturado y después salmuera, antes de concentrarse para producir un residuo. El residuo resultante se purificó con EtOH al 5 %/EtOAc para producir el compuesto clxxxii (290 mg, 41,5 %).



clxxxii

Ejemplo Intermedio 182 - Compuesto clxxxiii:

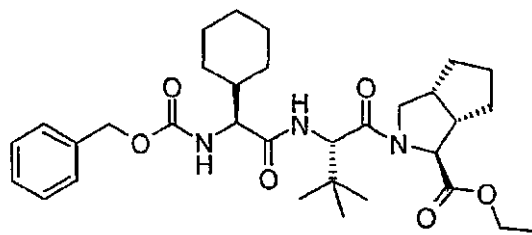
Se hidrolizó éster metílico de Cbz-ciclohexilglicina-*terc*-leucina (7,36 g, 17,6 mmol) en condiciones convencionales usando MeOH (60 ml) y NaOH 1 N (52,8 ml, 3 equiv.) para producir el intermedio clxxxiii (92 %).



clxxxiii

5 Ejemplo Intermedio 183 - Compuesto clxxxiv:

El compuesto clxxxiii (3,82 g, 9,46 mmol) se recogió en DCM (30 ml). Se añadió DCC (11,35 mmol) en DCM (11,35 ml), seguido de la adición de HOAt (1,54 g, 11,35 mmol). La mezcla resultante se agitó durante cinco minutos y se añadió el compuesto v (9,46 mmol) en THF (40 ml). La mezcla resultante se agitó durante la noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con HCl 1 N, NaHCO₃ saturado y después salmuera, antes de concentrarse para producir un residuo. El residuo resultante se purificó con un gradiente del 20 % al 30 % sobre sílice para dar el compuesto clxxxiv (3,03 g, 56,3 %).



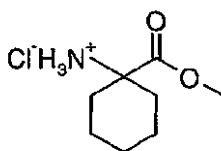
clxxxiv

Ejemplo Intermedio 183- Compuesto clxxxii:

El compuesto clxxxiv (3,03 g, 5,33 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (500 mg) en MeOH (30 ml) en una atmósfera de H₂ durante 4 horas para producir el compuesto clxxxii (2,3 g, 99 %).

Ejemplo Intermedio 184 - Compuesto clxxxv:

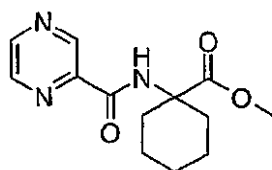
A una solución de ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (2,86 g, 20 mmol) en MeOH (40 ml) se le añadió gota a gota SOCl₂ (3 ml) a 0 °C. La mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente y después se sometió a reflujo durante 5 horas. Después, se añadió Et₂O a la solución transparente y se aisló el precipitado. El sólido se secó adicionalmente con clxxxv (95 %) en forma de un polvo de color blanco.



clxxxv

Ejemplo Intermedio 185 - Compuesto clxxxvi:

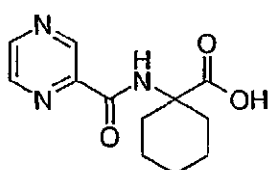
Se disolvió ácido 2-pirazincarboxílico (1 g, 8 mmol, 1 equiv.) en DCM (15 ml) con la adición de HOAt (1,1 g, 8 mmol) y DCC (8 ml, 1 M) en DCM. Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, el compuesto clxxxv (1,3 g, 8 mmol) se añadió a la mezcla activada. A continuación, se añadió DIPEA (2 ml, 12 mmol), seguido de DMAP (1,5 g, 12 mmol). Tras agitar durante 3 días a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se concentró y el producto deseado clxxxvi se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 50 %/hexano) en forma de un aceite de color amarillo (2,1 g, 100 %).



clxxxvi

Ejemplo Intermedio 186- Compuesto clxxxvii:

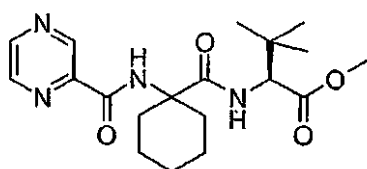
5 El compuesto clxxxvi (1,06 g, 2,6 mmol) se disolvió en MeOH (30 ml) con la adición de NaOH 2 N (ac.) (12 ml, 24 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante una noche antes de que la TLC (EtOAc al 50 %/hexano) indicara la hidrólisis completa. Después, la solución se acidificó a pH 3 con HCl 5 N y se diluyó con EtOAc, seguido de extracción de la fase orgánica. A continuación, la fase orgánica se lavo con salmuera y se secó sobre MgSO₄ para producir el compuesto clxxxvii (84 %) después de concentración.



clxxxvii

Ejemplo Intermedio 187 - Compuesto clxxxviii:

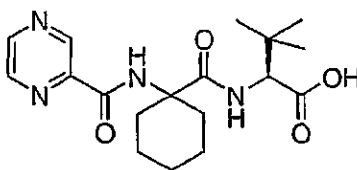
10 El compuesto clxxxvii (1,6 g, 6,4 mmol) se disolvió en DCM (18 ml) y después se añadieron HOAt (0,96 g, 7 mmol) y DCC (7 ml, 1 M in DCM) posteriormente a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadió clorhidrato de éster metílico de L-*tert*-leucina (7 ml, 1 M in THF) a la mezcla activada. A continuación, se añadió DIPEA (1,2 ml, 7 mmol), seguido de DMAP (1,2 g, 9,8 mmol). Tras agitar durante 3 días a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se purificó por cromatografía en columna y se concentró para producir el compuesto clxxxviii (EtOAc 60 %/hexano) en forma de un sólido de color blanco (1,74 g, 72 %).



clxxxix

Ejemplo Intermedio 188 - Compuesto cic:

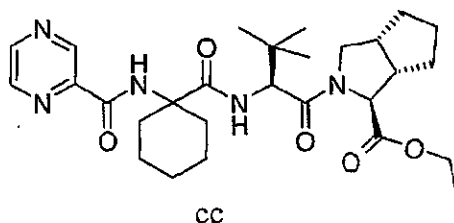
20 El compuesto clxxxviii (1,74 g, 4,6 mmol) se disolvió en MeOH (32 ml) con la adición de NaOH 2 N (ac.) (7 ml, 14 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante una noche antes de que la TLC (EtOAc al 50 %/hexano) indicara la hidrólisis completa. La solución se acidificó a pH 3 con HCl 5 N y se diluyó con EtOAc y después se extrajo la fase orgánica. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄ y se concentró para producir el compuesto cic (100 %).



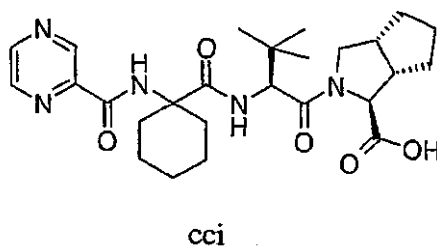
cic

Ejemplo Intermedio 189 - Compuesto cc:

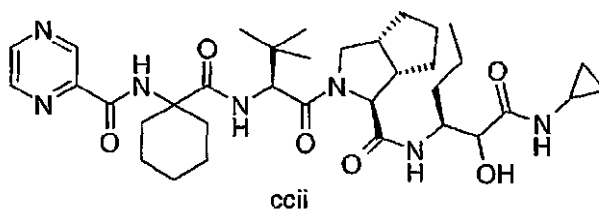
- 5 A una solución en DCM (15 ml) del compuesto cic (1,5 g, 4,1 mmol) a temperatura ambiente se le añadió HOAt (610 mg, 4,5 mmol), seguido de una solución 1 M de DCC en DCM (4,5 ml, 4,5 mmol). Tras agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, después, se añadió una solución en THF (20 ml, 0,2 M) del compuesto v (4 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, la reacción se filtró a través de celite. El filtrado se concentró para dar un aceite de color amarillo que se purificó por cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 50 %/hexano) para producir el compuesto cci (660 mg, 32 %).

**Ejemplo Intermedio 190 - Compuesto cci:**

- 10 A una solución en EtOH (6 ml) del compuesto cc (600 mg, 1,13 mmol) se le añadió NaOH 2 N (1,7 ml, 3,4 mmol). La reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, después se acidificó a pH 3 con HCl 5 N. Después, la mezcla se diluyó con EtOAc, seguido de extracción de la fase orgánica. Posteriormente, la fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄ para producir el compuesto cci (92 %) después de concentración.

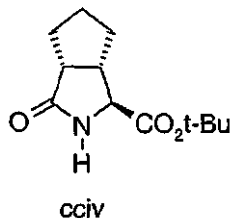
**15 Ejemplo Intermedio 191- Compuesto ccii:**

- A una solución en DCM (8 ml) de ccii (310 mg, 0,62 mmol) se le añadió PyBOP (420 mg, 0,8 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, a esta solución se le añadió el compuesto xiii' (8 ml, 0,1 M) en THF, seguido de la adición de DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se detuvo con agua (30 ml) durante 25 minutos. Después, la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica resultante se lavó con salmuera y después se secó sobre MgSO₄, antes de concentrarse para producir un aceite de color amarillo. La purificación por cromatografía de gel de sílice (EtOH al 3 %/EtOAc) produjo el compuesto ccii (140 mg, 33 %).
- 20

**Ejemplo Intermedio 192-Compound ccxiv**

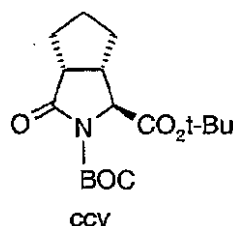
- 25 A una solución del compuesto cciii, éster de *tert*-butil (*N*-difenilmetileno)-glicina, (6 g, 0,0206 mmol) y PTC quiral (1,08 g, 0,0206 mmol) en DCM seco (48 ml), en una atmósfera de N₂, a -60 °C, se le añadió CsOH•H₂O (6,9 g, 0,0412 mmol). A la mezcla de reacción se le añadió gota a gota éster metílico de 1-carboxi-1-ciclopenteno (5,2 ml, 0,0412 mmol) en 10 ml de DCM. La mezcla se agitó durante 4 días a -60 °C, después se diluyó con 200 ml de Et₂O y se añadieron 15 ml de una solución acuosa saturada de NH₄Cl. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con 15 ml de agua y 15 ml de salmuera. Las fases acuosas se extrajeron con 100 ml de Et₂O. Las fases orgánicas se unieron y se secaron sobre Na₂SO₄. El producto en bruto se obtuvo por la retirada del disolvente disuelto en 100 ml de EtOH y después se añadieron NH₂OH•HCl (1,43 g, 0,0206 mmol) y NaOAc (1,68 g, 0,0206 mmol). La solución se sometió a reflujo durante 48 horas. Después, el disolvente se retiró y el residuo en bruto obtenido se purificó directamente por cromatografía
- 30

ultrarrápida, eluyendo con EtOAc al 30 % - 50 %/hexano para producir el compuesto cciv (65 %) en forma de un sólido de color blanco. $C_{12}H_{19}NO_3$ (PM = 225,29); EM: m/z ($M^+ + 1$) = 226,5. Exceso enantiomérico: 18 % ee, determinado por HPLC quiral.



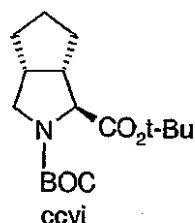
5 Ejemplo Intermedio 193 - Compuesto ccv

A una solución del compuesto cciv (2 g, 0,0088 mmol) en 60 ml de ACN se le añadió una cantidad catalítica de DMAP (0,216 g, 0,0017 mmol) y una solución de di-carbonato de di-*tert*-butilo (2,49 g, 0,011 mmol) en 30 ml de ACN. La mezcla se agitó durante 14 horas a temperatura ambiente, después se diluyó con 100 ml de DCM y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (10 ml) y con salmuera (10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 . La evaporación del disolvente produjo un producto en bruto que se purificó en una columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 15 %/hexano para dar el compuesto ccv (86 %) en forma de un sólido de color blanco. $C_{17}H_{27}NO_5$ PM = 325,40 EM: m/z ($M^+ + 1$) = 326,2



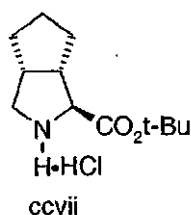
Ejemplo Intermedio 194 - Compuesto ccvi

A una solución del compuesto ccv (1,7 g, 0,0052 mmol) en 50 ml de THF (0,14 M) a $-78^\circ C$, se le añadió DIBAL-H (7,8 ml, 0,0078 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora, después se añadieron 10 ml de MeOH. La mezcla se diluyó con 25 ml de EtOAc y 25 ml de una solución acuosa saturada de tartrato sódico y después se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo una vez con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na_2SO_4 . La evaporación del disolvente dio un residuo en bruto que se usó sin ninguna purificación. El material en bruto se disolvió en 25 ml de DCM, Et_3Si (0,84 ml, 0,0052 mmol) se añadió y después la mezcla se enfrió a $-78^\circ C$ antes de la adición gota a gota de BF_3OEt_2 (0,71 ml, 0,0061 mmol). Después de 30 minutos, se añadieron Et_3Si (0,84 ml) y BF_3OEt_2 (0,71 ml) y la mezcla se agitó durante 2 horas a $-78^\circ C$. Después, la reacción se detuvo con $NaHCO_3$ acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con DCM (2 x 20 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na_2SO_4 . La evaporación del disolvente dio un residuo en bruto que se purificó por cromatografía ultrarrápida, eluyendo con EtOAc al 13 %/hexano para producir el compuesto ccvi (87 %). $C_{17}H_{29}NO_4$ PM = 311,42 EM: m/z ($M^+ + 1$) = 312,6



Ejemplo Intermedio 195 - Compuesto ccvii

El compuesto ccvi (0,5 g, 0,0016 mmol) se disolvió en 8 ml de HCl 1 N en EtOAc (preparado burbujeando HCl seco en EtOAc seco, diluyendo después a 1 N con más cantidad de EtOAc). La mezcla se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente. El disolvente se retiró al vacío y el precipitado resultante se disolvió en Et_2O . Después de agitar la mezcla durante 15 minutos, el disolvente se eliminó a presión reducida. El sólido de color blanco resultante se lavó con Et_2O y el compuesto ccvii (0,27 g, rendimiento del 80 %) se aisló por filtración. $C_{12}H_{21}NO_2$ PM 211,15 EM: m/z ($M^+ + 1$) = 212,6

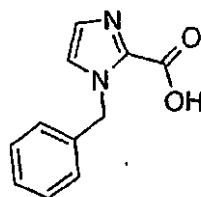


Ejemplo Intermedio 196 - Compuesto v

A una solución del compuesto ccxvi (0,230 g, 0.74 mmol) en DCM (3,7 ml) se le añadió TFA (2,85 ml). La mezcla se agitó durante una noche, el disolvente se retiró a sequedad al vacío y el residuo se disolvió en EtOH (7,5 ml). La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota SOCl₂ (0,22 ml, 2,96 mmol) y después se sometió a reflujo durante 2 horas. Se retiró EtOH a presión reducida y el residuo se disolvió en DCM (10 ml). La solución resultante se lavó dos veces con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (5 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se retiró al vacío para producir el compuesto v (80 %) en forma de un aceite. C₁₀H₁₇NO₂ P.M.:183,25 EM: m/z (M+ 1) = 184,2

10 Ejemplo Intermedio 197 - Compuesto cd

Se recogió 1-bencilimidazol (6 g, 37,9 mmol) en Et₂O (180 ml). La solución resultante se disminuyó a -60 °C y se trató con n-BuLi (1,6 M, 24 ml). La reacción se agitó durante 30 minutos y después se burbujeó CO₂ a través de la mezcla durante 15 minutos. El precipitado se filtró, se enjuagó con Et₂O y se recogió en H₂O. Esta solución acuosa se acidificó a pH 3 con HCl 5 N. El producto deseado, cd, se aisló después de liofilización en forma de un sólido de color blanco.

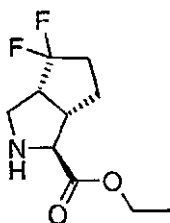


cd

15

Ejemplo Intermedio 198 - Compuesto cdi

Una solución en DCM (100 ml) del compuesto i (9,25 g, 27,9 mmol) se trató a 0 °C con DAST (9,2 ml, 69,8 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente una noche, la reacción se detuvo con agua enfriada con hielo y se extrajo con DCM (200 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera y se concentró al vacío. El residuo se purificó con cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 30 %/Hexanos) para proporcionar 8,5 g (86 %) del intermedio fluorado deseado. Una porción de este intermedio (4,5 g, 14,2 mmol) se disolvió en EtOH (75 ml). Esta solución se sometió a condiciones de hidrogenación convencionales Pd(OH)₂/C (2,98 g, contenido de Pd del 20 %, 4,26 mmol). Después de agitar durante una noche a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite. Los filtrados se concentraron al vacío para producir el compuesto cdi (2,5 g, 96 %).



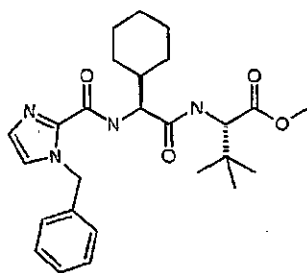
cdi

25

Ejemplo Intermedio 199 - Compuesto cdii

Una solución del compuesto cd (890 mg, 4,4 mmol) se recogió en DCM (5 ml). Se añadieron HOBt (595 mg, 4,4 mmol) y DCC (4,4 mmol, 1 M en DCM) y se agitaron durante 20 minutos. Una solución en DCM (15 ml) de lxxix' (990 mg, 3,5 mmol) se añadió a esta mezcla. La mezcla resultante se agitó durante una noche en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. La fase orgánica se concentró al vacío para dar un residuo, que se purificó con EtOAc al 30 %/Hexanos para producir el compuesto cdii (666 mg, 41 %).

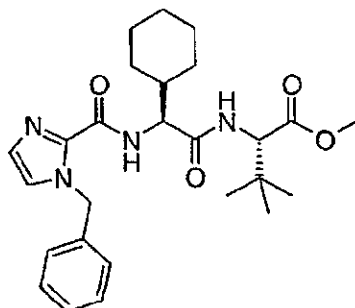
30



cdii

Ejemplo Intermedio 200 - Compuesto cdiii

El compuesto cdiii se preparó a partir del compuesto cdii en condiciones de hidrólisis convencionales usando alcohol metílico (10 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.). Se recuperaron 565 mg del compuesto cdiii (88 %).

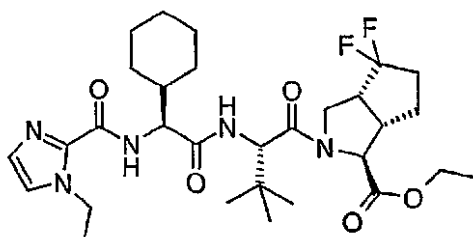


cdiii

5

Ejemplo Intermedio 201 - Compuesto cdiv

El compuesto cdiii (1,24 mmol) se recogió en DCM (5 ml). Se añadió DCC (1,6 mmol, DCM 1 M), seguido de HOAT (1,6 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 20 minutos y

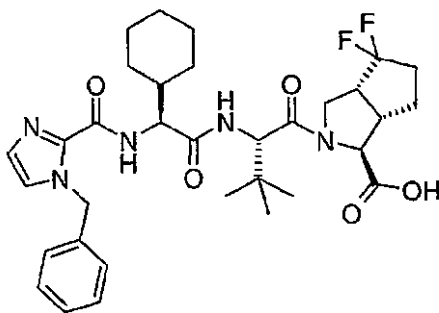


cdiv

- 10 se añadió gota a gota el compuesto cdi (1,6 mmol) en THF (8 ml). La reacción se agitó durante una noche. La reacción se filtró y se enjuagó con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ saturado, salmuera, se secó con MgSO₄ y se concentró. La purificación se consiguió en EtOAc al 30 %/Hexanos para producir el compuesto cdv (565 mg, 70 %).

Ejemplo Intermedio 202 - cdv

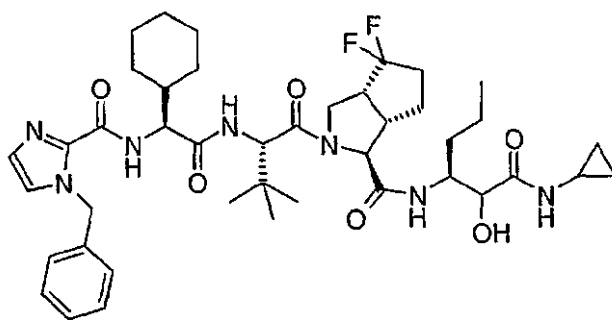
- 15 El compuesto cdv (565 mg, 0,86 mmol) se preparó a partir del compuesto cdv en condiciones de hidrólisis convencionales usando alcohol etílico (10 ml) y NaOH 1 N (3 equiv.). Se recuperaron 490 mg (91 %) del compuesto cdv.



cdv

Ejemplo Intermedio 203 - cdvi

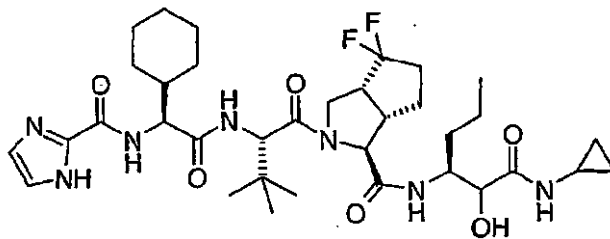
- 5 El compuesto cdv (490 mg, 0,78 mmol) se recogió en DCM (10 ml). Se añadió PyBOP (520 mg, 1 mmol) a la solución de DCM, seguido de una solución de THF (10 ml) de xiii (186 mg, 1 mmol). Se añadió DIEA (0,18 ml, 1 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó durante una noche en una atmósfera de nitrógeno. Al día siguiente, la reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. La purificación se consiguió en EtAc al 100 % para producir el compuesto cdvi (478 mg, 77 %).



cdvi

Ejemplo Intermedio 204 - cdvii

- 10 El compuesto cdvi (478 mg, 0,6 mmol) se hidrogenó usando Pd(OH)₂/C (20 % de base seca, 100 mg) en MeOH (40 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche en una atmósfera de hidrógeno. En ese momento, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró para producir el compuesto cdvii (417 mg, 98 %).

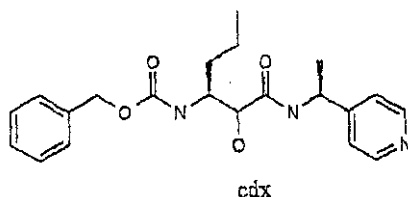


cdvii

Ejemplo Intermedio 205- cdx

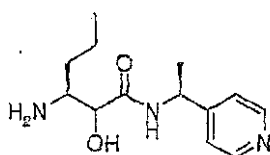
- 15 El compuesto cxxv (Adquirido de Albany Molecular Research Inc., 1,5 g, 5,2 mmol) se recogió en DCM (15 ml). Se añadieron PyBOP (2,7 g, 5,2 mmol) y HOBT (700 mg, 5,2 mmol) a esta solución. Se añadió una solución en THF (15 ml) de (-)-alfa-(4-piridil)etilamina (640 mg, 5,2 mmol) a la solución anterior, seguido de DIEA (0,93 ml, 5,2 mmol). [La (-)-alfa-(4-piridil)etilamina se obtuvo de la sal tartrato de (-)-alfa-(4-piridil)etilamina, (Aldrich) agitando con NaOH 1 N (2 equiv.) durante 1 hora, seguido de extracción con EtOAc (3 x), recuperación del 70 %].

La reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. El producto se purificó en EtOH al 5 %/EtOAc para producir 2 g (99 %) del compuesto intermedio cdx.



Ejemplo Intermedio 206 - cdviii

- 5 El compuesto cdx (2 g, 5,2 mmol) se hidrogenó usando Pd al 10 %/C (500 mg) en MeOH (50 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche en una atmósfera de hidrógeno. El producto se filtró a través de celite y se concentró para dar cdviii (1,3 g, 98 %).



Farmacología

- 10 Los compuestos de acuerdo con la invención se definen en el presente documento como útiles por ser capaces de inhibir la proteasa de VHC y por lo tanto, son útiles para inhibir la replicación del VHC.

Por consiguiente, una invención del presente documento se dirige al uso de los compuestos de la invención para inhibir la proteasa del VHC que comprende poner en contacto una cantidad inhibitoria de la proteasa anti VHC de un compuesto de fórmula 1 con una composición que comprende proteasa del VHC.

- 15 Otra invención más del presente documento se dirige al uso de los compuestos de la invención en la inhibición de la replicación del VHC que comprenden poner en contacto el VHC con una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula 1. Además, otra invención del presente documento se dirige al uso de los compuestos de la invención para tratar a un paciente que padezca o esté sujeto a infección por VHC que comprende administrar al paciente una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula 1. Las referencias en el presente documento al tratamiento de una infección por VHC deben entenderse como inclusivas de la terapia profiláctica para prevenir o inhibir la infección así como del tratamiento de una infección por VHC aguda o crónica establecida o de afecciones fisiológicas asociadas con la infección por VHC para esencialmente curar al paciente de la infección, inhibir el grado (cantidad) de la infección o mejorar las afecciones fisiológicas asociadas con esta. Una "cantidad efectiva" pretende describir una cantidad del compuesto de la presente invención efectiva dentro del ámbito del juicio biológico razonable, adecuada para su uso en contacto con las células de humanos y otros mamíferos sin toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similares y son acordes con una relación beneficio/riesgo razonable en el tratamiento de una infección por VHC y por tanto produciendo el efecto terapéutico deseado.

- 25 Las afecciones fisiológicas discutidas en el presente documento incluyen algunas, pero no todas, de las posibles situaciones clínicas en donde se justifica un tratamiento anti VHC. Aquellos con experiencia en este campo son conscientes de las circunstancias que requieren un tratamiento anti VHC.

- 30 Un aspecto particular de la invención proporciona un compuesto para su uso de acuerdo con la invención, que se administra en forma de una composición farmacéutica, aunque el compuesto puede administrarse solo. Una "composición farmacéutica" significa una composición que comprende un compuesto de fórmula 1 y al menos un componente seleccionado del grupo que comprende transportadores, diluyentes, recubrimientos, adyuvantes, excipientes, o vehículos farmacéuticamente aceptables, como agentes conservantes, cargas, agentes disgregantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes estabilizantes de emulsiones, agentes suspensores, agentes isotónicos, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes colorantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, otros agentes terapéuticos, agentes lubricantes, agentes retardantes o promotores de la absorción y agentes dispersantes, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y formas de dosificación. Las composiciones pueden presentarse en forma de comprimidos, píldoras, gránulos, polvos, soluciones o suspensiones acuosas, soluciones inyectables, elixires o jarabes. Los agentes suspensores ejemplares incluyen alcoholes ioestearílicos etoxilados, polioxiethylén sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina,

metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, o mezclas de estas sustancias. Los agentes antibacterianos y antifúngicos ejemplares para la prevención de la acción de microorganismos incluyen parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. Los agentes isotónicos ejemplares incluyen azúcares, cloruro de sodio y similares. Los agentes retardantes de la absorción ejemplares para prolongar la absorción incluyen moestearato de aluminio y gelatina. Los agentes promotores de la absorción ejemplares para potenciar la absorción incluyen dimetil sulfóxido y análogos relacionados. Los transportadores ejemplares, diluyentes, disolventes, vehículos, agentes solubilizantes, emulsionantes y estabilizadores de emulsiones, incluyen agua, cloroformo, sacarosa, etanol, isopropil alcohol, carbonato de etilo, acetato de etilo alcohol bencílico, alcohol tetrahidrofurfurílico, benzoato de bencilo, polioles, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, glicerol, glicoles de polietileno, dimetilformamida, Tween® 60, Span® 80, alcohol cetoestearílico, alcohol mirístico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato de sodio, ésteres de ácidos grasos de sorbitán, aceites vegetales (como aceite de algodón, aceite de cacahuete, aceite de germen de maíz, aceite de oliva, aceite de ricino y aceite de sésamo) y ésteres orgánicos inyectables como oleato de etilo y similares, o mezclas adecuadas de estas sustancias. Los excipientes ejemplares incluyen lactosa, azúcar de la leche, citrato de sodio, carbonato cálcico, fosfato dicálcico. Los agentes disgregantes ejemplares incluyen almidón, ácidos alginicos y determinados silicatos complejos. Los lubricantes ejemplares incluyen estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio, talco, así como polietilenglicoles de elevado peso molecular.

Pueden usarse otros agentes terapéuticos en combinación con un compuesto de la presente invención, incluyendo otros agentes anti VHC. Algunos agentes anti VHC ejemplares incluyen agentes inmunomoduladores, tales como interferones α , β o γ ; compuestos derivados de interferón α pegilados, otros agentes antivíricos como ribavirina y amantadina; otros inhibidores de la proteasa del virus de la hepatitis C; inhibidores de otras dianas en el ciclo vital del VHC incluyendo la helicasa, polimerasa, metaloproteasa, entrada interna ribosomal, o compuestos antivirales de amplio espectro como VX-497, un inhibidor de la inosín monofosfato deshidrogenasa celular, IMPDH, cubierto por la Patente de los Estados Unidos N°. 5,807,876, o una de sus combinaciones. Los agentes terapéuticos usados en combinación con un compuesto de la presente invención pueden administrarse por separado, de manera simultánea o secuencial.

La elección de material en la composición farmacéutica distinta del compuesto de fórmula 1 se determina generalmente de acuerdo con las propiedades químicas del principio activo tales como solubilidad, el modo concreto de administración y las disposiciones que deben observarse en la práctica farmacéutica. Por ejemplo, los excipientes como lactosa, citrato de sodio, carbonato cálcico, fosfato dicálcico y agentes disgregantes como almidón, ácidos alginicos y determinados silicatos complejos combinados con lubricantes como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco pueden usarse para preparar comprimidos.

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en una variedad de formas tales como comprimidos, píldoras, gránulos, polvos, soluciones o suspensiones acuosas, soluciones inyectables, elixires o jarabes.

Una "forma de dosificación líquida" significa que la dosis del principio activo a administrar al paciente está en forma líquida, por ejemplo, emulsiones farmacéuticamente aceptables, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados de manera común en la técnica, como disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes.

También pueden usarse composiciones sólidas como cargas en cápsulas rellenas de gelatina dura o blanda usando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de elevado peso molecular y similares.

Cuando se usan suspensiones acuosas estas pueden contener agentes emulsionantes o agentes que faciliten la suspensión.

La fase oleosa de la emulsión de composición farmacéutica puede constituirse a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Mientras que la fase puede comprender únicamente un emulsionante (conocido también como emulgente), deseablemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o aceite o con tanto una grasa y un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el (los) emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) conforman la cera emulsionante y la forma junto con el aceite y la grasa constituyen la base de pomada emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones de crema.

Si se desea, la fase acuosa de la base de la crema puede incluir, por ejemplo, al menos un 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir un alcohol que tenga dos o más grupos hidroxilo como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que potencie la absorción o penetración del principio activo a través de la piel u otras áreas afectadas.

La elección de los aceites o grasas adecuados para una formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas deseadas. Por lo tanto, la crema debe ser preferentemente un producto no graso, que no manche y lavable con la consistencia adecuada para evitar el derrame de tubos u otros recipientes. Pueden usarse ésteres de alquilo de cadena lineal o ramificada, mono o dibásicos como di-isopropil miristato, oleato de decilo, palmitato isopropílico, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol

CAP. Estos pueden usarse solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, pueden usarse lípidos de elevado punto de fusión como parafina blanca blanda y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

5 En la práctica, un compuesto/composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse en una formulación adecuada a humanos y animales mediante administración tópica o sistémica, incluyendo oral, de inhalación, rectal, nasal, bucal, sublingual, vaginal, colónica, parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural), intracisternal e intraperitoneal. Se apreciará que la ruta preferida puede variar con por ejemplo el estado del receptor.

10 Las "formas de dosificación farmacéuticamente aceptables" significan formas de dosificación del compuesto de la invención, e incluye, por ejemplo, comprimidos, grageas, polvos, elixires, jarabes, preparaciones líquidas, que incluyen suspensiones, pulverizadores, comprimidos inhalantes, pastillas, emulsiones, disoluciones, gránulos, cápsulas y supositorios, así como preparaciones líquidas para inyecciones, incluyendo preparaciones de liposomas. Las técnicas y formulaciones pueden encontrarse generalmente en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

15 Las "formulaciones adecuadas para administración oral" pueden presentarse como unidades discretas como cápsulas, obleas o comprimidos conteniendo cada una cantidad predeterminada del principio activo; como polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también puede presentarse como un bolo, electuario o pasta.

20 Un comprimido puede prepararse por compresión o moldeado, de manera opcional con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos de compresión pueden prepararse prensando en una máquina adecuada el principio activo en forma fluida como polvo o gránulos, mezclado opcionalmente con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeables pueden hacerse moldeando en una máquina adecuada una mezcla de los compuestos en polvo humedecidos con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos
25 pueden opcionalmente recubrirse o ranurarse y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo de los mismos.

Las composiciones sólidas para administración rectal incluyen supositorios formulados de acuerdo con procedimientos conocidos y que contienen al menos un compuesto de la invención.

30 Si se desea y para una distribución más efectiva, los compuestos pueden microencapsularse en, o unirse a, sistemas de liberación lenta o dirigida como matrices biocompatibles, de polímero biodegradable (por ejemplo, poli(d,1- lactida co-glicólido)), liposomas y microesferas e inyectarse por vía subcutánea o intramuscular mediante una técnica llamada depósito subcutáneo o intramuscular para proporcionar una liberación lenta de el(los) compuesto(s) durante un periodo de 2 semanas o más largo. Los compuestos pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtrado a través de un filtro que retiene las bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que
35 pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio estéril inyectable inmediatamente antes de su uso.

Las "formulaciones adecuadas para administración nasal o por inhalación" significan formulaciones que se encuentran en una forma adecuada para administrarse por vía nasal o mediante inhalación a un paciente. Esta formulación puede contener un vehículo, en forma de polvo, que tenga un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 1 a 500 micrones (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 20 y 500 micrones en incrementos de 5 micrones como 30 micrones, 35 micrones, etc.). Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para su
40 administración por ejemplo como spray nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para administración en aerosol pueden prepararse de acuerdo con procedimientos convencionales y pueden dispensarse con otros agentes terapéuticos. La terapia por inhalación se administra fácilmente mediante inhaladores de dosis medida.

45 Las "formulaciones adecuadas para administración oral" significan formulaciones que se encuentran en una forma adecuada para administrarse por vía oral a un paciente. Las formulaciones pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o comprimidos conteniendo cada una cantidad predeterminada del principio activo; como polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también
50 puede presentarse como un bolo, electuario o pasta.

Las "formulaciones adecuadas para administración parenteral" significan formulaciones que se encuentran en una forma adecuada para administrarse por vía parenteral a un paciente. Las formulaciones son estériles e incluyen emulsiones, suspensiones, soluciones para inyección acuosas y no acuosas, que pueden contener agentes de suspensión y agentes espesantes y antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica y tienen un pH ajustado de manera adecuada, con la sangre del receptor pretendido.
55

Las "formulaciones adecuadas para administración rectal o vaginal" significan formulaciones que se encuentran en una forma adecuada para administrarse por vía rectal o vaginal a un paciente. La formulación se encuentra preferentemente en forma de supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de esta invención con

excipientes no irritantes adecuados o vehículos como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorios, que son sólidos a temperaturas ambientales pero líquidos a temperatura corporal y por lo tanto, se derriten en el recto o en la cavidad vaginal y liberan al principio activo.

5 Las "formulaciones adecuadas para administración sistémica" significan formulaciones que se encuentran en una forma adecuada para administrarse por vía sistémica a un paciente. La formulación se administra preferentemente mediante inyección, incluyendo transmuscular, intravenosa, intraperitoneal y subcutánea. Para la inyección, los compuestos de la invención se formulan en soluciones líquidas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles como solución de Hank o solución de Ringer. . Además, los compuestos pueden formularse en forma sólida y redisolverse o suspenderse inmediatamente antes de su uso. También se incluyen las formas liofilizadas. La administración sistémica también puede ser mediante medios transmucosa o transdérmicos, o los compuestos pueden administrarse por vía oral. Para la administración transmucosa o transdérmica, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a permear. Dichos penetrantes se conocen generalmente en la técnica, e incluyen, por ejemplo, sales biliares y derivados de ácido fusídico para administración transmucosa. . Además, pueden usarse detergentes para facilitar la permeación. La administración transmucosa puede efectuarse mediante el uso de espráis nasales, por ejemplo, o supositorios. Para la administración oral, los compuestos se formulan en formas de administración oral convencionales como cápsulas, comprimidos y tónicos.

20 Las "formulaciones adecuadas para administración tópica" significan formulaciones que están en una forma adecuada para administrarse tópicamente a un paciente. La formulación puede presentarse como una pomada tópica, salvas, polvos, espráis e inhalantes, geles (de base alcohólica o de agua), cremas, como se conoce generalmente en la técnica, o incorporarse a una base de matriz para su aplicación en un parche, que pueda permitir una liberación controlada del compuesto a través de la barrera transdérmica. Cuando se formulan en una pomada, los principios activos pueden emplearse ya sea con una base de pomada parafínica o miscible con agua. Como alternativa, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua. Las formulaciones adecuadas para administración tópica en el ojo incluyen gotas oculares en las que el principio activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, en especial un disolvente acuoso para el principio activo. Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden al principio activo en una base aromatizada, generalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

30 La "forma de dosificación sólida" significa que la forma de dosificación del compuesto de la invención es en forma sólida, por ejemplo cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, grageas o gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto de la invención mezcla con al menos un excipiente inerte habitual (o vehículo) como citrato de sodio o fosfato dicálcico o (a) cargas o extensores, como por ejemplo, almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglutinantes, como por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, (c) humectantes, como por ejemplo, glicerol, (d) agentes disgregantes, como por ejemplo, agar-agar, carbonato cálcico, patata o almidón de tapioca, ácido algínico, determinados silicatos complejos y carbonato de sodio, (e) retardantes de la solución, como por ejemplo parafina, (f) acelerantes de la absorción, como por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes humectantes, como por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, (h) adsorbentes, como por ejemplo, caolín y bentonita, (i) lubricantes, como por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio. polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico, (j) agentes opacificantes, (k) agentes tamponadores y agentes que liberen a el(los) compuesto(s) de la invención en una parte determinada del tracto intestinal de manera retardada.

45 Los niveles de dosificación reales de el(los) principio(s) activo(s) en las composiciones de la invención pueden variarse para obtener una cantidad de principio(s) activo(s) que sea(n) efectivo(s) para obtener una respuesta terapéutica deseada para una composición y procedimiento de administración concreto para un paciente. Un nivel de dosificación seleccionado para cualquier paciente concreto depende por tanto de una variedad de factores que incluyen el efecto terapéutico deseado, la ruta de administración, la duración deseada del tratamiento, la etiología y severidad de la enfermedad, el estado del paciente, el peso, el sexo, dieta y edad, el tipo y potencia de cada principio activo, tasas de absorción, metabolismo y/o excreción y otros factores.

50 La dosis diaria total de los compuestos de esta invención administrada a un paciente en dosis unitarias o divididas puede ser en cantidades, por ejemplo, de desde aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día y preferentemente de 0,01 a 10 mg/kg/día. Por ejemplo, en un adulto, las dosis son de desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100, preferentemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10, mg/kg de peso corporal por día mediante inhalación, de desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100, preferentemente de 0,1 a 70, más especialmente de 0,5 a 10, mg/kg de peso corporal por día mediante administración oral y de desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50, preferentemente de 0,01 a 10, mg/kg de peso corporal por día mediante administración intravenosa, El porcentaje de principio activo en una composición puede variarse, aunque debe constituir una proporción tal que se pueda obtener una dosificación adecuada. Las composiciones en dosis unitarias pueden contener dichas cantidades de dichos submúltiplos de las mismas y pueden usarse para dar lugar a la dosis diaria. Obviamente, pueden administrarse varias formas de dosis unitaria aproximadamente al mismo tiempo. Una dosificación puede administrarse con tanta frecuencia como sea necesario para obtener el efecto terapéutico deseado. Algunos pacientes pueden responder rápidamente a una dosis mayor o menor y pueden

encontrar adecuadas dosis de mantenimiento mucho más débiles. Para otros pacientes, puede ser necesario tener tratamientos a largo plazo a una tasa de 1 a 4 dosis por día, de acuerdo con los requisitos fisiológicos de cada paciente concreto. No hace falta decir que, para otros pacientes, será necesario prescribir no más de una o dos dosis por día.

5 Las formulaciones pueden prepararse en forma de dosis unitarias mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia. Dichos procedimientos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el vehículo que constituyen uno o más ingredientes accesorios. En general las formulaciones se preparan poniendo en asociación de manera uniforme e íntima al principio activo con los vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y, después, si es necesario, dar forma al producto.

10 Las formulaciones pueden presentarse en recipientes monodosis o multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales con tapones elastoméricos y pueden almacenarse en estado liofilizado requiriendo únicamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

15 Los compuestos dentro del ámbito de la presente invención muestran actividades farmacológicas marcadas de acuerdo con los ensayos descritos en la bibliografía y a continuación, creyéndose que los resultados de dichos ensayos se relacionan con la actividad farmacológica en seres humanos y otros mamíferos.

Procedimiento de ensayo enzimático *in vitro*

Inhibición de serín proteasa NS3 de VHC

20 El dominio de proteasa NS3 de VHC se expresó y purificó como se describió anteriormente (Vertex, publicación PCT WO98/17679; que se incorpora por referencia en el presente documento). El sustrato de péptido cromogénico, EDVVAbuC-p-nitroanilida y el fragmento del cofactor NS4A (-KKGSWIVGRIVLSGK-) para la proteasa NS3 se sintetizaron a petición del cliente por American Peptide Com (Ca). Los compuestos de esta invención se ensayaron respecto de su capacidad para inhibir la actividad de la proteasa NS3 de VHC usando un ensayo espectrofotométrico con EDVVAbuC-p-nitroanilida como sustrato. El ensayo se ejecutó en una placa de microtitulación de 96 pocillos
25 usando un lector SpectraMax 250 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) con capacidad cinética. Se efectuó la escisión del sustrato de EDWAbuC-p-nitroanilida (500 μ M) mediante proteasa NS3 de VHC purificada (0,5 μ M) a 30°C en el tampón que contiene 30 mM de fragmento de NS4A, Hepes 46 mM, pH 8,0, NaCl 92 mM, glicerol al 18 %, DTT 5 mM y DMSO 7,5 % en ausencia o presencia del compuesto del ensayo. La reacción se controló respecto de la liberación de pNA (p-nitroanilina) a 405 nm.

30 La determinación de los parámetros cinéticos incluyendo V_{max} , K_m y V_{max}/K_m se efectúa en las condiciones descritas anteriormente. Los valores de K_i se calculan a partir de las representaciones de velocidad contra [inhibidor], a concentraciones fijas de enzima y sustrato, mediante un ajuste no lineal de mínimos cuadrados de los datos a la ecuación de Morrison para inhibición competitiva de unión estrecha [J. F. Morrison, Biochim. Biophys. Acta., 185, 269-286 (1969)]. Se usa el programa Prism (GraphPad Software, Inc.) para este procedimiento.

35 Los inhibidores de la serín proteasa de VHC divulgados en el presente documento pueden usarse en combinación con otras moléculas que muestren directamente o induzcan de manera indirecta actividad anti VHC ya sea de forma profiláctica en pacientes en riesgo de contraer infección por VHC, o para tratar pacientes que ya estén infectados. La expresión "actividad anti VHC" significa la capacidad de una molécula, cuando está presente, de inhibir completamente o reducir la acumulación de viriones de VHC en comparación con la acumulación de viriones de VHC en ausencia de dicha molécula, y/o la capacidad de una molécula de reducir o mejorar afecciones o síntomas
40 asociados con la infección por VHC o la patogénesis en pacientes. Las moléculas que tiene actividad anti VHC incluyen aquellas que interrumpen una o más etapas en la infección por, o replicación de, VHC, así como aquellas que provocan acciones inmunomoduladoras y antiproliferativas en células huésped. Las moléculas que tienen actividad anti VHC pueden inhibir acontecimientos replicativos específicos de VHC tales como, a título enunciativo, síntesis de proteínas o ácidos nucleicos dirigida por VHC. Las etapas de replicación de VHC en las que las moléculas que tienen actividad anti VHC pueden actuar incluyen entrada a la célula (por ejemplo, unión; penetración); desprendimiento de la envoltura y liberación del genoma de VHC; replicación del genoma de VHC (por ejemplo, replicación de cualquiera de las cadenas del genoma de ARN viral; transcripción del ARN mensajero viral); traducción de las proteínas de VHC; modificación pos-traducciona de las proteínas de VHC (por ejemplo, escisión proteolítica; glicosilación); transporte intracelular de las proteínas virales; ensamblaje de los componentes del virión; y liberación de las partículas virales
45 (por ejemplo, gemación). Las clases de moléculas que tienen actividad antiviral incluyen, pero no se limitan a, receptores señuelo solubles y anticuerpos antirreceptor; bloqueadores de canales iónicos, estabilizadores de la cápsida, e inhibidores de las proteínas de fusión; inhibidores de las polimerasas virales, transcriptasa inversa, helicasa, primasa, o integrasa; oligonucleótidos antisentido y ribozimas; agentes inmunomoduladores e inmunostimulantes, incluyendo citoquinas como tales como interferones, así como agonistas de péptidos, esteroides y fármacos clásicos como levamisol; inhibidores de proteínas reguladoras; inhibidores de la proteasa; inhibidores del
50 proteínas de ensamblaje; y anticuerpos antivirales y linfocitos citotóxicos. La expresión "cantidad efectiva anti VHC" o "cantidad farmacéuticamente efectiva" significa una cantidad de un compuesto, o combinaciones de compuestos como se divulgan en el presente documento, efectiva para reducir o mejorar afecciones o síntomas asociados con la

infección por VHC o patogénesis asociadas en pacientes, o para reducir los niveles virales *in vitro* o *in vivo*. Las aplicaciones *in vivo* incluyen el Sistema de Ensayo de Replicón, descrito más adelante, en donde dichas cantidades son efectivas en la reducción de la acumulación de ARN del replicón de VHC y/o la acumulación de proteínas codificadas por genes contenidos en el mismo.

- 5 Los compuestos que tiene actividad anti VHC contemplados para su uso en las composiciones y procedimientos de terapia de combinación divulgados en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, moléculas inmunomoduladoras, incluyendo citoquinas inmunoestimuladoras y otros compuestos que se sabe que tienen actividad antiviral para VHC, como varios nucleósidos y nucleótidos antivirales.

10 Las moléculas inmunomoduladoras contempladas para su uso en combinación con los inhibidores de la serín proteasa de VHC divulgados en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, interferón alfa 2B (Intron A, Schering Plough); Rebatron (Schering Plough, interferón alfa 2B + Ribavirina); interferón alfa pegilado (Reddy, K.R. y Col. Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alfa-2a compared with interferon alfa-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 33, 433-438 (2001); Interferón de consenso (Kao, J.H., Chen, P.J., Lai, M.Y. y Chen, D.S. Efficacy of consensus interferon in the treatment of chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 15, 1418-1423 (2000); interferon-alfa 2A (Roferon A; Roche); interferón de linfoblastoide o "natural"; interferón tau (Clayette, P. y Col. IFN-tau, a new interferon type I with antiretroviral activity. *Pathol. Biol. (París)* 47, 553-559 (1999); Interleucina 2 (Davis, G.L., Nelson, D.R. y Reyes, G.R. Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 103-112 (1999); interleucina 6 (Davis, G.L., Nelson, D.R. y Reyes, G.R. Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 103-112 (1999); interleucina 12 (Davis, G.L., Nelson, D.R. y Reyes, G.R. Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 103-112 (1999); Ribavirina; y compuestos que potencien el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores de tipo 1 (Davis, G.L., Nelson, D.R. y Reyes, G.R. Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 103-112 (1999)). Los interferones pueden mejorar las infecciones virales ejerciendo efectos antivirales directos y/o modificando la respuesta inmune a la infección. Los efectos antivirales de los interferones están a menudo mediados mediante la inhibición de la penetración o desprendimiento de la envoltura viral, síntesis de ARN viral, traducción de proteínas virales, y/o ensamblaje viral y liberación.

25 Los compuestos que estimulan la síntesis de interferón en células (Tazulakhova, E.B., Parshina, O.V., Gusev, T.S. y Ershov, F.I. Russian Experience in Screening, Analysis, and Clinical Application of Novel Interferon Inducers. *J. Interferon Cytokine Res.* 21, 65-73) incluyen, pero no se limitan a, ARN bicatenario, solo o en combinación con tobramicina, e Imiquimod (3M Pharmaceuticals) (Sauder, D.N. Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. *J. Am. Acad. Dermatol.* 43, S6-11 (2000)).

30 Otros compuestos que se sabe que tienen, o que pueden tener, actividad antiviral para VHC en virtud de mecanismos no inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a, Ribavirina (ICN Pharmaceuticals); inhibidores de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa (VX-497, en desarrollo por Vertex Pharmaceuticals); amantadina y rimantadina (Younossi, A.M. y Perillo, R.P. The roles of amantadine, rimantadine, ursodeoxycholic acid, NSAIDs, alone or in combination with alfa interferons, in the treatment of chronic hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 95-102 (1999); LY217896 (Patente de los Estados Unidos 4,835,168) (Colacino, J.M. y Col. Evaluation of the anti-influenza virus activities of 1,3,4-thiadiazol-2-ylcyanamide (LY217896) and its sodium salt. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 34, 2156-2163 (1990); y éster metílico de ácido 9-hidroxiimino-6- metoxi-1,4a-dimetil- 1,2,3,4,4a, 9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico; clorhidrato de ester metílico de ácido 6-metoxi-1,4a-dimetil-9-(4-metilpiperazin-1-ilimino)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico ; 1-(2-clorofenil)-3-(2,2-difeniletíl)-urea (Patente de los Estados Unidos 6,127,422).

45 Las formulaciones, dosis y vías de administración para las moléculas anteriores se enseñan o bien en las referencias citadas a continuación, o se conocen bien en la técnica como se divulga, por ejemplo, en F.G. Hayden, en Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Novena edición, Hardman y Col., Eds., McGraw-Hill, Nueva York (1996), capítulo 50, pag. 1191-1223; y las referencias citadas en la misma. Como alternativa, una vez que se ha identificado un compuesto que muestra actividad antiviral para VHC, puede determinarse una cantidad farmacéuticamente efectiva de ese compuesto usando técnicas bien conocidas para el experto en la técnica. Véase, por ejemplo, Benet y Col., en Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Novena edición, Hardman y Col., Eds., McGraw-Hill, Nueva York (1996), capítulo 1, pag. 3-27; y las referencias citadas en la misma. Por tanto, las formulaciones apropiadas, intervalos de dosis y pautas de posología de dicho compuesto pueden determinarse fácilmente mediante procedimientos rutinarios.

50 Las combinaciones de fármacos de la presente invención pueden proporcionarse a una célula o células, o a un paciente humano, ya sea en formulaciones farmacéuticamente aceptables separadas administradas de manera simultánea o secuencial, formulaciones que contienen más de un agente terapéutico, o por una variedad de formulaciones de agente único y agente múltiple. Independientemente de cómo se administren, estas combinaciones de fármacos forman una cantidad efectiva anti VHC de componentes.

60 Actualmente están disponibles un gran número de otros inmunomoduladores e inmunoestimulantes que pueden usarse en los procedimientos de la presente invención e incluyen: AA-2G; dipéptido de adamantilamida; adenosín desaminasa, Enzon; un adyuvante, Alliance; adyuvantes, Ribix; adyuvantes, Vaxcel; Adjuvax; agelasfina-11; terapia

5 contra SIDA, Chiron; glucano algal, SRI; algamulina, Anutech; Anginlyc; factores anticelulares, Yeda; Anticort; inmunógeno de antigastina-17, Ap; sistema de suministro de antígenos, Vac; formulación de antígenos, IDBC; inmunógeno antiGnRH, Aphton; Antiherpin; Arbidol; azarol; Bay-q-8939; Bay- r-1005; BCH-1393; Betafectina; Biostim; BL-001; BL-009; Broncostat; Cantastim; CDRI-84-246; cefodizima; inhibidores de quimiocinas, ICOS; péptidos CMV,

10 City of Hope; CN-5888; agente de liberación de citoquinas, St; DHEAS, Paradigm; DISC TA-HSV; J07B; I01A; I01Z; ditiocarb sódico; ECA-10-142; ELS-1; endotoxina, Novartis; FCE-20696; FCE-24089; FCE-24578; ligando FLT-3, Immunex; FR-900483; FR-900494; FR-901235; FTS-Zn; proteínas G, Cadus; gludapcina; glutaurina; glucofosfopeptical; GM-2; GM-53; GMDP; vacuna de factor de crecimiento, EntreM; H-BIG, NABI; H-CIG, NABI; HAB-439; vacuna contra *Helicobacter pylori*; factor inmune específico de herpes; terapia contra VIH, United Biomed;

15 HyperGAM+CF; ImmuMax; Immun BCG; terapia inmune, Connective; inmunomodulador, Evans; inmunomoduladores, Novacell; imreg-1; imreg-2; Indomune; inosina pranobex; interferón, Dong-A (alfa2); interferón, Genentech (gamma); interferón, Novartis (alfa); interleucina-12, Genetics Ins; interleucina-15, Immunex; interleucina-16, Research Cor; ISCAR-1; J005X; L-644257; ácido licomarasmínico; LipoTher; LK-409; LK-410; LP-2307; LT (R1926); LW-50020; MAF, Shionogi; derivados de MDP, Merck; met-enkefalina, TNI; metilfurilbutirolactonas; MIMP; mirimostim; vacuna bacterial mixta, Tem; MM-1; moniliastat; MPLA, Rib; MS-705; murabutida; murabutido, Vacsyn; derivado de dipéptido de muramilo; mielopid derivado de péptido de muramilo; -563; NACOS-6; NH-765; NISV, Proteus; NPT- 16416; NT-002; PA-485; PEFA-814; péptidos, Scios; peptidoglucano, Pliva; Perthon, Advanced Plant; derivado de PGM, Pliva; Pharmaprojects N° 1099; N° 1426; N° 1549; N° 1585; N° 1607; N° 1710; N° 1779; N° 2002; N° 2060; N° 2795; N° 3088; N° 3111; N° 3345; N° 3467; N° 3668; N° 3998; N° 3999; N° 4089; N° 4188; N° 4451; N° 4500; N° 4689; N° 4833;

20 N° 494; N° 5217; N° 530; pidotimod; pimelautida; pinafida; PMD-589; podofilotoxina, Conpharm; POL-509; poli-ICLC; poli-ICLC, Yamasa Shoyu; PolyA-PolyU; polisacárido A; proteína A, Berlox Bioscience; PS34WO; MAb de *Pseudomonas*, Teijin; Psomaglobina; PTL-78419; pirexol; piriferona; Retrogen; Retropep; RG-003; Rhinostat; rifamxil; RM-06; Rollin; romurtida; RU-40555; RU-41821; anticuerpos de *Rubella*, ResCo; S-27609; SB-73; SDZ-280-636; SDZ-MRL-953; SK&F-107647; SL04; SL05; SM-4333; soulteína; SRI-62-834; SRL-172; ST-570; ST-789; lisado de staphage; Stimulon; supresina; T-150R1; T-LCEF; tabilautida; temurtida; Themdigm-HBV; Theradigm- HPV; Theradigm-HSV; THF, Pharm & Upjohn; THF, Yeda; timafalsina; fracciones de hormonas del timo; timocartina; timolinfortropina; timopentina; análogos de timopentina; timopentina, Peptech; fracción 5 de timosina, Alpha; timoestimulina; timotrinano; TMD-232; TO-115; factor de transferencia, Viragen; tuftsina, Selavo; ubenimex; Ulsastat; ANGG-; CD-4+; Collag+; COLSF+; COM+; DA-A+; GAST-; GF-TH+; GP-120-; IF+; IF-A+; IF-A-2+; IF-B+;

25 IF-G+; IF-G-1B+; IL-2+; IL-12+; IL-15+; IM+; LHRH-; LIPCOR+L LYM-B+; LYM-NK+; LYM-T+; OPI+; PEP+; PHG-MA+; RNA-SYN-; SY-CW-; TH-A-1 + ; TH-5+; TNF+; UN.

Los compuestos nucleótidos y nucleósidos representativos útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación,

35 (+) -cis-5-fluoro-1-[2-(hidroxi-metil)-[1, 3-oxatiolan-5-il]citosina; (-) -2'-desoxi-3'-tiocitidina-5'-trifosfato(3TC) ; (-) -cis-5-fluoro-1-[2-(hidroxi-metil) -[1, 3-oxatiolan-5-il]citosina (FTC); (-) 2', 3', didesoxi-3'-tiacitidina(-) -SddC]; 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-beta-D-arabinofuranosil) -5-iodocitosina (FIAC); 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-beta-D-arabinofuranosil) -5-iodocitosina trifosfato (FIACTP); 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-beta-D-arabinofuranosil) -5-metiluracilo (FMAU); 1-beta-D-ribofuranosil-1, 2, 4-triazol-3-carboxamida; 2', 3'-didesoxi-3'-fluoro-5-metil-dexocitidina (FddMe- Cyt); 2', 3'-didesoxy-3'-cloro-5-metil-dexocitidina (C1ddMeCyt); 2', 3'-didesoxi-3'-amino-5-metil-dexocitidina (Ad- dMeCyt); 2', 3'-didesoxi-3'-fluoro-5-metil-citidina (FddMeCyt); 2', 3'-didesoxi-3'-cloro-5-metil-citidina (C1ddMeCyt); 2', 3'-didesoxi-3'-amino-5-metil-citidina (AddMeCyt); 2', 3'-didesoxi-3'-fluorotimidina (FddThd); 2', 3'-didesoxy-beta-L-5-fluorocitidina (beta-L-FddC); 2', 3'-didesoxi-beta-L-5-tiacitidina; 2', 3'-didesoxi-beta-L-5-citidina (beta-L-ddC); 9-(1, 3-dihidroxi-2-propoximetil) guanina; 2'-desoxi-3'-tia-5-fluorocitosina; 3'-amino-5-metil-desxocitidina (AddMe- Cyt); 2-amino-1, 9-[(2-hidroximetil-1-(hidroximetil) etoxi] metil]-6H-purin-6-ona (ganciclovir) ; 2-[2-(2-amino- 9H-purin-9y) etil]-1, 3-propandil diacetato (famciclovir); 2-amino-1,9-dihidro-9-[(2-hidroxi-etoxi) metil]6H-purin- 6-ona (aciclovir); 9-(4-hidroxi-3-hidroximetil-but-1-il) guanina (penciclovir); 9-(4-hidroxi-3-hidroximetil-but-1 il) -6-desoxi-guanina diacetato (famciclovir); 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT) ; 3'-cloro-5-metil-dexocitidina (C1ddMeCyt); 9-(2-fosfonil-metoxietil) -2', 6'-diaminopurina-2', 3'-didesoxirribósido; 9-(2-fosfonilmetoxietil) adenina(PMEA); trifosfato de aciclovir (ACVTP); 2'-desoxiguanosina D-carbocíclica (CdG) ; didesoxi-citidina; didesoxi-citosina (ddC); didesoxi-guanina (ddG); didesoxi-inosina (ddl); E-5-(2-bromovinil) -2'-desoxiuridina trifosfato; fluoro-arabinofuranosil-yodouracilo; 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-1-beta-D-arabinofuranosil) -5-yodo-uracilo (FIAU); estavudina; 9-beta-D-arabinofuranosil-9H-purina-6-amina monohidrato (Ara-A); 9-beta-D-arabinofuranosil-9H-purina-6-amina-5'-monofosfato monohidrato (Ara-AMP); 2-desoxi-3'-tia-5-fluorocitidina; 2', 3'-didesoxi-guanina; y 2', 3'-didesoxi-guanosina.

55 Los procedimientos sintéticos para la preparación de nucleósidos y nucleótidos útiles en la presente invención se conocen bien en la técnica y se divulgan en Acta Biochim. Pol., 43, 25-36 (1996); Swed. Nucleosides Nucleotides 15, 361-378 (1996); Synthesis 12, 1465-1479 (1995); Carbohyd. Chem. 27, 242-276 (1995); Chem. Nucleosides Nucleotides 3, 421-535 (1994); Ann. Reports in Med. Chem., Academic Press; y Exp. Opin. Invest. Dugs 4, 95-115 (1995),

60 Las reacciones químicas descritas en las referencias citadas anteriormente se divulgan generalmente en términos de su aplicación más amplia a la preparación de los compuestos de esta invención. De manera ocasional, es posible que las reacciones no sean aplicables a cada compuesto incluido en el ámbito de los compuestos divulgados en el presente documento. Los compuestos en los que esto suceda serán reconocidos fácilmente por un experto en la técnica. En todos estos casos, las reacciones bien pueden efectuarse de manera exitosa mediante modificaciones

convencionales conocidas para los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante protección apropiada de los grupos de interferencia, cambiando a reactivos alternativos convencionales, mediante la modificación rutinaria de las condiciones de reacción y similares, o bien otras reacciones divulgadas en el presente documento o en otro modo convencionales serán aplicables a la preparación de los compuestos correspondientes de la presente invención. En todos los procedimientos preparativos, se conocen o se pueden preparar fácilmente todos los productos de partida a partir de productos de partida conocidos.

Mientras que los análogos de nucleósidos se emplean generalmente tal cual como agentes antivirales, los nucleótidos (fosfatos de nucleósidos) a veces tienen que convertirse a nucleósidos para facilitar su transporte a través de las membranas celulares. Un ejemplo de nucleótido modificado químicamente capaz de entrar en las células es S-1-3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil citosina (HPMPC, Gilead Sciences). Los compuestos de nucleótidos y nucleósidos de esta invención que son ácidos pueden formar sales. Los ejemplos incluyen sales con metales alcalinos o metales alcalinotérreos, como sodio, potasio, calcio, o magnesio, con bases orgánicas o sales de amonio cuaternario básicas.

Los inmunomoduladores e inmunoestimulantes útiles en los procedimientos de terapia de combinación de la presente invención pueden administrarse en cantidades menores de aquellas convencionales en la técnica. Por ejemplo, el interferón alfa se administra típicamente a humanos para el tratamiento de infecciones por VHC en una cantidad de desde aproximadamente 1×10^6 unidades/persona tres veces a la semana a aproximadamente 10×10^6 unidades/persona tres veces a la semana (Simon y Col., Hepatology 25: 445-448 (1997)). En los procedimientos y composiciones de la presente invención, esta dosis puede encontrarse en el intervalo de desde aproximadamente 0.1×10^6 unidades/persona tres veces a la semana a aproximadamente $7,5 \times 10^6$ unidades/persona tres veces a la semana; más preferentemente de desde aproximadamente 0.5×10^6 unidades/persona tres veces a la semana a aproximadamente 5×10^6 unidades/persona tres veces a la semana; más preferentemente de desde aproximadamente 1×10^6 unidades/persona tres veces a la semana a aproximadamente 3×10^6 unidades/persona tres veces a la semana; Debido a la efectividad antiviral potenciada frente al virus de la hepatitis C de los inmunomoduladores e inmunoestimulantes en presencia de los inhibidores de la serín proteasa de VHC de la presente invención, pueden emplearse cantidades reducidas de estos inmunomoduladores/inmunoestimulantes en los procedimientos y composiciones divulgados en el presente documento. De igual forma, debido a la efectividad antiviral potenciada frente al virus de la hepatitis C de los presentes inhibidores de la serín proteasa de VHC en presencia de inmunomoduladores e inmunoestimulantes, pueden emplearse cantidades reducidas de los inhibidores de la serín proteasa de VHC en los procedimientos y composiciones divulgados en el presente documento. Dichas cantidades reducidas pueden determinarse mediante una evaluación rutinaria de los títulos de virus de la hepatitis C en los pacientes infectados que estén bajo terapia. Esto puede efectuarse, por ejemplo, evaluando el ARN de VHC en el suero de los pacientes mediante transferencia en ranura, transferencia puntual, o técnicas de RT-PCT, o mediante la medida de los antígenos de superficie de VHC u otros antígenos. Se puede controlar a los pacientes de manera similar durante la terapia de combinación empleando los inhibidores de la serín proteasa de VHC divulgados en el presente documento y otros compuestos que tengan actividad anti VHC, por ejemplo, agentes antivirales de nucleótidos y/o nucleósidos para determinar la dosis mínima efectiva de cada uno cuando se usan en combinación.

En los procedimientos de terapia de combinación divulgados en el presente documento, los compuestos antivirales de nucleósidos o nucleótidos, o mezclas de los mismos, pueden administrarse a humanos en el intervalo de desde aproximadamente $0,1$ mg/persona/día a aproximadamente 500 mg/persona/día; preferentemente de desde aproximadamente 10 mg/persona/día a aproximadamente 300 mg/persona/día; más preferentemente de desde aproximadamente 25 mg/persona/día a aproximadamente 200 mg/persona/día; aún más preferentemente de desde aproximadamente 50 mg/persona/día a aproximadamente 150 mg/persona/día; y lo más preferentemente en el intervalo de desde aproximadamente 1 mg/persona/día a aproximadamente 50 mg/persona/día.

Las dosis de compuestos pueden administrarse a un paciente en una dosis única o en subdosis múltiples proporcionales. En el último caso, las composiciones en dosis unitarias pueden contener dichas cantidades de dichos submúltiplos de las mismas para dar lugar a la dosis diaria. Las dosis múltiples al día pueden aumentar la dosis diaria total en caso de que esto se desee por la persona que prescribe el fármaco.

La pauta para tratar a un paciente que padece una infección por VHC con los compuestos y/o composiciones de la presente invención se selecciona de acuerdo con una variedad de factores, incluyendo la edad, el peso, el sexo, la dieta y estado médico del paciente, la gravedad de la infección, la ruta de administración, consideraciones farmacológicas como la actividad, eficacia, farmacocinética y perfiles de toxicidad de los compuestos específicos empleados y de si se utiliza un sistema de dispensación del fármaco. La administración de combinaciones de fármacos divulgadas en el presente documento se deben continuar generalmente durante un periodo de varias semanas a varios meses o años hasta que las titulaciones de virus alcancen niveles aceptables, que indiquen que la infección se ha controlado o erradicado. Los pacientes bajo tratamiento con las combinaciones de fármacos divulgadas en el presente documento pueden evaluarse de manera rutinaria midiendo el ARN viral del virus de la hepatitis C en el suero del paciente mediante transferencia en ranura, transferencia puntual, o técnicas de RT-PCR o midiendo los antígenos virales de hepatitis C, como antígenos de superficie, en suero para determinar la efectividad de la terapia. El análisis continuo de los datos obtenidos mediante estos procedimientos permite la modificación de la pauta de tratamiento durante la terapia de tal forma que se administren las cantidades óptimas de cada componente en la combinación y de tal forma que la duración del tratamiento también pueda determinarse. Por tanto, la pauta de régimen/dosificación puede modificarse de manera racional durante el transcurso de la terapia de tal forma que se administren las menores

cantidades de los compuestos antivirales usados en combinación que en conjunto muestran una efectividad contra el virus de la hepatitis C satisfactoria y de tal forma que la administración de dichos compuestos antivirales en combinación se continúe únicamente durante el tiempo necesario para tratar de manera exitosa la infección.

5 La presente invención abarca el uso de los inhibidores de serín proteasa de VHC divulgados en el presente documento en varias combinaciones con los compuestos anteriores y de tipos similares que tienen actividad anti VHC para tratar o prevenir infecciones por VHC en pacientes. Por ejemplo, pueden usarse uno o más inhibidores de la serín proteasa de VHC en combinación con: uno o más interferones o derivados del interferón que tengan actividad anti VHC; uno o más compuestos sin interferón que tengan actividad anti VHC; uno o más interferones o derivados del interferón que tengan actividad anti VHC y uno o más compuestos sin interferón que tengan actividad anti VHC. Cuando se usan en combinación para tratar o prevenir una infección por VHC en un paciente humano, cualquiera de los inhibidores de la serín proteasa de VHC divulgados en el presente documento y los compuestos anteriores que tienen actividad anti VHC pueden estar presentes en una cantidad anti VHC o farmacéuticamente eficaz. En virtud de sus efectos aditivos o sinérgicos, cuando se usan en las combinaciones descritas anteriormente, cada uno puede estar presente en una cantidad anti VHC o farmacéuticamente eficaz subclínica, es decir, una cantidad que, si se usa sola, proporciona una efectividad farmacéutica reducida en la inhibición completa de la acumulación de viriones de VHC y/o en la reducción o mejora de las afecciones o síntomas asociados con la infección por VHC o la patogénesis en pacientes comparada con dichos inhibidores de la serín proteasa de VHC y compuestos que tienen actividad anti VHC cuando se usan en cantidades farmacéuticamente efectivas. . Además, la presente invención abarca el uso de combinaciones de inhibidores de la serín proteasa de VHC y compuestos que tienen actividad anti VHC como se describe anteriormente para tratar o prevenir infecciones por VHC, en donde uno o más de estos inhibidores o compuestos se encuentra presente en una cantidad farmacéuticamente efectiva y el(los) otro(s) esta(n) presente(s) en una cantidad subclínica anti VHC o farmacéuticamente efectiva debido a sus efectos aditivos o sinérgicos. Como se usa en el presente documento, la expresión "efecto aditivo" describe el efecto combinado de dos agentes (o más) farmacéuticamente activos que es igual a la suma del efecto de cada agente administrado individualmente. Un efecto sinérgico es aquel en que el efecto combinado de dos (o más) agentes farmacéuticamente activos es mayor que la suma del efecto de cada agente administrado individualmente.

Ejemplo 42

30 La terapia actual estándar para infección por virus de la hepatitis C (VHC) es el tratamiento con el inmunomodulador alfa-interferón (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999). Esta terapia es ineficaz en la mayor parte de los pacientes de VHC, que o bien no muestran respuesta o recaen incluso después de un periodo de terapia con interferón prolongada. Adicionalmente, hay varios efectos secundarios severos asociados a la terapia con interferón.

35 A la vista de la urgente necesidad de nuevos fármacos antivirales más efectivos para tratar a pacientes infectados por VHC, los presentes inventores han desarrollado una serie de compuestos que inhiben la serín proteasa de VHC (un complejo de proteínas virales NS3 y NS4A de VHC). Estos compuestos pueden usarse solos, juntos unos con otros y en combinación con otras clases de compuestos para tratar o prevenir la infección por VHC Este ejemplo describe el ensayo de tres inhibidores representativos de la serín proteasa de VHC, es decir, Compuesto CU, Compuesto EP y Compuesto EC, solos y en combinación con miembros individuales de un conjunto de interferones (interferón alfa-2B (Schering-Plough), interferón alfa-2A (PBL Biomedical Laboratories, New Brunswick, NJ), interferón beta (Research Diagnostics Inc, Flandes, NJ), e interferón ovino tau (Research Diagnostics Inc, Flandes, NJ)) en un ensayo de replicón de ARN subgenómico de VHC (Ensayo de Replicón) para determinar si los dos compuestos actúan en concierto para disminuir la acumulación de ARN de VHC. El ensayo de replicón mide la cantidad de ARN subgenómico de VHC (ARN de replicón) que queda en las células de replicón (Lohmann y Col. Science 285:110-113 (1999)) después de dos días de tratamiento con el fármaco en relación a la cantidad de ARN de replicón en células no tratadas. En este ensayo, la potencia de los compuestos como fármacos antivirales contra VHC es directamente proporcional al nivel de inhibición de acumulación de ARN de replicón.

45 Los dos fármacos se ensayan en combinaciones en el sistema de Ensayo de Replicón *in vitro* para determinar si, cuando se usan juntos, muestran actividad anti VHC aditiva o sinérgica. El ensayo de replicón se emplea como modelo subrogado para infección por VHC *in vitro* para evaluar los efectos combinados del inmunomodulador, por ejemplo el interferón alfa 2B ((Intron A); Schering Plough) y el inhibidor de la serín proteasa de VHC, por ejemplo Compuesto CU. Como se muestra a continuación, los resultados demuestran que hay un claro efecto sinérgico anti VHC de estos dos tipos de fármacos según se mide usando determinaciones matemáticas formales de sinergia para analizar su capacidad para reducir los niveles de ARN de VHC en el ensayo de replicón.

El ensayo de replicón

55 El ensayo de replicón que usa una línea celular que contiene el ARN autorreplicante subgenómico de VHC (replicón) se describe en Lohmann y Col. Science 285:110-113 (1999). El número de acceso de Genebank para la secuencia del replicón usado en los experimentos descritos en el presente documento se lista en esta referencia como AJ242654. Este artículo divulga métodos para la transcripción *in vivo* de ARN a partir del ADNc del replicón, la transfección del ARN de replicón en células Huh7 mediante electroporación y la selección de las células que contienen el ARN de replicón usando el antibiótico G418. Las células Huh7 son una línea celular de hepatoma obtenidas gracias al Dr.

William Mason del Fox Chase Cancer Research Center (Philadelphia). Estas células están disponibles públicamente a través de Fox Chase y se han descrito de manera extensa en la bibliografía científica (Nakabayashi y Col. Cancer Res. 42:3858-3863 (1982)). En los experimentos descritos en el presente documento, todo el ADN patrón se elimina de la preparación de ARN de replicón transcrito *in vitro* antes de la electroporación de este ARN al interior de las células Huh7 mediante un tratamiento múltiple con ADNasa (tres tratamientos secuenciales).

El ensayo de replicón se lleva a cabo como se describe en detalle a continuación. Brevemente, las células de replicón se colocan en placas de 96 pocillos a una densidad de 10,000 células por pocillo y se incuban a 37 °C. Las células se incuban en DMEM (Medio esencial mínimo de Dulbecco) suplementado con suero fetal bovino al 10 %, glutamina, aminoácidos no esenciales y el antibiótico G418 (0,25 mg/ml). Después de incubación durante la noche, el medio se reemplaza con DMEM que contiene suero fetal bovino al 2 % y varias concentraciones del inhibidor de la serín proteasa, como Compuesto CU, y/o un interferón como interferón alfa 2B (Intron A, Schering Plough). Cada compuesto se ensaya a de seis a diez concentraciones diferentes. Para un extremo del intervalo de concentraciones, se seleccionan las concentraciones elevadas de los compuestos que pueden dar como resultado una inhibición completa de la acumulación de ARN de replicón después de dos días de tratamiento. A partir de estas concentraciones de inicio, se hacen diluciones en serie de tal forma que los intervalos de concentración ensayados en el ensayo de replicón incluyen concentraciones a las cuales los compuestos son elevadamente eficaces, así como concentraciones a las cuales no hay efecto significativo. Cada inhibidor de la serín proteasa de VHC se ensaya sin ningún interferón añadido, así como con la adición de seis a ocho dosis de interferón diferentes. De igual forma, el interferón se ensaya sin ningún inhibidor de la serín proteasa de VHC añadido. Después de una incubación de 48 horas con los compuestos, se retira el medio de las placas y se extrae el ARN celular total de las células usando el kit RNeasy- 96 fabricado por Qiagen Inc. (Valencia, CA). Este ARN se analiza a continuación mediante RT-PCR, o TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City CA). La diana de TaqMan® RT-PCR es el gen de resistencia a la neomicina en el ARN de replicón. Las placas se configuran de tal modo que hay 5 replicados de cada muestra de tratamiento con fármaco y 16 replicados de muestras sin tratar. Esto permite una mayor confianza estadística en los datos cuantitativos de la RT-PCR.

El análisis de los datos del ensayo de replicón proporciona dos valores que son útiles en la evaluación de la potencia de los agentes antivirales contra VHC potenciales. A cada concentración de compuesto ensayada, se determina el nivel de inhibición de acumulación de ARN de replicón ocasionada por el compuesto durante dos días de tratamiento en relación a la cantidad de ARN de replicón en células sin tratar. Esto se comunica como porcentaje de inhibición. Cuando se han obtenido una serie de puntos de datos mediante el tratamiento de células a un intervalo de concentraciones, se generan los valores CI_{50} , es decir, la concentración de compuesto a la cual la acumulación de ARN de replicón de VHC se reduce en un 50 % por el compuesto. Mediante la repetición de los ensayos de los inhibidores de la serín proteasa de VHC en el ensayo de replicón, se determina que el CI_{50} tiene un coeficiente de variación porcentual (%CV o $100 \% \times$ de desviación estándar en el $CI_{50}/$ media CI_{50}) de aproximadamente un 20 %. El CI_{50} es el valor usado para clasificar los compuestos individuales ensayados en este ensayo basándose en su potencia como agentes antivirales contra VHC. Las determinaciones simples de CI_{50} son inadecuadas para determinar la utilidad de los compuestos usados en combinación. El análisis más efectivo de la matriz de datos generados usando todas las combinaciones de distintos interferones e inhibidores de la serín proteasa necesita la evaluación del porcentaje de inhibición mostrado en la Tabla 7 usando procedimientos matemáticos descritos a continuación que están diseñados para determinar si los tratamientos de combinación son agonistas, aditivos, o sinérgicos.

Los detalles del ensayo de replicón son los siguientes:

Procedimiento para el análisis cuantitativo de ARN de replicón de VHC en el ensayo de replicón de VHC usando TaqMan® RT-PCR

El ensayo de replicón se usa para medir la capacidad de compuestos antivirales contra VHC potenciales para inhibir la acumulación de una molécula de replicón de ARN subgenómico de VHC en una línea celular de Huh7 (Lohmann y Col. Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science 285, 110-113 (1999)). Este ensayo comprende tres componentes operativos: (1) Mantenimiento de la célula de replicón, configuración de la placa de ensayo y aplicación del compuesto; (2) Extracción del ARN celular total de las células de replicón; y (3) RT-PCR en tiempo real (TaqMan®) para medir el monto de ARN de replicón en cada muestra. El ensayo de replicón necesita al menos 4 días para su desarrollo; sin embargo, el procedimiento puede interrumpirse y congelarse las muestras entre etapas. Cada componente del ensayo se describe a continuación.

1. Mantenimiento de la célula de replicón, configuración de la placa de ensayo y aplicación del compuesto:

1.1 Mantenimiento de la célula de replicón

La línea celular usada en el ensayo de replicón se produce como se describe en Lohmann y Col. (Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science 285, 110-113 (1999)). Después de incubar los frascos de cultivo celular de 150 cm² (Costar), que contienen células de replicón, a 37 °C y 5 % de CO₂ y se vuelvan confluentes, se diluyen las células a 1:10, v/v, en frascos de cultivo celular de 150 cm². El medio es DMEM que contiene suero fetal bovino (SFB) al 10 %, 1X de aminoácidos no esenciales (AANE), 1X de Glutamina (Glu) y 0,25 mg/ml de G418. Se efectúan tres pases en serie, permitiendo cada vez que las células se hagan confluentes, seguido de dilución de las células en frascos de cultivo celular frescos de 150 cm². Estas células, citadas como "células

originales," se alicuotan y almacenan a continuación para su uso futuro en el ensayo de replicón. el análisis basado en TaqMan® se efectúa para determinar el número de genomas de replicón de VHC por célula, que revela la presencia de -150 copias del replicón por célula. Esto se basa en la relación de copias de ARN de replicón a dos veces las copias del gen apoB humano (número de genomas haploides).

5 1,1.1 Las células originales se almacenan en N₂ líquido. Para las células usadas en el ensayo de replicón, después de 20 pases en serie, se abandonan las células y se revive un nuevo lote del almacenamiento en N₂ líquido.

1.2 Siembra de células en las bandejas de 96 pocillos para el ensayo de replicón

10 1,2.1. Para la preparación de las placas de 96 pocillos, las células que contienen replicón al 75 % de confluencia en un matraz de 75 cm² se tripsinizan y se resuspenden en 10 ml de Medio A. La tripsinización se lleva a cabo retirando el medio, añadiendo 1ml de tripsina- EDTA al 0,25 % p/v y después retirando la tripsina-EDTA. Después de 5 - 10 minutos las células se liberan del matraz y se resuspenden en medio.

1,2.2. Se cuentan las células usando un hemocitómetro y se ajusta la concentración de células a 10⁵ células/ml.

15 1,2.3. Se siembra cada pocillo con 100 µl de suspensión de células usando una pipeta multicanal Impact2 (Matrix), no sembrando nunca más de cuatro placas de 96 pocillos de una sola suspensión de células.

1,2.4. Las placas de 96 pocillos se incuban a 37 °C durante la noche.

1.3. Dilución de compuestos y aplicación a bandejas de células de replicón

20 1,3.1. Los compuestos inhibidores de la serín proteasa de VHC se disuelven en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración final de 20 mM. Los interferones se suspenden en solución salina tamponada con fosfato que contiene albúmina de suero bovino al 0,1 % p/v.

1,3.2. La solución de compuesto a 20 mM se diluye hasta 1mM con DMSO.

25 1,3.3. Se añaden 50 µl de compuesto disuelto en DMSO a 10 ml de Medio B (la concentración del compuesto es 5 mM y la concentración de DMSO es ahora 0,5 %), o se añaden 20 µl de compuesto a 1 mM y 30 µl de DMSO a 10 ml de Medio B (la concentración de compuesto es 2 µM.)

1,3.4. Se completa la dilución de compuesto a la concentración final mezclando la solución compuesto/Medio B con Medio C (contiene DMSO al 0,5 %). Se hacen de una a cinco diluciones en serie del compuesto con Medio C en un bloque de 96 pocillos de polipropileno de 2 ml para obtener las concentraciones finales de compuesto deseadas.

30 1,3.5. La placa de células se retira del incubador a 37 °C y se marca en la esquina superior derecha de la tapa y en el lado derecho de la base. Se vierte el medio sobre las placas de 96 pocillos.

1,3.6. Se añaden 100 µl de las soluciones de compuesto/medio de cada pocillo del bloque de dilución de 96 pocillos a la placa de 96 pocillos usando una pipeta Impact2.

35 1,3.7. Se añaden 100 µl de Medio C a todos los pocillos sin tratar de acuerdo con la Tabla 3 para evaluar los compuesto ya sea a 1, 3, o 6 concentraciones distintas. "Untx" significa células tratadas con control (DMSO añadido a la misma concentración que las células tratadas); "Con ." significa concentración de compuesto.

TABLA 3

2 compuestos, 6 concentraciones, 5 replicados

	Compuesto 1					Compuesto 2						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	untx		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B	con.1		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	
C	con.2		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	
D	con.3		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	
E	con.4		con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	
F	con.5		con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	
G	con.6		con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	
H	untx		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	

40 (continuación)

4 compuestos, 3 concentraciones, 5 replicados

	Compuesto 1					Compuesto 2						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	untx		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B	con.1		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	
C	con.2		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	
D	con.3		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	
E	con.1		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	
F	con.2		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	

4 compuestos, 3 concentraciones, 5 replicados

	Compuesto 1					Compuesto 2						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
G	con.3		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	
H	untx		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
	Compuesto 3					Compuesto 4						

5 16 compuestos, 1 concentraciones, 4 replicados.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	untx		cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
B	untx		cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
C	untx		cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
D	untx		cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
E	untx		cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	
F	untx		cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	
G	untx		cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	
H	untx		cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	

12 compuestos, 1 concentraciones, 5 replicados.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	untx		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B	cpd 1		cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 7	cpd 7	cpd 7	cpd 7	cpd 7	
C	cpd 2		cpd 2	cpd 2	cpd 2	cpd 2	cpd 8	cpd 8	cpd 8	cpd 8	cpd 8	
D	cpd 3		cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 9	cpd 9	cpd 9	cpd 9	cpd 9	
E	cpd 4		cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 10	cpd 10	cpd 10	cpd 10	cpd 10	
F	cpd 5		cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 11	cpd 11	cpd 11	cpd 11	cpd 11	
G	cpd 6		cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 12	cpd 12	cpd 12	cpd 12	cpd 12	
H	untx		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	

1.4. Las placas se incuban durante 48 horas a 37 °C y después se someten a extracción de ARN.

10

TABLA 4

Resumen del equipamiento y suministros usados para el cultivo celular y la preparación del compuesto		
pipeta Impact2 de 8 canales, 1250 µl	Nº de Cat 2004	Matrix
Bloque de pocillos profundos de 2 ml de polipropileno, 96 pocillos, Estéril	Nº de Cat 4222	Matrix
Depósitos de 25 ml de reactivo, estériles	Nº de Cat 8096	Matrix
puntas de pipeta extra largas de 1250 µl	Nº de Cat 8255	Matrix
placa de 96 pocillos	Nº de Cat 3595	Costar
Hemocitómetro	Neubauer de 0,1 mm de profundidad mejorado Bright Line	Reichert
DMEM	Nº de Cat 51444-79P	JRH

(continuación)

L-glutamina (Glu)	Nº de Cat 12403-010	GIBCO-BRL
Resumen del equipamiento y suministros usados para el cultivo celular y la preparación del compuesto		
Aminoácidos no esenciales (AANE)	Nº de Cat 11140-050	GIBCO-BRL
Suero fetal bovino (SFB)	Nº de Cat 16250-078	GIBCO-BRL
G418	Nº de Cat 55-0273	Invitrogen
DMSO	Nº de Cat D-2650	Sigma
Medio A	DMEM, SFB al 10 %, AANE 1X, Glu 1X, 0,25 mg/ml de G418	
Medio B	DMEM, SFB al 2 %, AANE 1X, Glu 1X	
Medio C	DMEM, SFB al 2 %, AANE 1X, Glu 1X, DMSO al 0,5 %, ,	
Tripsina-EDTA al 0,25 %	GIBCO-BRL	

2. Extracción del ARN celular total de las células de replicón:

2.1 Introducción

- 5 La meta del procedimiento es extraer ARN de las muestras de cultivo tisular *in vivo* de tal forma que el ARN viral o celular se recupera cuantitativamente y lo suficientemente puro como para ser analizado por un ensayo de RT-PCR de VHC.

10 Para permitir la detección de variaciones en la eficiencia de la extracción de ARN, se añaden cantidades estándar de virus de la diarrea viral bovina (VDVB), un virus de ARN con cierta similaridad al VHC, a cada muestra de células antes de la extracción de ARN. Por tanto, el nivel de ARN de VDVB detectado en la reacción multicanal RT-PCR debe ser consistente entre todos los pocillos dentro de los límites de variabilidad asociados con el ensayo de replicón. Este control interno de eficacia en la extracción de ARN se discute adicionalmente en la sección TaqMan®, más adelante.

15 El enfoque de extracción de ARN usado es el procedimiento RNeasy-96 fabricado por Qiagen Inc. (Valencia, CA). Este procedimiento emplea 96 mini columnas basadas en sílice que se posicionan en una matriz compatible con operaciones de cultivo tisular de 96 pocillos. La tecnología de extracción de ARN es una modificación del procedimiento Boom, en el que todas las proteínas celulares y ácido nucleico, incluyendo nucleasas, se desnaturalizan primeramente con una sal caotrópica fuerte (tiocianato de guanidino). En este ambiente, los ácidos nucleicos tienen una fuerte afinidad por el sílice, el material en los discos de las minicolumna; sin embargo, las proteínas y otros contaminantes no se unen al sílice y pasan a través de las columnas. Después de lavar las columnas con soluciones de caotrópico/etanol, las muestras se secan parcialmente y a continuación se libera el ácido nucleico de la columna en un pequeño volumen de agua.

25 Para reducir la variación en la recuperación de ARN de VHC, se tiene cuidado con las condiciones de lavado y secado parcial de la columna. La presencia de una pequeña cantidad de etanol en una columna contaminará el ARN final e interferirá con el sistema de detección de la RT-PCR. Se necesita precaución en todas las etapas de este procedimiento ya que las muestras de inicio pueden ser biopeligrosas, la sal caotrópica es elevadamente cáustica y como tiocianato, puede generar gas venenoso de cianuro si se deja que entre en contacto con ambientes ácido.

TABLA 5

Resumen del equipamiento y suministros necesarios para los procedimientos de extracción de ARN de VHC		
Kit RNeasy 96 (24)	Nº de Cat 74183	Qiagen
Colector QIAvac 96	Nº de Cat 19504	Qiagen
Centrífuga 4-15C, para 2x96 placas, 6000 x g	Nº de Cat 81010	Qiagen
rotor de placa para 2x96 placas	Nº de Cat 81031	Qiagen
Alcohol etílico de grado 200		

(continuación)

Resumen del equipamiento y suministros necesarios para los procedimientos de extracción de ARN de VHC		
pipeta Impact2 de 8 canales, 250 µl	Nº de Cat 2002	Matrix
pipeta Impact2 de 8 canales, 1250 µl	Nº de Cat 2004	Matrix
Bloque de pocillos profundos de 2 ml de polipropileno, 96 pocillos, Estéril	Nº de Cat 4222	Matrix
Depósitos de 25 ml de reactivo, estériles	Nº de Cat 8096	Matrix
puntas de pipeta extra largas de 1250 µl	Nº de Cat 8255	Matrix
puntas de pipeta de 200 µl	Nº de Cat 7275	Matrix
Medio MEM libre de suero	Nº de Cat 11095-80	GIBCOBRL

2.2 Procedimiento:

2.2.1 Lisado de células

- 5 2.2.1.1. Preparación del tampón de lisis: Para una placa de 96 pocillos, se añaden 150 µl de β-mercaptoetanol (p-ME) y 1 µl de stock de VDVB (agitar el stock vorticialmente antes de añadir) a 15 ml de tampón RLT (un componente del kit RNeasy, Qiagen). Este stock se prepara infectando células MDBK (células de riñón bovino, #CCL-22, disponible a través de la American Type Culture Collection, Manassas VA) con VDVB y se recoge el cultivo en el pico de efecto citopático (CPE). Este stock tiene un título infectivo de aproximadamente 1x10⁷ ufp/ml. Esto proporciona al VDVB un ciclo umbral (C_i) de aproximadamente 22 en el ensayo TaqMan®. El stock de VDVB se almacena en un congelador a -80 °C.
- 10 2.2.1.2. Las células se lavan con 150 ml de medio MEM libre de suero (programa 4 en la pipeta electrónica de 8 canales P1250: Carga 1250, Disp 150 x 8). se añaden 150 µl de tampón de lisis a cada pocillo (mismo programa).
- 15 2.2.1.3. El ARN se extrae inmediatamente, o se congelan las células a -80 °C.

2.2.2. Preparación de los reactivos y materiales para la extracción de ARN.

- 2.2.2.1. Se apunta en número de lote del RPE y del kit RNeasy 96.
- 2.2.2.2. RPE: Se añaden 720 ml de etanol 100 % a un bote de RPE (Qiagen) y se mezcla bien; Los botes de RPE se agitan siempre bien antes de usarse.
- 20 2.2.2.3. Etanol al 70 %: Se añaden 150 ml de dietilpircarbonato (DEPC) agua a 350 ml de etanol 100 % y se mezcla bien.

2.2.3. Preparación de ARN con kit RNeasy 96

- 25 2.2.3.1. Las muestras congeladas se descongelan a temperatura ambiente durante 40 min. A la vez, se descongela una columna de controles de extracción para cada placa (controles de extracción: Los controles de extracción de RNeasy es un conjunto de 8 conectados todos ellos entre sí. Dentro de cada tubo hay 170 µl de lisado de células con una determinada proporción de células VHC positivas y negativas. De arriba a abajo hay dos números de control de cada bajo, medio, alto y cero, respectivamente. (véase sección 2,3 del protocolo a continuación.)
- 30 2.2.3.2. Las muestras se mezclan pipeteando 100 µl arriba y abajo cinco veces. Se transfiere toda la muestra a las columnas 1-10 del bloque de pocillos cuadrados de 2 ml de Matrix (programa 1 en P250: Mezcla 100 x 5, Carga 170, Eliminar).
- 2.2.3.3. Se transfieren 150 µl del estándar de replicón a la columna 11 (sin muestra en la columna 12).
- 2.2.3.4. Se añaden 150 µl de etanol al 70 % (EtOH) a cada muestra (programa 4 en P1250: Carga 1250, Disp 150).
- 35 2.2.3.5. Se coloca una placa RNeasy 96 marcada con el número de placa adecuado en el colector de vacío. Se mezcla y transfiere el lisado/EtOH a la placa RNeasy 96 (programa 1 en P1250: Mezcla 200, Veces 5, Carga 330 y Eliminación). Cualquier pocillo sin usar se sella con cinta transparente (suministrada por Qiagen), generalmente la columna 12.
- 2.2.3.6. Se aplica vacío (aproximadamente 80 kPa) para cargar la muestra en las minicolumnas.
- 40 2.2.3.7. Se lava la placa RNeasy-96 con 1000 µl de tampón RW (Qiagen)/pocillo (programa 2 en P1250: Carga 1000, Disp 1000).
- 2.2.3.8. Se aplica vacío al filtro a través del tampón RW1 y se vacía el flujo continuo.
- 2.2.3.9. Se lava la placa RNeasy-96 con 1000 µl de tampón RPE/pocillo (programa 2 en P1250).
- 45 2.2.3.10. Se aplica vacío para filtrar a través del tampón RPE.
- 2.2.3.11. Se repite el paso 2.2.3.9

2.2.3.12. Se aplica vacío al filtro a través del tampón RPE, manteniendo la aplicación de vacío durante 3 minutos.

2.2.3.13. Se seca la placa RNeasy 96: Se coloca la placa RNeasy-96 en una rejilla de microtubos de recogida (suministrada por Qiagen), cubierta con la cinta AirPore suministrada y se centrifuga la unidad durante 10 min a 6000 x g (Centrífuga Qiagen Sigma; 4-15 °C).

2.2.3.15. Se eluye el ARN de la placa de 96 pocillos RNeasy: Se transfiere la placa RNeasy-96 a la parte superior de una rejilla de microtubos de recogida. se añaden 70 µl de agua libre de ARNasa a la mitad de cada pocillo (programa 3 en P1250: Carga 850, Disp 70).

2.2.3.16. se incuba 1 minuto a temperatura ambiente y se coloca a continuación una cinta AirPore nueva sobre la placa.

2.2.3.17. La unidad se centrifuga entonces durante 4 min a 6000 x g en una centrífuga Sigma 4-15C. El volumen eluido es de entre 28 µl y 50 µl.

2.2.3.18. Se desecha la placa RNeasy-96 y la rejilla de tubos de recolección se sella con los tapones proporcionados por Qiagen (8 por banda).

2.2.3.19. En ARN eluido se almacena a -80 °C o se analiza inmediatamente en el ensayo TaqMan®.

2.3 Preparación de los controles de extracción

Día 1

2.3.1.1. Se deponen $2,5 \times 10^7$ células productoras de replicón en un matraz de cultivo tisular de 150 cm² (T-150).

2.3.1.2. Se deponen $2,0 \times 10^6$ células Huh7 en un matraz de cultivo tisular de 75 cm² (T-75).

2.3.1.3 Se incuba durante la noche a 37 °C.

Día 2

2.3.1.4. Las células se lisan con tampón de lisis.

2.3.1.5. Se retira el sobrenadante de las células Huh7 y células productoras de replicón y se lava la monocapa con 10 ml de medio libre de suero (MEM).

2.3.1.6. Se añaden 30 ml de tampón de lisis (con 1 µl de stock de VDVb/15 ml de tampón de lisis) a las células Huh7, se mezcla pipeteando repetidamente y se coloca el lisado de células en un tubo de centrifuga de cultivo tisular de fondo cónico de 50 ml.

2.3.1.7. Se añaden 10,5 ml de tampón de lisis a las células productoras de replicón, se mezcla pipeteando repetidamente y se coloca el lisado de células en un tubo de centrifuga de cultivo tisular de fondo cónico de 15 ml.

2.3.2. Para el estándar de extracción ALTO: Se alicuotan 170 µl del lisado de células de células productoras de replicón en las filas 5 y 6 de dos rejillas de tubos de 0,75 ml Matrix.

2.3.3. Para el estándar de extracción MEDIO: Se añade 1,0 ml del lisado de células de células productoras de replicón a 9 ml del lisado de Huh7 y se mezcla bien. Se alicuotan 170 µl de esta mezcla a las filas 3 y 4 de dos rejillas de tubos de 0,75 ml Matrix.

2.3.4. Para el estándar de extracción BAJO: Se añade 50 µl del lisado de células de células productoras de replicón a 10 ml del lisado de Huh7 y se mezcla bien. Se alicuotan 170 µl de esta mezcla a las filas 1 y 2 de dos rejillas de tubos de 0,75 ml Matrix.

2.3.5. Control de extracción CERO: Se alicuotan 170 µl del lisado de células Huh7 en las filas 7 y 8 de dos rejillas de tubos de 0,75 ml Matrix.

2.3.6. Se almacenan los controles a -80 °C

3. TaqMan® RT-PCR y análisis de datos

3.1 Introducción: Se usa RT-PCR en tiempo real cuantitativa para medir la cantidad de ARN de replicón de VHC en cada muestra. Esta tecnología también se cita como el ensayo de nucleasa 5' basado en la PCR y TaqMan®. El instrumento analítico es el Sistema de Detección de Secuencia Applied Biosystems 7700 Prism (Applied Biosystems, Foster City, CA). Este instrumento es esencialmente un espectrógrafo de fluorescencia inducida por láser en multiplexación en tiempo acoplado con un ciclador térmico. Controla la acumulación del amplicón de PCR en cada pocillo de una bandeja de muestras de 96 pocillos a lo largo del ciclo del procedimiento de PCR.

3.2. Uso del control interno de VDVb: Como ya se mencionó en la sección anterior, se incorpora un control positivo interno en cada muestra. Esto sirve como una medida de la eficiencia de la extracción de ARN y muestra si la muestra contiene contaminantes que inhiban la PCR TaqMan®. Se mezcla VDVb con el tampón de lisis celular caotrópico antes de aplicar el tampón de lisis celular a las células. Aunque el control positivo se encuentra en cada muestra, el ensayo de control positivo interno de VDVb se efectúa únicamente cuando el ensayo de ARN de replicón de VHC queda fuera de los límites esperados, lo que puede sugerir que haya un problema con las muestras. El aparato 7700 es capaz de controlar simultáneamente la acumulación de dos amplicones de la PCR en el mismo tubo usando sondas de detección marcadas con dos tintes indicadores

fluorescentes distintos ("multiplexación"). Los criterios específicos que motivan un análisis TaqMan® para el control positivo interno de VDVB de una muestra se describen en la sección de análisis de datos (3,6).

5 **3.3 Sonda y cebadores TaqMan® para ARN de replicón de VHC.** Debido a la estabilidad genética esperada y ausencia general de estructura secundaria de ARN en el gen de resistencia a neomicina (neo) codificado en el replicón, se emplean cebadores y una sonda que se une a esa región. Este segmento del ARN del replicón se extiende desde la base 342 a la base 1193 del replicón de 8001 pares de bases (SEC ID N°:1):

```

301 gtgcttgcca gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac
361 ctcaaagaaa aaccaaacgt aacaccaacg ggcgcgccat gattgaacaa gatggattgc
421 acgcaggttc tccggccgct tgggtggaga ggctattcgg ctatgactgg gcacaacaga
481 caatcggctg ctctgatgcc gccgtgttcc ggctgtcagc gcaggggccc cgggttcttt
541 ttgtcaagac cgacctgtcc ggtgccctga atgaactgca ggacgaggca ggcggtctat
601 cgtggctggc cagcaggggc gttccttggc cagctgtgct cgacgttgtc actgaagcgg
661 gaagggactg gctgctattg ggccaagtgc cggggcagga tctcctgtca tctcaccttg
721 ctccctgccg gaaagtatcc atcatggctg atgcaatgcg gcggtgcat acgcttgatc
781 cggctacctg cccattcgac caccaagcga aacatcgcat cgagcgagca cgtactcgga
841 tgggaagccg tcttgtcgat caggatgatc tggacgaaga gcatcagggg ctccgcccag
901 ccgaactggt cgccaggctc aaggcgcgca tgcccgacgg cgaggatctc gtcgtgacct
961 atggcgatgc ctgcttgccc aatatcatgg tggaaaatgg CCGCTTTTCT GGATTCATCG
                                     Cebador directo
1021 aCTGTGGCCG GCTGGGTGTG Gcggaccgct atcaggacat agcgttggct acccgtgata
      Sonda TaqMan®
1081 ttgctgaaga gcTTGGCCGC GAATGGGctg accgcttctt cgtgctttac ggtatcgccg
      Cebador reverso
1141 ctcccgatcc gcagcgcata gccttctata gccttcttga cgagttcttc tgagtttaaa
    
```

3.4. Procedimientos

3.4.1. Procedimiento para Preparar Mezclas Maestras 1 x para RT-PCR de NEO y BVDV

10

TABLA 6

Resumen del equipamiento y materiales para la preparación de una Mezcla Maestra de 10 placas para RT-PCR

Equipamiento y suministros	Nº de pedido.	Proveedor
pipeta de 0,5-10 µl	Serie 22 47 005-1 2000	Eppendorf
pipeta de 2-20 µl	Serie 22 47 015-9 2000	Eppendorf
pipeta de 10-100 µl	Serie 22 47 020-5 2000	Eppendorf
pipeta de 50-200 µl	Serie 22 47 025-6 2000	Eppendorf
pipeta de 100-1000 µl	Serie 22 47 030-2 2000	Eppendorf
Puntas de 1250µl Matrix	Nº de Cat 8255	Matrix
Puntas de 200 µl Matrix	Nº de Cat 7275	Matrix
puntas de 10 µl ART	Nº de Cat 2140	Molecular Bioproducts
puntas de 20 µl ART	Nº de Cat 2149P	Molecular Bioproducts
puntas de 100 µl ART	Nº de Cat 2065E	Molecular Bioproducts
puntas de 200 µl ART	Nº de Cat 2069	Molecular Bioproducts
puntas de 1000 µl ART	Nº de Cat 2079E	Molecular Bioproducts
Pipeta electrónica, Impact2	Nº de Cat 2001	Matrix
tubos de microcentrifuga de 1,5 ml libres de ARNasa	Nº de Cat 12450	Ambion

ES 2 489 115 T3

tubos de polipropileno de 14 ml	Nº de Cat 352059	Falcon
Equipamiento y suministros	Nº de pedido.	Proveedor
depósito de reactivo de 25 ml	Nº de Cat 8096	Matrix
placa de reacción de 96 pocillos	Nº de Cat N801-0560	Applied Biosystems
tiras de tapón ópticas	Nº de Cat N801-0935	Applied Biosystems
Batas estériles desechables	Nº de Cat 9515-E	Baxter
Reactivos	Nº de pedido.	Proveedor
Ácido	HCl 0,1 N	Fisher
RNaseZap	Nº de Cat 9780	Ambion
RNase away	Nº de Cat 7005	Molecular Bioproducts
Envase de 10, kit de reactivos principales de RT-PCR EZ, tampón de reacción 5x, Acetato de manganeso 25 mM, desoxi NTP	Nº de Cat 403028	Applied Biosystems
sonda VIC NEO, 2 µM (=10x), 550µl por alícuota	Nº de Cat 450003, a petición del cliente, 5'-VIC-CTG TGG CCG GCT GGG TGT GG-TAMRA -3' (SEC ID Nº:2)	Applied Biosystems
sonda VIC VDVB, 2µM (=10x), 550 µl por alícuota (Vertex)	Nº de Cat 450003, a petición del cliente, 5'-VIC-CCC TCG TCC ACG TGG CAT CTC GA-TAMRA -3' (SEC ID Nº:3)	Applied Biosystems
cebador directo NEO, 3µM (=10x) mezcla de cebador directo/inverso, 550 µl por alícuota	Nº de Cat 4304972, a petición del cliente, 5'-CCG CTT TTC TGG ATT CAT CG-3' (SEC ID Nº:4)	Applied Biosystems
cebador inverso NEO, 3µM (=10x) mezcla de cebador directo/inverso, 550 µl por alícuota	Nº de Cat 4304972, a petición del cliente, 5'-CCC ATT CGC CGC CAA-3' (SEC ID Nº:5)	Applied Biosystems
cebador directo VDVB, 3µM (=10x) mezcla de cebador directo/inverso, 550 µl por alícuota	a petición del cliente, 5'-CAG GGT AGT CGT CAG TGG TTC G-3' (SEC ID Nº:6), escala de 1,0 µM con purificación de gel	Oligos etc
cebador inverso VDVB, 3µM (=10x) mezcla de cebador directo/inverso, 550 µl por alícuota	a petición del cliente, 5'-GGC CTC TGC AGC ACC CTA TC-3' (SEC ID Nº:7), escala de 1,0 µM con purificación de gel	Oligos etc
Estándares de ARN de NEO	ARN transcrito <i>in vitro</i> a partir de un plásmido que contiene la porción de gen neo del ARN de replicón de VHC usando ARN polimerasa T7. El ARN transcrito <i>in vitro</i> se cuantifica basándose en el peso molecular conocido de los transcritos y la absorbancia UV de la solución de transcrito purificado. Este ARN se diluye, alícuota y almacena a -80 °C. Las alícuotas individuales se descongelan para cada ensayo TaqMan®.	
Muestras de ARN a ensayar aisladas de células de replicón de VHC (sección 2 de este protocolo), 10 µl/placa de 96 pocillos		
Agua libre de nucleasas (No tratada con DEPC)	Nº de Cat 9930	Ambion

3.4.2. Preparación de reactivos para la mezcla maestra

3.4.2.1. Se limpia el banco de trabajo de acuerdo con los dos pasos a continuación y se limpian las pipetas con RNase away.

RNase Zap (Ambion, Austin, TX)

5 RNase Away (Molecular Bioproducts, San Diego, CA)

3.4.2.2. Abrir los reactivos principales para EZ RT-PCR (Applied Biosystems) y poner el tampón 5x sobre hielo, descongelar los reactivos congelados a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos y después ponerlos sobre hielo. Puede usarse un kit de reactivos de EZ RT-PCR para analizar dos extracciones de ARN en placas de 96 pocillos.

10 3.4.2.3. Tomar un tubo de sonda VIC 2 μM (NEO o VDVB, 550 ml por tubo) del almacenamiento a -20°C y ponerlo sobre hielo.

3.4.2.4. Tomar un tubo de mezcla de cebadores directo/inverso 3 μM (NEO o VDVB, 550 ml por tubo) del almacenamiento a -20°C y ponerlo sobre hielo.

15 3.4.2.5. Tomar un tubo de patrones de transcrito de ARN (30 μl) (10^8 copias/10 μl) del almacenamiento a -80°C y poner sobre hielo.

3.4.2.6. Tomar un tubo de agua Ambion a temperatura ambiente.

3.4.3. Ensamblaje de mezcla maestra para una reacción en placa de 96 pocillos.

3.4.3.1. Usar una pipeta de 1 ml para transferir tampón 5x (Applied Biosystems) a un tubo de 14 ml; el volumen total añadido es 1100 μl .

20 3.4.3.2. Usar una pipeta de 1 ml para añadir $\text{Mn}(\text{OAc})_2$ 25 mM (Applied Biosystems) a un tubo de 14 ml; el volumen total añadido es 660 μl .

3.4.3.3. Usar una pipeta de 200 μl para añadir 165 μl de dATP 10 mM al tubo de 14 ml. Hacer lo mismo para dCTP 10 mM, dUTP 20 mM y dGTP 10 mM .

3.4.3.4. Usar una pipeta de 1 ml para añadir 550 μl de mezcla de cebador directo/inverso 3 mM 10x.

25 3.4.3.5. Usar una pipeta de 1 ml para añadir 550 μl de sonda 2 mM 10x.

3.4.3.6. Usar una pipeta de 1 ml para añadir 220 μl de rTth ADN polimerasa (Applied Biosystems).

3.4.3.7. Usar una pipeta de 100 μl para añadir 55 μl de AmpErase UNG (Applied Biosystems).

3.4.3.8. Usar una pipeta de 1 ml para añadir 605 μl de H_2O Ambion al tubo de 14 ml; el volumen final es de 4400 μl en total.

30 3.4.3.9. Transferir la mezcla maestra de 4400 μl a un depósito de reactivo de 25 ml.

3.4.3.10. Dispensar 40 μl por pocillo para todos los 96 pocillos usando una pipeta de 8 canales.

3.4.3.11. Transferir 10 μl de muestras extraídas desconocidas a los pocillos de la placa de reacción usando una pipeta de 8 canales, columna por columna, de la columna 1 a la columna 11. Tapar cada columna después de la transferencia.

35 3.4.3.12. Añadir 270 μl de H_2O Ambion a los 30 μl de transcrito de ARN de 10^8 copias/10 ml para su uso en la curva patrón y mezclar. Ahora hay 10^7 copias del patrón de ARN de cuantificación del replicón de VHC /10 ml.

3.4.4. Preparación del ABI 7700 para cada ciclo

3.4.4.1 Antes de cada ciclo, reiniciar el ordenador para el ABI 7700 y regenerar el escritorio.

40 3.4.4.2 Cerrar y desinstalar cualquier programa redundante del disco duro; enviar los datos sobrantes a la papelera.

3.4.4.3 Abrir el programa Sequence Detector v1,7 (SDS software).

3.4.4.5 Abrir la carpeta "Ciclos de Ensayo de Replicón".

3.4.4.6 Abrir la plantilla de placa "Ensayo de Replicón". Las condiciones del ciclador termal programadas en la plantilla son las siguientes:

45 Etapa 1: 50 $^\circ\text{C}$ durante 2 minutos.

Etapa 2: 60 $^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.

Etapa 3: 95 $^\circ\text{C}$ durante 5 minutos.

Etapa 4: 95 $^\circ\text{C}$ durante 15 segundos.

Etapa 5: 60 $^\circ\text{C}$ durante 60 segundos.

50 Número de repeticiones de ciclo de las etapas 4-5: 40.

Instrumento plantilla: diagnóstico: opciones avanzadas:

Seleccionar vistas: mostrar mse.

Seleccionar vistas: mostrar mejor ajuste.

Seleccionar miscelánea: tinte de referencia ROX.

- 3.4.4.7 "Guardar" (no "Guardar Como") el archivo en la carpeta "Ciclos de Ensayo de Replicón".
- 3.4.4.8 Mostrar configuración: pulsar EJECUTAR.

3.5 Preparación de los datos de ABI7700 después de un ciclo usando software SDS.

- 5 3.5.1. Se retiran las placas de ensayo del ABI7700 y se desechan sin siquiera abrirlas. Esto reduce en gran medida los problemas de laboratorio con la contaminación cruzada de PCR.
- 3.5.2. Los datos se analizan usando el programa Sequence Detector System V1,7.
- 3.5.3. Los niveles umbral se ajustan inicialmente usando los ajustes por defecto.
- 3.5.4. Criterios de rechazo de datos: Se pueden rechazar puntos de datos o series de datos de placas completas. Si ha habido una desviación significativa del protocolo, un fallo del reactivo o un accidente, o un fallo de funcionamiento del ABI 7700, los datos pueden desecharse. Para el rechazo de cualquier punto de datos de un ciclo aparentemente normal, deben cumplirse uno o más de estos criterios.
- 10 3.5.4.1. Cálculos de ciclo umbral. Usar normalmente los valores por defecto del software SDS. Si el Ct de la muestra más concentrada es menor de 15, cambiar el límite de parada del valor umbral según sea necesario a un valor más bajo de tal forma que el Ct de la muestra de mayor concentración es mayor que el valor de parada.
- 15 Actualizar los cálculos después de efectuar este cambio.
- 3.5.3.2. Valorar el rechazo de un ciclo completo TaqMan® anómalo como se indica por una desviación de los valores medios para la pendiente y ordenada en el origen de la recta generada mediante el análisis de los patrones de ARN neo. Los intervalos aceptables para estos valores son:
 - 20 Los valores de la pendiente deben estar entre 3,0 y 3,6
 - Los ciclos de la ordenada en el origen deben estar entre 36 y 41 ciclos.
- 3.5.4.3. Pueden eliminarse pocillos individuales TaqMan® aberrantes como se indica por un Rn/ARn extremo antes del análisis de datos para que no afecten a los cálculos del software SDS.
- 3.5.4.4. Examinar y registrar los valores de Ct control sin plantilla y confirmar que son >7,0 Ct (>100X) mayores que el Ct para cualquier muestra tratada con compuesto.
- 25 3.5.5. Los valores Ct de los patrones de ARN de VHC se comparan con los resultados anteriores..
- 3.5.6. La curva patrón de ARN de VHC se compara con los resultados anteriores.
- 3.5.7. Si se evidencia una amplificación aberrante en pocillos individuales, esos pocillos se identifican y anotan.
- 3.5.8. Se exporta el archivo "resultados" y se transfiere del ordenador del 7700 a otro ordenador para el análisis usando Microsoft Excel.
- 30 3.5.9. Se notifica cualquiera de los siguientes cambios en las preparaciones de reactivos o de diluciones empleadas.
 - Nueva síntesis de sonda o cebador por parte del proveedor.
 - Nueva dilución y alícuotas de sonda o cebador.
 - 35 Nueva preparación de transcrito de ARN de patrones.
 - Nueva dilución y alícuotas de transcrito de ARN de patrones.
 - Nueva preparación viral de VDVB.
 - Nueva preparación de patrones de la columna 11.

3.6 Análisis de datos de TaqMan®.

- 40 3.6.1. Copiar y pegar el número de Ct de VHC de TaqMan® y copiar el número del archivo de los resultados de TaqMan® en las celdas apropiadas de la macro de Microsoft Excel para análisis de los datos del Ensayo de Replicón y ejecutar la macro.
- 3.6.2. Copiar la tabla de resultados de TaqMan® de la hoja de la macro en otra hoja, introducir el número de serie y número de lote del compuesto.
- 45 3.6.3 A partir de esta hoja de Excel se calcularán la media, desviación típica y el CV porcentual de la actividad de inhibición del compuesto, así como número de copias de VHC, número de Ct de VHC y número de Ct de VDVB (si está disponible), de todos los puntos de dilución en 5 replicados y control sin compuesto.
- 3.6.4. Criterios para el rechazo de datos e implementación de TaqMan® de control para VDVB. Comprobar todos los cálculos. Se pueden rechazar puntos de datos o series de datos de placas completas. Si hay una desviación significativa del protocolo, un fallo del reactivo o un accidente, o un fallo de funcionamiento del ABI 7700, los datos pueden desecharse. Para el rechazo de cualquier punto de datos de un ciclo aparentemente normal, deben cumplirse uno o más de estos criterios. La desviación típica del porcentaje de inhibición debe ser menor del 30 % en compuestos activos. El %CV del número de copias de VHC debe ser menor del 30 %. La desviación típica del Ct de VHC de todas las muestras debe ser menor de 0,5; esta es generalmente de entre 0,1 a 0,3 en la mayoría de las muestras. Si la desviación típica del Ct de VHC es mayor de 0,5, volver a la tabla de datos primarios y comprobar los números de Ct de 5 replicados. Si el número de Ct de un pocillo cualquiera es 2 Ct distinto de la media del número de Ct de 5 replicados, este pocillo debe ser omitido del análisis. Si más de 3 pocillos (no en la misma columna) tienen números de Ct inusuales, debe efectuarse el ensayo de control interno de TaqMan® de VDVB. Si los datos de VDVB muestran irregularidad, el compuesto debe ensayarse de nuevo.
- 55

3.6.5. Cálculo de CI_{50} : Copiar y pegar los datos de inhibición media y desviación típica en un calculador de respuesta a dosis con pendiente variable que usa procedimientos de regresión no lineal. Usando esta herramienta, calcular el CI_{50} usando estos dos métodos: fijar el máximo al 100 % de inhibición únicamente, o fijar el máximo a 100 % de inhibición y el mínimo a 0 % de inhibición. Se notifica el procedimiento que proporcione el ajuste más claro para cada compuesto. El CI_{50} más fiable proviene del cálculo que tenga el error típico más bajo. Si los CI_{50} calculados a partir de estas opciones de ajustes de curvas muestran una diferencia de más de una vez, o si la DT del CI_{50} es mayor que el CI_{50} , debe ensayarse de nuevo el compuesto y ajustar las concentraciones.

Cálculo del efecto de los inhibidores de la serín proteasa de VHC en combinación con interferones

10 Puede determinarse el efecto de un inhibidor de la serín proteasa de VHC (HSPI) y un interferón en combinación en el ensayo de replicón generando una curva de respuesta a dosis para el HSPI en presencia de varios niveles de interferón, o determinando una curva de respuesta a dosis para un interferón en presencia de varios niveles de HSPI. El objetivo es determinar si hay más o menos inhibición de acumulación de ARN viral de la que podría esperarse si los dos fármacos produjesen efectos aditivos sobre el ARN. Más específicamente, se usa la definición de aditividad de Lowe ((1928) Die Quantitation Probleme der Pharmakologic, Ergebn. Physiol., 27, 47-187). Esto se define de la manera siguiente. Sea D_{einf} la concentración de interferón que resulta en el efecto E y sea D_{ehspi} la concentración de inhibidor de la proteasa que resulta en el efecto E.

$$1 = \frac{D_1}{D_{E,INF}} + \frac{D_2}{D_{E,HSPI}} \tag{1}$$

La no interacción o aditividad de Lowe se define mediante la siguiente relación, donde la combinación de concentración D_1 de INF y D_2 de HSPI produce el efecto E.

20 El grado de sinergia o antagonismo se expresa en términos de curvas de isoeffecto o isobolas. La combinación (D_1, D_2) es un punto en una gráfica en donde los ejes son las concentraciones de interferón y HSPI (Fig. 2). Todas las combinaciones tales que producen un nivel de efecto E forman la isobola de efecto E. Se cumple necesariamente que ($D_{eINF}, 0$) y ($0, D_{eHspi}$) son puntos de la isobola. Las isobolas son líneas rectas que conectan los puntos ($D_{einf}, 0$) y ($0, D_{ehspi}$) cuando se cumple la relación de aditividad (1).

25 Las isobolas cóncavas hacia arriba indican sinergia y las isobolas cóncavas hacia abajo indican antagonismo. Siguiendo las indicaciones de Berenbaum, M. C. ((1985) The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theor. Biol., 114,413-431) y Greco, Park y Rustom ((1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinun and 1-p-D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318-5327), se añade un término a (1) para dar cuenta de la sinergia o antagonismo. La ecuación define una superficie de respuesta que puede ajustarse a los valores de control porcentuales en todas las combinaciones de tratamiento. Las representaciones del contorno de esta superficie de respuesta ajustada son las isobolas.

El modelo de superficie de respuesta asume una respuesta a dosis sigmoideal para cada compuesto definido por (2).

$$E = \frac{E_{max}}{1 + \left(\frac{[Drug]}{IC50}\right)^n} + B \tag{2}$$

35 Las concentraciones que proporcionan un nivel especificado de actividad E sola se proporcionan por (3)

$$D_{E,INF} = IC50_{INF} \left(\frac{E - B}{E_{max} - E + B} \right)^{1/m_{INF}} \quad D_{E,HSPI} = IC50_{HSPI} \left(\frac{E - B}{E_{max} - E + B} \right)^{1/m_{H510}} \tag{3}$$

Para cumplir el modelo de Greco y Col. (1990), la acción combinada de los fármacos debe cumplir la ecuación (4) para cada combinación de fármacos que produce nivel de respuesta E.

$$1 = \frac{[INF]}{IC50_{INF} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/m_{INF}}} + \frac{[HSPI]}{IC50_{HSPI} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/m_{HSPI}}} + \frac{\alpha [INF][HSPI]}{IC50_{INF} IC50_{HSPI} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/2m_{INF}} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/2m_{HSPI}}} \quad (4)$$

El parámetro α mide la cantidad de interacción. Un valor cero de alfa significa que no hay interacción o aditividad ya que la ecuación se reduce a (1) cuando $\alpha = 0$. Dados el IC_{50} , las pendientes de Hill (m), valor máximo (E_{max}) y valor mínimo (B), esta ecuación puede resolverse para proporcionar el efecto resultante de cualquier combinación de tratamiento de [INF] y [HSPI]. Por lo tanto, esta ecuación define una superficie de respuesta. Dado un experimento donde [INF] y [HSPI] varían, pueden seleccionarse los parámetros usando regresión no lineal de mínimos cuadrados ponderados. El parámetro α puede relacionarse con una medida de sinergia S (Hewlett, P. S. (1969) Measurement of potencies of drug mixtures. *Biometrics*, 25, 477-487), que se toma directamente de las isobolas a un efecto del 50 %. S es la relación de la distancia desde el origen a la isobola que define aditividad a la distancia del origen a la isobola de los datos ajustados, a lo largo de la línea a 45 grados de los ejes. ($S=ON/OM$ ver Figura 3). La relación es $\alpha = 4(S^2 - S)$.

Se sigue el método explicado por Greco y Col. (1990), anteriormente, para ajustar la superficie de respuesta y determinar el parámetro de sinergia α con su nivel de significancia en la evaluación del grado de sinergia en una serie de experimentos ensayando los HSPI en combinación con varios interferones distintos. Sin embargo, existe la necesidad de ponderar las observaciones con cuentas menores más que aquellas con cuentas mayores. Las cuentas se relacionan directamente con el control porcentual, que es el efecto E . Usando los procedimientos descritos en Carroll, R.J. y Rupert, D. ((1988) *Transformation and Weighting in Regression*, Chapman and Hall, Nueva York), puede verse que aumenta la variabilidad de pocillo a pocillo con el cuadrado del valor del control porcentual medio. Por lo tanto, las observaciones se ponderan por uno sobre el valor de control porcentual (E) ajustado al cuadrado. La varianza y la ponderación usadas para analizar estos experimentos son consistentes con las relaciones de variabilidad observadas por los investigadores que investigan procedimientos para analizar ensayos de radioligandos (Finney, D. J., (1976), *Radioligand Assay*, *Biometrics*, 32,721-740 y Dudley, R. A. Edwards, P., Ekins, R.P., McKinzie, I. G. M., Raab, G.M., Rodbard, D. y Rodgers, R.P.C. (1985), *Guidelines for Immunoassay Data Processing*, *Clinical Chemistry*, 31/8, 1264-1271).

Resultados

En un experimento inicial, se ensaya el Compuesto CU inhibidor de la serín proteasa de VHC sobre un intervalo de concentraciones desde 3 μM a 0,0123 μM , es decir, un intervalo de 244 veces. Las concentraciones de interferón alfa 2B varían desde 30 unidades por muestra hasta 0,0096 unidades por muestra, es decir, un intervalo de 3125 veces. Tal como se muestra en la Tabla 7, cuando se usa como tratamiento farmacológico único, el Compuesto CU muestra un CI_{50} de 0,48 μM y el IC_{50} del interferón es 2,19 U. Dentro de la precisión del ensayo de replicón, que es aproximadamente del 20 %, la adición de interferón alfa 2B da como resultado un aumento de la inhibición de la acumulación de ARN del replicón de una manera dependiente de dosis. Por ejemplo, el tratamiento de células con 0,333 μM de Compuesto CU da como resultado una inhibición de la acumulación de ARN del replicón del 28 %. El tratamiento de células con una combinación de 0,333 μM de Compuesto CU, que es el 71 % de la dosis de CI_{50} (0,469 mM) y 0,24 U de interferón alfa 2B, que es el 11 % del IC_{50} del interferon alfa 2B (2,05 mM) da como resultado un 49 % de inhibición de la acumulación de ARN del replicón. Por tanto, el 71 % de una dosis de CI_{50} en combinación con un 11 % del otro da como resultado un 49 % de inhibición de la acumulación de ARN del replicón. Usando un enfoque intuitivo para determinar si un tratamiento de combinación es sinérgico o aditivo o antagonista, se puede predecir que si el efecto del tratamiento de combinación fuese solo aditivo, se podría esperar que la combinación de las fracciones de las dos dosis de IC_{50} necesarias para obtener una inhibición del 49 % de la acumulación de ARN del replicón sería un 98 %. Nuestros resultados experimentales demuestran que el nivel de inhibición de la acumulación de ARN del replicón se logra usando un 71 % más un 11 %, es decir, un 82 % de la dosis de CI_{50} en vez del 98 %, como se predice para efectos aditivos de tratamiento de combinación. Por lo tanto, a estas concentraciones de compuestos, el efecto parece ser sinérgico ya que se usan dosis fraccionales menores de la dosis de CI_{50} para obtener un 49 % de inhibición de ARN de replicón de VHC de las que se requerirían de cada compuesto individualmente, donde serían necesarias dosis de CI_{50} del 98 %. Los resultados de este tratamiento de combinación se muestran en la Tabla 7 y gráficamente en la Figura 1.

TABLA 7

Inhibición de la acumulación de ARN de replicón después de 48 de tratamiento con Compuesto CU e interferón alfa 2B, individualmente o en combinación							
		interferón alfa 2B (unidades);					
Compuesto CU (conc.)	30 U	6 U	1,2 U	0,24 U	0,048 U	0,0096 U	0 U
3 µM	99 %	99 %	99 %	99 %	98 %	98 %	98 %
1 µM	99 %	98 %	96 %	95 %	92 %	93 %	88 %
0,333 µM	94 %	87 %	66 %	49 %	33 %	27 %	28 %
0,1111 µM	93 %	79 %	46 %	29 %	12 %	15 %	11 %
0,0370 µM	92 %	78 %	44 %	21 %	2 %	7 %	8 %
0,0123 µM	92 %	78 %	44 %	20 %	19 %	19 %	5 %
0 µM	89 %	73 %	38 %	16 %	8 %	12 %	0 %

5 Estos resultados iniciales, derivados como se expone anteriormente mediante el uso del ensayo de replicón *in vitro* y un análisis de aditividad simple de los datos generados por ese ensayo, demuestran que el tratamiento de combinación de células de replicón con un inhibidor de la serín proteasa de VHC y un interferón proporciona al menos un efecto antiviral aditivo y posiblemente un efecto antiviral sinérgico.

Los datos anteriores se han analizado usando las herramientas matemáticas formales descritas anteriormente para determinar si la relación entre el inhibidor de la serín proteasa de VHC, CU, e interferón alfa 2B es sinérgica, aditiva, o antagonista. Los datos reanalizados se muestran numéricamente en la Tabla 8 y gráficamente en la Figura 4.

10 La Tabla 8 resume resultados adicionales obtenidos en el ensayo de replicón después del tratamiento de las células contenedoras de replicón durante 48 horas con varios inhibidores de la serín proteasa de VHC de la presente invención y varios interferones distintos, individualmente o en combinación. Se destaca que la desviación típica de los valores medidos para la inhibición del ARN del replicón de VHC en el ensayo de replicón es -20 %. Los compuestos se ensayan sobre un amplio intervalo de concentraciones y a concentraciones de compuesto más bajas que no causan una inhibición significativa de la concentración del ARN de replicón de VHC. Debido a la desviación típica de -20 % del ensayo, algunos puntos de datos generarán números negativos. Los números de inhibición negativos indican en un experimento concreto que hay más moléculas de ARN del replicón de VHC de media en las muestras tratadas con compuesto que en las muestras tratadas de forma simulada.

15

TABLA 8

INHIBICIÓN DE LA ACUMULACIÓN DE ARN DE REPLICÓN DESPUÉS DE 48 DE TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE LA SERÍN PROTEASA DE VHC Y DISTINTOS INTERFERONES, INDIVIDUALMENTE O EN COMBINACIÓN								
EXPERIMENTO 1								
		IFN alfa 2B (unidades)						
		30,00	6,00	1,20	0,24	0,048	0,0096	0,000
Compuesto CU (µM)	0,000	89 %	73 %	38 %	16 %	8 %	12 %	0 %
	0,012	92 %	78 %	44 %	20 %	19 %	19 %	5 %
	0,037	92 %	78 %	44 %	21 %	2 %	7 %	8 %
	0,111	93 %	79 %	46 %	29 %	12 %	15 %	11 %
	0,333	94 %	87 %	66 %	49 %	33 %	27 %	28 %
	1,000	99 %	98 %	96 %	95 %	92 %	93 %	88 %
	3,000	99 %	99 %	99 %	99 %	98 %	98 %	98 %

ES 2 489 115 T3

EXPERIMENTO 2									
IFN alfa 2A (unidades)									
	30	6	1,2	0,24	0,048	0,0096	0		
0	86 %	61 %	27 %	4 %	-7 %	5 %	0 %		
0,0123	87 %	66 %	17 %	-23 %	8 %	8 %	10 %		
0,37	85 %	62 %	13 %	-2 %	0 %	-1 %	1 %		
0,1111	87 %	68 %	37 %	20 %	-6 %	12 %	10 %		
0,333	92 %	77 %	58 %	41 %	26 %	25 %	44 %		
1	98 %	96 %	90 %	86 %	84 %	83 %	85 %		
3	99 %	99 %	98 %	98 %	98 %	98 %	98 %		
EXPERIMENTO 3									
Compuesto CU (µM)									
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98 %	93 %	62 %	23 %	12 %	-2 %	-4 %	-2 %	0
0,049	98 %	95 %	70 %	39 %	12 %	2 %	6 %	9 %	3 %
0,123	98 %	95 %	70 %	43 %	15 %	7 %	2 %	5 %	2 %
0,307	98 %	95 %	73 %	46 %	16 %	14 %	7 %	19 %	-3 %
0,768	98 %	95 %	82 %	56 %	43 %	34 %	28 %	32 %	28 %
1,920	98 %	98 %	87 %	71 %	51 %	54 %	49 %	52 %	45 %
4,8	99 %	98 %	92 %	82 %	74 %	71 %	69 %	71 %	59 %
12,0	99 %	98 %	96 %	89 %	87 %	85 %	85 %	85 %	80 %
30,0	99 %	99 %	98 %	95 %	93 %	92 %	92 %	93 %	89 %
EXPERIMENTO 4									
Compuesto CU (µM)									
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98 %	94 %	74 %	38 %	17 %	3 %	-1 %	6 %	0 %
0,049	98 %	93 %	60 %	22 %	29 %	21 %	-9 %	-6 %	6 %
0,123	98 %	93 %	67 %	29 %	21 %	12 %	3 %	2 %	-8 %
0,307	98 %	93 %	66 %	29 %	22 %	4 %	-3 %	-4 %	10 %
0,768	98 %	95 %	67 %	46 %	24 %	21 %	20 %	9 %	15 %
1,920	98 %	96 %	73 %	48 %	43 %	44 %	27 %	33 %	29 %
4,8	98 %	97 %	82 %	61 %	61 %	59 %	52 %	55 %	43 %
12,0	99 %	98 %	91 %	75 %	76 %	72 %	71 %	74 %	73 %
30,0	99 %	98 %	96 %	89 %	86 %	85 %	84 %	84 %	83 %

EXPERIMENTO 5										
Compuesto CU (μM)										
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0	
Interferón ovinotau (unidades)	0,0	98 %	95 %	65 %	24 %	-1 %	-14 %	-14 %	-12 %	0
	0,9375	97 %	95 %	72 %	41 %	17 %	11 %	12 %	6 %	17 %
	1,875	97 %	95 %	71 %	40 %	31 %	18 %	18 %	11 %	4 %
	3,75	98 %	96 %	75 %	44 %	38 %	25 %	34 %	18 %	17 %
	7,5	98 %	96 %	82 %	61 %	42 %	37 %	25 %	26 %	36 %
	15	98 %	97 %	84 %	64 %	59 %	61 %	56 %	51 %	53 %
	30	98 %	98 %	90 %	79 %	72 %	68 %	65 %	68 %	68 %
	60	98 %	98 %	93 %	87 %	80 %	80 %	74 %	77 %	82 %
	120	98 %	98 %	95 %	92 %	86 %	87 %	86 %	86 %	87 %
EXPERIMENTO 6										
Compuesto EC (μM)										
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0	
interferón alfa2B (unidades)	0	96 %	93 %	81 %	56 %	29 %	23 %	19 %	1 %	0
	0,0492	96 %	92 %	80 %	60 %	31 %	15 %	19 %	29 %	6 %
	0,1229	96 %	94 %	78 %	58 %	32 %	13 %	20 %	20 %	4 %
	0,3072	97 %	95 %	82 %	60 %	38 %	32 %	34 %	42 %	23 %
	0,768	97 %	95 %	87 %	66 %	43 %	41 %	46 %	43 %	25 %
	1,92	98 %	97 %	90 %	73 %	62 %	51 %	54 %	58 %	47 %
	4,8	98 %	97 %	94 %	87 %	76 %	73 %	78 %	76 %	69 %
	12,0	98 %	98 %	96 %	92 %	86 %	86 %	86 %	85 %	84 %
	30,0	98 %	98 %	96 %	96 %	93 %	92 %	92 %	95 %	91 %
EXPERIMENTO 7										
Compuesto EC (μM)										
	3,0	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,02344	0	
Interferón alfa2A (unidades)	0	96 %	92 %	81 %	47 %	28 %	17 %	-1 %	-8 %	0
	0,0492	96 %	93 %	78 %	58 %	21 %	8 %	-12 %	10 %	-17 %
	0,1229	95 %	93 %	79 %	64 %	14 %	5 %	14 %	7 %	-22 %
	0,3072	95 %	91 %	80 %	64 %	22 %	15 %	5 %	2 %	-5 %
	0,768	96 %	95 %	81 %	64 %	34 %	21 %	19 %	20 %	4 %
	1,92	96 %	95 %	88 %	78 %	44 %	41 %	19 %	33 %	21 %
	4,8	97 %	95 %	91 %	85 %	60 %	58 %	60 %	53 %	49 %
	12,0	97 %	97 %	95 %	91 %	77 %	72 %	76 %	70 %	71 %
	30,0	98 %	98 %	97 %	94 %	91 %	86 %	85 %	85 %	84 %

ES 2 489 115 T3

EXPERIMENTO 8									
Compuesto CU (µM)									
	3,0	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,02344	0
0	97 %	95 %	77 %	34 %	16 %	6 %	-7 %	0 %	0
0,2344	98 %	97 %	83 %	49 %	31 %	19 %	-21 %	-7 %	1 %
0,4688	98 %	96 %	84 %	56 %	39 %	27 %	10 %	-3 %	21 %
Interferón beta (unidades)									
0,9375	98 %	97 %	91 %	73 %	54 %	42 %	31 %	15 %	30 %
1,875	98 %	98 %	95 %	80 %	65 %	58 %	65 %	60 %	60 %
3,75	98 %	98 %	97 %	92 %	86 %	81 %	77 %	73 %	79 %
7,5	99 %	98 %	98 %	96 %	93 %	93 %	93 %	90 %	92 %
15,0	99 %	99 %	99 %	97 %	97 %	96 %	97 %	95 %	96 %
30,0	99 %	99 %	99 %	99 %	98 %	99 %	98 %	98 %	97 %

EXPERIMENTO 9									
Compuesto EP (µM)									
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0
0	94 %	96 %	96 %	92 %	64 %	36 %	23 %	8 %	0
0,0492	95 %	96 %	96 %	91 %	67 %	25 %	28 %	8 %	3 %
0,1229	95 %	97 %	96 %	91 %	65 %	44 %	4 %	11 %	4 %
Interferón alfa2B (unidades)									
0,3072	95 %	97 %	96 %	91 %	71 %	46 %	20 %	8 %	20 %
0,7680	96 %	97 %	97 %	93 %	75 %	49 %	36 %	24 %	24 %
1,92	96 %	97 %	97 %	94 %	82 %	67 %	49 %	52 %	54 %
4,8	96 %	98 %	97 %	96 %	90 %	79 %	75 %	75 %	70 %
12	97 %	98 %	98 %	97 %	94 %	89 %	89 %	87 %	83 %
30	97 %	98 %	98 %	98 %	96 %	94 %	94 %	95 %	92 %

EXPERIMENTO 10									
Ribavirina (µM)									
	200	80	32	12,8	5,12	2,048	0,8192	0,3277	0
0	85 %	62 %	43 %	3 %	-8 %	-17 %	-22 %	-6 %	0
0,0492	87 %	66 %	48 %	44 %	11 %	-4 %	-10 %	11 %	-7 %
0,1229	84 %	64 %	53 %	40 %	26 %	-12 %	-5 %	11 %	-9 %
interferón alfa 2B (unidades)									
0,3072	86 %	70 %	62 %	44 %	28 %	1 %	6 %	14 %	7 %
0,7680	90 %	80 %	72 %	65 %	38 %	30 %	28 %	44 %	29 %
1,92	93 %	85 %	77 %	76 %	61 %	57 %	58 %	50 %	46 %
4,8	96 %	92 %	87 %	83 %	82 %	74 %	71 %	77 %	72 %
12	97 %	95 %	93 %	91 %	90 %	89 %	90 %	89 %	85 %
30	98 %	97 %	96 %	95 %	94 %	94 %	93 %	95 %	94 %

5 Tal como se muestra en las Figuras 4-13, que ilustran gráficamente los datos en la Tabla 8 representados usando el método matemático anteriormente descrito para medir la sinergia, las curvas de isobola para todas las combinaciones de inhibidores de la serín proteasa de VHC e interferones ensayadas son cóncavas hacia arriba, lo que indica que el efecto antiviral de los tratamientos en el ensayo de replicón es sinérgico. Estos resultados se tabulan en la Tabla 9, que muestra los niveles relativos de sinergia para el tratamiento de combinación y los valores de CI_{50} para los compuestos antivirales usados de manera individual. Los elementos clave en la Tabla 9 son los valores α y los valores de p para las determinaciones. El término α es una medida de la inflexión máxima de las isobolas para cada tratamiento de combinación, y un valor de α cero indica aditividad, un valor negativo indica antagonismo y como es el caso en los tratamientos de combinación con los inhibidores de la serín proteasa de VHC e interferones mostrados anteriormente, un valor mayor de uno indica sinergia. Cuanto mayor sea el parámetro α , mayor es la sinergia. Tal como se muestra en la Tabla 9 para las combinaciones de inhibidores de la serín proteasa de VHC e interferones, incluso ignorando niveles de significancia en cada experimento, una prueba de t de Student basada en 9 experimentos para el valor medio alfa siendo 0 (sin interacción) tiene un valor de p de 0,00014, lo que indica que los resultados son elevadamente significativos.

10 El cálculo de la sinergia basándose en el procedimiento de Greco Rustom ((1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318-5327) usado en este análisis es una herramienta ideal para la evaluación del tipo de dato experimental que puede generarse usando el ensayo de replicón de VHC. Hay otros procedimientos que se aplican a estudios de compuestos antivirales como Pritchard y Shipman (Pritchard, M.N. y Shipman, C. Jr., (1990) "A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions (review)," Antiviral Res. 14: 181-206). La aplicación del procedimiento de cálculo de sinergia a los datos mostrados en la Tabla 8 también indica que el tratamiento de combinación de las células de replicón con un inhibidor de la serín proteasa de VHC y un interferón dará como resultado una inhibición sinérgica de la acumulación de ARN del replicón de VHC (datos no mostrados).

25

TABLA 9

NIVELES RELATIVOS DE SINERGIA PARA EL TRATAMIENTO DE COMBINACIÓN Y LOS VALORES DE CI_{50} PARA LOS COMPUESTOS ANTIVIRALES USADOS DE MANERA INDIVIDUAL						
	Serín proteasa de VHC		CI_{50} INF (unidades)	CI_{50} HSPI (μM)	α (SE)¹	Valor de p $\alpha > 0$
	Inhibidor (HSPI)	interferón				
Experimento 1	Compuesto CU	IFN alfa 2B	2,05	0,469	0,477 (0,09)	<0,0001
Experimento 2	Compuesto CU	IFN alfa 2A	3,72	0,446	0,770 (0,12)	<0,0001
Experimento 3	Compuesto CU	IFN alfa 2B	2,36	0,587	0,730 (0,08)	<0,0001
Experimento 4	Compuesto CU	IFN alfa 2A	5,67	0,633	0,438 (0,08)	<0,0001
Experimento 5	Compuesto CU	IFN tau	13,22	0,605	0,328 (0,07)	<0,0001
Experimento 6	Compuesto EC	IFN alfa 2B	2,53	0,384	0,516 (0,10)	<0,0001
Experimento 7	Compuesto EC	IFN alfa 2A	5,50	0,312	1,24 (0,20)	<0,0001
Experimento 8	Compuesto CU	IFN beta	1,82	0,466	0,551 (0,09)	<0,0001
Experimento 9	Compuesto EP	IFN alfa 2B	3,06	0,426	0,490 (0,12)	<0,0001
Experimento 10	Ribavirina	IFN alfa 2B	1,22	145	-0,24 (0,067)	0,0004
¹ (ET) Error típico						

Otra medida para evaluar la naturaleza sinérgica de un tratamiento con fármacos anti VHC usando los presentes inhibidores de la serín proteasa de VHC e interferones es usar los mismos procedimientos descritos anteriormente

para evaluar la terapia de combinación convencional actual para VHC, es decir, interferón alfa 2B en combinación con Ribavirina en el ensayo de replicón. La última fila de la Tabla 9 muestra que el parámetro α para una mezcla de interferón alfa 2B y Ribavirina es un número negativo, lo que indica que hay una pequeña cantidad de antagonismo entre estos dos fármacos. Esto acentúa adicionalmente la significancia de los tratamientos de combinación divulgados en el presente documento empleando los presentes inhibidores de la serín proteasa de VHC en combinación con interferones en que esos tratamientos producen sinergia de una manera clara, mientras que la terapia de combinación estándar en uso para VHC (interferón alfa 2B en combinación con Ribavirina) no es sinérgica en el ensayo de replicón.

La comparación precedente de tratamientos de combinación que emplean los presentes inhibidores de la serín proteasa de VHC más interferones contra Ribavirina más interferón en el ensayo de replicón indica claramente que los primeros son sinérgicos, mientras que el último no. Los resultados experimentales obtenidos usando el ensayo de replicón indican que una dosis mucho más baja de interferón será eficaz si el interferón se usa en combinación con un inhibidor de la serín proteasa de VHC del que se necesita si se usa interferón alfa 2B en combinación con Ribavirina. El ensayo de replicón es un sistema modelo útil en el que ensayar compuestos anti VHC potenciales y actualmente se confía ampliamente en él como un predictor efectivo de actividad anti VHC de compuestos. Véase, por ejemplo, Blight y Col. (2000) Efficient Initiation of HCV RNA Replication in Cell Culture. *Science* 8; 290:1972-1974 y Chung y Col. (2001) Hepatitis C virus replication is directly inhibited by IFN- α in a full-length binary expression system. *Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU.* 98(17): 9847-52). La Ribavirina sola es efectiva de manera marginal en la reducción de la acumulación de ARN del replicón de VHC en el ensayo de replicón (Tabla 8, Experimento 10 y última fila de la Tabla 9). Este resultado está en conflicto aparente con los estudios *in vivo* en donde, cuando se usa sola, la Ribavirina no tiene un valor terapéutico significativo para el tratamiento de VHC. Por el contrario, en el ensayo de replicón, corrigiendo con respecto a citotoxicidad como se analiza posteriormente, la Ribavirina tiene un CI_{50} de 145 μ M. Este resultado puede explicarse reconociendo que el ensayo de replicón permite la evaluación de elevadas concentraciones de Ribavirina que no serían posibles en terapia con humanos debido a la citotoxicidad *in vivo* (Chutaputti A. (2000) Adverse effects and other safety aspects of the hepatitis C antivirals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 15 Suppl:E 156-63).

Esta evaluación requiere necesariamente de la determinación de la citotoxicidad de la Ribavirina. Dicha toxicidad sucede en pacientes y en ensayos celulares (Shiffman M. L., Verbeke S. B., Kimball P. M. (2000) Alpha interferon combined with ribavirin potentiates proliferative suppression but not cytokine production in mitogenically stimulated human lymphocytes. *Antiviral Research.* 48(2): 91-9). En los experimentos divulgados en el presente documento, la citotoxicidad de la Ribavirina se observa y mide de dos formas. Tanto en el ensayo metabólico XTT para determinar la viabilidad de las células de replicón (Roehm N.W., Rodgers G. H., Hatfield S. M., Glasebrook A. L. (1991) An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *Journal of Immunol. Methods.* 142(2):257-65) y en el ensayo de RT-PCR cuantitativa TaqMan® que mide los niveles de ARN de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) en las células tratadas contra no tratadas en el ensayo de replicón (Brink N., Szamel M., Young A.R., Wittem K.P., Bergemann J. (2000) Comparative quantification of IL-1 β , IL-10, IL-10r, TNF α and IL-7 mRNA levels in UV-irradiated human skin *in vivo*. *Inflammation Research.* 49(6): 290-6). Se observa una citotoxicidad inducida por Ribavirina significativa, pero se corrige de la manera siguiente. Se asume que el nivel de ARNm de GAPDH, que es un gen constitutivo expresado de manera constitutiva, es el mismo en todas las células viables. Se sabe a partir de las medidas de niveles de ARNm de GAPDH en células tratadas con el inhibidor de transcripción actinomicina D que la vida media del ARNm de GAPDH es solo de unas pocas horas (datos no mostrados). Por tanto, se postula, como han hecho otros usando tecnología TaqMan® para determinar los niveles de ARNm concretos en células humanas, que los niveles de ARNm de GAPDH son proporcionales a los números de células viables (VCN) en cualquier muestra dada, con la relación de $VCN = 2^A(40 - Ct_{ARNm\ de\ GAPDH})$. El VCN se calcula para cada uno de los pocillos del ensayo de replicón y a continuación se divide el número de copias de ARN del replicón de VHC para un pocillo determinado entre el VCN para ese pocillo. Una vez calculado, se usa esta proporción en vez del número de copias de VHC para calcular la inhibición ("relación de uso inhibidor medio"; Fig 14.A). Sin corregir los datos de ensayo de replicón para esta citotoxicidad, dicha citotoxicidad se interpreta como un falso positivo en la inhibición de la acumulación de ARN del replicón de VHC. En el ensayo de replicón, se asume que la inhibición medida de de la acumulación de ARN del replicón de VHC es la suma de la inhibición real de la acumulación de ARN del replicón de VHC y la inhibición aparente de la acumulación de ARN del replicón de VHC debido a la citotoxicidad. Además se asume que, basándose en la estrecha correlación de las medidas de citotoxicidad de XTT y TaqMan® de ARNm de GAPDH, la inhibición de acumulación de ARNm de GAPDH causada por los compuestos ensayados en el ensayo de replicón es una medida fiable de inhibición aparente de acumulación de ARN del replicón de VHC debido a la citotoxicidad. Por tanto, la verdadera actividad anti VHC de un compuesto en el ensayo de replicón corregida para citotoxicidad general puede estimarse dividiendo el número de moléculas de ARN del replicón de VHC medidas en cada muestra mediante el VCN, normalizándolo de este modo al número de células viables en cada muestra. Utilizando este método, La Fig. 14.A muestra una estimación de la verdadera actividad anti VHC de la Ribavirina en el ensayo de replicón ("relación de uso inhibidor medio"). La estimación del CI_{50} para Ribavirina se calcula mejor usando este procedimiento. En la Fig. 14.A, "inhibición media original" muestra el CI_{50} para Ribavirina sin corregir, que es aproximadamente 80 μ M, mientras que el valor de CI_{50} corregido calculado a partir de la curva "relación de uso inhibidor medio" es de aproximadamente 145 μ M. Nótese que la diferencia entre la inhibición corregida y medida de acumulación de ARN del replicón de VHC como resultado del tratamiento con interferón alfa 2B (Fig. 14.B) es insignificante a la vista del %CV de -20 % del ensayo de replicón. Al igual que el interferón alfa 2B, los inhibidores de la serín proteasa de VHC ensayados en el presente ejemplo no muestran una citotoxicidad significativa a las concentraciones empleadas. Esto se determina usando ensayos XTT, en los que los valores CT_{50} para los diversos

compuestos son: CU=64,7 μ M, EP>10 μ M y EC>50 μ M. Estos valores de CT₅₀ son 20-140 veces mayores que los valores CI₅₀ mostrados en la Tabla 9. Por tanto, la citotoxicidad de estos compuestos no tienen un efecto significativo en la acumulación de ARN de VHC en el ensayo de replicón dentro de la precisión del ensayo ya que dicha citotoxicidad sucede únicamente a concentraciones de inhibidor de la serín proteasa de VHC significativamente mayores que aquellas ensayadas en el ensayo de replicón.

Conclusiones respecto a la eficacia de los inhibidores de la serín proteasa de VHC e interferones, individualmente y en combinación

Las actividades anti VHC de los presentes inhibidores de la serín proteasa de VHC y varios interferones cuando se usan solos en el ensayo de replicón de VHC se muestran en las columnas y filas de los experimentos individuales que forman la Tabla 8, que emplea solo un agente antiviral. La Tabla 9 lista los valores de CI₅₀ medidos para cada compuesto antiviral cuando se ensayan individualmente. Los resultados anteriores, derivados mediante el uso del ensayo de replicón *in vivo*, también demuestran que el tratamiento de combinación de células de replicón con inhibidores de la serín proteasa de VHC de la presente invención y varios interferones produce efectos antivirales sinérgicos. Se espera por completo que estos efectos se traduzcan en efectividad *in vivo*.

La terapia de combinación que emplea inhibidores de la serín proteasa de VHC de la presente invención posee varias ventajas principales frente a la terapia con un solo fármaco. En primer lugar, al hacer posible el tratamiento con dosis más bajas de los fármacos individuales de lo que sería posible si se usan por separado, se podría esperar una reducción en la toxicidad y efectos secundarios asociados con el tratamiento. Esto es especialmente importante en el caso de la terapia con interferón, donde los efectos secundarios son severos y se han demostrado proporcionales a la dosis administrada a los pacientes. Los datos anteriores indican que una dosis de inhibidor de la serín proteasa de VHC como CU al nivel de CI₉₅ puede combinarse con una dosis de interferón alfa, por ejemplo al nivel de CI₅₀ y el resultado sería una terapia mucho más efectiva de que la que se podría lograr con el inhibidor de la serín proteasa de VHC individualmente sin los efectos secundarios adversos causados por elevadas dosis de interferón alfa. Un segundo beneficio principal de la terapia de combinación es que debido a que los dos fármacos actúan de manera independiente, hay menos posibilidades de desarrollo de cepas mutante de VHC que resistan al tratamiento. El desarrollo de resistencias es una preocupación principal con virus de ARN como el VHC. Debido a su elevada tasa de mutación, dichos virus pueden adaptarse rápidamente al estrés ambiental. Un tercer beneficio de la terapia de combinación puede ser el coste reducido, debido a la necesidad de cantidades menores de agentes terapéuticos necesarios para un tratamiento eficaz.

Los inmunomoduladores adicionales que pueden emplearse en los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen, por ejemplo, interferón alfa 2A, Interferón de consenso, interferón tau, interferón + Ribavirina (Rebetrón), interferón pegilado y promotores de la expresión génica de interferón. Se anticipa plenamente que la actividad anti VHC de estos compuestos se mejorará cuando se use en combinación con inhibidores de la serín proteasa de VHC como aquellos divulgados en el presente documento. Ya que se sabe que los interferones son activos *in vivo* y en el ensayo de replicón, se espera que los presentes inhibidores de la serín proteasa de VHC también sean activos *in vivo* y lo que es más importante, que sean capaces de suscitar actividad sinérgica cuando se usen en combinación con interferones, estimuladores del sistema inmune de los mismos, u otros compuestos que tengan actividad antiviral contra VHC que actúen mediante un mecanismo distinto del de la inhibición de la serín proteasa de VHC.

La mejor terapia actual para VHC emplea interferón alfa y el análogo de nucleósido Ribavirina. Este tratamiento es efectivo solo de forma marginal y da como resultado efectos secundarios significativos que disminuyen la adhesión del paciente a la terapia (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999). Adicionalmente, en pacientes trasplantados, no está claro que funcione la combinación de Ribavirina-interferón y puede de hecho ser peor que el interferón solo (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999).

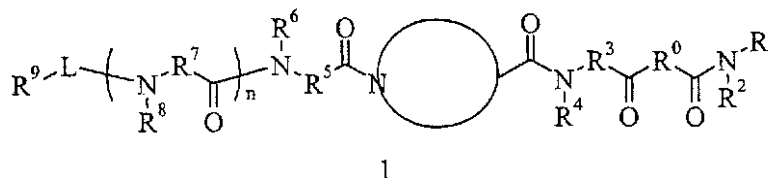
Los resultados presentados anteriormente demuestran un efecto de combinación sinérgica cuando se usan los interferones con una nueva clase de antivirales contra VHC, los inhibidores de la serín proteasa de la presente invención. Se espera por completo que los resultados *in vitro* divulgados en el presente documento conduzcan a un tratamiento más efectivo de los pacientes con VHC de lo que es posible actualmente con interferón únicamente. Las dosis subterapéuticas de interferón pueden movilizar al sistema inmune del paciente para combatir mejor al virus y el inhibidor de la serín proteasa puede atacar al virus directamente, infligiendo un doble ataque al virus mediante diferentes mecanismos de acción. El tratamiento de la infección por VHC puede lograrse de este modo a un coste reducido para el paciente en términos tanto de efectos secundarios reducidos y los menores pagos por los agentes farmacéuticos necesarios ya que menos cantidad de ambos fármacos se necesitaría para una terapia antiviral contra VHC efectiva.

La presente invención puede materializarse en otras formas específicas sin separarse del espíritu o atributos esenciales de la misma.

La presente invención comprende además los aspectos definidos en las siguientes cláusulas (que forman parte de la presente descripción pero no se consideran como reivindicaciones de acuerdo con la decisión J 15/88 del órgano de

apelación legal de la Oficina Europea de Patentes):

1. Un compuesto de la fórmula 1,



5 una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco, en la que:

R^0 es un enlace o difluorometileno difluorometileno;

R^1 es hidrógeno, grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;

10 cada uno de R^2 y R^9 es independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;

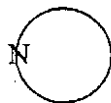
R^3 , R^5 y R^7 son cada uno independientemente:

un (1,1- o 1,2-)cicloalquilo opcionalmente sustituido,

un (1,1- o 1,2-)heterocicileno opcionalmente sustituido, o

15 metileno o etileno, sustituido con un sustituyente seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo alifático opcionalmente sustituido, un grupo cíclico opcionalmente sustituido o un grupo aromático opcionalmente sustituido y en el que el metileno o etileno está opcionalmente sustituido adicionalmente con un sustituyente de grupo alifático;

R^4 , R^6 , R^8 y 10 son cada uno independientemente hidrógeno o grupo alifático opcionalmente sustituido;



20 es un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, en el que la insaturación está en el anillo distal al anillo que porta el resto $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_nN(R^6)-R^5-C(O)-N$ y al que está unido el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$; L es $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$, o $-NR^{10}S(O)_2-$; y n es 0 o 1;

25 cíclico es un sistema de anillos no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono; un sistema de anillos no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono; un sistema de anillos no aromático, saturado, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono del anillo es un heteroátomo;

30 o un sistema de anillos no aromático, saturado, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono del anillo es un heteroátomo y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono; y

aromático es un sistema de anillos aromático, monocíclico o multicíclico de 6 a 10 átomos de carbono, o un sistema de anillo aromático monocíclico o multicíclico de 5 a 14, en el que uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo.

2. Un compuesto de la clausula 1, en el que R^0 es un enlace.

35 3. El compuesto de la clausula 1 o 2, en el que:

son grupos alifáticos opcionalmente sustituidos, alquilo, alquenilo o alquinilo, opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo alifático;

son grupos cíclicos opcionalmente sustituidos, cicloalquilo, cicloalquenilo, grupos heterociclilo o heterociclenilo opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

40 son grupos aromáticos opcionalmente sustituidos, grupos arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

son grupo cicloalquilenos (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos, grupos cicloalquilenos opcionalmente sustituidos (1,1- o 1,2) con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

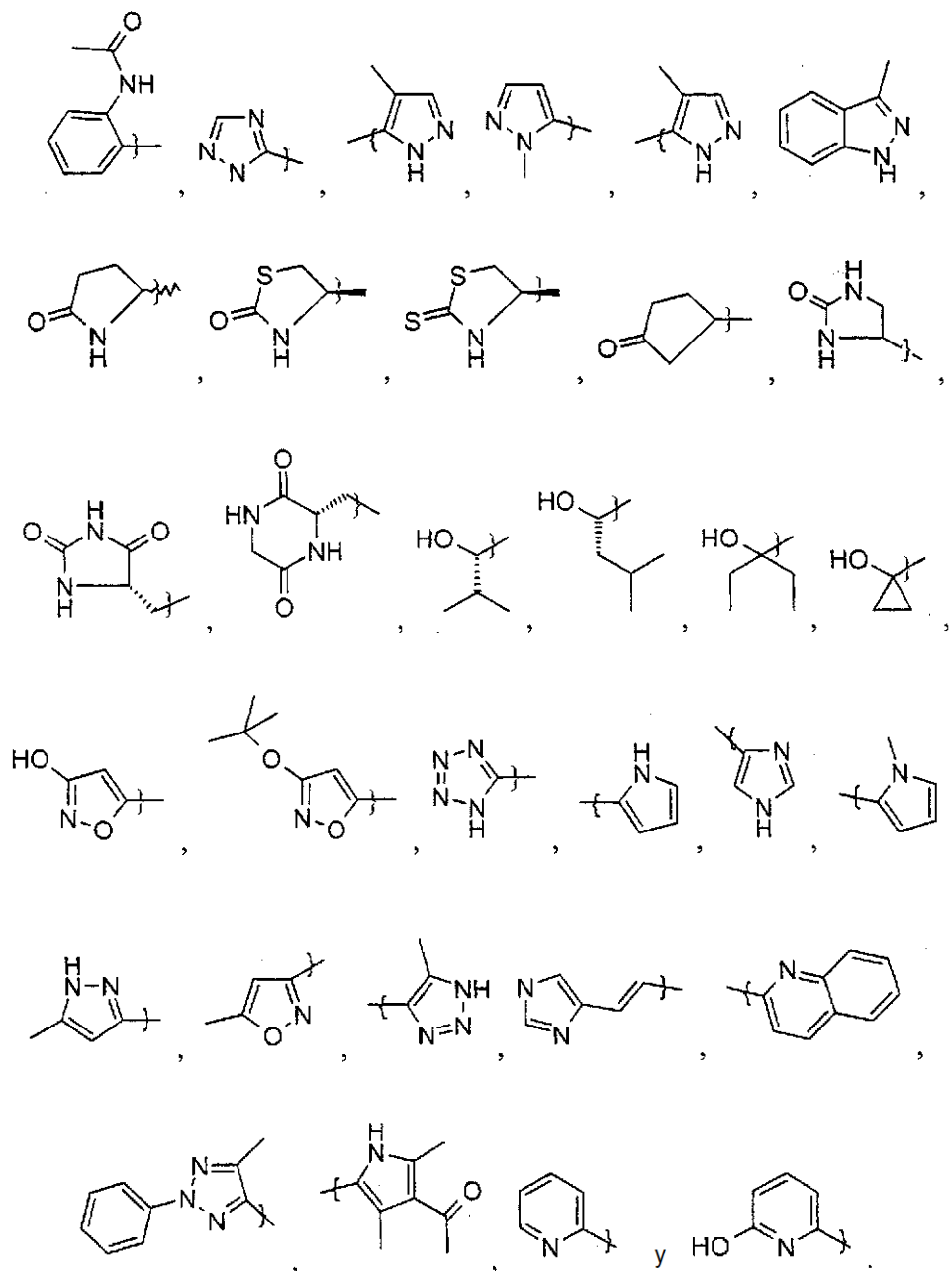
son grupos heterociclilenos (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos, grupos heterociclilenos (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

45 es azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, un grupo azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

es azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, un grupo azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de grupo de anillo; en la que:

- (a) sustituyentes de grupo alifático significan arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, ciclilo, arilo, heteroarilo, acilo o su análogo tioxo, ciclilcarbonilo o su análogo tioxo, aroílo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, ciclilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonilcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuten-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, metileno ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$, o $Y^3SO_2NY^1-$ en el que R^2 es como se define en el presente documento, Y^1 e Y^2 son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, e Y^3 es alquilo, cicloalquil arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y^1Y^2N- , entonces uno de Y^1 e Y^2 puede ser acilo, ciclilcarbonilo, aroílo, heteroarilo, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y^1 e Y^2 es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. Y^1 e Y^2 también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y^1 e Y^2 se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros;
- (b) sustituyentes de grupo de anillo significan arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, ciclilo, arilo, heteroarilo, acilo o su análogo tioxo, ciclilcarbonilo o su análogo tioxo, aroílo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, ciclilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), biostero de ácido, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. donde Y^1 , Y^2 e Y^3 son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y^1Y^2N- , entonces uno de Y^1 e Y^2 puede ser acilo, ciclilcarbonilo, aroílo, heteroarilo, alcocarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y^1 e Y^2 es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ o $Y^1Y^2NSO_2-$. Y^1 e Y^2 también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y^1 e Y^2 se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros; o cuando un sistema de anillo está saturado o parcialmente saturado, los "sustituyentes de grupo de anillo" incluyen además, metileno ($H_2C=$), oxo ($O=$) y tioxo ($S=$);
- (c) arilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico, de 6 a 14 átomos de carbono;
- (d) cicloalquilo significa un sistema de anillo no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono;
- (e) cicloalqueno significa un sistema de anillo no aromático mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono;
- (f) ciclilo significa cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclenilo o heterociclenilo;
- (g) heterociclenilo significa un sistema de anillo saturado no aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distinto de carbono;
- (h) heterociclenilo significa un sistema de anillo no aromático, monocíclico o multicíclico, de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillos es o son hetero elementos distintos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono o doble enlace carbono-nitrógeno; y
- (i) heteroarilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distintos de carbono.
4. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en el que R^0 es difluorometileno.
 5. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en el que R^1 es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
 6. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en el que R^1 es hidrógeno alquilo inferior.
 7. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en el que R^1 es hidrógeno.
 8. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en el que R^2 es grupo alifático inferior opcionalmente sustituido o grupo monocíclico opcionalmente sustituido.
 9. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en el que R^2 es alquilo inferior opcionalmente sustituido, alqueno inferior opcionalmente sustituido, o cicloalquilo monocíclico opcionalmente sustituido.
 10. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 9, en el que R^2 es carboximetilo, 1-carboxi-2-feniletilo, ciclopropilo, ciclobutilo, 1-ciclohexiletilo, 1-feniletilo, but-2-ilo, 1-pirid-4-iletilo, propen-3-ilo o 3-metilbut-2-ilo.
 11. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en el que R^3 es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
 12. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en el que R^3 es metileno de grupo alifático inferior (alquilo o alqueno) opcionalmente halo sustituido.
 13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 1 a 12, en el que R^3 es propilmetileno, 2,2-difluoroetilmetileno, 2,2,2-trifluoroetilmetileno o propen-3-ilmetileno;
 14. Un compuesto de la cláusula 13, en el que R^3 es propilmetileno o 2,2-difluoroetilmetileno.
 15. Un compuesto de la cláusula 14, en el que R es propileno.

16. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 15, en el que R^4 es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
17. Un compuesto de la clausula 16, en el que R^4 es hidrógeno.
- 5 18. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 17, en el que R^5 es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
19. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 18, en el que R^5 es metileno inferior (alquilo o alquenilo) sustituido (fenilo, carboxi, carboxamido or alcocicarbonilo).
- 10 20. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 19, en el que R^5 es metilmetileno, isopropilmetileno, t-butilmetileno, but-2-ilmetileno, butilmetileno, bencilmetileno, 3-metilbutilmetileno, 2-metilpropilmetileno, carboximetilmetileno, carboxamidometilmetileno, benciloxicarbonilmetilmetileno, benciloxicarbonilpropilmetileno o fenilpropen-3-ilmetileno.
21. Un compuesto de la clausula 20, en el que R^5 es isopropilmetileno o t-butilmetileno.
22. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 21, en el que R^6 es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
- 15 23. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 22, en el que R es hidrógeno alquilo inferior.
24. Un compuesto de la reivindicación 23, en el que R^6 es hidrógeno.
25. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 24, en el que R^7 es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido, metileno de grupo cíclico inferior opcionalmente sustituido o metileno monocíclico opcionalmente sustituido (arilo o heteroarilo).
- 20 26. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 25, en el que R^7 es alquilmetileno inferior opcionalmente sustituido, cicloalquilmetileno inferior opcionalmente sustituido o fenilmetileno opcionalmente sustituido.
27. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 26, en el que R^7 es metilmetileno, isopropilmetileno, n-propilmetileno, fenilmetileno, ciclohexilmetileno, ciclopentilmetileno, t-butilmetileno, s-butilmetileno, ciclohexilmetilmetileno, o fenilmetilmetileno.
- 25 28. Un compuesto de la clausula 27, en el que R^7 es isopropilmetileno, ciclohexilmetileno, ciclopentilmetileno, t-butilmetileno o s-butilmetileno.
29. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 28, en el que cada uno de R^3 , R^5 y R^7 es metileno mono sustituido.
- 30 30. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 29 en el que R^3 es metileno monosustituido y tiene una configuración (S) en el carbono unido al resto $-C(O)-R^0-C(O)-NR^1R^2$.
31. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 30, en el que R^8 es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
32. Un compuesto de la clausula 31, en el que R^8 es hidrógeno o alquilo inferior.
- 35 33. Un compuesto de la clausula 32, en el que R^8 es hidrógeno.
34. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es grupo alifático inferior opcionalmente sustituido o un grupo aromático monocíclico opcionalmente sustituido.
35. Un compuesto de la clausula 34, en el que R^9 es alquilo inferior opcionalmente sustituido o heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido.
- 40 36. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 34, en el que R^9 es opcionalmente (carboxi, (alquilo inferior)SO₂NH-, (alquilo inferior)HN-CO-, hidroxil, fenilo, heteroarilo, o (alquilo inferior)OC(O)NH-)alquilo inferior sustituido, o heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido.
37. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es alquilo inferior sustituido con (mono- o di-)MeOC(O)NH-.
- 45 38. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es alquilo inferior sustituido (carboxi, (alquilo inferior)HNCO- o tetrazolilo).
39. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es 3-carboxipropilo, 2-tetrazol-5-ilpropilo, 3-(N-metilcarboxamido)propilo o 3-carboxi-2,2-dimetilpropilo.
40. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es 3-carboxipropilo, 2-tetrazol-5-ilpropilo o 3-(N-metilearboxamido)propilo.
- 50 41. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que es alquilo inferior opcionalmente sustituido.
42. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es 1-hidroxi-2-feniletilo, isopropilo o t-butilo.
43. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 es isopropilo o t-butilo.
44. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R^9 se seleccionada entre el grupo que consiste en



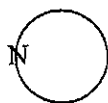
45. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 33, en el que R⁹ es pirazinilo.

46. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 45, en el que R¹⁰ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.

5 47. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 46, en el que R¹⁰ es hidrógeno alquilo inferior.

48. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 47, en el que R¹⁰ es hidrógeno.

49. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 48, en el que



como un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por



50. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 48, en el que

5

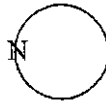


como un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por

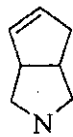


10

51. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 48, en el que

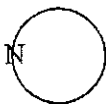


como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por



15

52. Un compuesto de una cualquiera de las clausulas 1 a 48, en el que

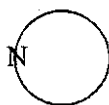


como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por

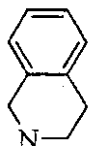


20

53. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 48, en el que

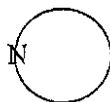


como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por



5

54. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 53 en el que el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)R^0C(O)NR^2R^1$ unido a



10

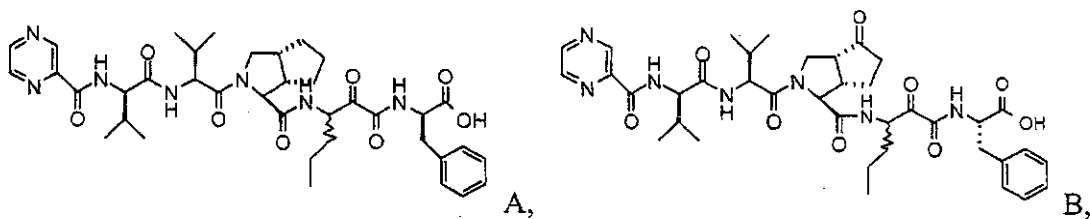
está unido a un carbono α al átomo de nitrógeno.

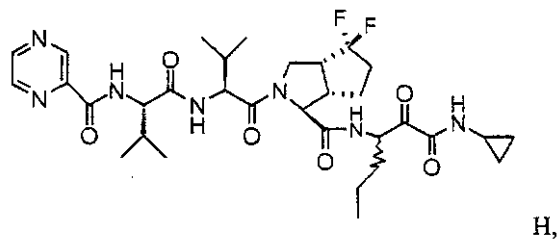
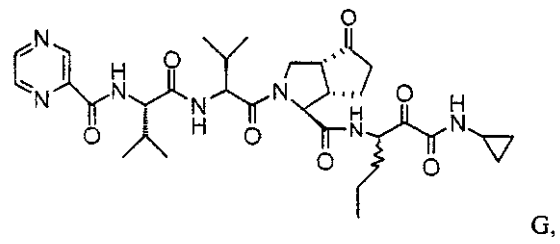
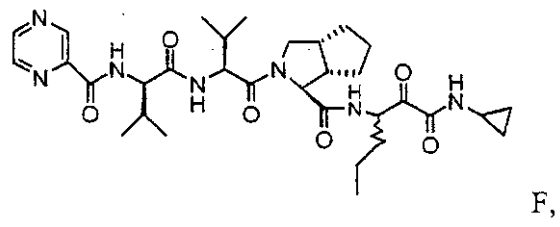
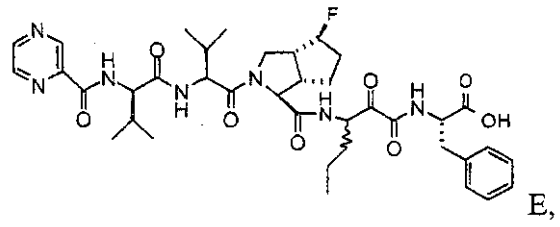
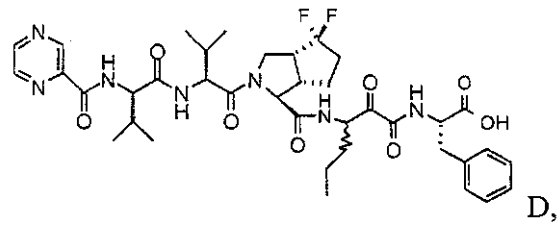
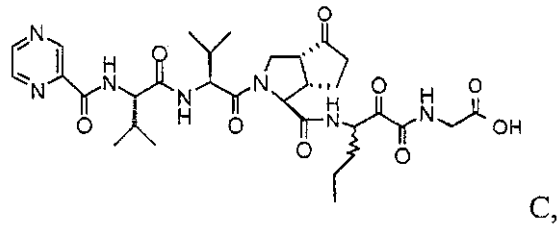
55. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 54, en el que L es $-C(O)-$ o $-OC(O)-$.

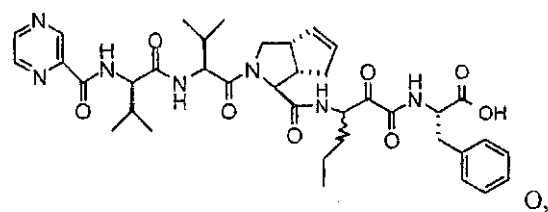
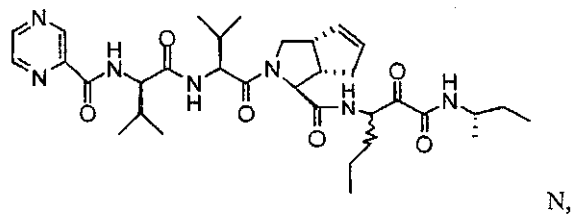
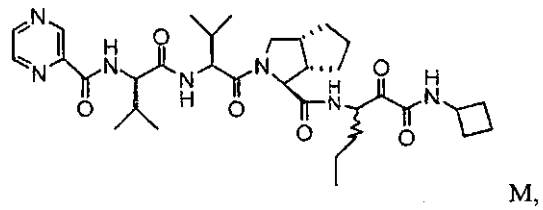
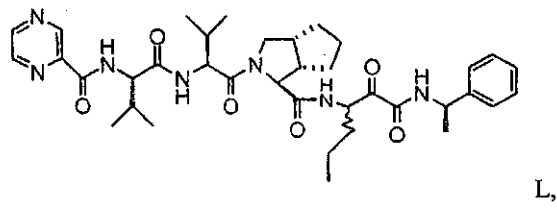
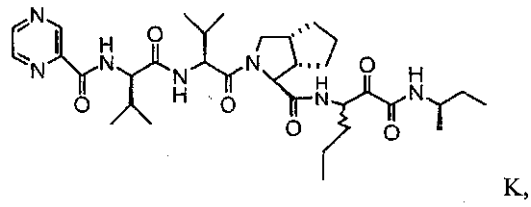
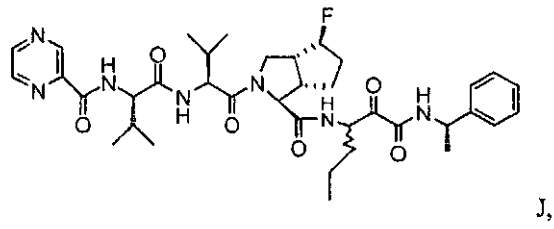
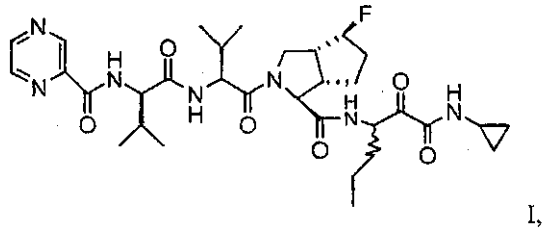
56. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 55, en el que n es 0.

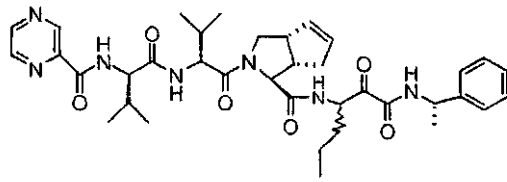
15 57. Un compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 55, en el que n es 1.

58. Un compuesto de acuerdo con la cláusula 1, seleccionado entre el grupo que consiste en:

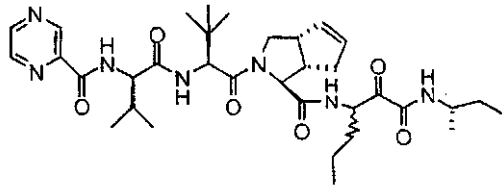




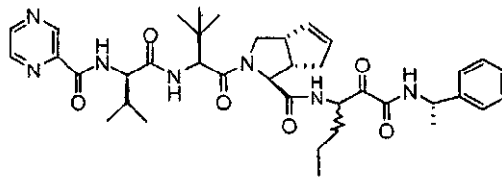




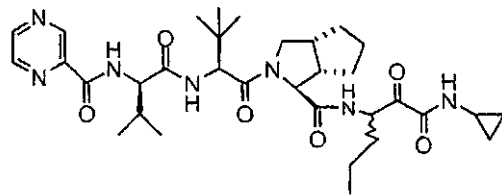
P,



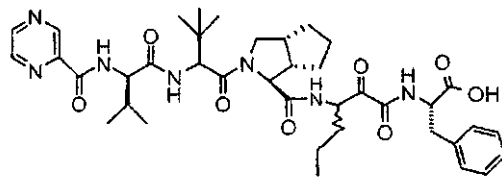
Q,



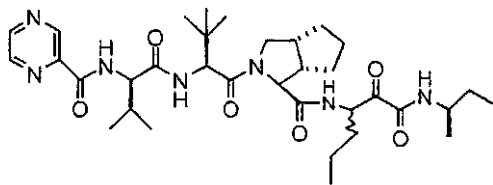
R,



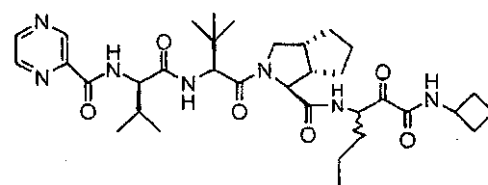
S,



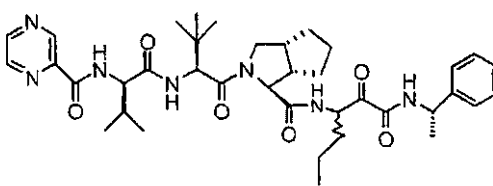
T,



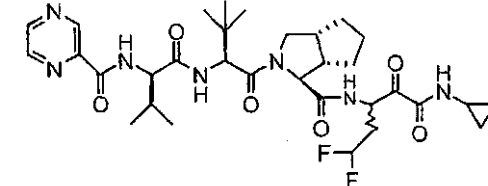
U,



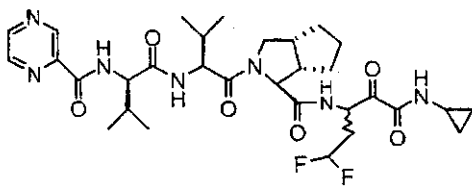
V,



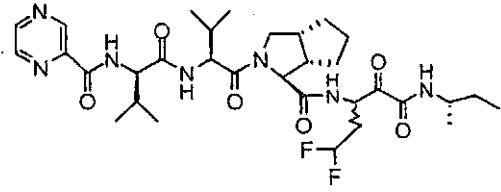
W,



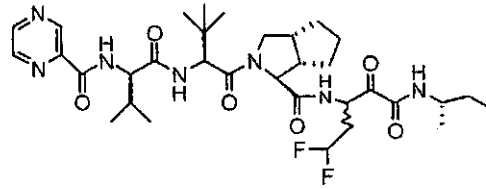
X,



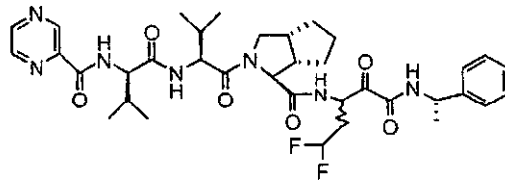
Y,



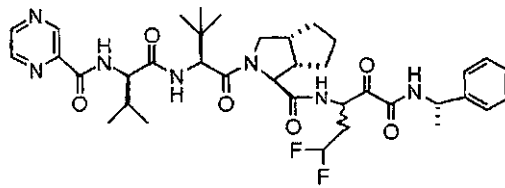
Z,



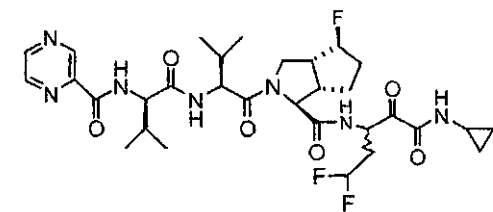
AA,



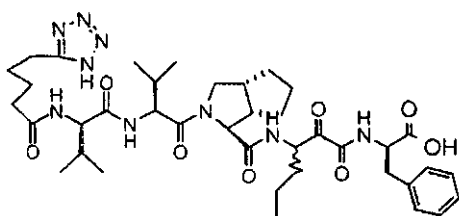
AB,



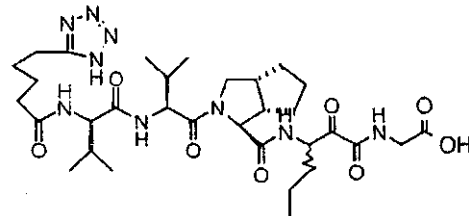
AC,



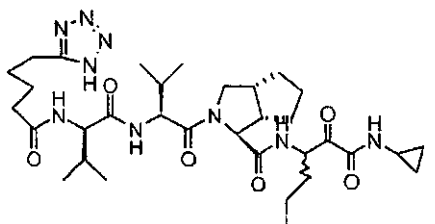
AD,



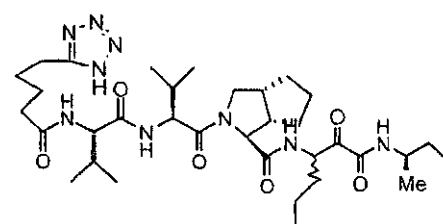
AE,



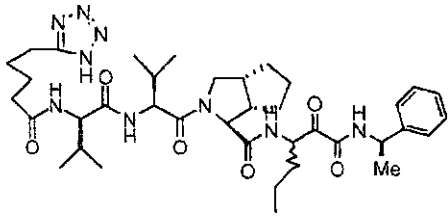
AF,



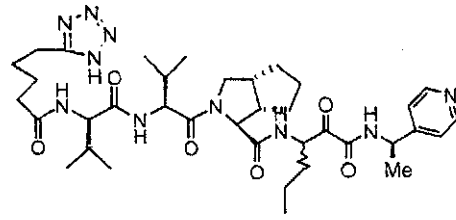
AG,



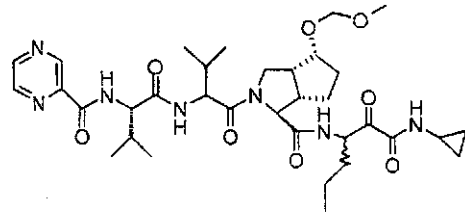
AH,



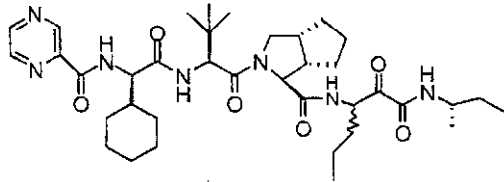
AI,



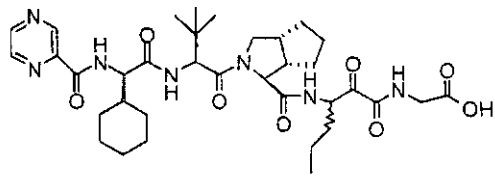
AJ,



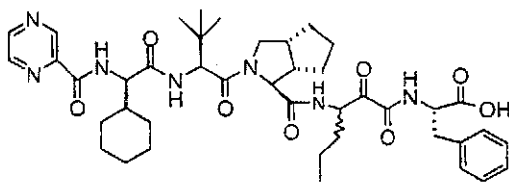
BV,



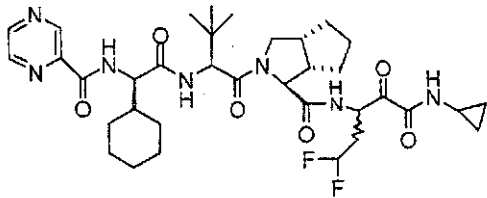
BX,



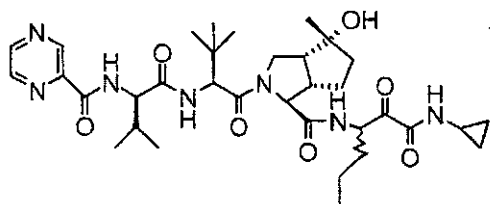
BY,



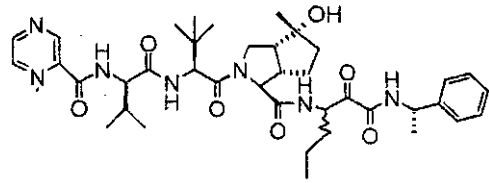
BZ,



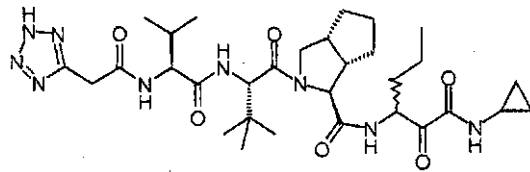
CA,



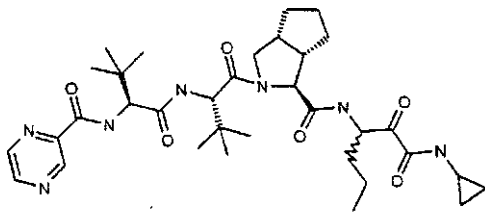
CB,



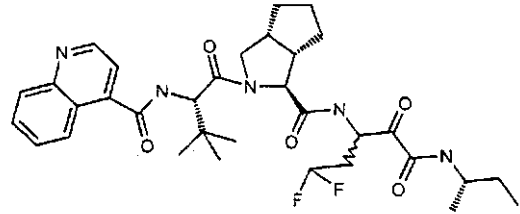
CC,



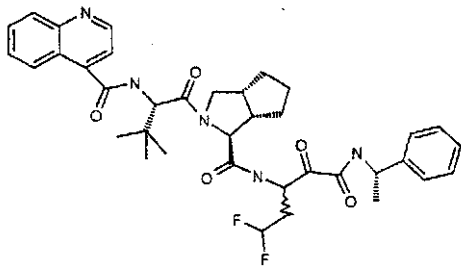
CD,



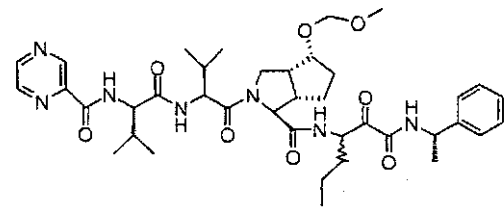
CE,



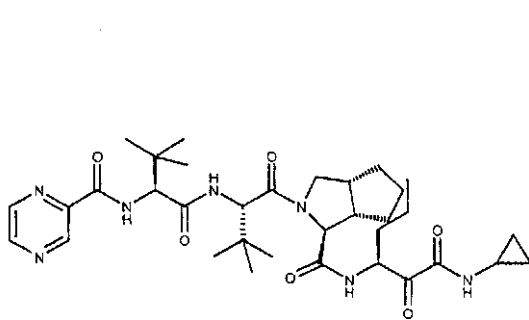
CF,



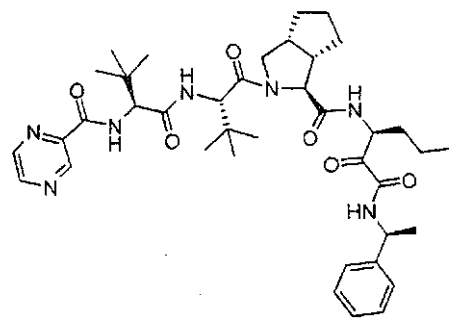
CG,



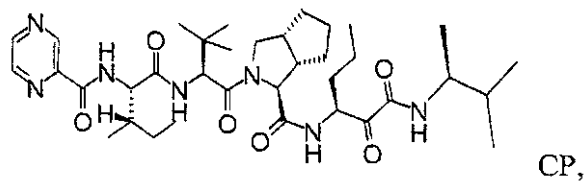
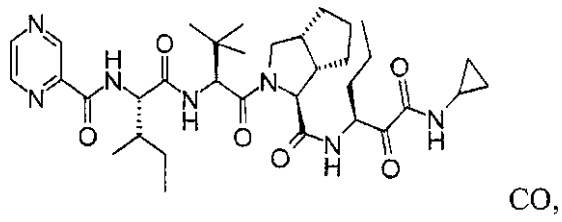
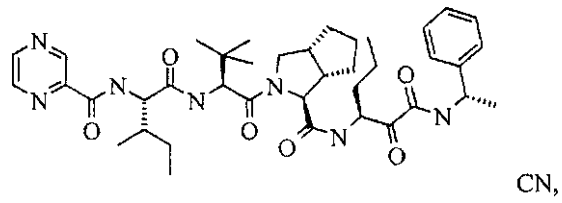
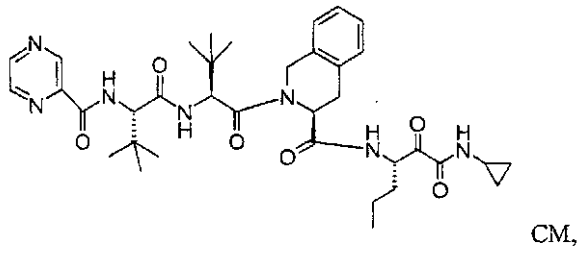
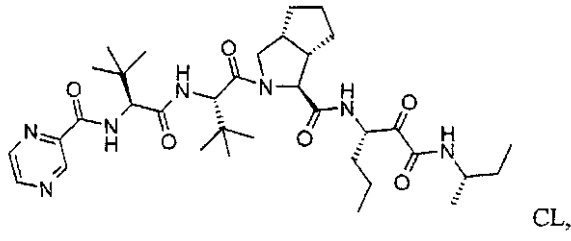
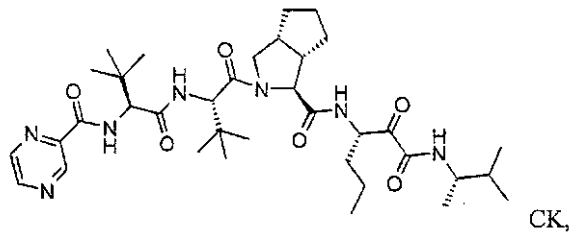
CH,

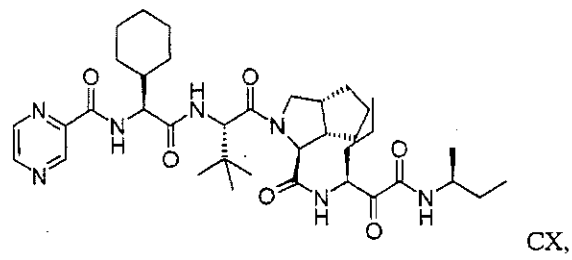
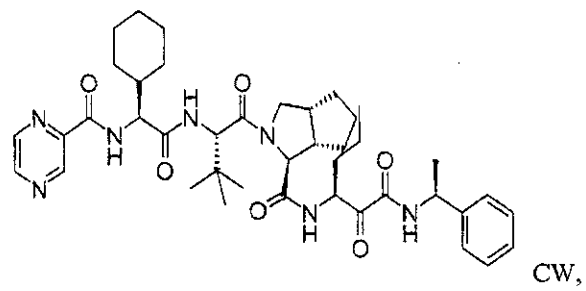
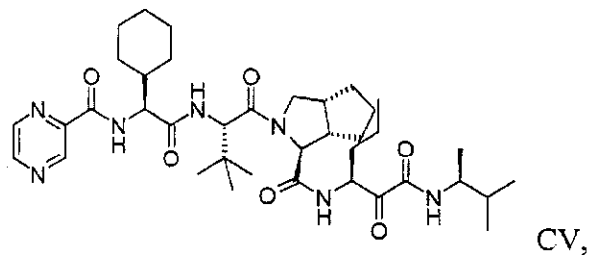
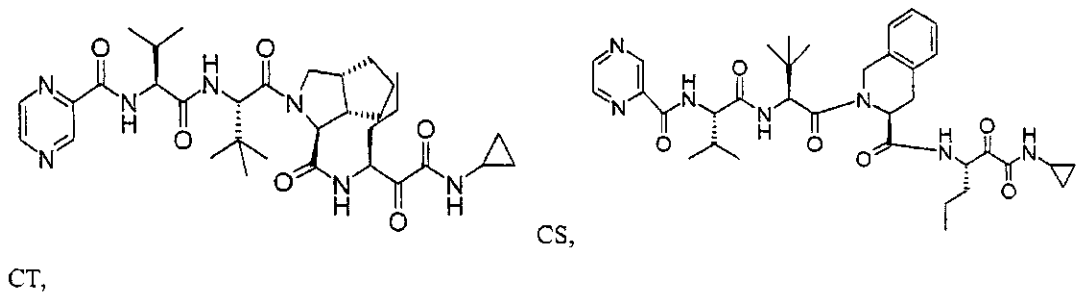
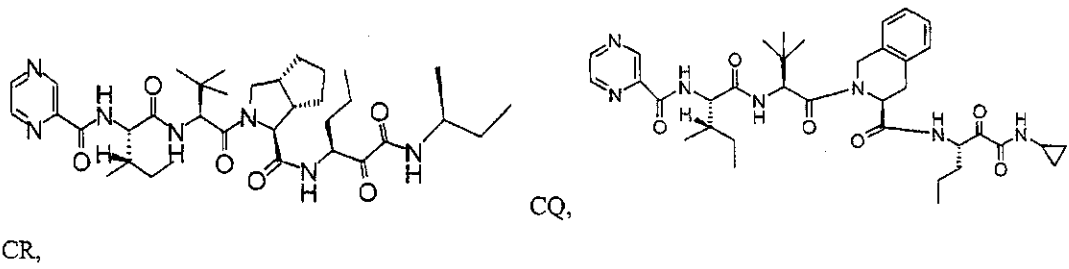


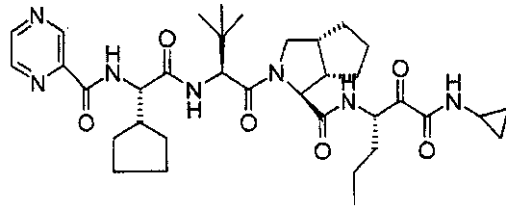
CI,



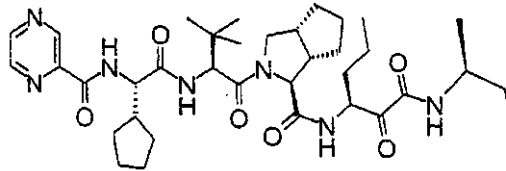
CJ,



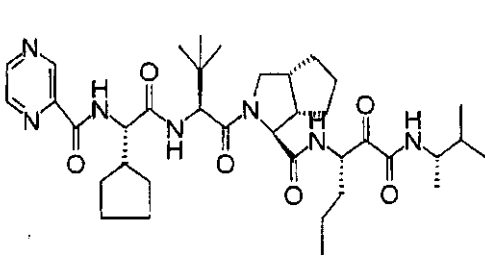




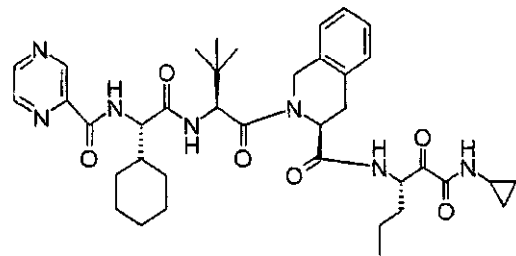
CY,



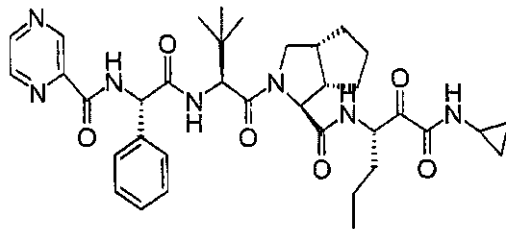
CZ,



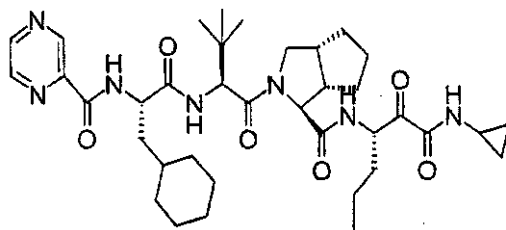
DB,



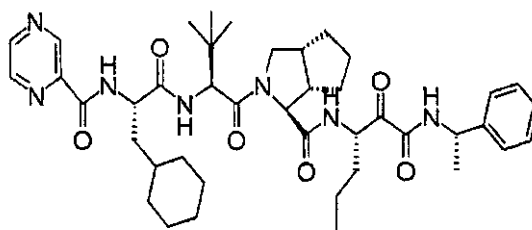
DA,



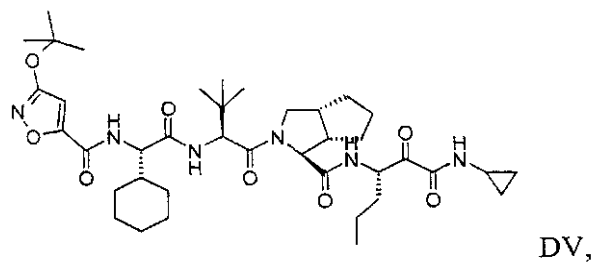
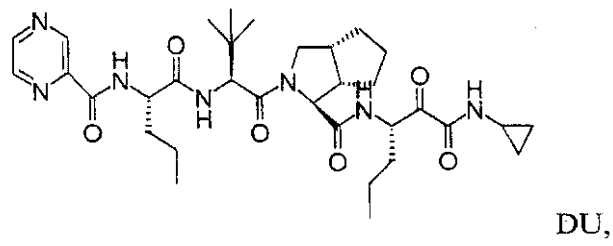
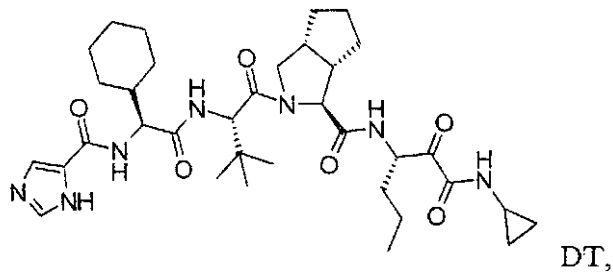
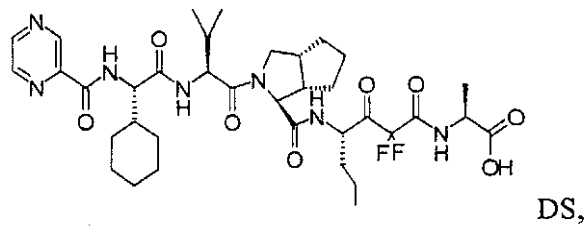
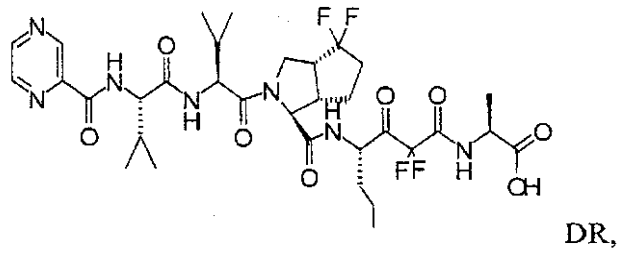
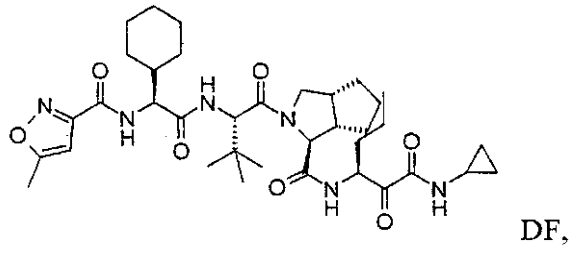
DC,

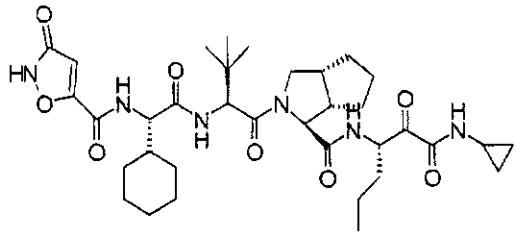


DD,

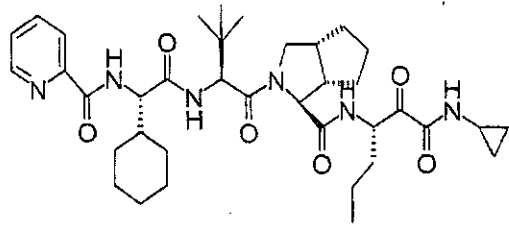


DE,

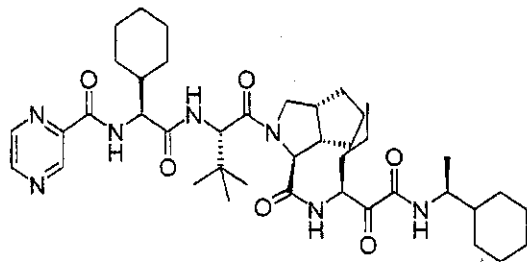




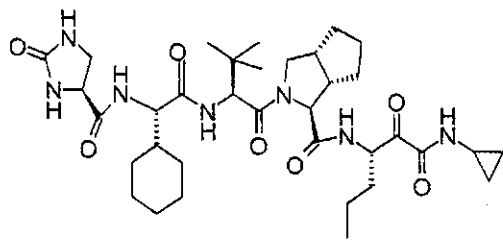
DW,



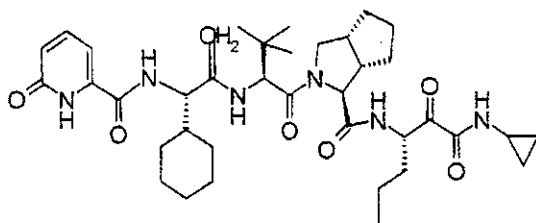
DX,



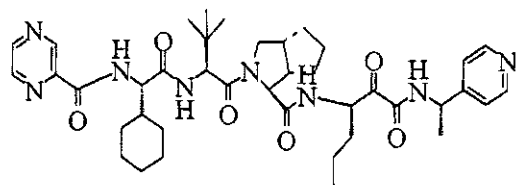
DY,



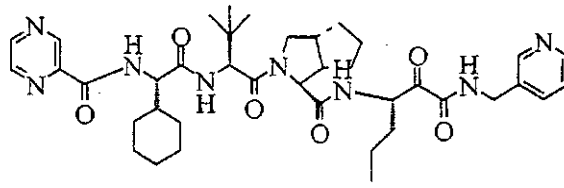
DZ,



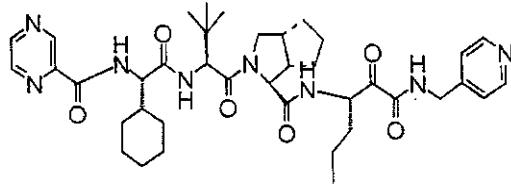
EA,



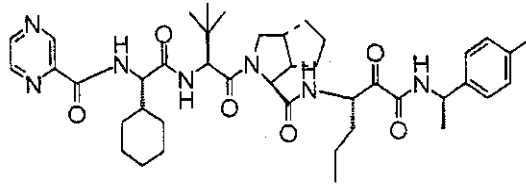
EJ,



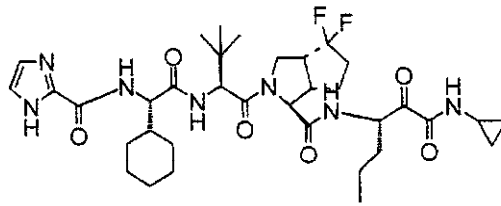
EK,



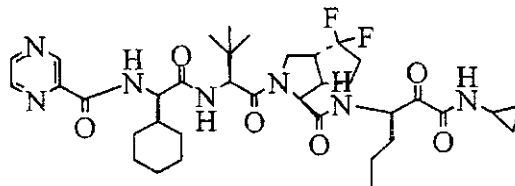
EL,



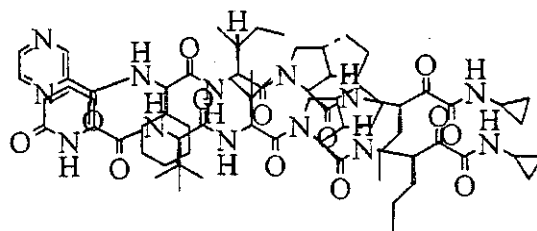
EM,



EN,

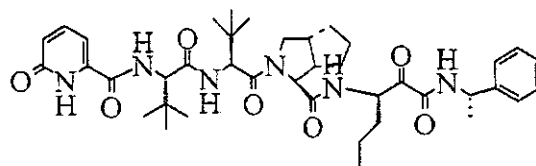


EO,

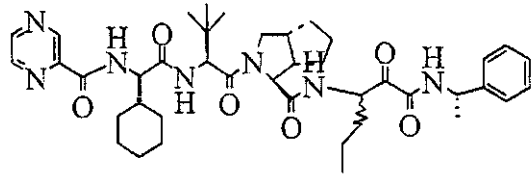


EP,

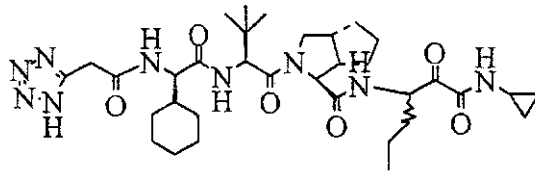
ES,



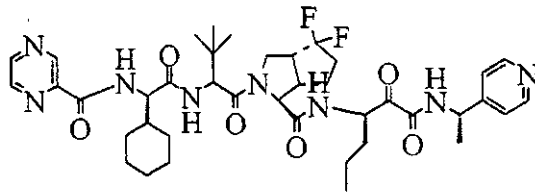
ET,



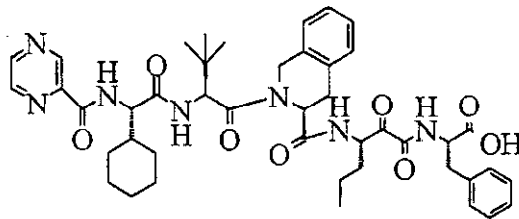
EU,



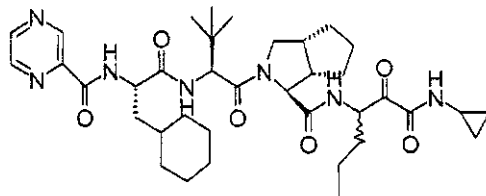
EV,



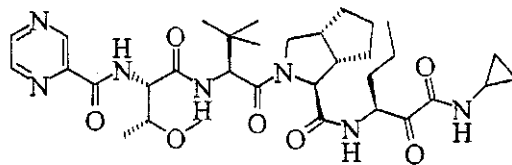
EZ,



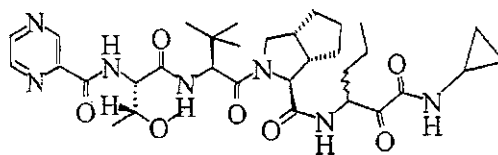
FA,



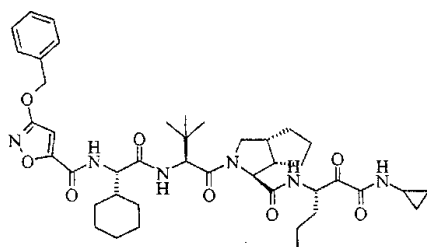
FB,



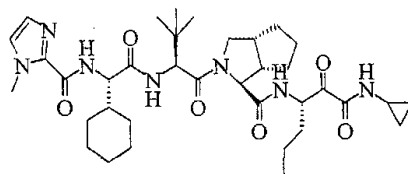
FC,



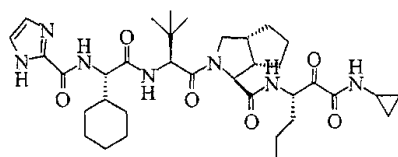
FD,



FE,

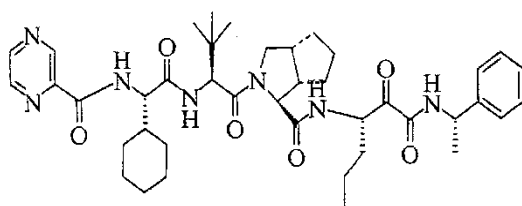


FF,



FG,

y



FH,

5 o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco.

59. El compuesto de la clausula 1 o 2, en el que:

R^0 es un enlace;

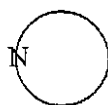
R^1 es hidrógeno;

10 R^2 es alquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático; o cicloalquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;

R^3 y R^5 son cada uno independientemente metileno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático; R^4 , R^6 , R^8 y R^{10} son hidrógeno;

15 R^7 es metileno sustituido con cicloalquilo, alquilo inferior o arilo; o (1,1- o 1,2-)cicloalquenilo opcionalmente sustituido con cicloalquilo, alquilo inferior o arilo;

R^9 es alquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico, o heterocíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;



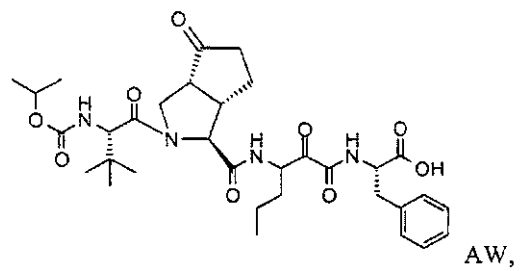
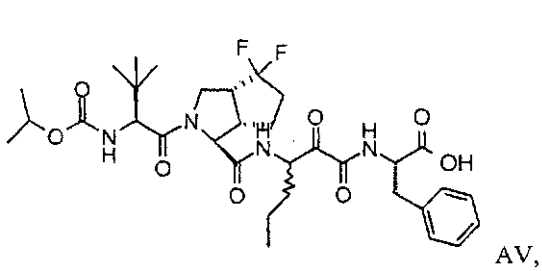
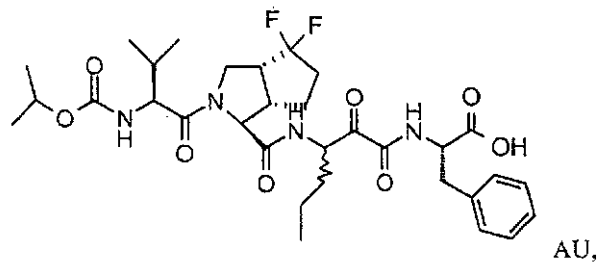
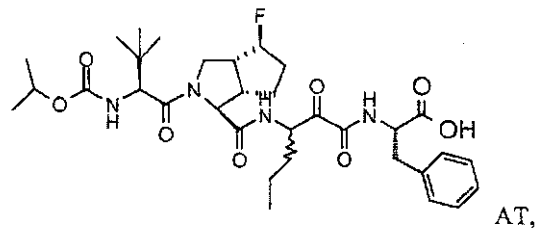
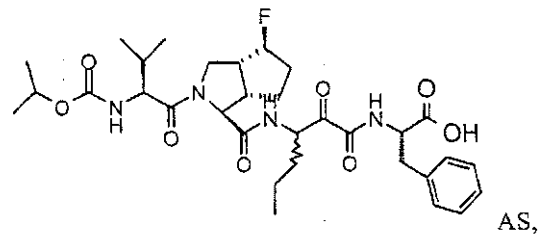
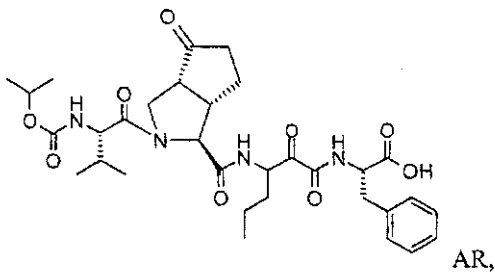
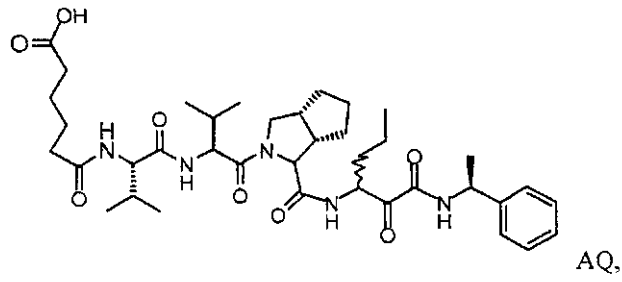
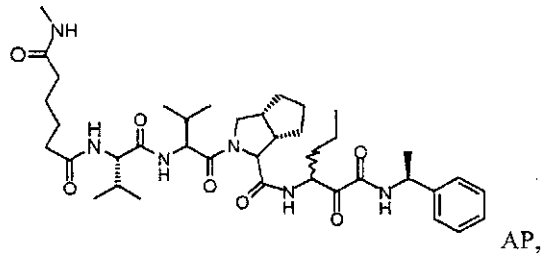
20 es azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico; y L es -C(O)- o -OC(O)-.

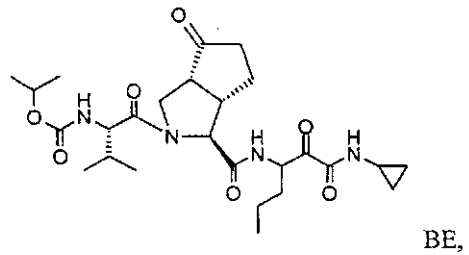
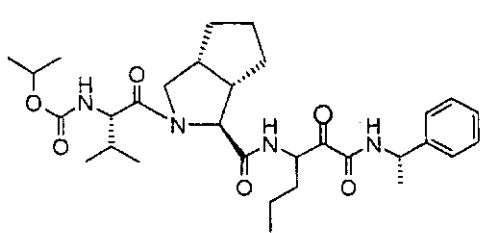
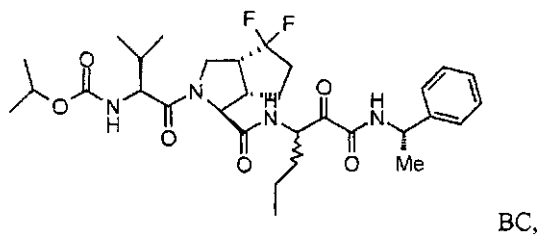
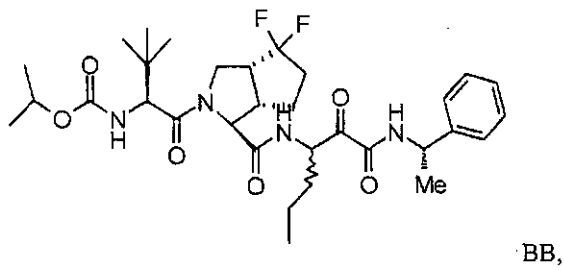
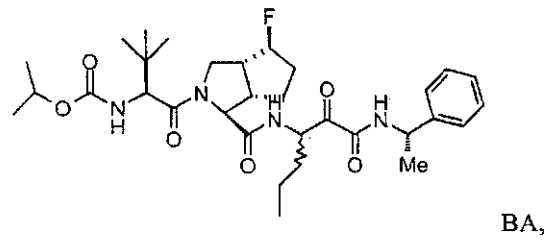
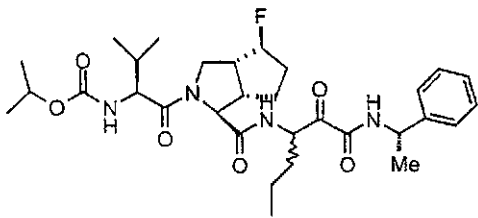
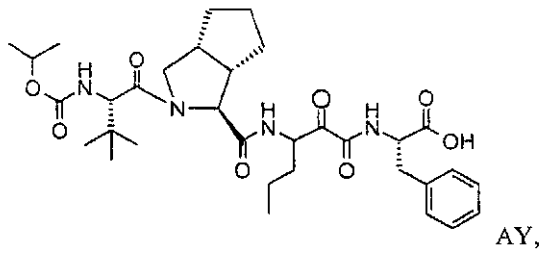
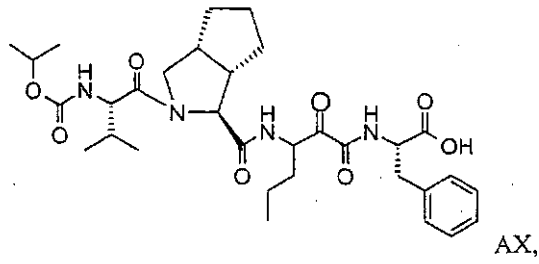
60. Un compuesto de la clausula 59, en el que:

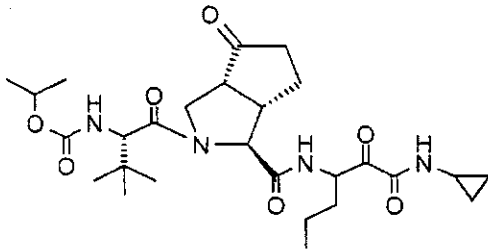
(a) sustituyentes de grupo alifático significan arilo, heteroarilo, hidroxi, alcoxi, cicliloxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo

- o su análogo tioxo, ciclicarbonilo o su análogo tioxo, aroílo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, ciclicarboniloxi, aroiloxi, heteroaroiloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoílo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoílo, N-metoxicarbamoílo, heteroarilsulfonilcarbamoílo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona,
- 5 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, alcoxicarbonilo, cicliloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, heteroariloxicarbonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, metileno (H₂C=), oxo (O=), tioxo (S=), Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³-, Y¹Y²NSO₂-, o Y³SO₂NY¹- en el que R² es como se define en el
- 10 presente documento, Y¹ e Y² son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, e Y³ es alquilo, cicloalquil arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²N-, entonces uno de Y¹ e Y² puede ser acilo, ciclicarbonilo, aroílo, heteroaróilo, alcoxicarbonilo, cicliloxicarbonilo, ariloxicarbonilo o heteroariloxicarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y¹ e Y² es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. Y¹ e Y² también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y¹ e Y² se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros;
- 15 (b) sustituyentes de grupo de anillo significan arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, cicliloxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo o su análogo tioxo, ciclicarbonilo o su análogo tioxo, aroílo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, ciclicarboniloxi, aroiloxi, heteroaroiloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), biostero de ácido, alcoxicarbonilo, cicliloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, heteroariloxicarbonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. donde Y¹, Y² e Y³ son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²N-, entonces uno de Y¹ e Y² puede ser acilo, ciclicarbonilo, aroílo, heteroaróilo,
- 20 alcoxicarbonilo, cicliloxicarbonilo, ariloxicarbonilo o heteroariloxicarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y¹ e Y² es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. Y¹ e Y² también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y¹ e Y² se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros;
- 25 o cuando un sistema de anillo está saturado o parcialmente saturado, los "sustituyentes de grupo de anillo" incluyen además, metileno (H₂C=), oxo (O=) y tioxo (S=);
- 30 (c) arilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico, de 6 a 14 átomos de carbono;
- (d) cicloalquilo significa un sistema de anillo no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono;
- (e) cicloalqueno significa un sistema de anillo no aromático mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono;
- 35 (f) ciclilo significa cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo o heterociclenilo;
- (g) heterociclilo significa un sistema de anillo saturado no aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distinto de carbono;
- 40 (h) heterociclenilo significa un sistema de anillo no aromático, monocíclico o multicíclico, de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillos es o son hetero elementos distintos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono o doble enlace carbono-nitrógeno; y
- (i) heteroarilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo
- 45 es o son hetero elementos distintos de carbono.

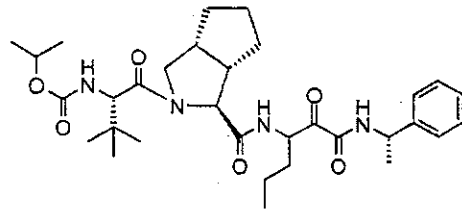
61. Un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1, 2, 59, o 60, en el que el grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido de R⁹ está sustituido con al menos un sustituyente heteroarilo.
62. Un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1, 2, 59, o 60, en el que el grupo aromático opcionalmente sustituido
- 50 de R⁹ es heteroarilo opcionalmente sustituido.
63. Un compuesto de la cláusula 60, en el que el grupo alifático opcionalmente sustituido de R⁹ es alquilheteroarilo opcionalmente sustituido.
64. Un compuesto seleccionado entre grupo que consiste en:



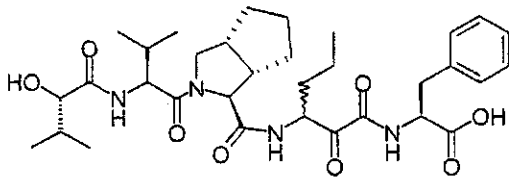




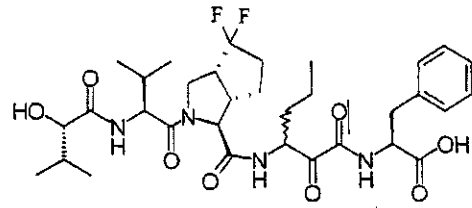
BF,



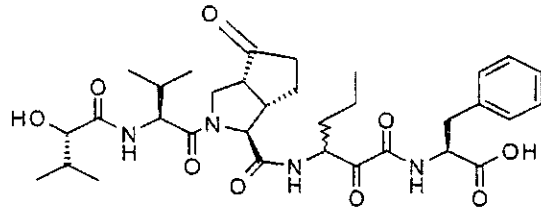
BG,



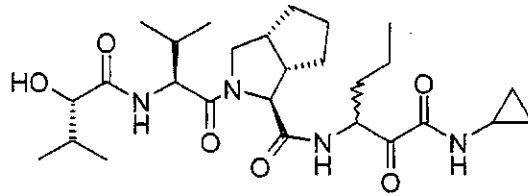
BK,



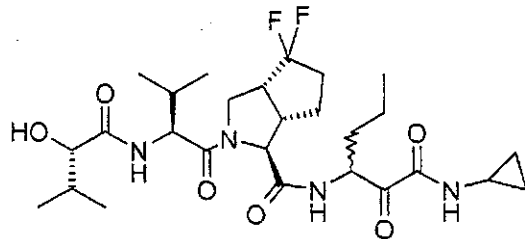
BL,



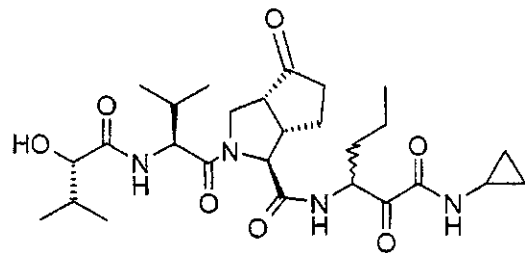
BM,



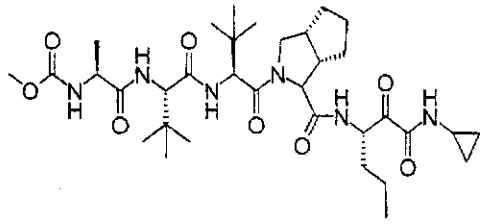
BP,



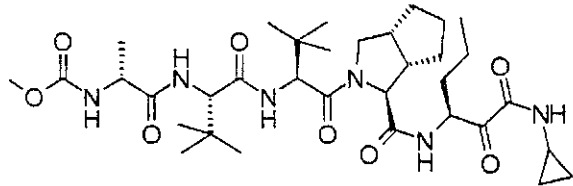
BQ,



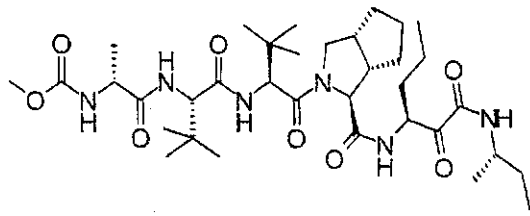
BR,



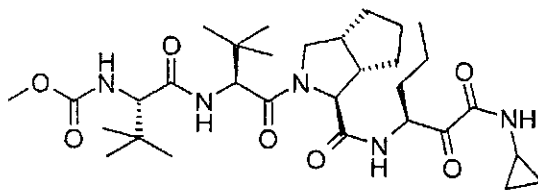
DG,



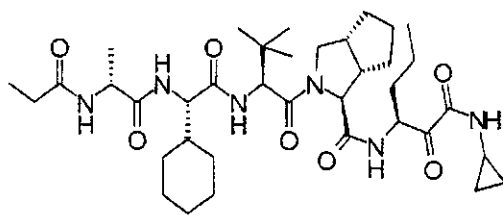
DH,



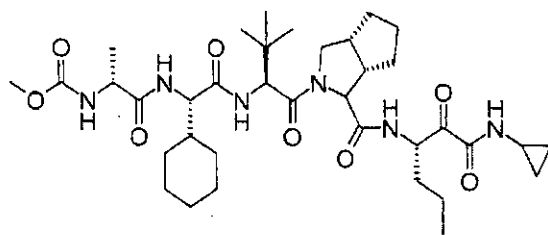
DI,



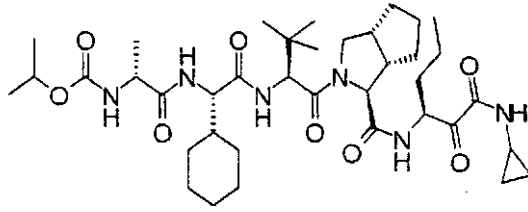
DJ,



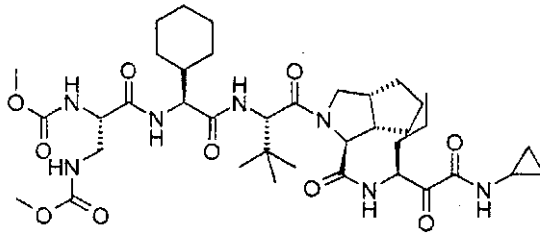
EB,



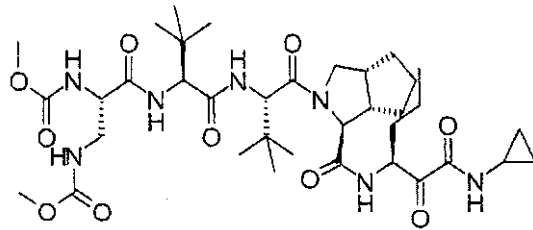
EC,



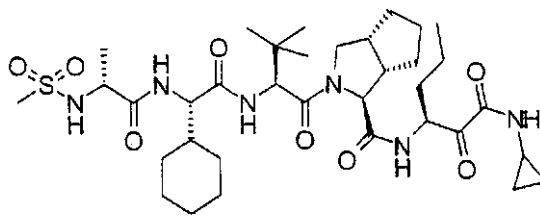
ED,



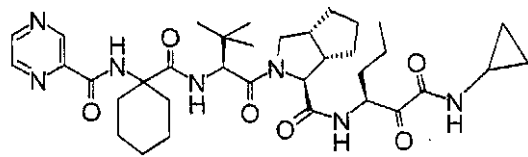
EE,



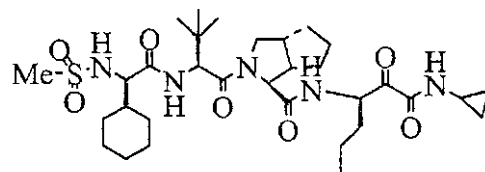
EF,



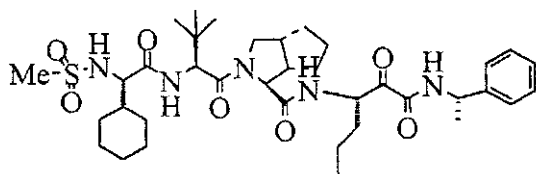
EG,



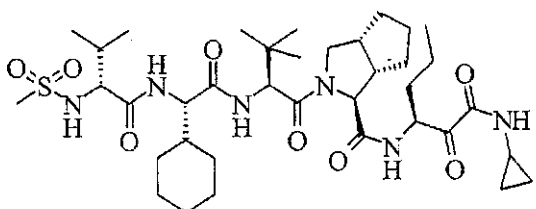
EH,



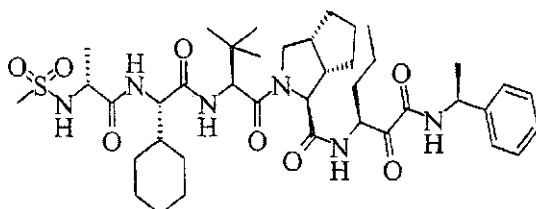
EQ,



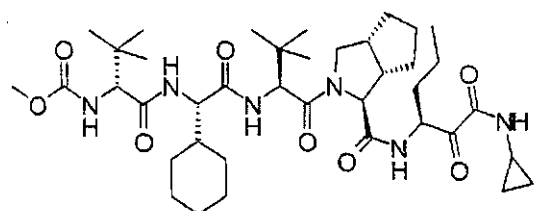
ER,



EW,



EX,



EY,

o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, o un solvato de dicho compuesto, su sal o su profármaco.

5 65. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

66. Una composición farmacéutica, que comprende un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C que tiene la estructura de cualquiera de las cláusulas 1 a 58, un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 67. La composición farmacéutica de la cláusula 66, que además comprende un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de un interferón.

68. Una composición farmacéutica, que comprende un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C que tiene la estructura de cualquiera de las cláusulas 1 a 58, un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho compuesto es distinto de interferón.

15 69. La composición farmacéutica de la cláusula 67, en la que dicho inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C, dicho interferón y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C están cada uno presentes en una cantidad seleccionada del grupo que consiste en una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad subclínica farmacéuticamente efectiva y una combinación de las mismas.

20 70. La composición farmacéutica de la cláusula 69, en la que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, Interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina, imiquimod, ribavirina, una inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

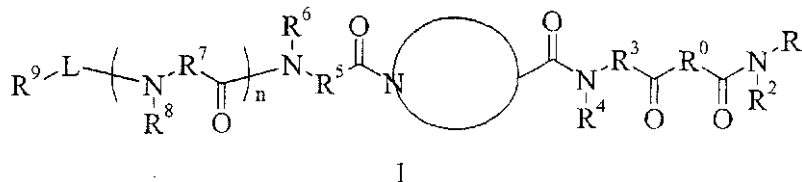
25 71. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 en la fabricación de un medicamento para inhibir la proteasa de VHC.

72. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 en la fabricación de un medicamento para tratar a un paciente que padece una infección por VHC o afecciones fisiológicas relacionadas con la infección.

73. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 en combinación con una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de otro agente terapéutico anti VHC, en la fabricación de un medicamento para tratar a un paciente que padece una infección por VHC o afecciones fisiológicas relacionadas con la infección.
74. El uso de la cláusula 73 en el que el agente terapéutico anti VHC es interferón o interferón derivatizado.
- 5 75. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 en combinación con un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C para preparar un medicamento para el tratamiento o prevención de una infección por virus de la hepatitis C en un paciente que lo necesite.
76. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 en combinación con un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C para preparar un medicamento para el tratamiento o prevención de una infección por virus de la hepatitis C en un paciente que lo necesite, en el que dicho compuesto es distinto de interferón.
- 10 77. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 en combinación con un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C y un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C para preparar un medicamento para el tratamiento o prevención de una infección por virus de la hepatitis C en un paciente que lo necesite, en el que dicho compuesto es distinto de interferón.
- 15 78. El uso de la cláusula 77, en el que dicho un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58, dicho interferón y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C están cada uno presentes en una cantidad seleccionada del grupo que consiste en una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad subclínica farmacéuticamente efectiva y una combinación de las mismas.
79. El uso de la cláusula 78, en la que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, Interleucina 6, Interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina, Imiquimod, ribavirina, una inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 20 80. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 y un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en la fabricación de un medicamento para inhibir la replicación del virus de la hepatitis C en una célula.
81. El uso de la cláusula 80, en el que dicho compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 y dicho interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se usan en combinación con un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de un interferón.
- 25 82. Uso de un compuesto de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 y un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de interferón, en la fabricación de un medicamento para inhibir la replicación del virus de la hepatitis C en una célula.
83. El uso de la cláusula 80, en la que dicho inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C, dicho interferón y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C están cada uno presentes en una cantidad seleccionada del grupo que consiste en una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad subclínica farmacéuticamente efectiva y una combinación de las mismas.
- 30 84. El uso de la cláusula 83, en la que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, Interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina, Imiquimod, ribavirina, una inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 35 85. Un kit o paquete farmacéutico, que comprende una pluralidad de recipientes separados, en el que al menos uno de dichos recipientes contiene un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 y al menos otro de dichos recipientes contiene un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C.
- 40 86. Un kit o paquete farmacéutico, que comprende una pluralidad de recipientes separados, en el que al menos uno de dichos recipientes contiene un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C de cualquiera de las cláusulas 1 a 58 y al menos otro de dichos recipientes contiene un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de interferón.
- 45 87. Un kit o paquete farmacéutico, que comprende una pluralidad de recipientes separados, en el que al menos uno de dichos recipientes contiene un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C de cualquiera de las cláusulas 1 a 58, al menos otro de dichos recipientes contiene un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C y al menos otro de dichos recipientes contiene un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de interferón.
- 50 88. El kit o el paquete farmacéutico de la cláusula 87, en el que dicho inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C, dicho interferón y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C están cada uno presentes en una cantidad seleccionada del grupo que consiste en una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad subclínica farmacéuticamente efectiva y una combinación de las mismas.
- 55 89. El kit o paquete farmacéutico de la cláusula 88 en el que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, Interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina, Imiquimod, ribavirina, una inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 60

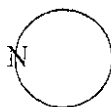
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula 1,



una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato de dicho compuesto, o su sal, en la que:

- 5 R^0 es un enlace o difluorometileno;
 R^1 es hidrógeno, grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;
 cada uno de R^2 y R^9 es independientemente un grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico
 10 opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido;
 R^3 , R^5 y R^7 son cada uno independientemente:
 un (1,1- o 1,2-)cicloalquilo opcionalmente sustituido,
 un (1,1- o 1,2-)heterociclileno opcionalmente sustituido, o
 metileno o etileno, sustituido con un sustituyente seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo alifático
 15 opcionalmente sustituido, un grupo cíclico opcionalmente sustituido o un grupo aromático opcionalmente
 sustituido y en el que el metileno o etileno está opcionalmente sustituido adicionalmente con un sustituyente de
 grupo alifático; R^4 , R^6 , R^8 y R^{10} son cada uno independientemente hidrógeno o grupo alifático opcionalmente
 sustituido;



- 20 es un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente
 sustituido, en el que la insaturación está en el anillo distal al anillo que porta el resto $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O))_n-N(R^6)-R^5-C(O)-N$ y al que está unido el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$; L es
 $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$, o $-NR^{10}S(O)_2-$; y n es 0 o 1;
 cíclico es un sistema de anillos no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono; un sistema de
 25 anillos no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un doble
 enlace carbono-carbono; un sistema de anillos no aromático, saturado, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos
 de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono del anillo es un heteroátomo;
 o un sistema de anillos no aromático, saturado, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono en el que
 uno o más de los átomos de carbono del anillo es un heteroátomo y que contiene al menos un doble enlace
 carbono-carbono; y
 30 aromático es un sistema de anillos aromático, monocíclico o multicíclico de 6 a 10 átomos de carbono, o un
 sistema de anillo aromático monocíclico o multicíclico de 5 a 14, en el que uno o más de los átomos del anillo
 es un heteroátomo, en el que son grupos alifáticos opcionalmente sustituidos, alquilo, alquenilo o alquinilo,
 opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo alifático;
 35 grupos cíclicos opcionalmente sustituidos son cicloalquilo, cicloalquenilo, grupos heterociclilo o
 heterociclenilo opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
 grupos aromáticos opcionalmente sustituidos son grupos arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituidos con
 uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
 grupo cicloalquileno(1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos, grupos cicloalquileno (1,1- o 1,2) opcionalmente
 sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
 40 son grupos heterociclileno (1,1- o 1,2) opcionalmente sustituidos, grupos heterociclenilo (1,1- o 1,2)
 opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
 es azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, un grupo azaheterociclilo multicíclico opcionalmente
 sustituido con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;
 es azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, un grupo azaheterociclenilo multicíclico
 45 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de grupo de anillo;

en la que:

(a) sustituyentes de grupo alifático significan arilo, heteroarilo, hidroxi, alcoxi, cicliloxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo
 o su análogo tioxi, ciclilcarbonilo o su análogo tioxi, aroilo o su análogo tioxi, heteroarilo o su análogo tioxi,
 aciloxi, ciclilcarboniloxi, ariloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$,

- C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfona, alquilsulfonilcarbamoilo, tetrazolilo, arilsulfonilcarbamoilo, N-metoxicarbamoilo, heteroarilsulfonilcarbamoilo, 3-hidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinilo o hidroxiheteroarilo, tal como 3-hidroxiisoxazolilo, 3-hidroxi-1-metilpirazolilo, alcoxycarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, metileno (H₂C=), oxo (O=), tioxo (S=), Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³-, Y¹Y²NSO₂-, o Y³SO₂NY¹- en el que R² es como se define en el presente documento, Y¹ e Y² son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, e Y³ es alquilo, cicloalquil arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²N-, entonces uno de Y¹ e Y² puede ser acilo, ciclilcarbonilo, aroilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y¹ e Y² es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. Y¹ e Y² también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y¹ e Y² se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros;
- (b) sustituyentes de grupo de anillo significan arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, cicliloxi, ariloxi, heteroariloxi, acilo o su análogo tioxo, ciclilcarbonilo o su análogo tioxo, aroilo o su análogo tioxo, heteroarilo o su análogo tioxo, aciloxi, ciclilcarboniloxi, aroiloxi, heteroariloxi, halo, nitro, ciano, carboxi (ácido), biostero de ácido, alcoxycarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, heteroariloxycarbonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, ciclilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, cicliltio, ariltio, heteroariltio, ciclilo, arildiazo, heteroarildiazo, tiol, Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. en las que Y¹, Y² e Y³ son independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²N-, entonces uno de Y¹ e Y² puede ser acilo, ciclilcarbonilo, aroilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicliloxycarbonilo, ariloxycarbonilo o heteroariloxycarbonilo, como se definen en el presente documento y el otro de Y¹ e Y² es como se ha definido previamente, o para cuando el sustituyente es Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- o Y¹Y²NSO₂-. Y¹ e Y² también pueden tomarse junto con el átomo de N a través del cual Y¹ e Y² se unen para formar un azaheterociclilo o azaheterociclenilo de 4 a 7 miembros; o cuando un sistema de anillo está saturado o parcialmente saturado, los "sustituyentes de grupo de anillo" incluyen además, metileno (H₂C=), OXO (O=) y tioxo (S=);
- (c) arilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico, de 6 a 14 átomos de carbono;
- (d) cicloalquilo significa un sistema de anillo no aromático, mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono;
- (e) cicloalqueno significa un sistema de anillo no aromático mono o multicíclico de 3 a 10 átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono;
- (f) ciclilo significa cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo o heterociclenilo;
- (g) heterociclilo significa un sistema de anillo saturado no aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distintos de carbono;
- (h) heterociclenilo significa un sistema de anillo no aromático, monocíclico o multicíclico, de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillos es o son hetero elementos distintos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono o doble enlace carbono-nitrógeno; y
- (i) heteroarilo significa un sistema de anillo aromático, monocíclico o multicíclico de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono, en el que uno o más de los átomos de carbono en el sistema de anillo es o son hetero elementos distintos de carbono.
2. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R⁰ es un enlace.
3. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R⁰ es difluorometileno.
4. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R¹ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido, o en el que R¹ es hidrógeno o alquilo inferior.
5. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R² es grupo alifático inferior opcionalmente sustituido o grupo monocíclico opcionalmente sustituido; o en el que R² es alquilo inferior opcionalmente sustituido, alqueno inferior opcionalmente sustituido, o cicloalquilo monocíclico opcionalmente sustituido; o en el que R² es carboximetilo, 1-carboxi-2-feniletilo, ciclopropilo, ciclobutilo, 1-ciclohexiletilo, 1-feniletilo, but-2-ilo, 1-pirid-4-iletilo, propen-3-ilo o 3-metilbut-2-ilo.
6. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que R³ es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido; o en el que R³ es metileno inferior (alquilo o alquino) opcionalmente halo sustituido; o en el que R³ es propilmetileno, 2,2-difluoroetilmetileno, 2,2,2-trifluorometileno o propen-3-ilmetileno; o en el que R³ es propilmetileno o 2,2-difluoroetilmetileno; o en el que R³ es propilmetileno; o en el que R³ es metileno mono sustituido y tiene una configuración (S) en el carbono unido al resto -C(O)-R⁰-C(O)-NR¹R².
7. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R⁴ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido.
8. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R⁵ es metileno de grupo alifático inferior

5 opcionalmente sustituido; o en el que R⁵ es metileno inferior (alquilo o alqueno) opcionalmente sustituido (fenilo, carboxi, carboxamido o alcoxicarboilo); o en el que R⁵ es metilmetileno, isopropilmetileno, t-butilmetileno, but-2-ilmetileno, butilmetileno, bencilmetileno, 3-metilbutilmetileno, 2-metilpropilmetileno, carboximetilmetileno, carboxamidometilmetileno, benciloxicarbonilmetilmetileno, benciloxicarbonilpropilmetileno o fenilpropen-3-il-metileno; o en el que R⁵ es isopropilmetileno o t-butilmetileno.

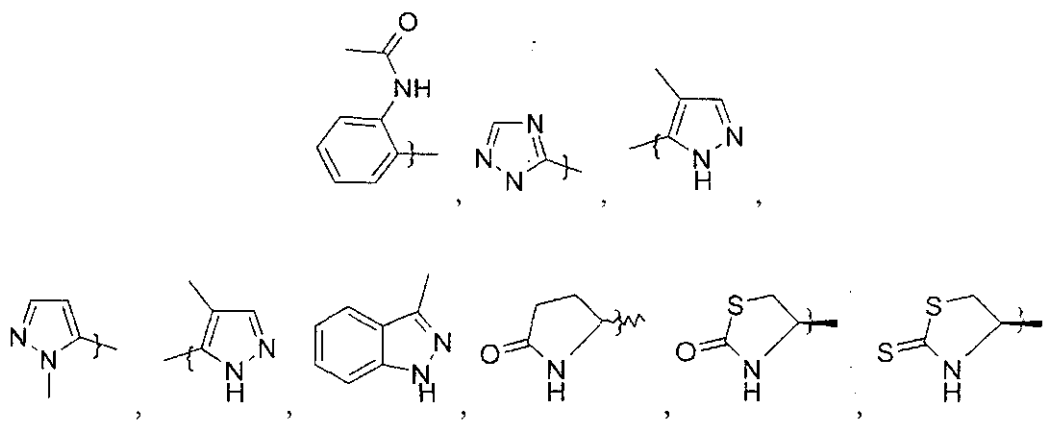
9. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que R⁶ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido; o en el que R⁶ es hidrógeno o alquilo inferior.

10. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que R⁷ es metileno de grupo alifático inferior opcionalmente sustituido, metileno de grupo cíclico inferior opcionalmente sustituido o metileno monocíclico opcionalmente sustituido (arilo o heteroarilo); o en el que R⁷ es alquilmetileno inferior opcionalmente sustituido, cicloalquilmetileno inferior opcionalmente sustituido o fenilmetileno opcionalmente sustituido; o en el que R⁷ es metilmetileno, isopropilmetileno, n-propilmetileno, fenilmetileno, ciclohexilmetileno, ciclopentilmetileno, t-butilmetileno, s-butilmetileno, ciclohexilmetilmetileno, o fenilmetilmetileno; o en el que R⁷ es isopropilmetileno, ciclohexilmetileno, ciclopentilmetileno, t-butilmetileno o s-butilmetileno.

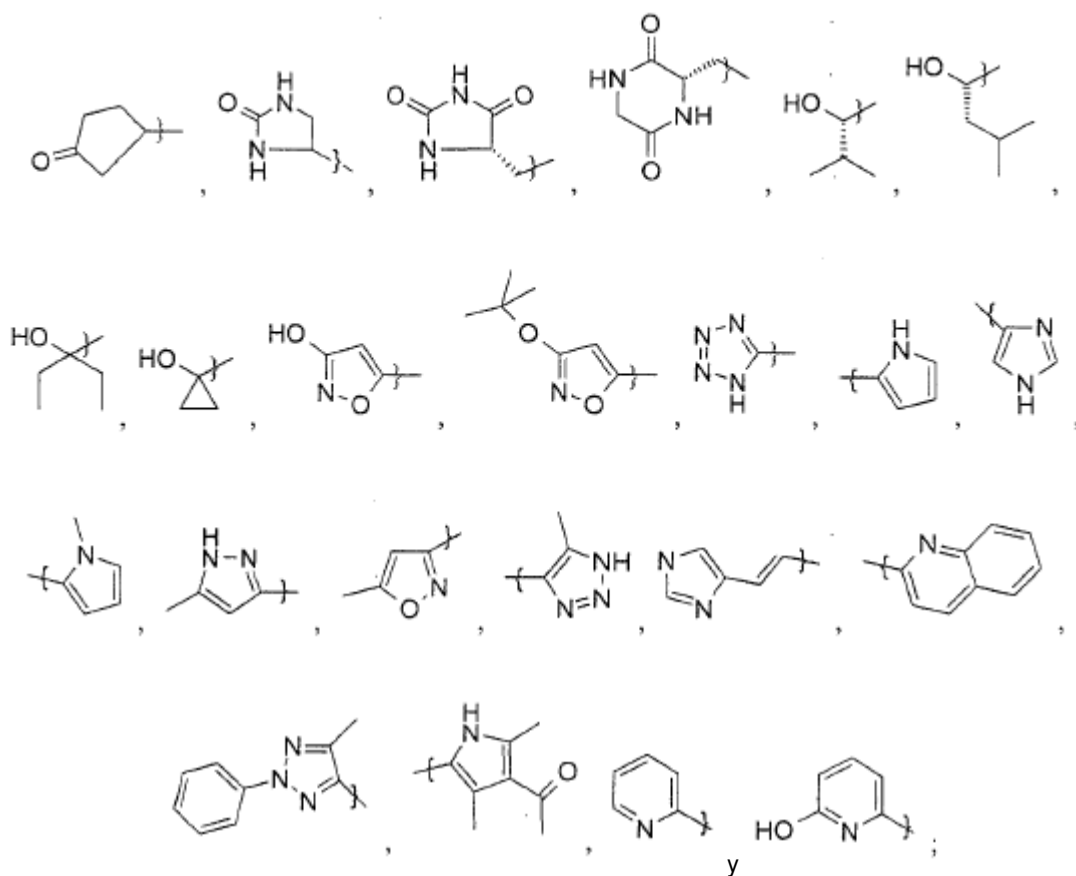
15 11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que cada uno de R³, R⁵ y R⁷ es metileno mono sustituido.

12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que R⁸ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido; o en el que R⁸ es hidrógeno o alquilo inferior.

20 13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que R⁹ es grupo alifático inferior opcionalmente sustituido o un grupo aromático monocíclico opcionalmente sustituido; o en el que R⁹ es alquilo inferior opcionalmente sustituido o heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido; o en el que R⁹ es opcionalmente (carboxi, (alquilo inferior)SO₂NH-, (alquilo inferior)HNCO-, hidroxil, fenilo, heteroarilo, o (alquilo inferior)OC(O)NH-)alquilo inferior sustituido, o heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido; o en el que R⁹ es alquilo inferior sustituido con (mono o di)MeOC(O)NH-; o en el que R⁹ es alquilo inferior (carboxi, (alquilo inferior)HNCO- o tetrazolilo) sustituido; o en el que R⁹ es 3-carboxipropilo, 2-tetrazol-5-ilpropilo, 3-(N-metilcarboxamido)propilo o 3-carboxi-2,2-dimetilpropilo; o en el que R⁹ es 3-carboxipropilo, 2-tetrazol-5-ilpropilo o 3-(N-metil-carboxamido)propilo; o en el que R⁹ es alquilo inferior opcionalmente sustituido; o en el que R⁹ es 1-hidroxil-2-feniletilo, isopropilo o t-butilo; o en el que R⁹ es isopropilo o t-butilo; o en el que R⁹ se selecciona entre el grupo que consiste en



30

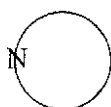


o en el que R⁹ es pirazinilo.

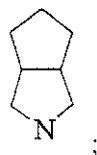
14. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que R¹⁰ es hidrógeno o grupo alifático inferior opcionalmente sustituido; o en el que R¹⁰ es hidrógeno o alquilo inferior.

5

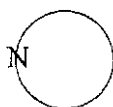
15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que



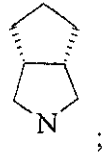
como un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por



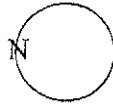
10 o en el que



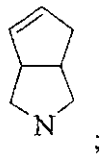
como un azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por



o en el que

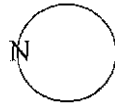


como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por

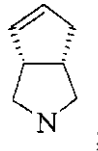


5

o en el que

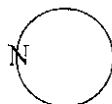


como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por

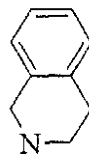


10

o en el que

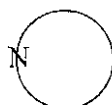


como un azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido, es opcionalmente sustituido por



15

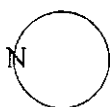
16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que el resto $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)R^0C(O)NR^2R^1$ unido a



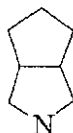
está unido a un carbono α con el átomo de nitrógeno.

17. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que L es $-C(O)-$ o $-OC(O)-$.

18. Un compuesto de la reivindicación 1, en la que
 R^1 , R^4 , R^6 , R^8 y R^{10} son cada uno independientemente hidroxilo, alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, alqueno C_2-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, o alquino C_2-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático;
 5 R^2 es alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, alqueno C_2-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, alquino C_2-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, o un grupo monocíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo de anillo;
 R^3 y R^5 son cada uno independientemente alquilmetileno C_1-C_4 , un alquenilmetileno C_2-C_4 , o un alquinilmetileno C_2-C_4 , cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático;
 10 R^7 es alquilmetileno C_1-C_4 , un alquenilmetileno C_2-C_4 , o un alquinilmetileno C_2-C_4 , cada uno opcionalmente sustituido con sustituyentes de grupo alifático, un metileno de grupo cíclico de 5-6 opcionalmente sustituido con sustituyentes de grupo de anillo o metileno monocíclico (arilo o heteroarilo) opcionalmente sustituido;
 R^9 es alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, alqueno C_1-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, alquino C_2-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, o un grupo aromático monocíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo de anillo;
 15 y

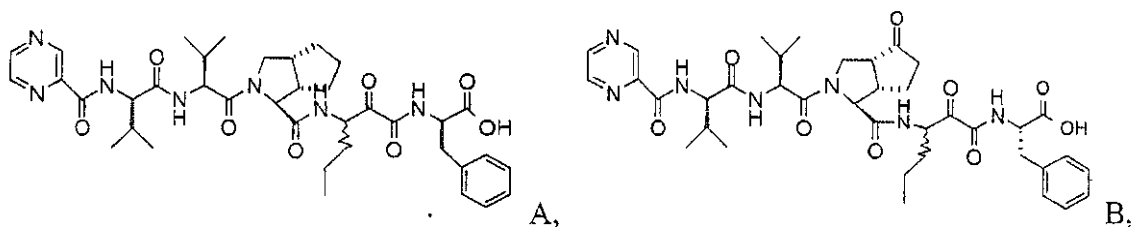


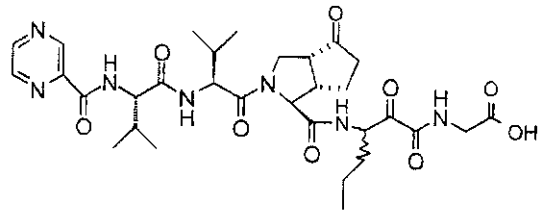
es



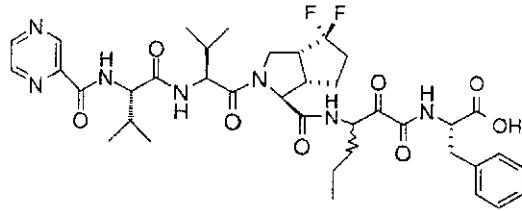
- 20 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo de anillo.

19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado entre el grupo que consiste en:

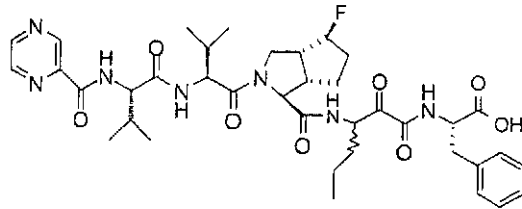




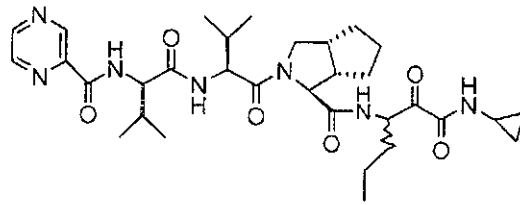
C,



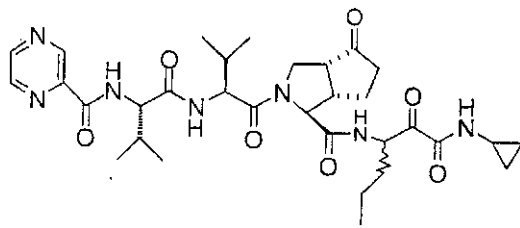
D,



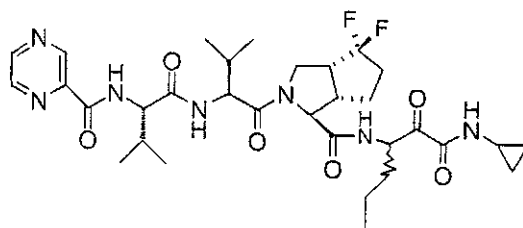
E,



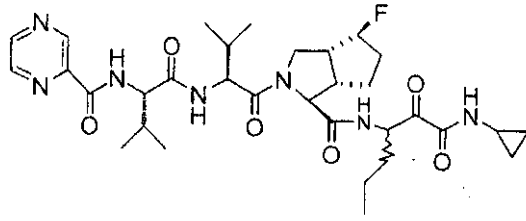
F,



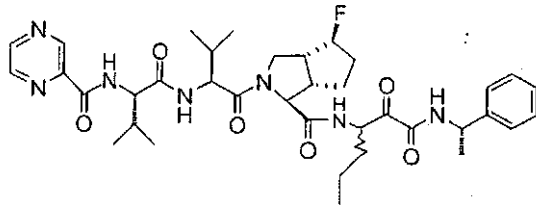
G,



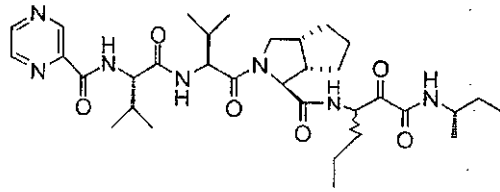
H,



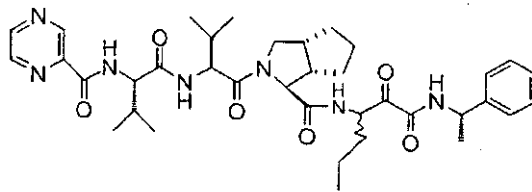
I,



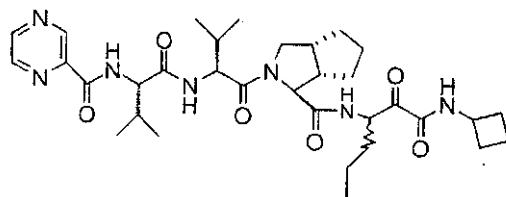
J,



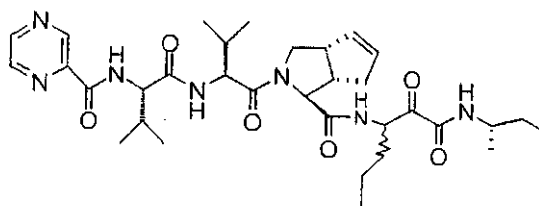
K,



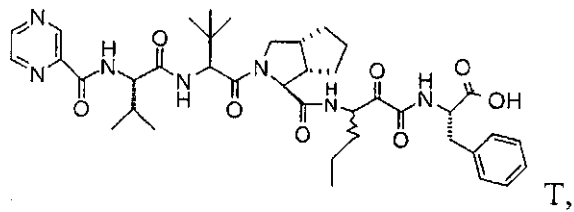
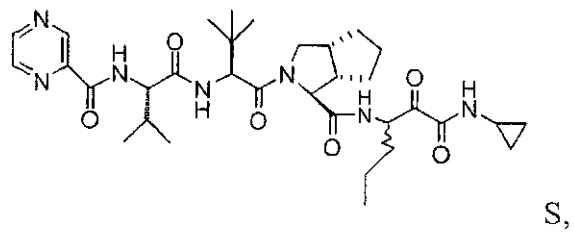
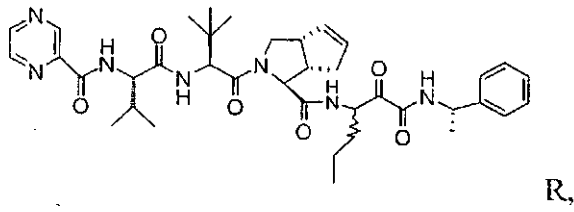
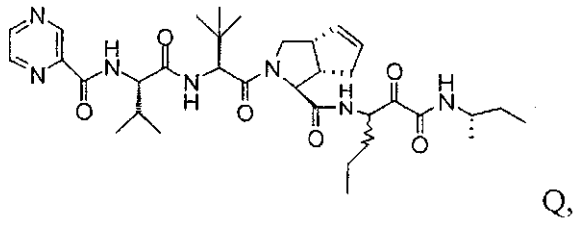
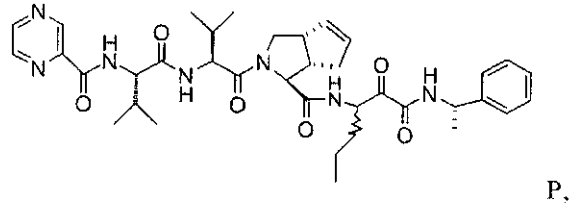
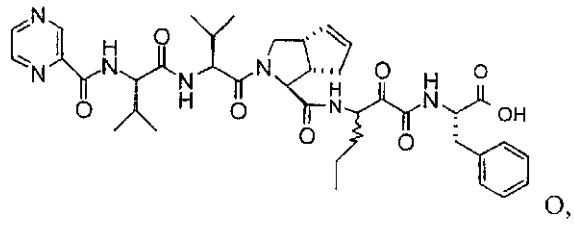
L,

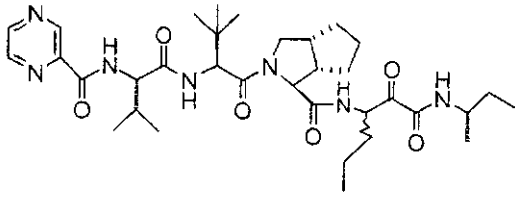


M,

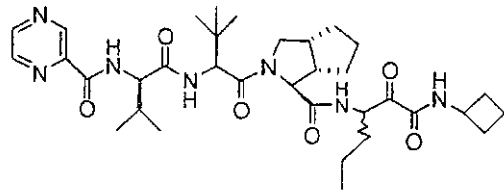


N,

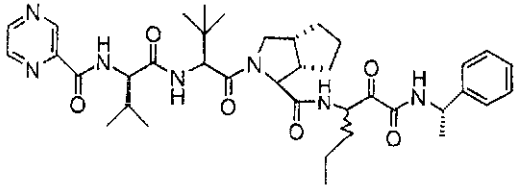




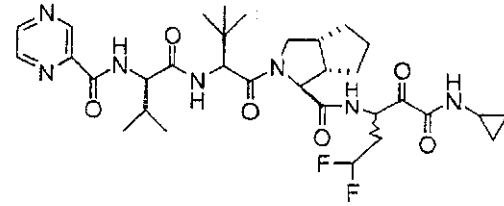
U,



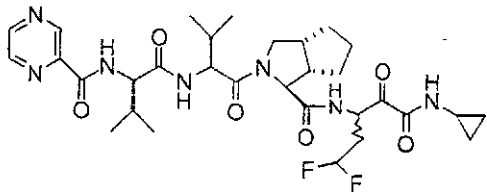
V,



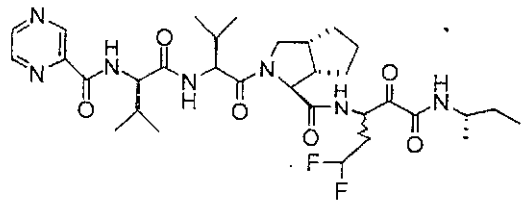
W,



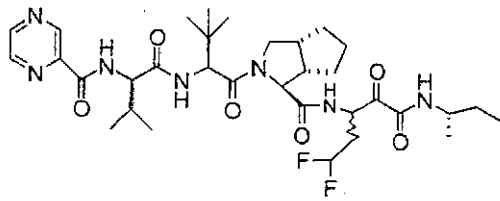
X,



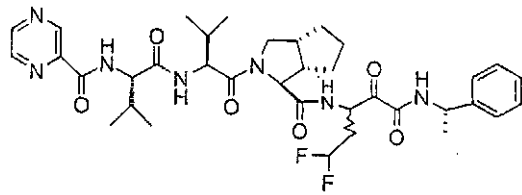
Y,



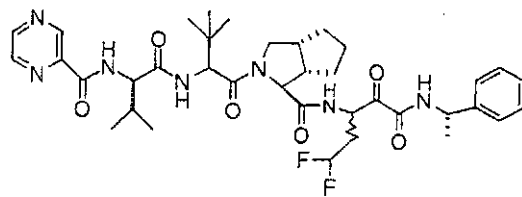
Z,



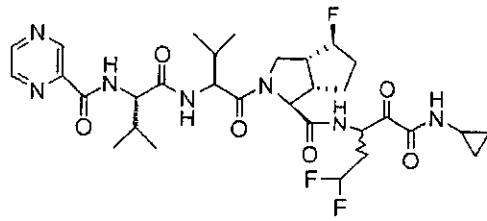
AA,



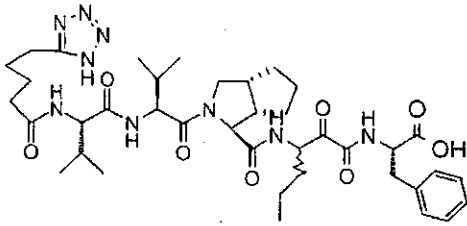
AB,



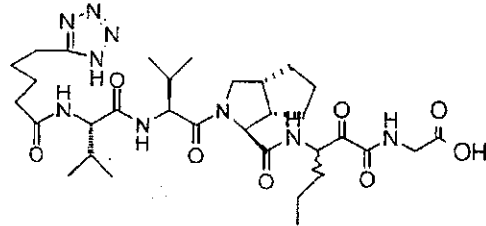
AC,



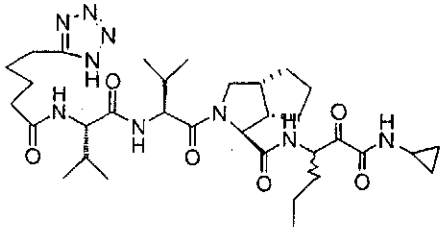
AD,



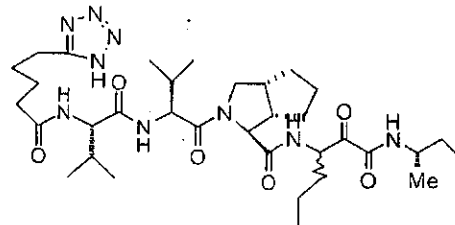
AE,



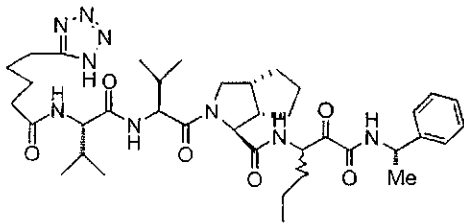
AF,



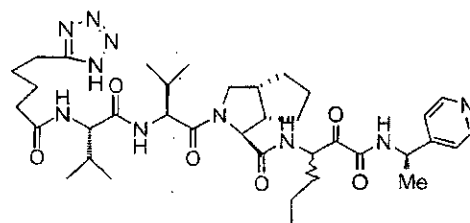
AG,



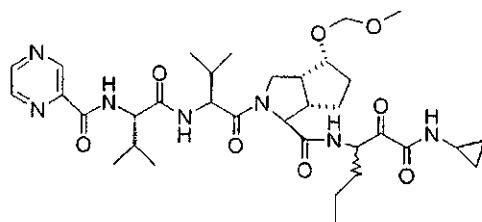
AH,



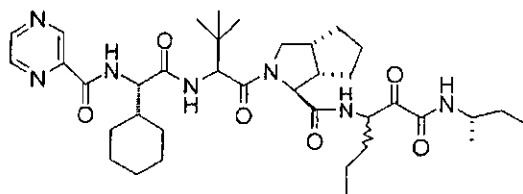
AI,



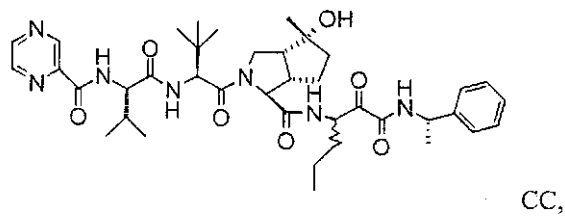
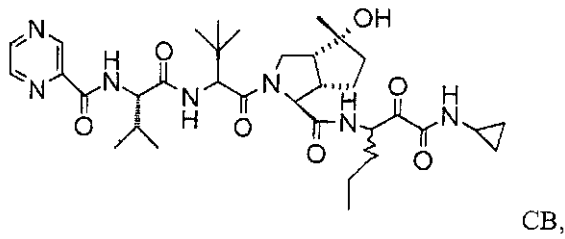
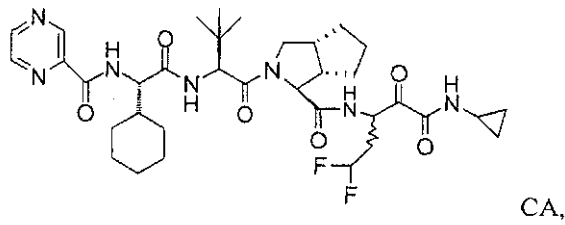
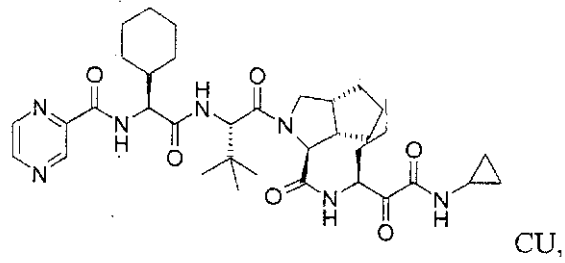
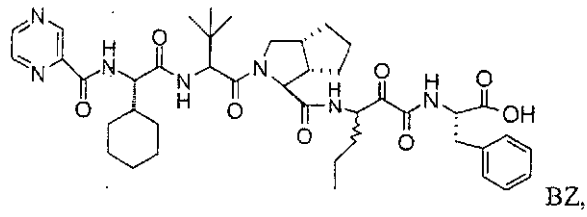
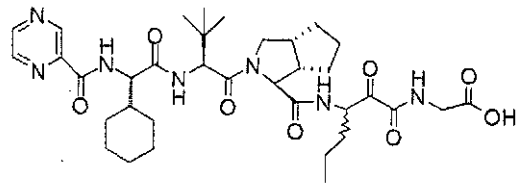
AJ,

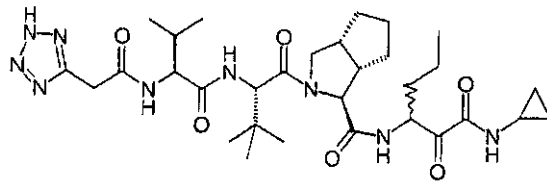


BV,

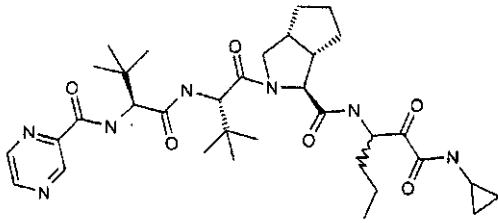


BX,

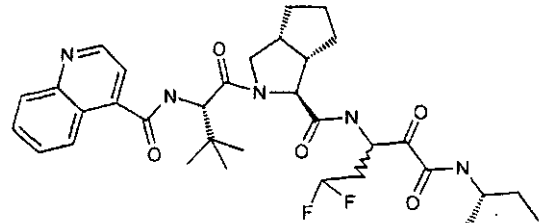




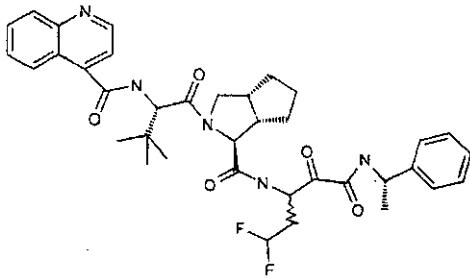
CD,



CE,

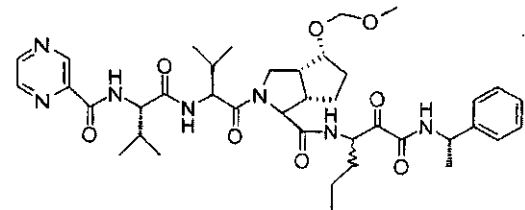


CF,

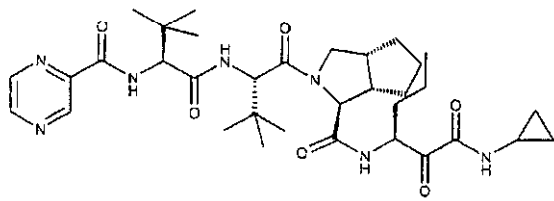


CH,

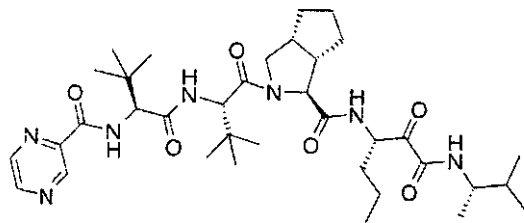
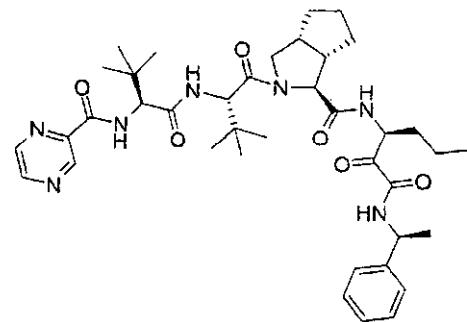
CG,



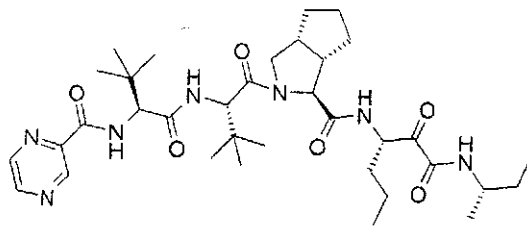
CJ,



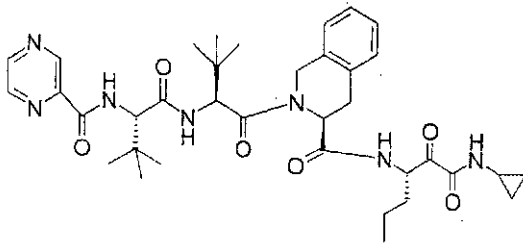
CI,



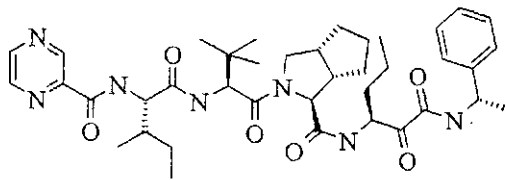
CK,



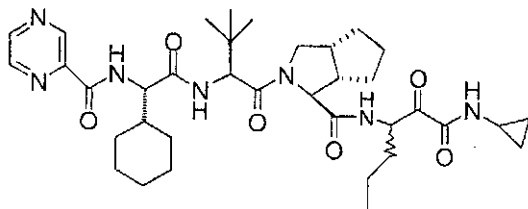
CL,



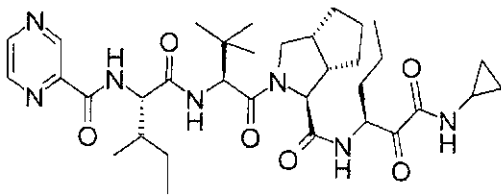
CM,



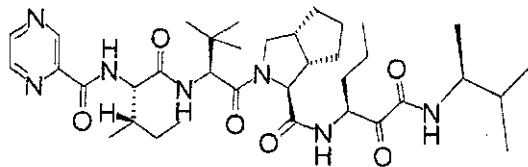
CN,



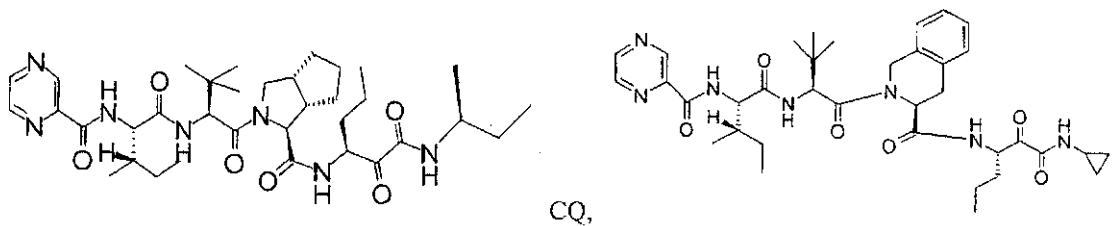
BW,



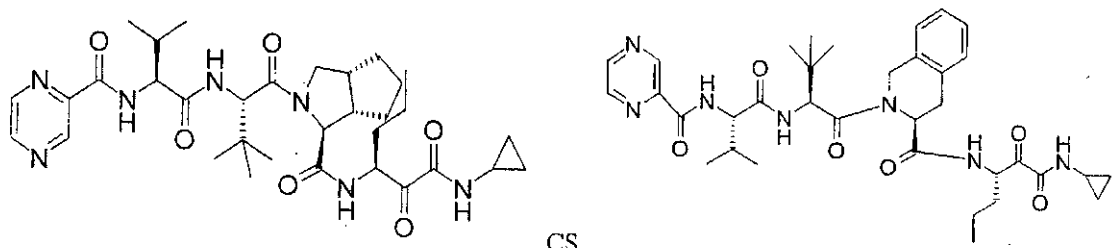
CO,



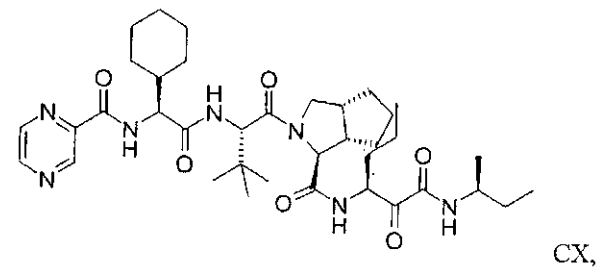
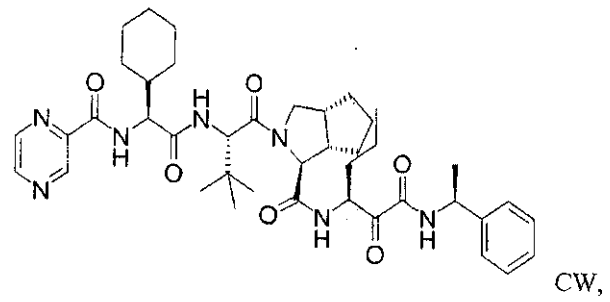
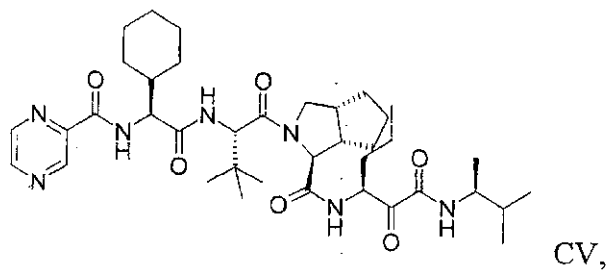
CP,

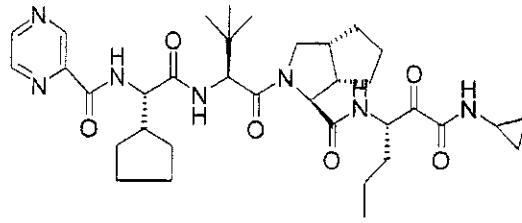


CR,

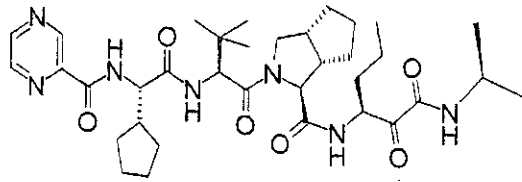


CT,

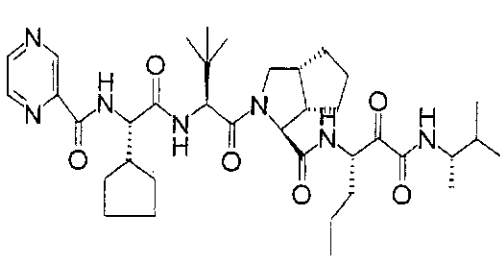




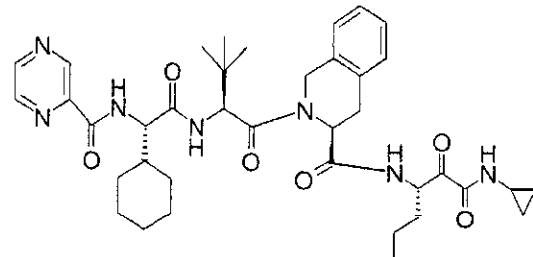
CY,



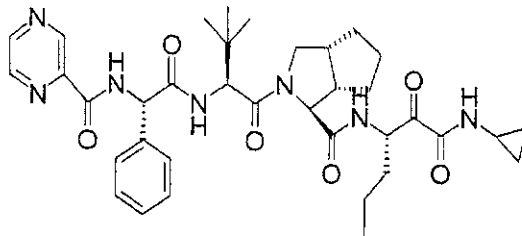
CZ,



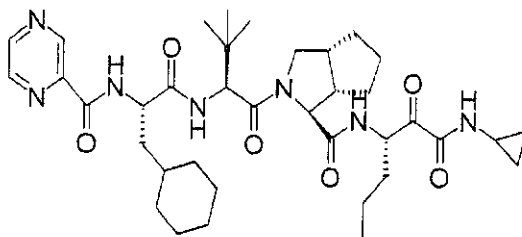
DB,



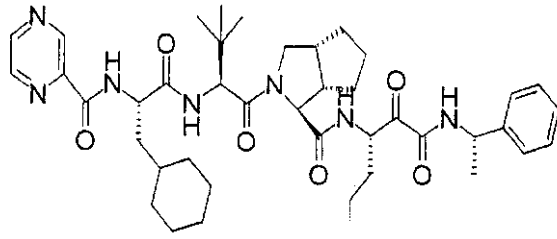
DA,



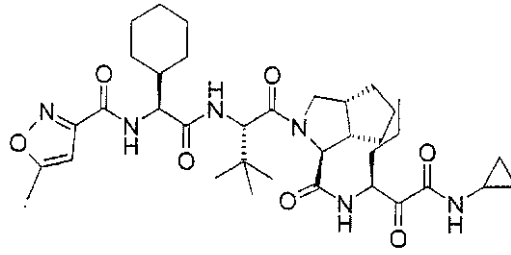
DC,



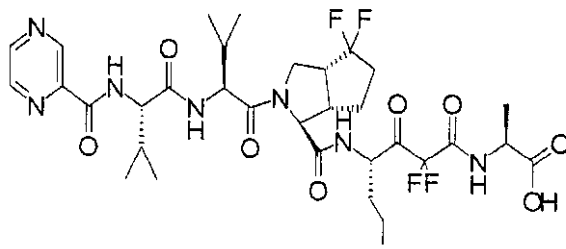
DD,



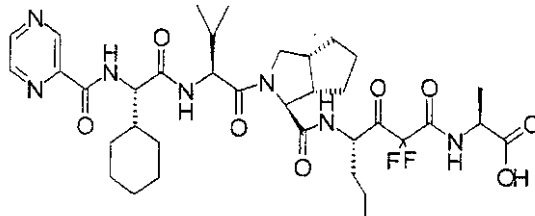
DE,



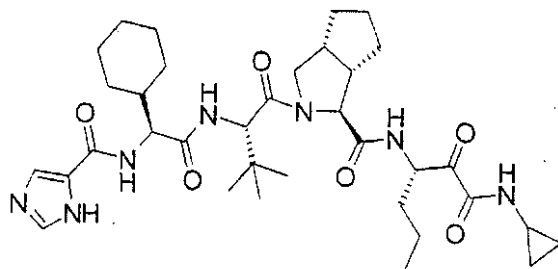
DF,



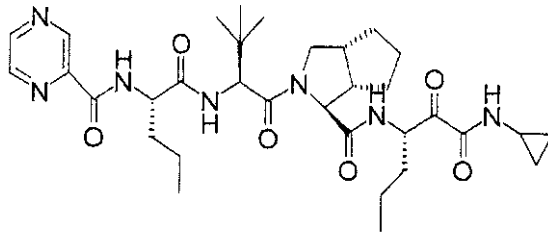
DR,



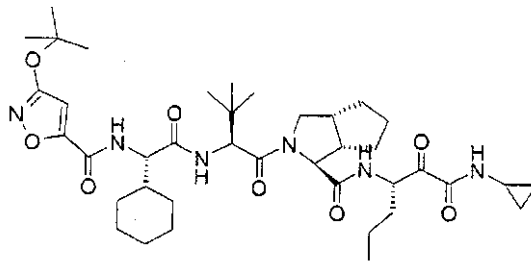
DS,



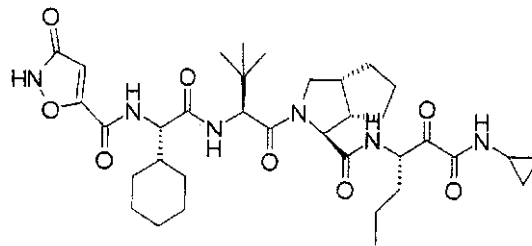
DT,



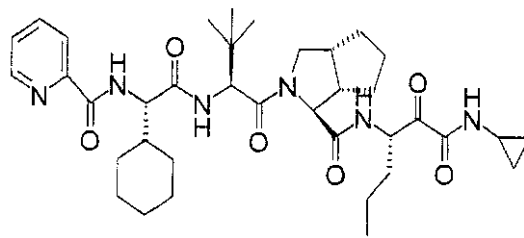
DU,



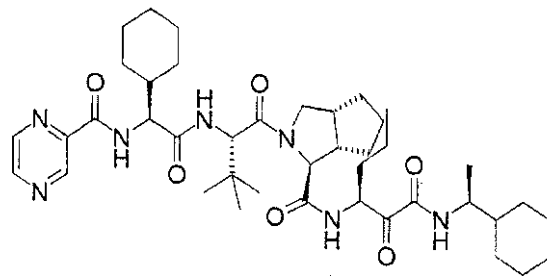
DV,



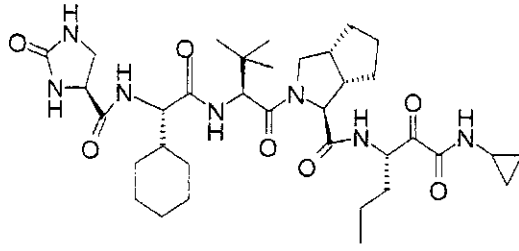
DW,



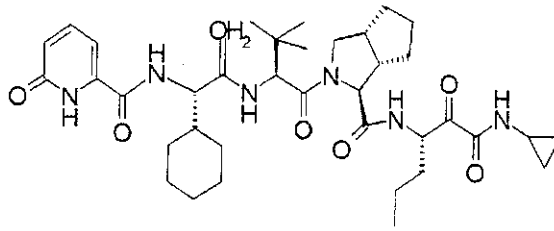
DX,



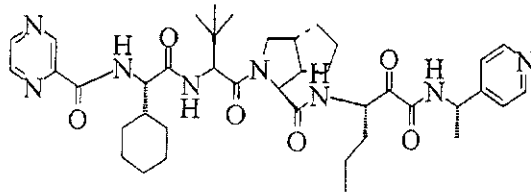
DY,



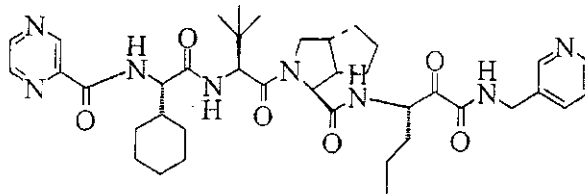
DZ,



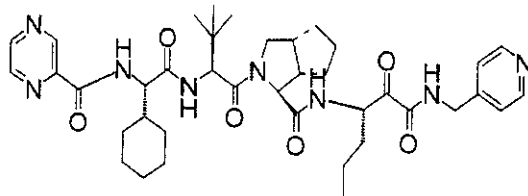
EA,



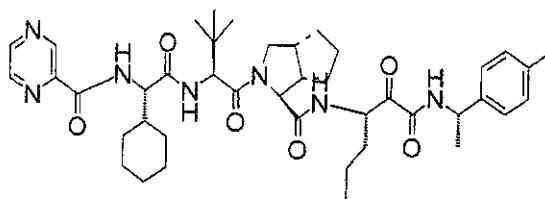
EJ,



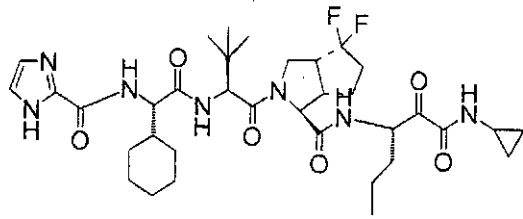
EK,



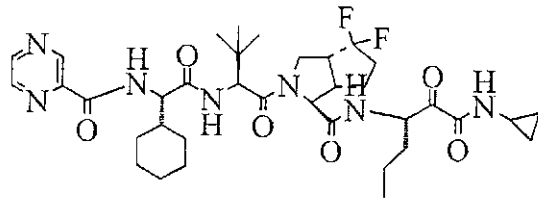
EL,



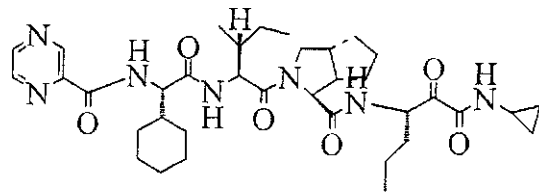
EM,



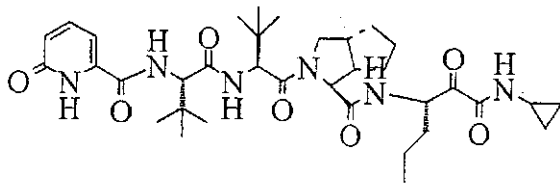
EN,



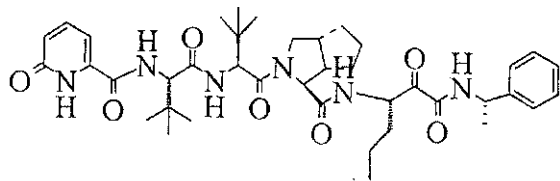
EO,



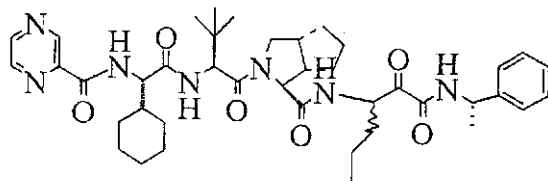
EP,



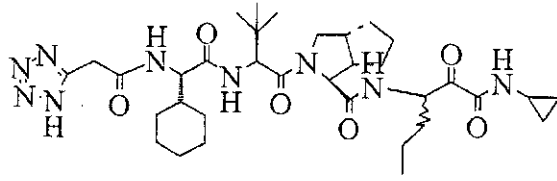
ES,



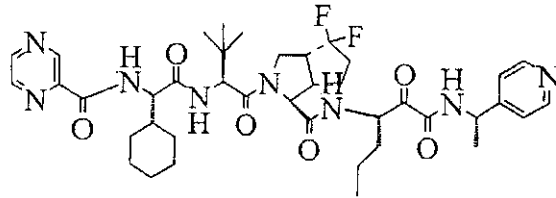
ET,



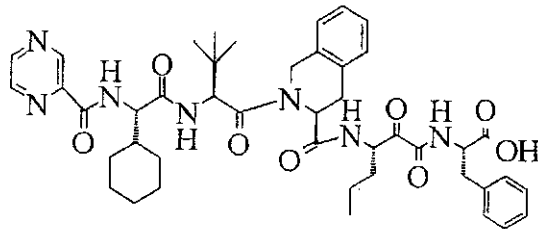
EU,



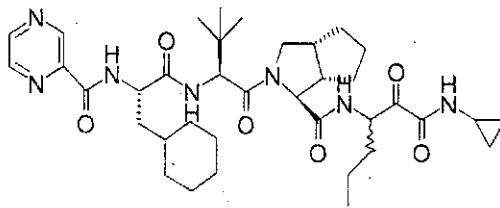
EV,



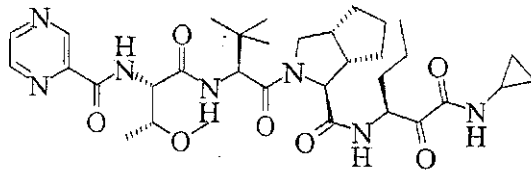
EZ,



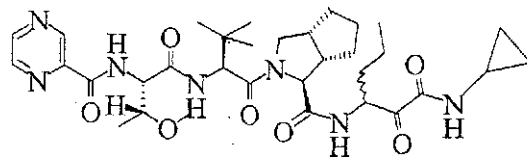
FA,



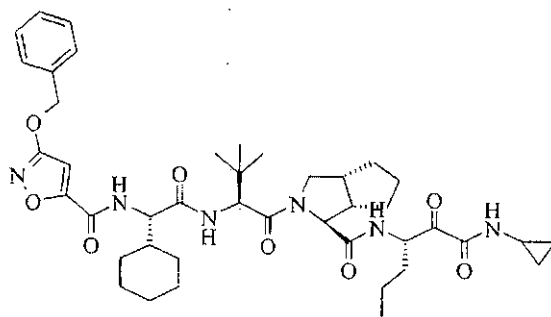
FB,



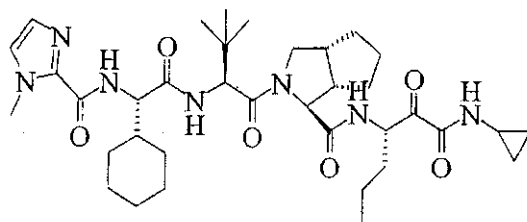
FC,



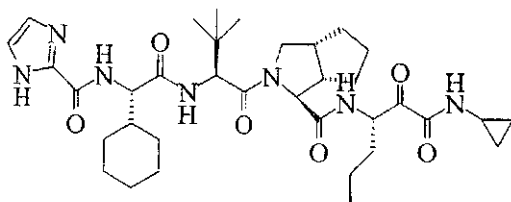
FD,



FE,

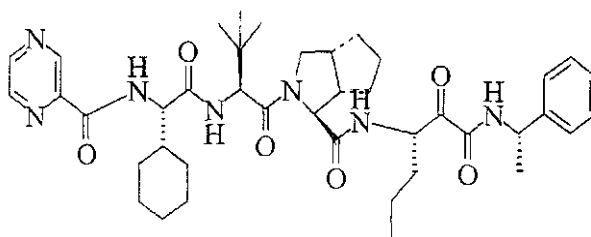


FF,



FG, ε

y



FH,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato de dicho compuesto, o su sal.

5 20. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que:

R⁰ es un enlace;

R¹ es hidrógeno;

R² es alquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático; o cicloalquilo inferior

10 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;

R³ y R⁵ son cada uno independientemente metileno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo

15 alifático;

R⁴, R⁶, R⁸ y R¹⁰ son hidrógeno;

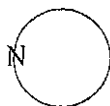
R⁷ es metileno sustituido con cicloalquilo, alquilo inferior o arilo; o (1,1- o 1,2-)cicloalqueno opcionalmente

sustituido con cicloalquilo, alquilo inferior o arilo;

R⁹ es alquilo inferior opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, heteroarilo

opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico, o heterocíclico opcionalmente sustituido con

1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;



es azaheterociclilo multicíclico opcionalmente sustituido, o azaheterociclenilo multicíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico; y L es -C(O)- o -OC(O)-.

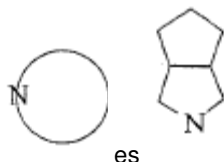
21. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que:

5 R^2 es alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático; o cicloalquilo C_5-C_6 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo cíclico;

R^3 y R^5 son cada uno independientemente un alquilmetileno C_1-C_4 , un alquenilmetileno C_2-C_4 , o un alquinilmetileno C_2-C_4 cada uno opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático;

10 R^7 es metileno sustituido con cicloalquilo, alquilo C_1-C_4 o arilo; o (1,1- o 1,2-)cicloalquenilo opcionalmente sustituido con cicloalquilo, alquilo C_1-C_4 o arilo;

R^9 es alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo alifático, heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo de anillo, o heterocíclico opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes de grupo de anillo;

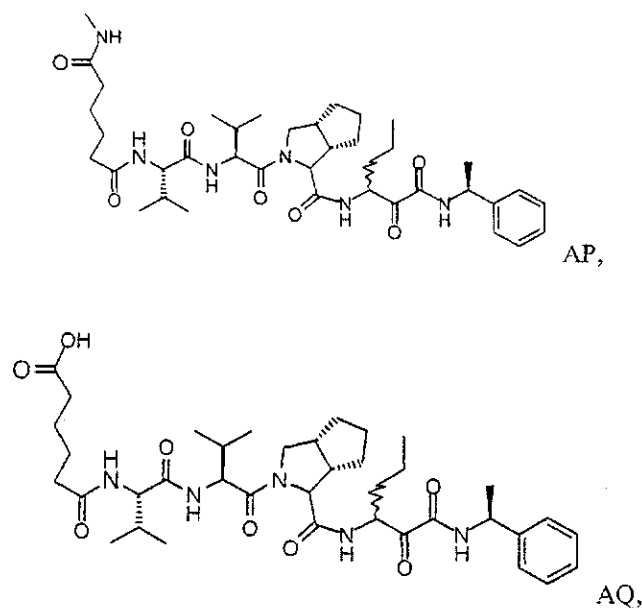


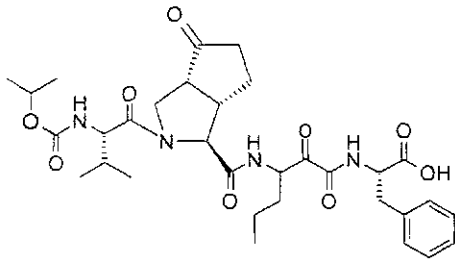
15 opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes de grupo de anillo.

22. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, o 20, en el que el grupo alifático opcionalmente sustituido, grupo cíclico opcionalmente sustituido o grupo aromático opcionalmente sustituido de R^9 está sustituido con al menos un sustituyentes heteroarilo y/o en el que el grupo aromático opcionalmente sustituido de R^9 es heteroarilo opcionalmente sustituido.

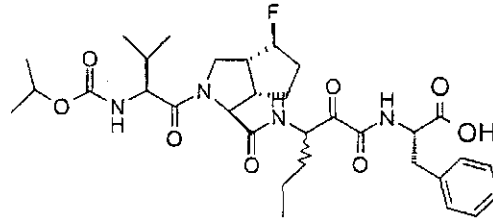
20 23. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que el grupo alifático opcionalmente sustituido de R^9 es alquilheteroarilo opcionalmente sustituido.

24. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en:

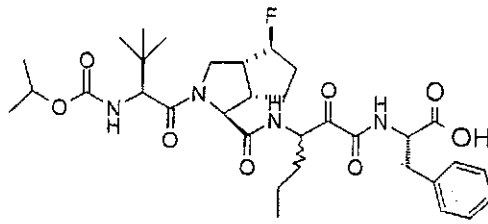




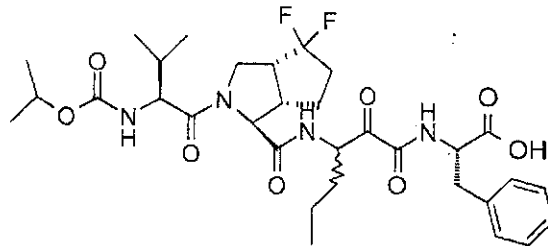
AR,



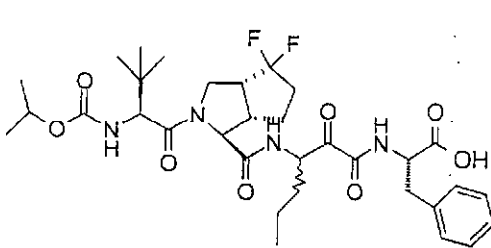
AS,



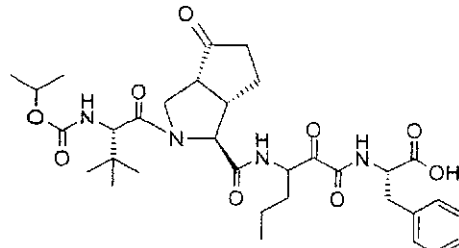
AT,



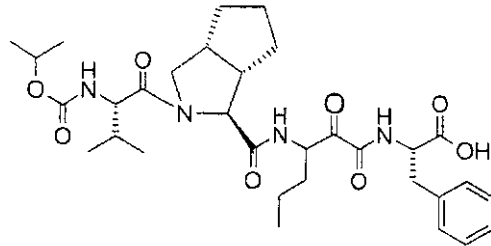
AU,



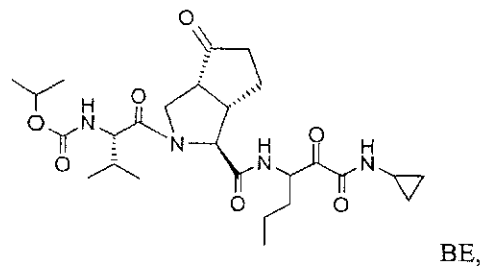
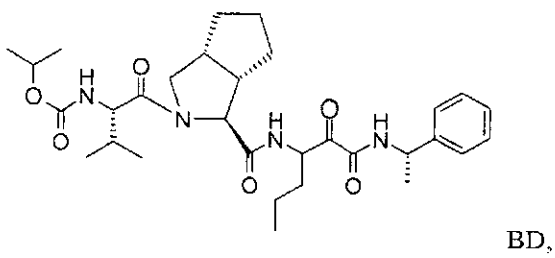
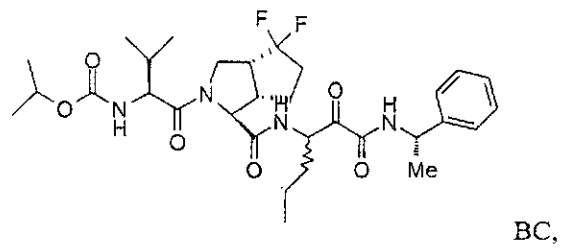
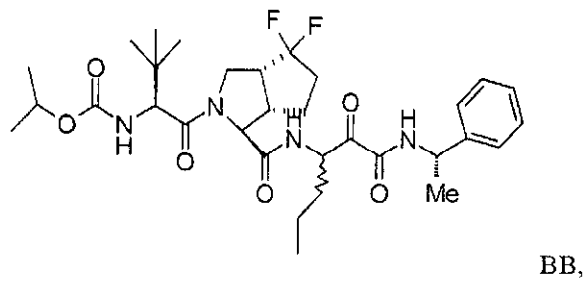
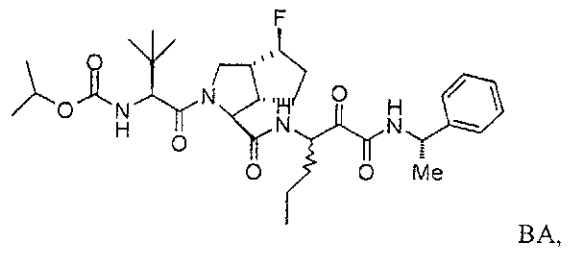
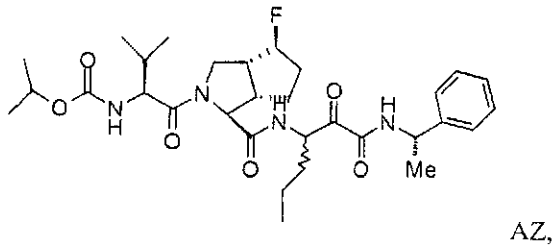
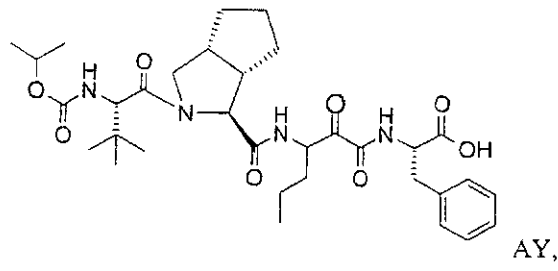
AV,

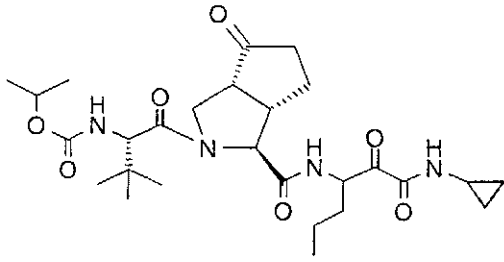


AW,

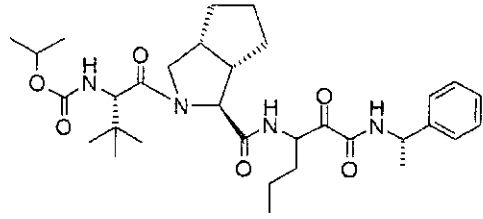


AX,

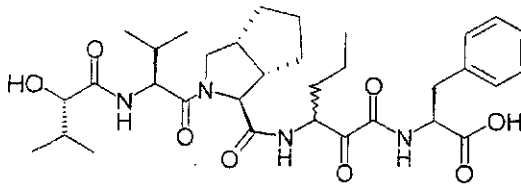




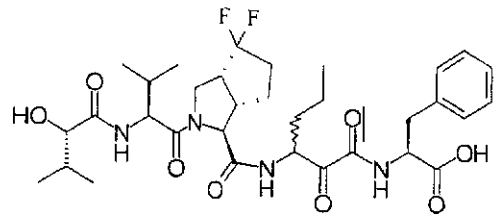
BF,



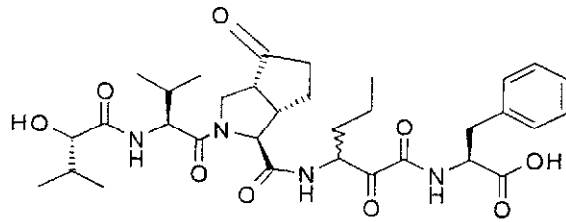
BG,



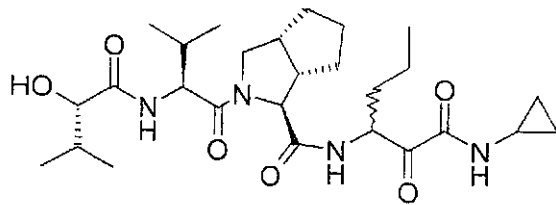
BK,



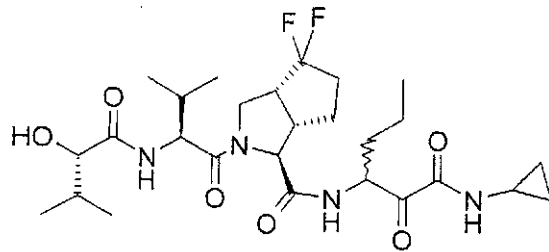
BL,



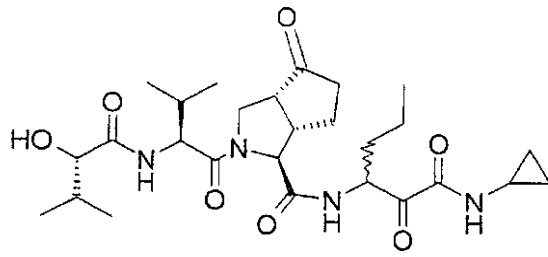
BM,



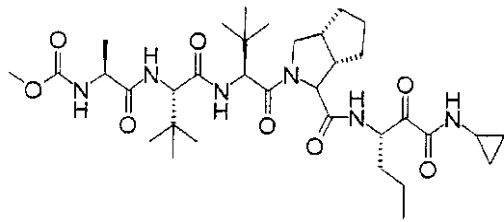
BP,



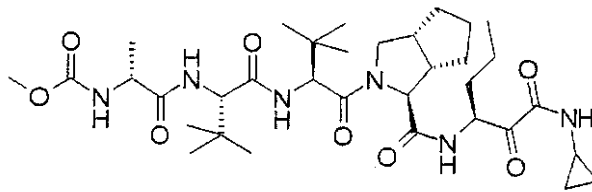
BQ,



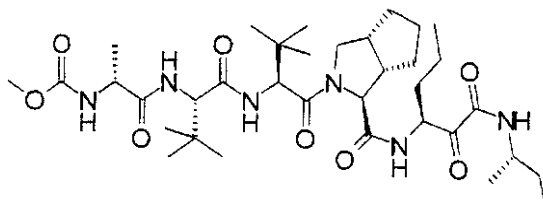
BR,



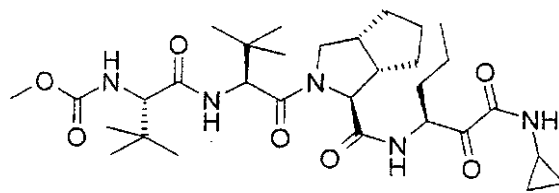
DG,



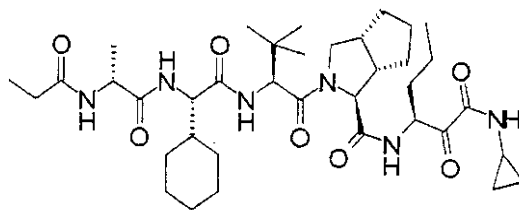
DH,



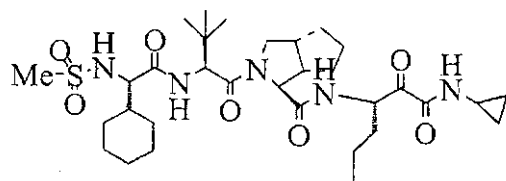
DI,



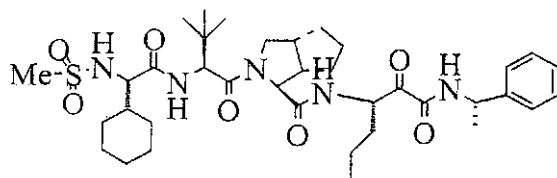
DJ,



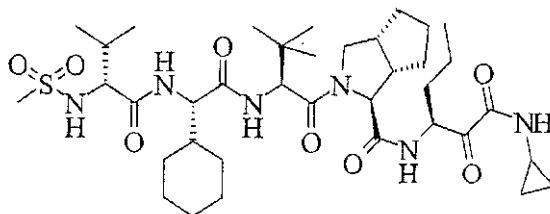
EB,



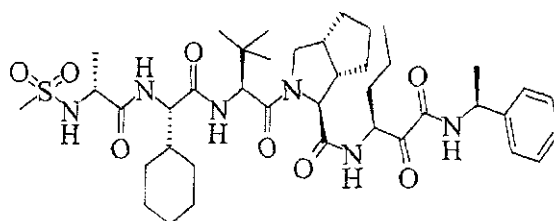
EQ,



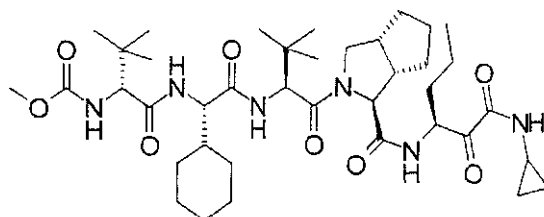
ER,



EW,



EX,



EY,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato de dicho compuesto, o su sal.

25. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente aceptable del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 26. La composición farmacéutica según la reivindicación 25 que además comprende un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C y/o un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de interferón,

10 27. La composición farmacéutica de la reivindicación 26, en la que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y/o dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina,

imiquimod, ribavirina, una inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

28. Uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 para la preparación de un medicamento para

- 5 (a) inhibir la proteasa de VHC,
 (b) tratar a un paciente que padece una infección por VHC o afecciones fisiológicas relacionadas con la
 infección,
 (c) el tratamiento o prevención de una infección por el virus de la hepatitis C en un paciente que lo necesite,
 o
 (d) inhibir la replicación del virus de la hepatitis C en una célula.

10 29. El uso de acuerdo con la reivindicación 28, en el que el compuesto se usa en combinación con una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de otro agente terapéutico anti VHC.

30. El uso de la reivindicación 29 en el que el agente terapéutico anti VHC es interferón o interferón derivatizado.

31. El uso de acuerdo con la reivindicación 28, en el que el compuesto se usa en combinación con un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C y/o en combinación con un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de interferón,

15 32. El uso de la reivindicación 31, en el que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y/o dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de
 20 inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

25 33. Un kit o paquete farmacéutico, que comprende una pluralidad de recipientes separados, en el que al menos uno de dichos recipientes contiene un inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 y, (a) al menos otro de dichos recipientes contiene un interferón que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, y/o (b) al menos otro de dichos recipientes contiene un compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C, en el que dicho compuesto es distinto de interferón,

30 34. El kit o el paquete farmacéutico de la reivindicación 33, en el que dicho inhibidor de la serín proteasa del virus de la hepatitis C, dicho interferón y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C están cada uno presentes en una cantidad seleccionada del grupo que consiste en una cantidad farmacéuticamente efectiva, una cantidad subclínica farmacéuticamente efectiva y una combinación de las mismas, y, opcionalmente, en la que dicho interferón se selecciona del grupo que consiste en interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, Interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón de linfoblastoide, e interferón tau; y dicho compuesto que tiene actividad anti virus de la hepatitis C se selecciona del grupo que consiste en interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de respuesta de un tipo de linfocitos T colaboradores, ARN bicatenario, ARN bicatenario en complejo con tobramicina, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

Figura 1

Tratamiento de combinación con interferón alfa 2B y Compuesto CU

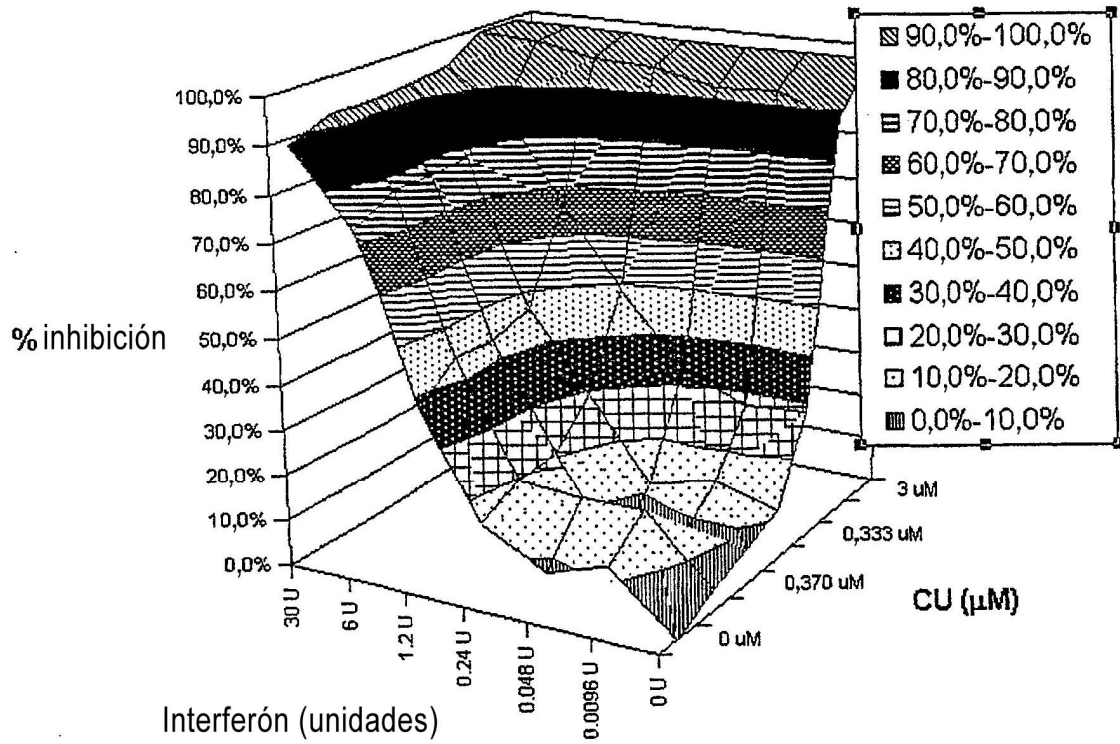


Fig 2.

Isobolas al 50% de control

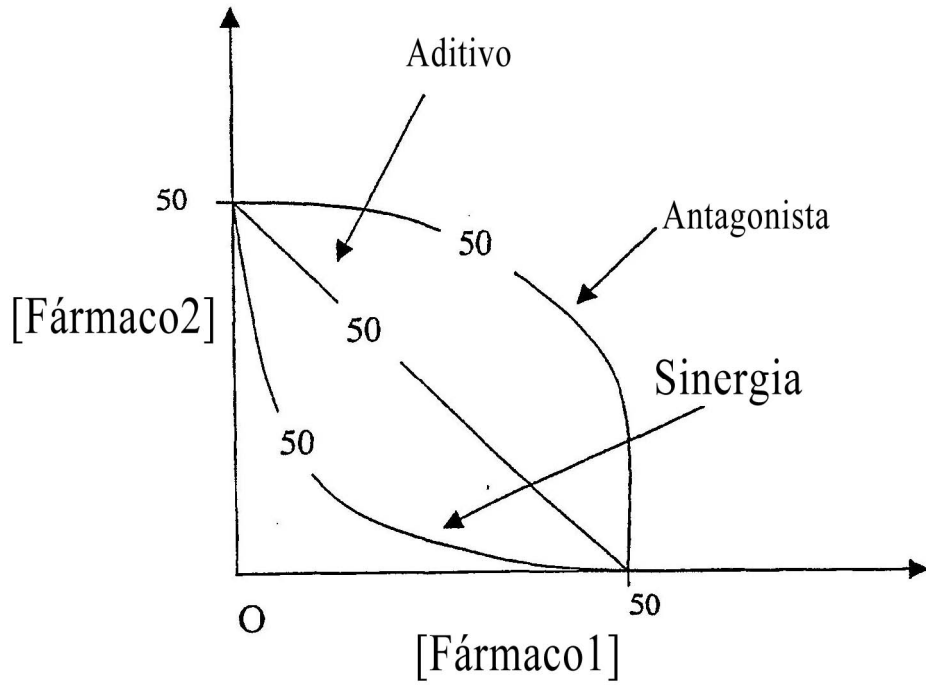


Fig. 3.

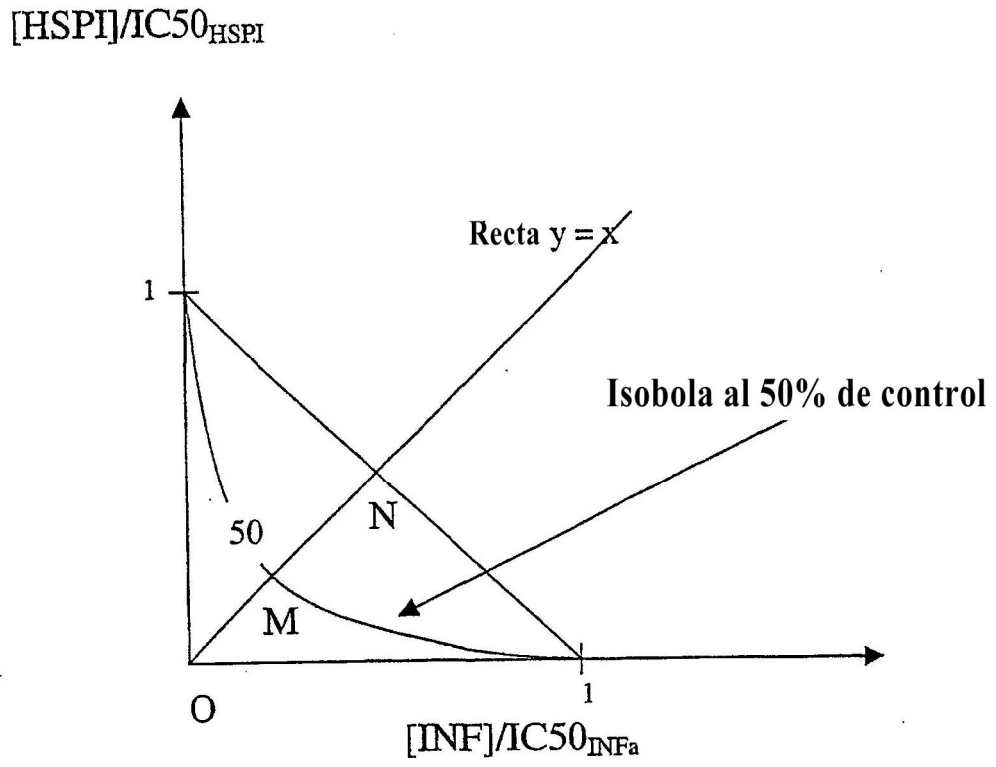


Fig. 4.

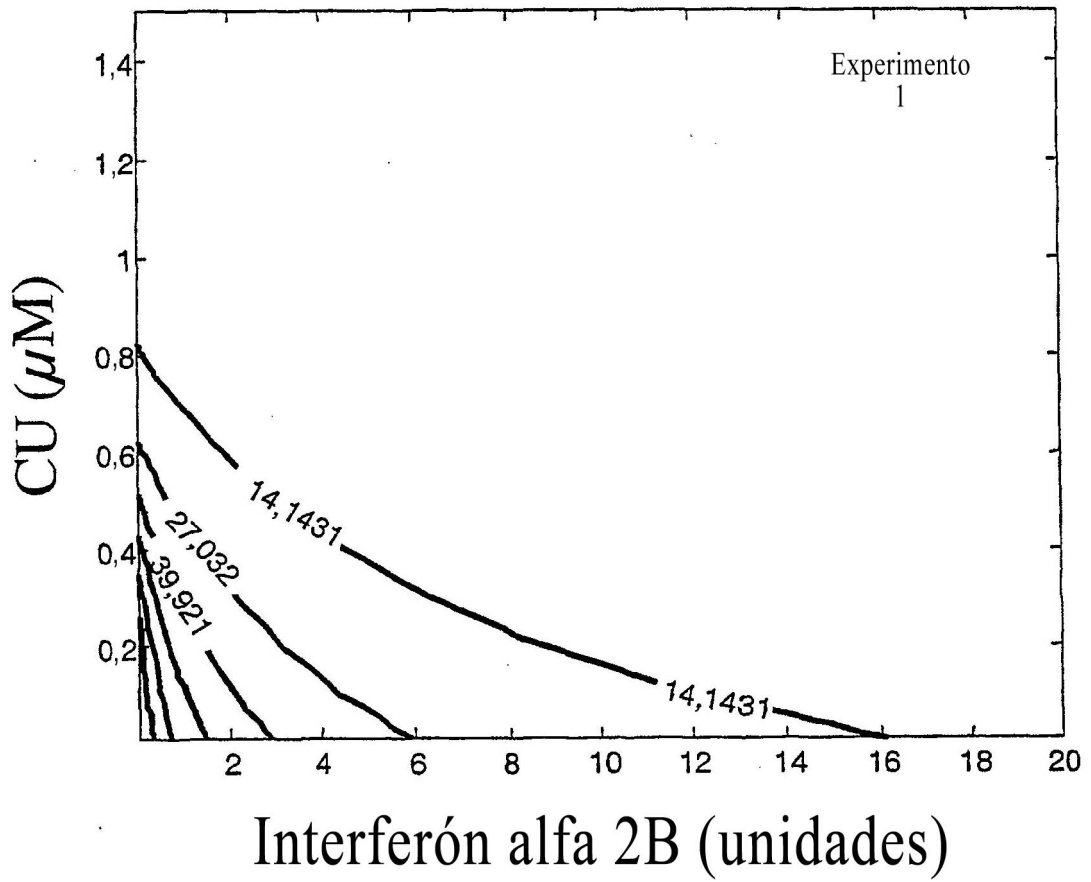


Fig. 5

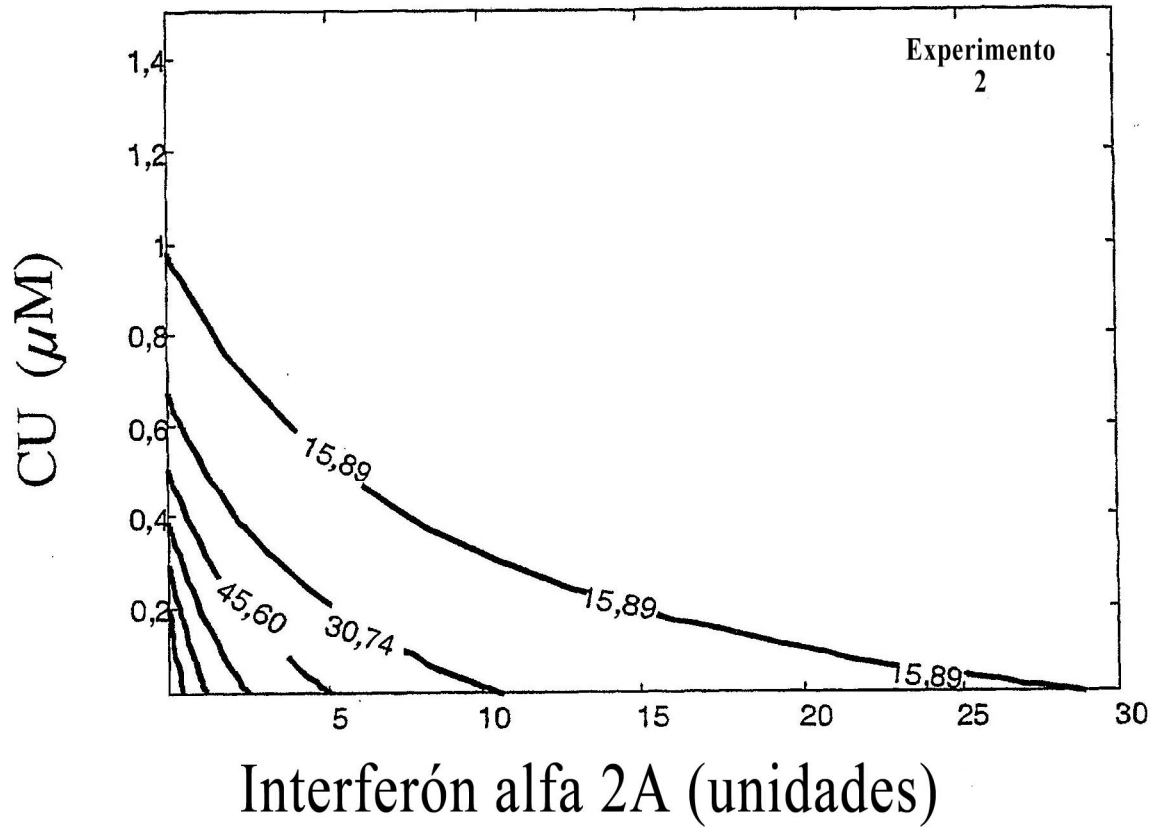


Fig. 7

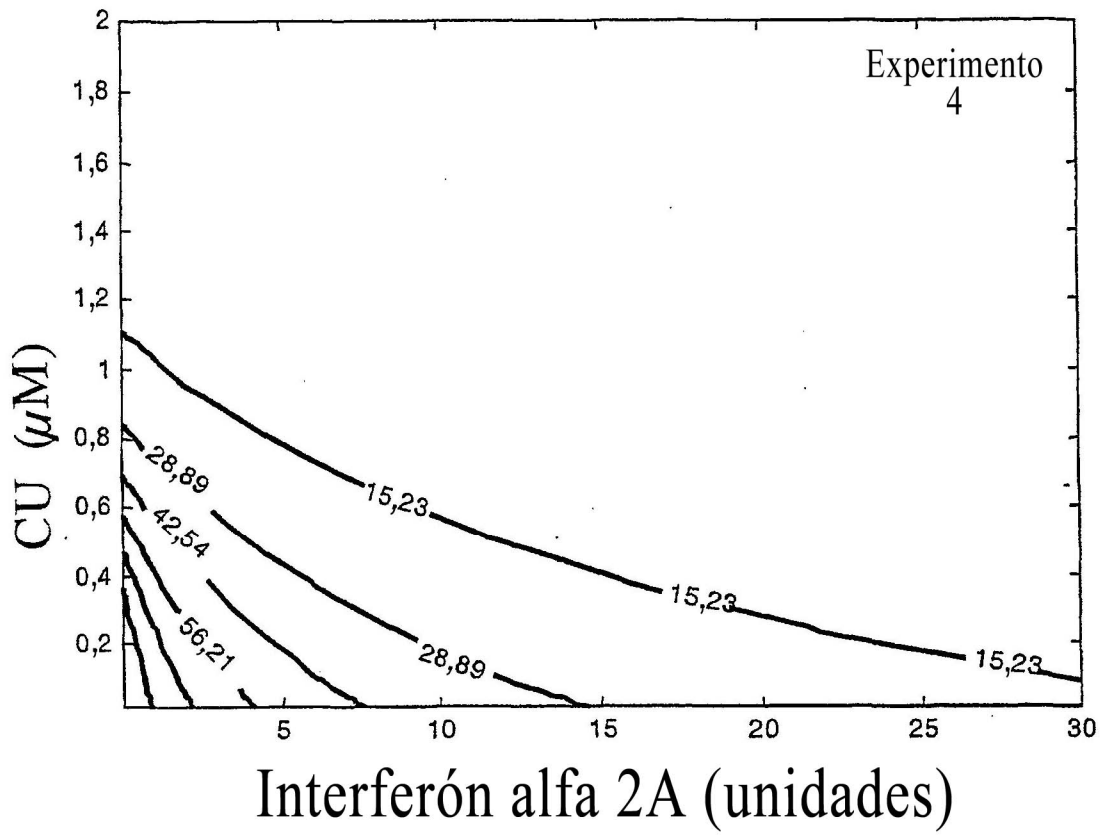


Fig. 8.

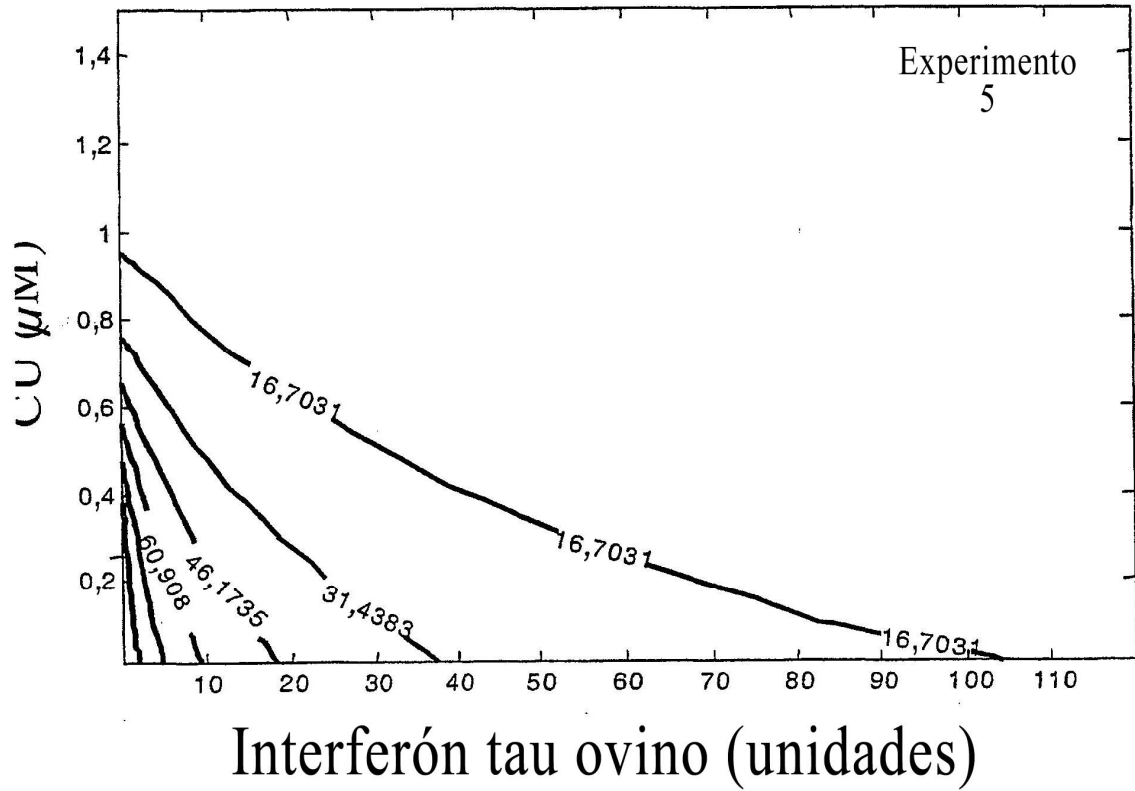


Fig 9.

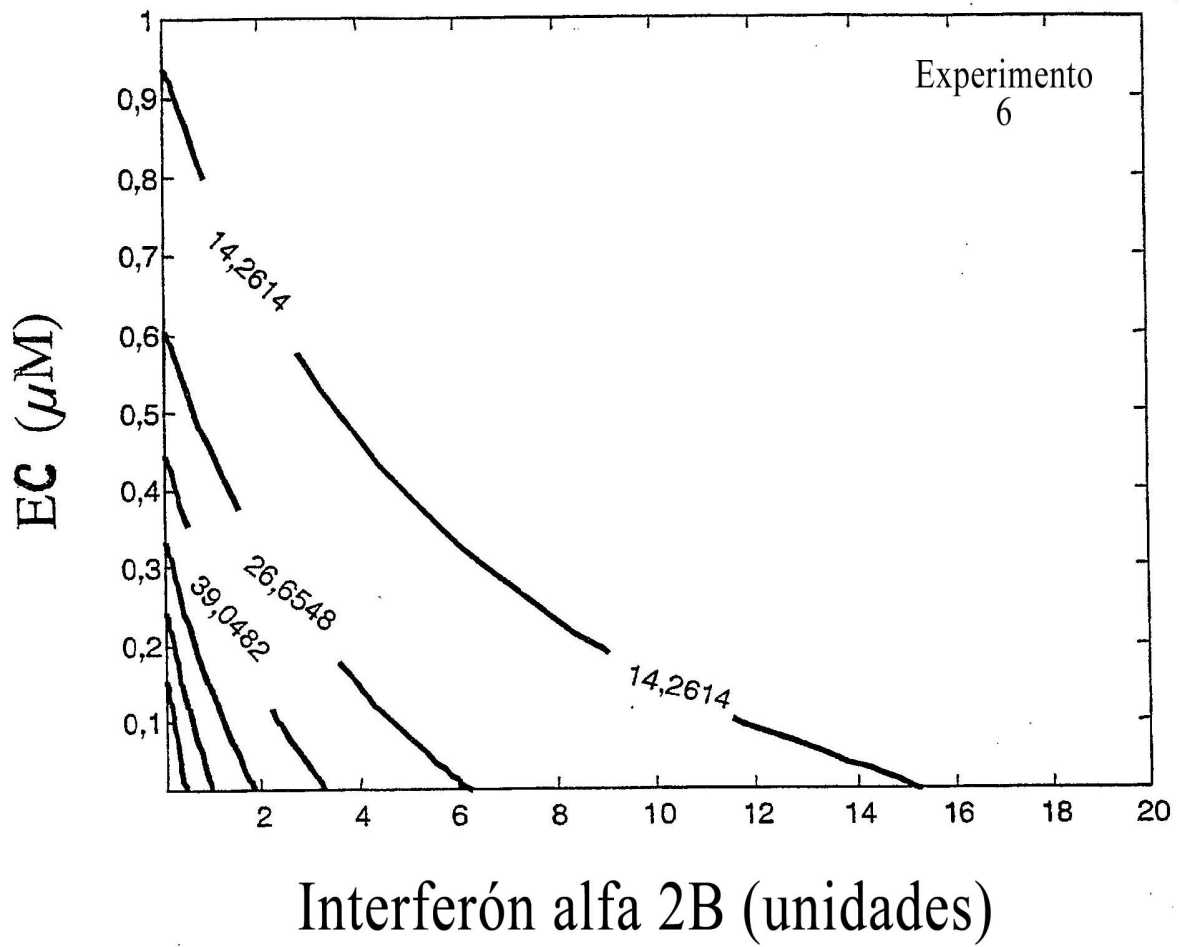


Fig. 10.

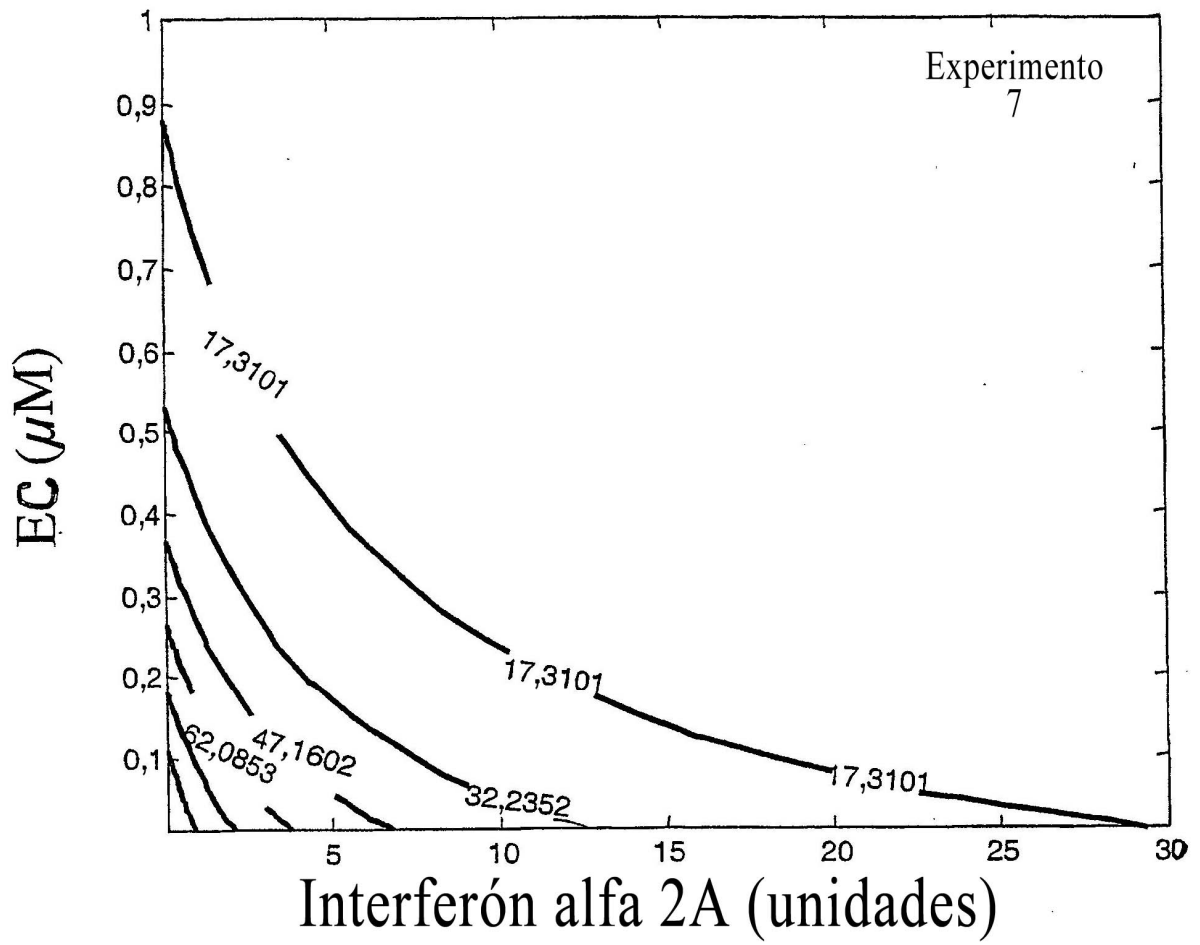


Fig 11.

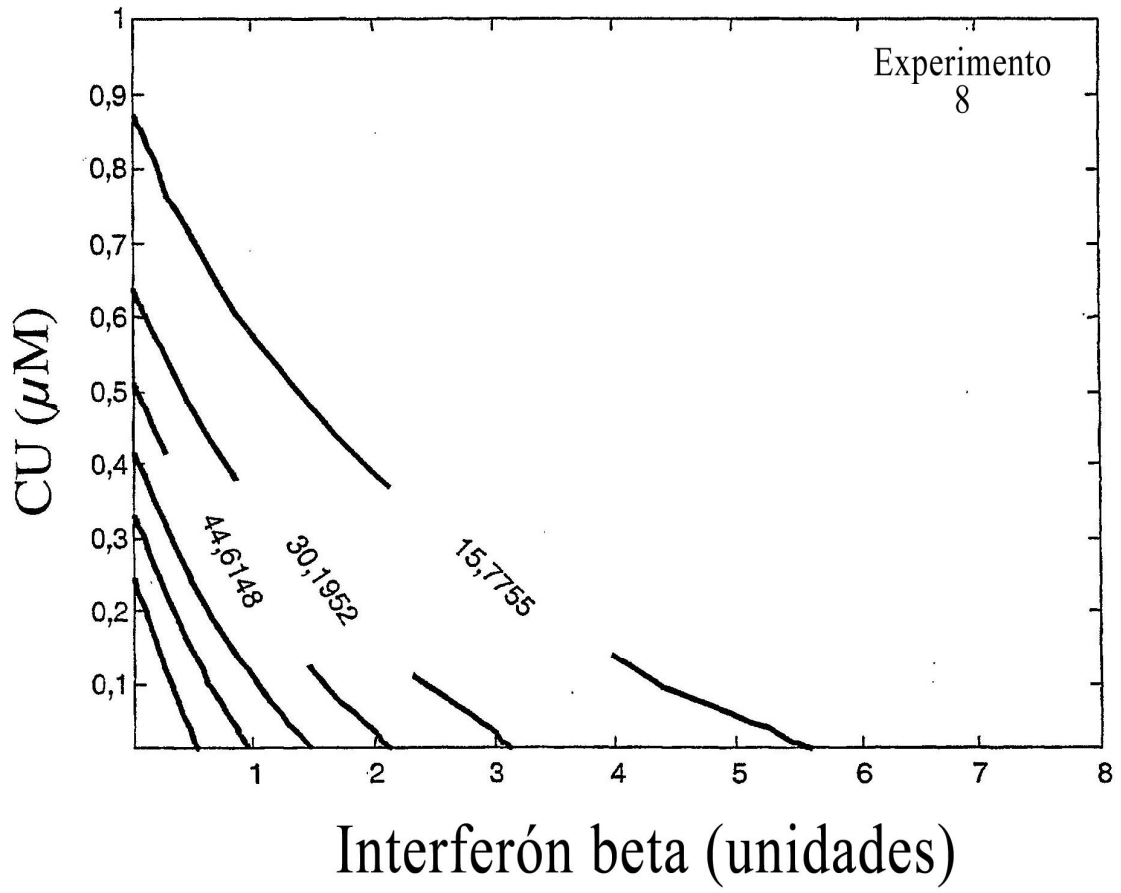


Fig. 12.

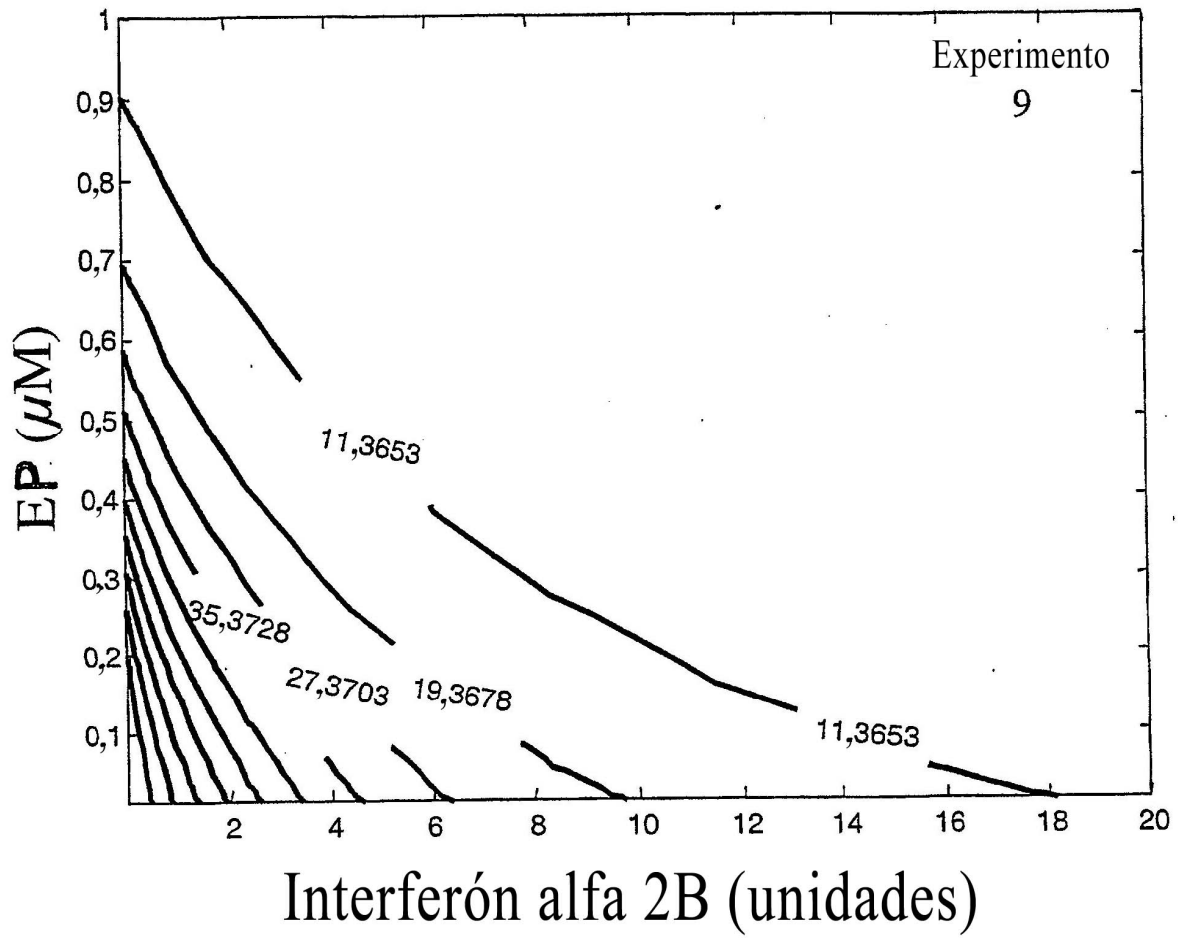


Fig 13.

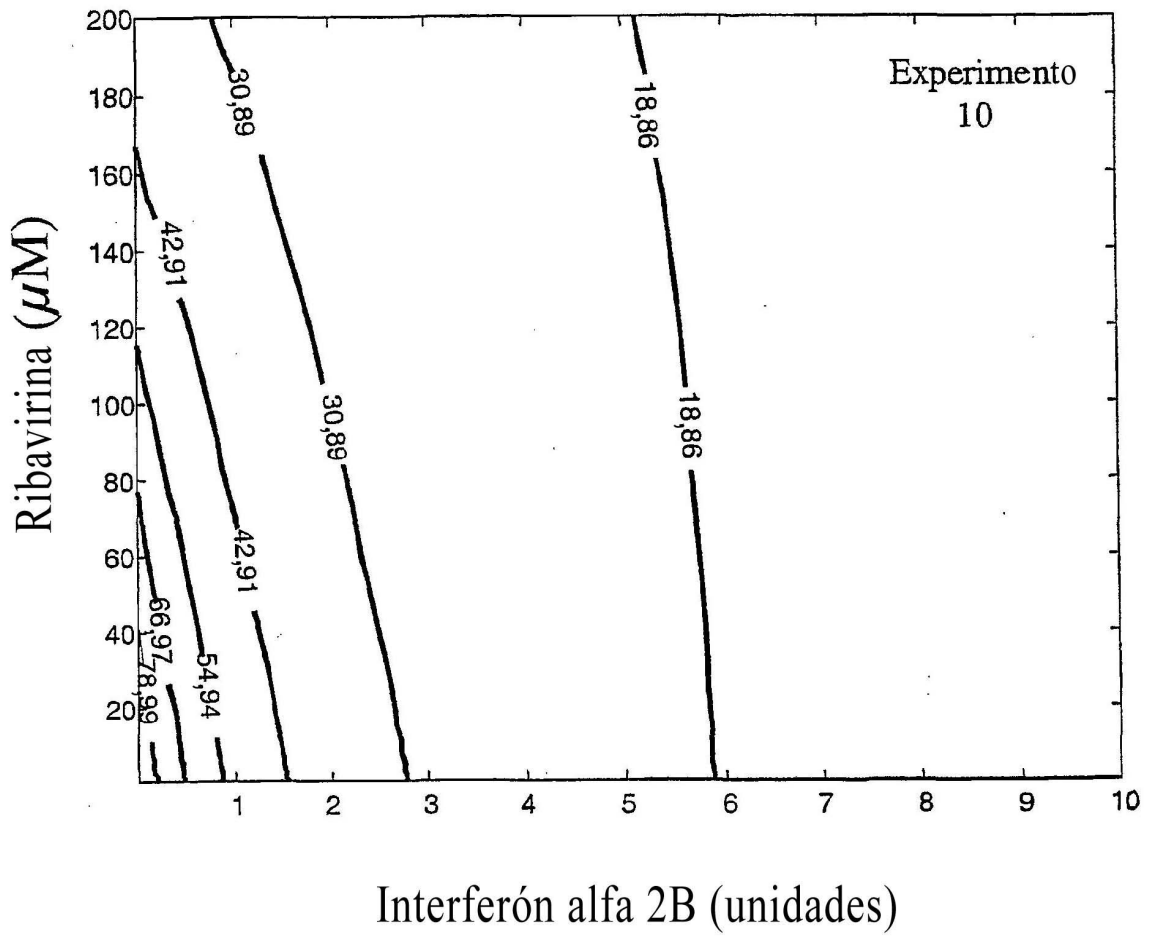
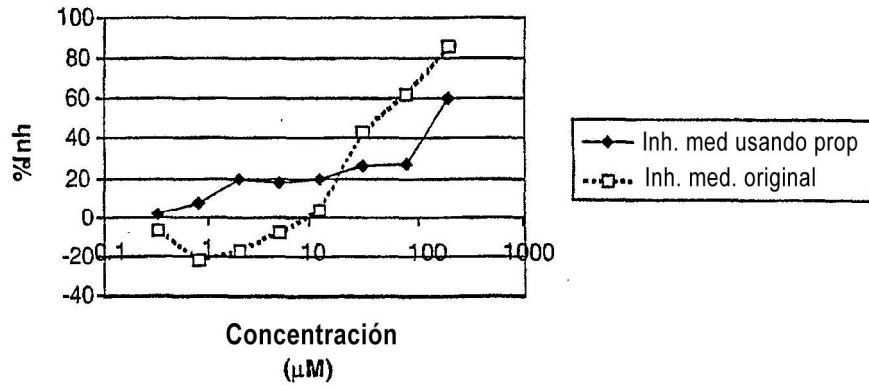


Fig. 14

A Ribavirina sola



B Interferón alfa 2B solo

