

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 527 166**

(51) Int. Cl.:

**C07D 403/14** (2006.01)  
**C07D 403/12** (2006.01)  
**C07D 417/14** (2006.01)  
**C07K 5/06** (2006.01)  
**A61K 38/05** (2006.01)  
**A61P 31/12** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2009 E 09832541 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.10.2014 EP 2364309**

(54) Título: **Nuevos péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo como inhibidores de la replicación viral**

(30) Prioridad:

**10.12.2008 US 121378 P**  
**17.07.2009 US 226317 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.01.2015**

(73) Titular/es:

**ACHILLION PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**300 George Street**  
**New Haven, CT 06511, US**

(72) Inventor/es:

**PHADKE, AVINASH;**  
**CHEN, DAEWEI;**  
**GADHACHANDA, VENKAT;**  
**HASHIMOTO, AKIHIRO;**  
**PAIS, GODWIN;**  
**WANG, XIANGZHU;**  
**AGARWAL, ATUL;**  
**KIM, HA YOUNG;**  
**LI, SHOUMING;**  
**LIU, CUIXIAN;**  
**ZHANG, SUOMING y**  
**DESHPANDE, MILIND**

(74) Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

### Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 527 166 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

Nuevos péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo como inhibidores de la replicación viral

5 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo, útiles como agentes antivirales. Determinados péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo desvelados en el presente documento son inhibidores potentes y/o selectivos de la replicación viral, en particular la replicación del virus de la Hepatitis C. La invención también 10 proporciona composiciones farmacéuticas que contienen uno o más péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Tales composiciones farmacéuticas pueden contener un péptido de 4-amino-4-oxobutanoílo como el único agente activo o pueden contener una combinación de un péptido de 4-amino-4-oxobutanoílo y uno u otros agentes farmacéuticamente activos más. Los compuestos de la presente invención son útiles en métodos para tratar infecciones virales, incluyendo infecciones por Hepatitis C.

15 **Antecedentes**

Se estima que un 3 % de la población mundial está infectada con el virus de la hepatitis C. de las personas expuestas al VHC, de un 80 % a un 85 % se llegan a infectar crónicamente, al menos un 30 % desarrolla cirrosis 20 hepática y un 1-4 % desarrolla carcinoma hepatocelular. El Virus de la Hepatitis C (VHC) es una de las causas más frecuentes de enfermedad hepática crónica en Estados Unidos, que según se informa representa aproximadamente un 15 por ciento de la hepatitis vírica aguda, de un 60 a un 70 por ciento de hepatitis crónica, y hasta un 50 por ciento de cirrosis, enfermedad hepática terminal, y cáncer de hígado. La infección por VHC crónica es la causa más 25 común de transplante de hígado en Estados Unidos, Australia, y la mayor parte de Europa. La hepatitis C causa una cantidad estimada de 10.000 a 12.000 muertes al año en Estados Unidos. Aunque la fase aguda de la infección por VHC normalmente se asocia con síntomas leves, algunas evidencias sugieren que solo de aproximadamente un 15 % a un 20 % de las personas infectadas eliminarán de forma espontánea el VHC.

30 El VHC es un virus de ARN monocatenario, envuelto que contiene un genoma de hebra positiva de aproximadamente 9,6 kb. El VHC se clasifica como miembro del género Hepacivirus de la familia Flaviviridae. Se han caracterizado al menos 4 cepas de VHC, GT-1 - GT-4.

35 El ciclo vital del VHC incluye entrada en células huésped; traducción del genoma del VHC, procesamiento de poliproteínas, y ensamblaje del complejo de replicasas; replicación del ARN, y ensamblaje de viriones y liberación. La traducción del genoma del VHC proporciona una poliproteína de más de 3000 aminoácidos de longitud que se procesa por al menos dos proteasas celulares y todos virales. La poliproteína del VHC:



40 Se ha informado que la peptidasa de señal celular y la peptidasa de péptido señal son responsables de la escisión del tercio N-terminal de la poliproteína (C-E1-E2-p7) de las proteínas no estructurales (NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B). La proteasa NS2-NS3 media una primera escisión cis en el sitio NS2-NS3. A continuación, la proteasa NS3-NS4A media una segunda escisión cis en la unión NS3-NS4A. A continuación, el complejo NS3-NS4A se escinde en 45 tres sitios corriente abajo para separar las proteínas no estructurales restantes. Se afirma que el procesamiento preciso de la poliproteína es esencial para formar un complejo de replicasa del VHC activo.

50 Una vez que la poliproteína se ha escindido, el complejo de replicasa que comprende al menos las proteínas no estructurales NS3-NS5B se ensambla. El complejo de replicasa es citoplasmático y está asociado a la membrana. Las actividades en clínicas principales en el complejo de replicasa incluyen actividad de serina proteasa y actividad de NTPasa helicasa en NS3, y actividad de polimerasa del ARN dependiente del ARN de NS5B. En el 55 proceso de replicación del ARN, se produce una copia de hebra negativa complementaria del ARN genómico. La copia de la hebra negativa se usa como un molde para sintetizar ARN genómicos adicionales de hebra positiva que pueden participar en la traducción, replicación, compactación, o cualquier combinación de las mismas para producir virus de progenie. El ensamblaje de un complejo de replicasa funcional se ha descrito como un componente del mecanismo de replicación del VHC. La solicitud provisional Nº 60/669.872 "Pharmaceutical Compositions and Methods of Inhibiting HCV Replication" presentada el 11 de abril de 2005, se incorpora por la presente por referencia en su totalidad para su divulgación relacionada con el ensamblaje del complejo de replicasa.

60 El tratamiento actual de la infección por hepatitis C por lo general incluye la administración de un interferón, tal como interferón pegilado (IFN), en combinación con ribavirina. El éxito de las terapias actuales tal como se mide mediante la respuesta virológica sostenida (SVR) depende de la cepa de

65 VHC con la que está infectado el paciente y la adhesión del paciente al régimen de tratamiento. Solamente un 50 % de los pacientes infectados con la cepa GT-1 del VHC presentan una respuesta virológica sostenida. Los agentes antivirales de acción directa tales como ACH-806, VX-950 y NM 283 (profármaco de NM 107) están en desarrollo clínico para el tratamiento del VHC crónico. El documento de patente WO 2008008502 desvela derivados de

péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo como inhibidores de la replicación viral. Debido a la falta de terapias eficaces para el tratamiento de determinadas cepas del VHC y la tasa de mutación elevada del VHC, se necesitan nuevas terapias. La presente invención satisface esta necesidad y proporciona ventajas adicionales, que se describen en el presente documento.

5

## Sumario de la invención

La invención proporciona compuestos tal como se detalla en la Reivindicación 1. También se refiere a 10 composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de estos compuestos junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos son útiles en el tratamiento de la infección por Hepatitis C.

Cualquier materia objetivo descrita en el siguiente análisis que no entra dentro del alcance de las reivindicaciones se 15 proporciona como información de antecedentes.

15

## Descripción detallada de la invención

### DESCRIPCIÓN Y TERMINOLOGÍA QUÍMICA

20 Antes de establecer la invención en detalle, puede ser útil proporcionar definiciones de determinados términos a usar en el presente documento. Los compuestos de la presente invención se describen usando nomenclatura convencional. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado tal como lo entiende normalmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. A menos que el contexto lo contraindique claramente, cada nombre del compuesto 25 incluye la forma del ácido libre o la base libre del compuesto así como hidratos del compuesto y todas las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto.

La expresión "péptidos de 4-amino-4-oxobutanoílo" incluye todos los compuestos de la presente invención 30 incluyendo cualquier enantiómero, racemato y estereoisómero, así como todas las sales farmacéuticamente aceptables de tales compuestos. La expresión "un compuesto de Fórmula I" incluye todos los grupos subgenéricos de Fórmula I incluyendo la Fórmula IA, y la Fórmula II y III así como todas las formas de tales compuestos, incluyendo sales e hidratos, a menos que lo contraindique claramente el contexto en el que se usa está.

35 Los términos "un" y "uno" no indican una limitación de cantidad, pero en su lugar indican la presencia de al menos uno de los artículos mencionados. El término "o" significa "y/o". Las expresiones "que comprende", "que tiene", "que incluye", y "que contiene" se deben interpretar como expresiones de extremos abiertos (es decir, que significan "que incluye, pero no se limita"). La lectura de intervalos de valores pretende simplemente servir como un método abreviado para hacer referencia individualmente a cada valor separado que entra dentro del intervalo, a menos que se indique de otro modo en el presente documento, y cada valor separado se incorpora en la memoria descriptiva 40 como si siguiera hubiera mencionado individualmente en el presente documento. Los puntos finales de todos los intervalos están incluidos dentro del intervalo y se pueden combinar independientemente. Todos los métodos que se describen en el presente documento se pueden realizar en un orden adecuado a menos que se indique de otro modo en el presente documento o el contexto lo contradiga claramente de otro modo. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o expresiones a modo de ejemplo (por ejemplo, "tal como"), simplemente pretende ilustrar mejor la 45 invención y no supone una limitación para el alcance de la invención a menos que se reivindique de otro modo. Ninguna expresión en la memoria descriptiva se debería interpretar como indicativa de un elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención tal como se usa en el presente documento. A menos que se defina de otro modo, los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado tal como lo entiende normalmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

50

50 Un "agente activo" se refiere a un compuesto (incluyendo un compuesto de la invención), elemento, o mezcla que cuando se administra a un paciente, solo o en combinación con otro compuesto, elemento, o mezcla, confiere, directa o indirectamente, un efecto fisiológico al paciente. El efecto fisiológico indirecto se puede producir a través de un metabolito u otro mecanismo indirecto. Cuando el agente activo es un compuesto, entonces están incluidos sales, 55 solvatos (incluyendo hidratos) del compuesto libre, formas cristalinas, formas no cristalinas, y cualquier polimorfo del compuesto. Los compuestos pueden contener uno o más elementos asimétricos tales como centros estereogénicos, ejes estereogénicos y similares, por ejemplo, átomos de carbono asimétricos, de modo que los compuestos pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas. Estos compuestos pueden ser, por ejemplo, racematos o formas ópticamente activas. Para compuestos con dos o más elementos asimétricos, estos compuestos pueden ser 60 adicionalmente mezclas de diastereómeros. Para compuestos que tienen centros asimétricos, se incluyen todos los isómeros ópticos en forma pura y mezclas de los mismos. Además, los compuestos con dobles enlaces carbono-carbono se pueden presentar en las formas Z y E, con todas las formas isoméricas de los compuestos. En estas situaciones, los enantiómeros individuales, es decir, formas ópticamente activas se pueden obtener por síntesis asimétrica, síntesis a partir de precursores ópticamente puros, o por resolución de los racematos. La resolución de 65 los racematos también se puede conseguir, por ejemplo, con métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo una columna de HPLC quiral. En el

presente documento se contemplan todas las formas independientemente de los métodos usados para obtenerlas.

Una "forma de dosificación" se refiere a una unidad de administración de un agente activo. Ejemplos de formas de dosificación incluyen comprimidos, cápsulas, inyecciones, suspensiones, líquidos, emulsiones, cremas, pomadas, supositorios, formas inhalables, formas transdérmicas, y similares.

Las "composiciones farmacéuticas" son composiciones que comprenden al menos un agente activo, tal como un compuesto o sal de Fórmula I, y al menos una otra sustancia, tal como un vehículo. Las composiciones farmacéuticas satisfacen los patrones de GMP (buena práctica de fabricación) de la FDA de Estados Unidos para fármacos para seres humanos o no humanos.

Las "sales farmacéuticamente aceptables" incluyen derivados de los compuestos desvelados en los que se modifica el compuesto precursor mediante la preparación de sales de adición ácida o básica, no tóxicas, inorgánicas y orgánicas de los mismos. Las sales de los presentes compuestos se pueden sintetizar a partir de un compuesto precursor que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido de Na, Ca, Mg, o K, carbonato, bicarbonato, o similares), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones por lo general se llevan a cabo en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, son preferentes medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, cuando se pueden poner en práctica. Las sales de los presentes compuestos incluyen adicionalmente solvatos de los compuestos y sales del compuesto.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales de álcalis u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales y las sales de amonio cuaternario del compuesto que puso formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, las sales de ácidos no tóxicos convencionales incluyen las obtenidas a partir de ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, mállico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, mesílico, esílico, besílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isetónico, HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH en la que n es 0-4, y similares. Se pueden encontrar listas de sales adecuados adicionales, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., p. 1418 (1985).

El término "vehículo" aplicado a composiciones farmacéuticas de la invención se refiere a un diluyente, excipiente, o vehículo con el que se proporciona un compuesto activo.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que es útil para preparar una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otro modo indeseable, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico en seres humanos. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" tal como se usa en la presente solicitud incluye tanto uno como más de uno de tales excipientes.

Un "paciente" es un ser humano o animal no humano con necesidad de tratamiento médico. El tratamiento médico puede incluir el tratamiento de una afección existente, tal como una enfermedad o trastorno, tratamiento profiláctico o preventivo, o tratamiento de diagnóstico. En algunas realizaciones, el paciente es un paciente humano.

"Proporcionar" se refiere a dar, administrar, vender, distribuir, transferir (con beneficio o no), fabricar, formar compuestos, o dispensar.

"Proporcionar un compuesto de la presente invención con al menos un agente activo adicional" se refiere que el compuesto de la presente invención y el agente o agentes activos adicionales se proporcionan de forma simultánea en una forma de dosificación individual, se proporcionan de forma concomitante en formas de dosificación separadas, o se proporcionan en formas de dosificación separadas para administración separada mediante algún periodo de tiempo que este dentro del periodo de tiempo en el que tanto el compuesto de la presente invención como el al menos un agente activo adicional están dentro del torrente sanguíneo de un paciente. El compuesto de la presente invención y el agente activo adicional no necesitan ser prescritos para un paciente por el mismo trabajador del campo médico. El agente o agentes activos adicionales no necesitan una receta. La administración del compuesto de la presente invención o el al menos un agente activo adicional se puede producir a través de cualquier vía apropiada, por ejemplo, comprimidos orales, cápsulas orales, líquidos orales, inhalación, inyección, supositorios o contacto tópico.

"Tratamiento", tal como se usa en el presente documento incluye proporcionar un compuesto de la presente invención como el único agente activo o junto con al menos un agente activo adicional suficiente para: (a) evitar que

- aparezca una enfermedad o un síntoma de una enfermedad en un paciente que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no se ha diagnosticado que la padece (por ejemplo, incluyendo enfermedades que pueden estar asociadas con causadas por una enfermedad primaria (tal como en la fibrosis hepática que puede dar como resultado el contexto de la infección crónica por VHC); (b) inhibir la enfermedad, es decir detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, causar la regresión de la enfermedad. "Tratar" y "tratamiento" también se refieren a proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, como el único agente activo o junto con al menos un agente activo adicional a un paciente que tiene o es susceptible a la infección por la hepatitis C.
- 5 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una combinación farmacéutica de la presente invención se refiere a una cantidad eficaz, cuando se administra a un paciente, para proporcionar un beneficio terapéutico tal como una mejora de los síntomas, por ejemplo, una cantidad eficaz para disminuir los síntomas de una infección por hepatitis C. Por ejemplo un paciente infectado con un virus de la hepatitis C puede presentar niveles elevados de determinadas enzimas hepáticas, incluyendo AST y ALT. Los niveles normales de AST son de 5 a 40 unidades por litro de suero (la parte líquida de la sangre) y los niveles normales de ALT son de 7 a 56 unidades por litro de suero. Por lo tanto, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad suficiente para proporcionar una reducción significativa de los niveles de AST y ALT elevados o una cantidad suficiente para proporcionar una vuelta de los niveles de AST y ALT al intervalo normal. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una cantidad suficiente para prevenir un aumento significativo o reducir de forma significativa el nivel detectable de virus o anticuerpos virales en la sangre, suero, o tejidos del paciente. Un método para determinar la eficacia del tratamiento incluye medir los niveles de ARN del VHC mediante un método convencional para determinar los niveles de ARN viral tales como el ensayo de Roch TaqMan. En determinadas realizaciones preferentes, el tratamiento reduce los niveles de ARN del VHC por debajo del límite de cuantificación (30 IU/ml, tal como se mide con el ensayo de Roche TaqMan(R)) o más preferentemente por debajo del límite de detección (10 IU/ml, Roche TaqMan).
- 10 25 Un aumento o reducción significativos en el nivel detectable de virus o anticuerpos virales es cualquier cambio detectable que es estadísticamente significativo en un ensayo paramétrico convencional de significancia estadística tal como el ensayo de T de Student, en el que  $p < 0,05$ .
- 30 DESCRIPCIÓN QUÍMICA
- 35 Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más elementos asimétricos tales como centros estereogénicos, ejes estereogénicos y similares, por ejemplo átomos de carbono asimétricos, de modo que los compuestos pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas. A menos que se indique de otro modo, estos compuestos pueden ser, por ejemplo, racematos o formas ópticamente activas.
- 40 45 Para los compuestos con dos o más elementos asimétricos, estos compuestos pueden ser adicionalmente mezclas de diastereómeros. Para los compuestos que tienen centros asimétricos, se debería entender que, a menos que se indique de otro modo, están incluidos todos los isómeros ópticos y mezclas de los mismos. Además, los compuestos con dobles enlaces carbono-carbono pueden aparecer en las formas Z y E, con todas las formas isomérica las de los compuestos están de incluidas en la presente invención. En estas situaciones, los enantiómeros individuales, es decir, formas ópticamente activas, se pueden obtener por síntesis asimétrica, síntesis a partir de precursores ópticamente puros, o por resolución de los racematos. La resolución de los racematos también se puede conseguir, por ejemplo, mediante métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo una columna de HPLC quiral.
- 50 Cuando un compuesto existe en diversas formas tautoméricas, la invención no se limita a uno cualquiera de los tautómeros específicos, pero en su lugar incluye todas las formas tautoméricas.
- 55 60 La presente invención pretende incluir todos los isótopos de átomos que se producen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números básicos. A modo de ejemplo general, y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio y los isótopos de carbono incluyen  $^{11}C$ ,  $^{13}C$ , y  $^{14}C$ . Las combinaciones de sustituyentes y/o variables solo se permiten si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables.
- PREPARACIONES FARMACÉUTICAS
- 65 Los compuestos de la invención se pueden administrar como el agente químico puro, pero se administran preferentemente como una composición farmacéutica. Por consiguiente, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos de la invención, junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede contener un compuesto de la presente invención su sal del mismo como el único agente activo, o puede contener uno o más agentes activos adicionales.
- Los compuestos de la invención se pueden administrar por vía oral, por vía tópica, por vía parenteral, por inhalación o pulverización, por vía sublingual, por vía transdérmica, a través de administración bucal, por vía rectal, como una

solución oftálmica, o por otros medios, en formulaciones de dosificación unitaria que contienen vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales. La composición farmacéutica se puede formular como cualquier forma farmacéuticamente útil, por ejemplo, en forma de un aerosol, una crema, un gel, una píldora, una cápsula, un comprimido, un jarabe, un parche transdérmico, o una solución oftálmica. Algunas formas de dosificación, tales como comprimidos y cápsulas, se subdividen adecuadamente en dosis individuales dimensionadas de forma adecuada que contienen cantidades apropiadas de los componentes activos, por ejemplo, una cantidad eficaz para conseguir el fin deseado.

Los vehículos incluyen excipientes y diluyentes y deben ser de pureza suficientemente elevada y toxicidad suficientemente baja para hacerlos adecuados para su administración al paciente que se está tratando. El vehículo puede ser inerte o puede poseer beneficios farmacéuticos por sí mismo. La cantidad de vehículo usado en conjunto con el compuesto es suficiente para proporcionar una cantidad práctica de material para administración por dosis individual del compuesto.

Las clases de vehículos incluyen, pero no se limitan a aglutinantes, agentes de tamponamiento, agentes colorantes, diluyentes, disgregantes, emulsionantes, saborizantes, sustancias de deslizamiento, lubricantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos, agentes de formación de comprimidos, y agentes humectantes. Algunos vehículos se pueden enumerar en más de una clase, por ejemplo el aceite vegetal se puede usar como un lubricante en algunas formulaciones y como un diluyente en otras. Los vehículos farmacéuticamente aceptables a modo de ejemplo incluyen azúcares, almidones, celulosas, tragacanto en polvo, malta, gelatina; talco, y aceites vegetales. Los agentes activos opcionales se pueden incluir en una composición farmacéutica, que no interfiere básicamente con la actividad del compuesto de la presente invención.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para administración oral. Estas composiciones contienen entre un 0,1 y un 99 % en peso (% en peso) de una hidrazone o un compuesto de diacil hidrazina y normalmente al menos aproximadamente un 5 % en peso de una hidrazone o un compuesto de diacil hidrazina. Algunas realizaciones contienen de aproximadamente un 25 % en peso a aproximadamente un 50 % en peso o de aproximadamente un 5 % en peso a aproximadamente un 75 % en peso de la hidrazone o compuesto de diacil hidrazina.

## 30 MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Los compuestos de la presente invención son útiles en métodos para prevenir y tratar las infecciones por hepatitis C proporcionando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención a un paciente en riesgo de infección por hepatitis C o infectado con un virus de la hepatitis C. Un compuesto de la invención se puede proporcionar como el único agente activo o se puede proporcionar junto con uno o más agentes activos adicionales.

Las combinaciones farmacéuticas que se desvelan en el presente documento son útiles para prevenir y tratar infecciones por hepatitis C en pacientes.

Una cantidad eficaz de una combinación farmacéutica de la invención puede ser una cantidad suficiente para (a) prevenir que se produzca la hepatitis C o un síntoma de una hepatitis C en un paciente que puede estar predispuesto a la hepatitis C pero que aún no se ha diagnosticado que la padece o para prevenir enfermedades que se pueden asociar con o pueden estar causadas por una infección por hepatitis C primaria (tales como fibrosis hepática que pueden dar como resultado el contexto de una infección crónica por HVC); (b) inhibir la progresión de la hepatitis C; y (c) causar una regresión de la infección por hepatitis C. Una cantidad de un efecto de una composición farmacéutica para inhibir el avance o causar una regresión de la hepatitis C incluye una cantidad eficaz para detener el empeoramiento de los síntomas de la hepatitis C o reducir los síntomas experimentados por un paciente infectado con el virus de la hepatitis C. Como alternativa una detención de la progresión o regresión de la hepatitis C se puede indicar con cualquiera de varios marcadores para la enfermedad. Por ejemplo, una falta de aumento o reducción en la carga viral de la hepatitis C o una falta de aumento o reducción en el número de anticuerpos del VHC en circulación en la sangre de un paciente son marcadores de una detención en la progresión o regresión de la infección por hepatitis C. Otros marcadores de la enfermedad hepatitis C incluyen niveles de aminotransferasas, particularmente niveles de las enzimas hepáticas AST y ALT. Los niveles normales de AST son de 5 a 40 unidades por litro de suero (la parte líquida de la sangre) y los niveles normales de ALT son de 7 a 56 unidades por litro de suero. Por lo general, estos niveles serán elevados en un paciente infectado por el VHC. La regresión de la enfermedad normalmente la marcada con la vuelta de los niveles de AST y ALT al intervalo normal.

Los síntomas de la hepatitis C que se pueden ver afectados por una cantidad eficaz de una combinación farmacéutica de la invención incluyen disminución de la función hepática, fatiga, síntomas similares a los de la gripe: fiebre, escalofríos, dolores musculares, dolor de articulaciones, y dolores de cabeza, náuseas, aversión a determinados alimentos, pérdida de peso sin explicación, trastornos psicológicos incluyendo depresión, sensibilidad en el abdomen, e ictericia.

"Función hepática" se refiere a una función normal del hígado, incluyendo, pero no limitada a, una función sintética que incluye síntesis de proteínas tales como proteínas del suero (por ejemplo, albúmina, factores de coagulación,

fosfatasa alcalina, aminotransferasas (por ejemplo, alanina transaminasa, aspartato transaminasa), 5'-nucleosidasa, y glutaminiltranspeptidasa, etc.), síntesis de bilirrubina, síntesis de colesterol, y síntesis de ácidos biliares; una función metabólica hepática, incluyendo metabolismo de los hidratos de carbono, metabolismo de aminoácidos y amoniaco, metabolismo de hormonas, y metabolismo de lípidos; desintoxicación de fármacos exógenos; y una función hemodinámica, incluyendo hemodinámica esplánica y portal.

Una cantidad eficaz de una combinación que se describe en el presente documento también proporcionará una concentración suficiente de los agentes activos en la concentración cuando se administran a un paciente. Una concentración suficiente de un agente activo es una concentración del agente en el organismo del paciente necesaria para prevenir o combatir la infección. Tal cantidad se puede determinar experimentalmente, por ejemplo sometiendo a ensayo la concentración en sangre del agente, o teóricamente, calculando la biodisponibilidad. La cantidad de un agente activo suficiente para inhibir la infección viral se puede determinar con un ensayo convencional para capacidad de infección viral tal como un ensayo basado en replicones, que se ha descrito en la bibliografía.

La invención también incluye el uso de combinaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención en terapias profilácticas. En el contexto de tratamiento profiláctico o preventivo, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención es una cantidad suficiente para disminuir de forma significativa el riesgo por parte del paciente para contraer una infección por hepatitis C.

La invención desvela un método para inhibir la replicación del VHC *in vivo* que comprende proporcionar un compuesto o sal de la invención a un paciente infectado con el VHC, una concentración del compuesto o sal suficiente para inhibir la replicación del replicón del HCV *in vitro*. En este caso la concentración incluye una concentración *in vivo*, tal como una concentración en sangre o en plasma. La concentración de compuesto suficiente para inhibir la replicación del replicón del VHC *in vitro* incluye y se puede determinar a partir de un ensayo de replicación del replicón tal como el ensayo que se proporciona en el Ejemplo 3, en el presente documento.

Los métodos de tratamiento que se desvelan en el presente documento incluyen proporcionar determinadas cantidades de dosificación de un compuesto de la invención a un paciente. Los niveles de dosificación de cada agente activo de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 140 mg por kilogramo de peso corporal al día son útiles en el tratamiento de las afecciones indicadas anteriormente (de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 7 g por paciente al día). La cantidad de principio activo que se puede combinar con los materiales vehículo para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo de paciente tratado y del modo de administración en particular. Unidad de dosificación de un compuesto de la invención. En ciertas realizaciones se proporcionan diariamente a un paciente de 25 mg a 500 mg, o de 25 mg a 200 mg de un compuesto de la invención. La frecuencia de la dosificación también puede variar dependiendo del compuesto usado y de la enfermedad tratada en particular. Sin embargo, para el tratamiento de la mayoría de los trastornos infecciosos, es preferente un régimen de dosificación de 4 veces al día o menos y un régimen de dosificación de 1 o 2 veces al día es particularmente preferente.

Sin embargo, se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier paciente en particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico usado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, vía de administración, y tasa de excreción, combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad en particular en el paciente que se está sometiendo a terapia.

#### 45 FORMULACIONES ENVASADAS

Los compuestos o sales de la presente invención se pueden proporcionar en un envase junto con instrucciones para el uso de la composición para tratar a un paciente que padece infección por Hepatitis C.

50 Los compuestos de sales se pueden proporcionar en forma de combinaciones farmacéuticas envasadas. Tales combinaciones envasadas incluyen un compuesto de la presente invención en un envase. El envase puede incluir adicionalmente instrucciones para el uso de la combinación para tratar o prevenir una infección vírica, tal como una infección por hepatitis C, en un paciente.

55 La combinación farmacéutica envasada puede incluir uno o más principios activos adicionales.

#### MÉTODOS DE COMBINACIÓN

60 La invención incluye composiciones farmacéuticas y su uso en un método de tratamiento en el que se proporciona un compuesto o sal de la invención junto con uno o más principios activos adicionales. En ciertas realizaciones el principio activo (o agente) es un inhibidor de proteasas del VHC o inhibidor de polimerasas del VHC. Por ejemplo el inhibidor de proteasas puede ser telaprevir (VX-950) y el inhibidor de polimerasas puede ser valopicitabina, o NM 107, el agente activo en el que se convierte la valopicitabina *in vivo*. En ciertas realizaciones el segundo agente activo es ribavirina, interferón, o conjugado de interferón alfa Peg.

Los compuestos de la invención y un agente activo adicional se pueden: (1) coformular y administrar o distribuir de forma simultánea en una formulación combinada; (2) administrar alternativamente bien paralelo como formulaciones separadas; o (3) mediante cualquier otro régimen de terapia de combinación conocido en la técnica. Cuando se administran en terapia alternante, los compuestos de la presente invención se pueden administrar o distribuir con un agente activo adicional secuencialmente, por ejemplo, en solución, emulsión, suspensión, comprimidos, píldoras o cápsulas separados, o mediante diferentes inyecciones en jeringas individuales. En general, durante la terapia alternante, una dosificación eficaz de cada principio activo se administra secuencialmente, es decir, en serie, mientras que en la terapia simultánea, las dosificaciones eficaces de dos o más principios activos se administran juntas. También se pueden usar diversas secuencias de terapia de combinación intermitente.

Se puede proporcionar un compuesto de la presente invención a un paciente y un interferón tal como un interferón pegilado o un interferón gamma.

El interferón de ser el único compuesto proporcionado con el compuesto de la invención o se puede proporcionar con un agente activo adicional que no sea un interferón.

Los compuestos de la presente invención se pueden proporcionar o usar con una cualquiera de una combinación de los siguientes compuestos y sustancias como un agente activo adicional:

Inhibidores de caspasa: IDN 6556 (Idun Pharmaceuticals)

Inhibidores de ciclofilina: NIM811 (Novartis) y DEBIO-025 (Debiopharm)

Inhibidores de citocromo P450 monooxigenasa: ritonavir (documento de patente WO 94/14436), ketoconazol, troleandomicina, 4-metil pirazol, ciclosporina, clometiazol, cimetidina, itraconazol, fluconazol, miconazol, fluvoxamina, fluoxetina, nefazodona, sertralina, indinavir, nefinavir, amprenavir, fosamprenavir, saquinavir, lopinavir, delavirdina, eritromicina, VX-944, y VX-497. Los inhibidores de CYP preferentes incluyen ritonavir, ketoconazol, troleandomicina, 4-metil pirazol, ciclosporina, y clometiazol

Glucocorticoides: hidrocortisona, cortisona, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, triamcinolona, parametasona, betametasona, y dexametasona

Hematopoyetinas: hematopoyetina-1 y hematopoyetina-2. Otros miembros de la superfamilia de las hematopoyetinas tales como los factores de estimulación de colonias (por ejemplo, (por ejemplo, G-CSF, GM-CSF, M-CSF), Epo, y SCF (factor de células madre)

Terapias Homeopáticas: Cardo Mariano, silimarina, ginseng, glicirrícina, raíz de regaliz, magnolia china, vitamina C, vitamina E, beta caroteno, y selenio

Compuestos inmunomoduladores: talidomida, IL-2, hematopoyetinas, inhibidores de IMPDH, por ejemplo Merimepodib (Vertex Pharmaceuticals Inc.), interferón, incluyendo el interferón natural (tal como OMNIFERON, Viragen y SUMIFERON, Sumitomo, una mezcla de Interferones naturales), interferón alfa natural (ALFERON, Hemispherx Biopharma, Inc.), interferón alfa 1b de células linfoblastoides (WELLFERON, Glaxo Wellcome), interferón alfa oral, interferón Peg, interferón alfa 2a Peg (PEGASYS, Roche), interferón alfa 2a recombinante (ROFERON, Roche), interferón alfa 2b inhalado (AERX, Aradigm), interferón alfa 2b Peg (ALBUFERON, Human Genome Sciences/Novartis, PEGINTRON, Schering), interferón alfa 2b recombinante (INTRON A, Schering), interferón alfa 2b pegilado (PEG-INTRON, Schering, VIRAFAFERONPEG, Schering), interferón beta-1a (REBIF, Serono, Inc. y Pfizer), interferón alfa consenso (INFERGEN, Valeant Pharmaceutical), interferón gamma-1b (ACTIMMUNE, Intermune, Inc.), interferón alfa no pegilado, interferón alfa, y sus análogos, y timosina alfa 1 sintética (ZADAXIN, SciClone Pharmaceuticals Inc.)

Inmunosupresores: sirolimus (RAPAMUNE, Wyeth)

Interleuquinas: (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-11, IL-12), LIF, TGF-beta, TNF-alfa) y otros factores de bajo peso molecular (por ejemplo, AcSDKP, pEDCK, hormonas tímicas, y minicitoquinas)

Potenciadores de Interferón: EMZ702 (Transition Therapeutics)

Inhibidores de IRES: VGX-410C (VGX Pharma)

Anticuerpos Monoclonales y Polyclonales: XTL-6865 (XTL), HuMax-HepC (Genmab), Inmuno Globina de la Hepatitis C (humana) (CIVACIR, Nabi Biopharmaceuticals)

Análogos de nucleósidos: Lamivudina (EPIVIR, 3TC, GlaxoSmithKline), MK-0608 (Merck), zalcitabina (HIVID, Roche US Pharmaceuticals), ribavirina (incluyendo COPEGUS (Roche), REBETOL (Schering), VILONA (ICN Pharmaceuticals, y VIRAZOLO (ICN Pharmaceuticals), y viramidina (Valeant Pharmaceuticals), un profármaco de amidina de ribavirina. También se pueden usar combinaciones de análogos de nucleósidos.

Inhibidores no nucleósidos: PSI-6130 (Roche/ Pharmasset), delavirdina (RESCRIPTOR, Pfizer), y HCV-796 (Viropharm)

Inhibidor de la proteína P7: amantadina (SYMMETREL, Endo Pharmaceuticals, Inc.)

Inhibidores de polimerasas: NM283 (valopicitabina) (Idenix) y NM 107 (Idenix).

Inhibidores de proteasas: BILN-2061 (Boehringer Ingelheim), GW-433908 (profármaco de Amprenavir, Glaxo/ Vertex), indinavir (CRIXIVAN, Merck), ITMN-191 (Intermune/ Array Biopharma), VX950 (Vertex) y combinaciones que comprenden uno o más de los inhibidores de proteasas mencionados anteriormente

ARN de interferencia: SIRNA-034 ARNi (Sirna Therapeutics)

Vacunas Terapéuticas: IC41 (Intercell), IMN-0101 (Imnogenetics), GI 5005 (Globeimmune), Chronvac-C (Tripep/ Inovio), ED-002 (Imnogenetics), Hepavaxx C (ViRex Medical)

Agonistas de TNF: adalimumab (HUMIRA, Abbott), entanercept (ENBREL, Amgen y Wyeth), infliximab

(REMICADE, Centocor, Inc.)

Inhibidores de tubulinas: Colchicina

Moduladores del receptor de esfingosina-1-fosfato: FTY720 (Novartis)

5 Agonistas de TLR: ANA-975 (Anadys Pharmaceuticals), agonista TLR7 (Anadys Pharmaceuticals), CPG10101

(Coley), y agonistas de TLR9 incluyendo CPG 7909 (Coley)

Inhibidores de Ciclofilina: NIM811 (Novartis) y DEBIO-025 (Debiopharm)

10 A los pacientes que reciben medicaciones para la hepatitis C por lo general se les proporciona interferón junto con otro agente activo. Por lo tanto, se incluyen como reivindicaciones métodos de tratamiento y combinaciones farmacéuticas en los que se proporciona el compuesto u de la invención junto con un interferón, tal como interferón alfa 2a pegilado, desea que los agentes activos adicionales se incluyan como realizaciones. De forma análoga en el 15 presente documento se proporcionan métodos y combinaciones farmacéuticas en los que la ribavirina es un agente activo adicional.

## 15 Ejemplos

La presente invención se ilustra adicionalmente con los siguientes ejemplos que no se deberían interpretar como limitantes. Los compuestos a modo de ejemplo que no entran dentro del alcance de las reivindicaciones se 20 proporcionan confines de información.

25 Los compuestos que se proporcionan en el presente documento por lo general se pueden preparar usando métodos de síntesis convencionales. Por lo general, los materiales de partida están disponibles fácilmente a partir de fuentes comerciales, tales como Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO). Por ejemplo, se puede usar una ruta de síntesis similar a la que se muestra en el Ejemplo 1 o 2. Será evidente que el producto final y cualquier compuesto o compuestos 30 intermedios mostrados en los siguientes esquemas se pueden extraer, secar, filtrar y/o concentrar, y adicionalmente se pueden purificar (por ejemplo, por cromatografía). Cada variable (*por ejemplo, "R"*) en los siguientes Esquemas, se refiere a cualquier grupo coherente con la descripción de los compuestos que se proporcionan en el presente documento. Una persona experta en la materia puede encontrar modificaciones de una o varias de las etapas de síntesis que se describen en el presente documento sin desviarse de forma significativa del esquema de síntesis global. En el presente documento se proporcionan, en los Ejemplos 1-5, detalles experimentales adicionales para la 35 síntesis de compuestos representativos a través de estos esquemas.

## ABREVIATURAS

35 Las siguientes abreviaturas químicas se usan en el Ejemplo 1. Las abreviaturas adicionales usadas en estos ejemplos serán familiares para los expertos en la materia de la síntesis química orgánica.

CDI 1,1'-Carbonildiimidazol

40 DBU Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

DCM Diclorometano

DIEA N,N-Diisopropiletil amina

DMF Dimetil formamida

HATU O-(7-azabenotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio

45 HBTU Hexafluorofosfato de O-(1*H*-benzotriazol-1-il) *N,N,N',N'*-tetrametiluronio

NMM N-metilmorfolina

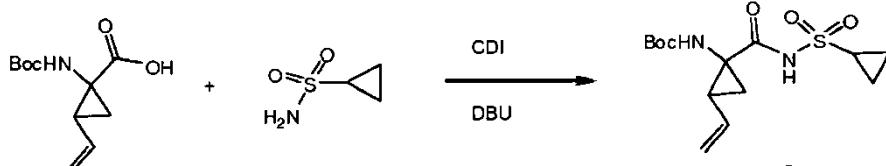
RCM Metátesis de cierre de anillo

TEA Trietilacetato

TFA Ácido trifluoroacético

50 EJEMPLO 1. SÍNTESIS DEL ÁCIDO 1-((2*S*,4*R*)-1-((S)-2-TERC-BUTIL-4-OXO-4-(PIPERIDIN-1-IL)BUTANOIL)-4-(7-METOXI-2-FENILQUINOLIN-4-IOXI)PIRROLIDIN-2-CARBOXAMIDO)-2-VINILCICLOPROPANOCARBOXÍLICO

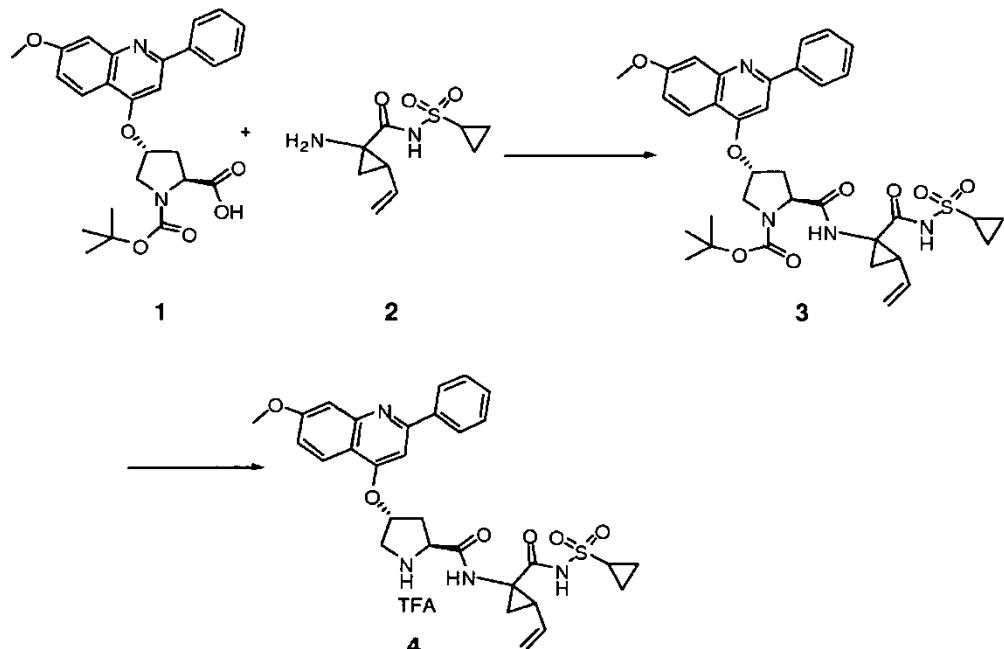
Etapa 1. Preparación de N-(ciclopropilsulfonil)-1-(BOC-amino)-2-vinilciclopropanocarboxamida



60 Se disuelve CDI (2,98 g, 18,4 mm, 1,1 equiv.) en acetato de etilo. El ácido N-Boc-ciclopropilvinílico (3,8 g, 16,7 mm, 1,0 equiv.), preparado a través del procedimiento proporcionado por Beaulieu, P.L. *et al.* (J. Org. Chem. 70: 5869-79 (2005)) se añade a la mezcla de CDI/ acetato de etilo y se agita a TA hasta que el material de partida se consume. A esta mezcla se añade ciclopropil sulfonamina (2,2 g, 18,4 mm, 1,1 equiv.) seguido por DBU (2,1 ml, 20,5 mm, 1,23

equiv.) y la mezcla se agita a TA durante 2 h. El tratamiento y la purificación por cromatografía sobre gel de sílice proporcionan 2 g del compuesto 2.

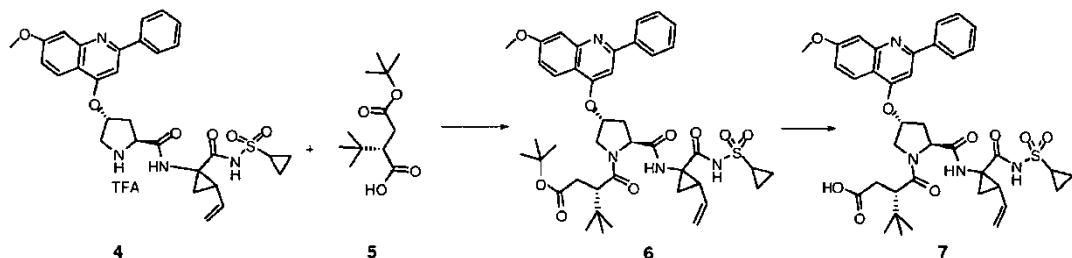
5 Etapa 2. Preparación de 2-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-1-carboxilato de (2S,4R)-terc-butilo y (2S,4R)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida



10 El compuesto 1 (4,3 g, 9,3 mmol, 1,1 equiv.), preparado de acuerdo con método que se proporciona en el documento de patente WO 02/060926, en DMF se agita con hexafluorofosfato de O-(Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-Tetrametiluronio (4,1 g, 10,5 mmol, 1,3 equiv.) durante 30 minutos, seguido de la adición de ciclopropilamina 2 (1,92 g, 8,3 mmol, 1,0 equiv.) y N-metilmorfolina (2,52 g, 25,0 mmol, 3,0 equiv.). La mezcla se agita durante una noche y el disolvente se retira a presión reducida. El residuo resultante se diluye con acetato de etilo y se lava con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado. El disolvente orgánico se seca sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto 3 en bruto, que se usa para la siguiente etapa sin purificación adicional.

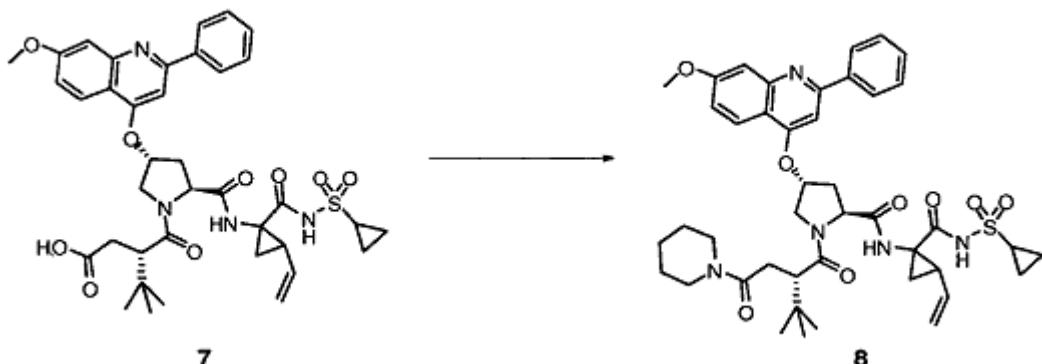
15 El compuesto 3 en 10 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco se trata con 5 ml de TFA y se agita durante una noche. El disolvente se retira y el residuo se recristaliza a partir de acetato de etilo para proporcionar 4,12 g del Compuesto 4 (rendimiento de un 61 % en dos etapas).

20 Etapa 3. Preparación de ácido (3S)-3-((2S,4R)-2-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-1-carbonil)-4,4-dimetilpentanoico



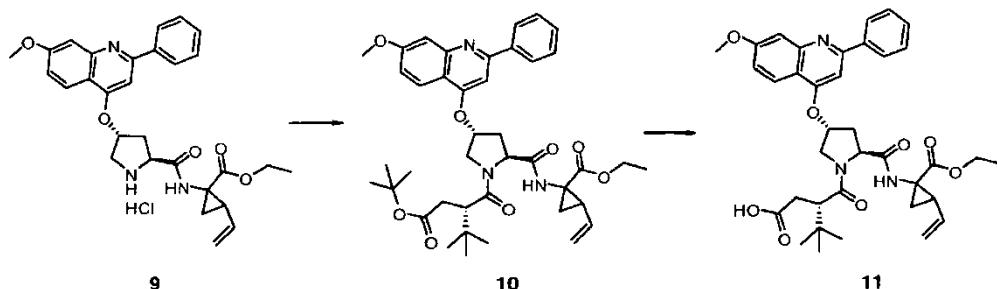
25 El Ácido 5 (58 mg, 0,25 mmol, 1,2 equiv.), preparado a través del procedimiento proporcionado por Evans, D.A., et al. (J. Org. Chem. 64: 6411 - 6417 (1999)) en 1,2 ml de DMF se agita con 4 (138 mg, 0,21 mmol), HATU (160 mg, 0,42 mmol, 2,0 equiv.), y DIEA (0,63 mmol, 3,0 equiv.) durante una noche. La mezcla se somete a purificación por HPLC para proporcionar 121 mg del compuesto 6 (rendimiento de un 77 %), que se trata adicionalmente con 0,5 ml de TFA en 1,0 ml de DCM durante una noche. El disolvente se retira para proporcionar el Compuesto 7 con un rendimiento de un 100 %.

30 Etapa 4. Preparación de (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida

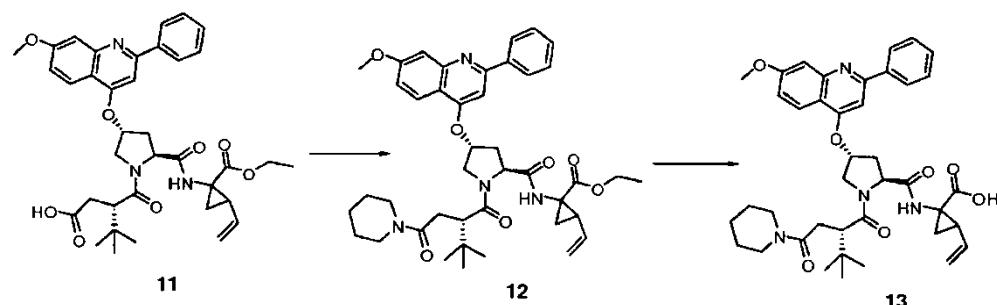


El Ácido 7 (0,15 mmol) en 1,0 ml de DMF se agita con piperidina (exceso, 0,6 mmol, 4 equiv.), HATU (115 mg, 0,3 mmol, 2,0 equiv.), y DIEA (0,45 mmol, 3,0 equiv.) durante 4 h. La mezcla se somete a purificación por HPLC para proporcionar 77,1 mg del compuesto 8.

5 Etapa 5. Preparación de ácido (3S)-3-((2S,4R)-2-(1-(etoxicarbonil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-1-carbonil)-4,4-dimetilpentanoico



10 El Ácido 5 (105 mg, 0,46 mmol, 1,2 equiv.) en 1,2 ml de DMF se agita con el compuesto 9 (202 mg, 0,38 mmol), HATU (290 mg, 0,76 mmol, 2,0 equiv.), y DIEA (1,2 mmol, 3,0 equiv.) durante una noche. La mezcla se somete a purificación por HPLC para proporcionar 204,3 mg del compuesto 10 (rendimiento de un 75 %), que se trata adicionalmente con 0,5 ml TFA en 1,0 ml de DCM durante una noche. El disolvente se retira para proporcionar el compuesto 11 con un rendimiento de un 100 %.



20 Etapa 6. Preparación de producto final

25 El Ácido 11 (30 mg, 0,045 mmol) en 1,0 ml de DMF se agita con piperidina (0,27 mmol, 6 equiv.), HATU (34 mg, 0,09 mmol, 2,0 equiv.), y DIEA (0,14 mmol, 3,0 equiv.) durante 2 h. La mezcla se somete a purificación por HPLC para proporcionar 21,2 mg del compuesto 12 (rendimiento de un 65 %), que se hidroliza en metanol con NaOH 2 N durante 6 h. La mezcla se acidifica con HCl 6 N y se somete a purificación por HPLC para proporcionar 7,6 mg del compuesto 13.

#### EJEMPLO 2. COMPUESTOS ADICIONALES

30 Los compuestos que se desvelan en la Tabla 1 que sigue a continuación se preparan con los métodos que se han expuesto en el Ejemplo I mencionado anteriormente.

TABLA 1

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
38.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1S,2S)-1-(cyclopropylsulfonamido)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,12	800,5
39.		(2S,4R)-N-(1-(cyclopropylsulfonamido)-2-vinylcyclopropyl)-1-((S)-4-dimethyl-3-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,11	800,1

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
40.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-il)-4-oxobutanoil)-N-(1-ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,27	848,4
41.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,4-dihydroquinolin-1(2H)-il)-4-oxobutanoil)-N-(1-ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,27	848,4

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
42.		1-(3S)-3-((2S,4R)-2-(1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxi)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoil(piperidin-2-carboxamida)	***	2.75	843,4
43.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-propylpiperidin-1-yl)butanoyl)-N-(1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxi)pirrolidina-1-carboxamida	**	3,52	842,5

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
44.		(2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butil-4-(3-metilpiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropil)-4-(7-metoxi-2-fernilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	**	3,15	814,5
45.		1-((3S)-3-((2S,4R)-2-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fernilquinolin-4-iloxi)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimetilpentanoil)pirperidin-3-carboxamida	**	2,59	843,4
46.		(2S,4R)-1-((S)-3-(ciclopentilcarbamoil)-4,4-dimetilpentanoil)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropil)-4-(7-metoxi-2-fernilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,09	800,4

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
47.		(2S,4R)-1-((S)-3-((S)-4-bençil-2-oxooxazolidin-3-carbonil)-4,4-dimetilpentanoil)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	**	3,31	891,6
48.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-morfolino-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,03	802,5

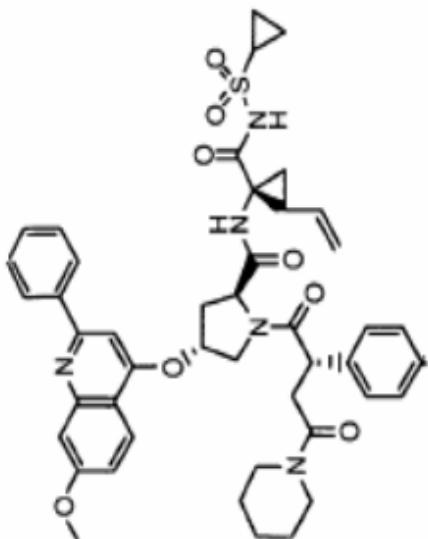
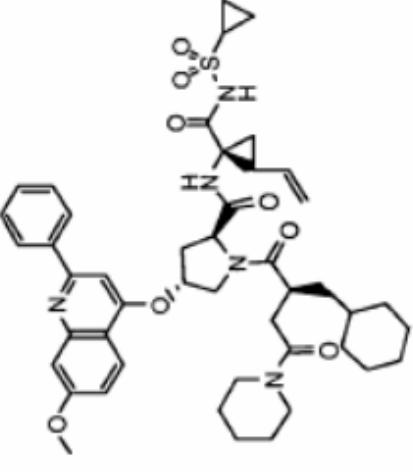
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	M <sub>5</sub> H <sub>1</sub>
49.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(cyclopentylamino)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,12	801,2
50.		4-fluoroisoindolin-2-carboxilato de (3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(1-((cyclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida)	***	2,47	730,3

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
51.		(4R)-N-(1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)-1-((S)-4-methyl-2-(2-oxo-2-(piperidin-1-yl)pentanoyl)pirrolidin-2-carboxamido	**	3,06	800
52.		(4R)-1-((R)-2-benzo-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-(1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamido	***	3,14	834

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
53.		(4R)-1-((S)-2-ciclohexil-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoli)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,3	826
54.		(4R)-1-((R)-2-(cyclohexilmethyl)-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoli)-N-(1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-methoxi-2-fenilquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,36	840

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
55.		(2S,4R)-1-(2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cidopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)oxo-2-carboxamida	***	3,18	800,4
56.		(2S,4R)-1-((R)-3-(cyclopentylmethyl)-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2R)-1-(cidopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)oxo-2-carboxamida	**	3,19	826

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
57.		(2S,4R)-1-((R)-2-(ciclopentilmetil)-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((1R,2R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,3	826
58.		(2S,4R)-N-((1R,2R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-1-((S)-2-isopropyl-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,01	786

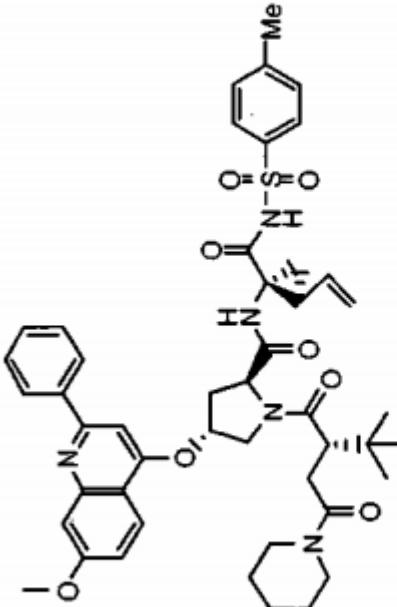
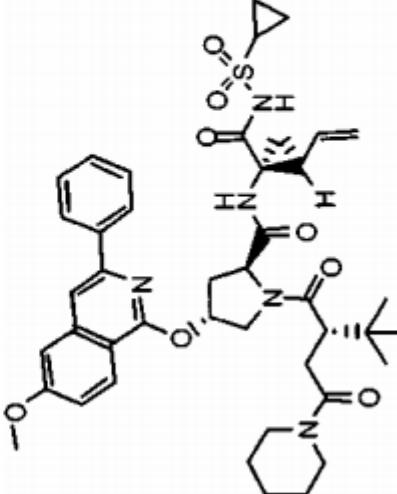
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
59.		(2S,4R)-N-((1R,2R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)-1-((S)-4-oxo-2-fenil-4-(piperidin-1-iloxy)butanoyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,13	820
60.		(2S,4R)-1-((S)-2-(ciclohexilmetil)-4-oxo-4-(piperidin-1-iloxy)butanoyl)-N-((1R,2R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	**	3,45	840

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
61.		bifenil-4- ilcarbamato de (3R,5S)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1- il)butanoil)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropilsonilcarbamoi)-2-vinilciclopropilcarbamoi)pirrolidin-3-ilol	**	4,34	763
62.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-iloxy)- N-((1R,2S)-1-(fenilsulfonilcarbamoi)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,75	836

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
63.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(1-phenyl-1H-pyridin-2-yl)-2-(isopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,63	802
64.		(2S,4R)-N-((1R,2S)-1-(benzylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(1-phenyl-1H-pyridin-2-yl)-2-(benzylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,79	850

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
65.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1- i)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(terc- butylsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)- 4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4- iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,74	816
66.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1- i)butanoil)-4-(7-metoxi-2- fenilquinolin-4-iloxi)- N-((1R,2S)-1- (trifluoromethylsulfonylcarbamoyl)-2- vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,81	828

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
67.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(4-chlorophenylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylclopentyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,94	870
68.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)-N-((1R,2S)-1-(methylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylclopentyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,64	774

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
69.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)oxi)-N-((1R,2S)-1-(p-tolylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,95	850
70.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(6-methoxy-3-fenilisoquinolin-1-yl)oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,69	800.5

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
71.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-morfolino-4-oxobutanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-methoxy-3-phenylisquinolin-1-yl)pyrrolidin-2-carboxamida	***	2,5	802,5
72.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)-N-((1R,2S)-1-(tiofen-2-ylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pyrrolidin-2-carboxamida	***	1,83	842

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
73.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)-N-((1R,2S)-1-(1-methyl-1H-imidazol-4-ylsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,65	840
74.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-(octahidroisoquinolin-2(1H)-yl)-4-oxobutanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,13	855

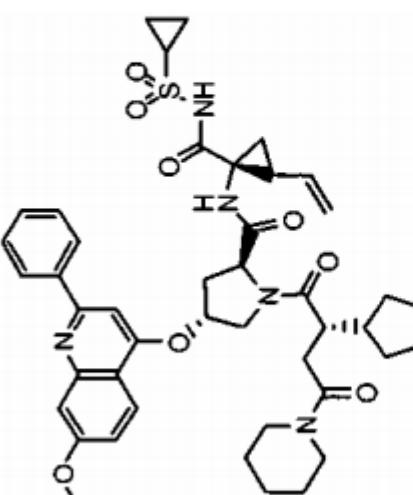
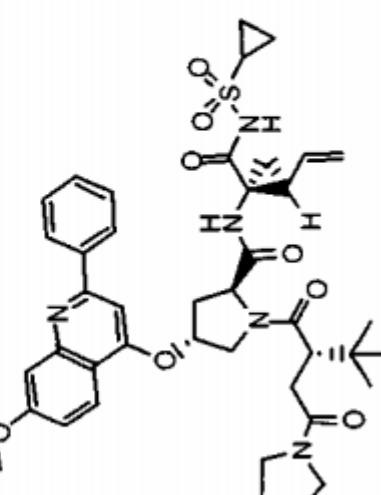
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
75.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decan-8-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,95	859
76.		(1-(S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoil)piperidin-4-yl)methylcarbamato de terc-butilo	***	2,09	930

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
77.		(2S,4R)-1-(S)-4-(azepan-1-yl)-2-tert-butyl-4-oxobutanoil-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,11	815
78.		1-(S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidina-1-carbonil)-4-4-dimethylpentanoil)-N-metilpiperidin-4-carboxamida	***	1,94	858

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
79.		(2S,4R)-1-((2S)-2-(2-(2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)-2-oxoethyl)-3,3-dimethylbutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoil)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,62	812
80.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(trifluoromethyl)piperidin-1-ylbutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoil)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,12	868

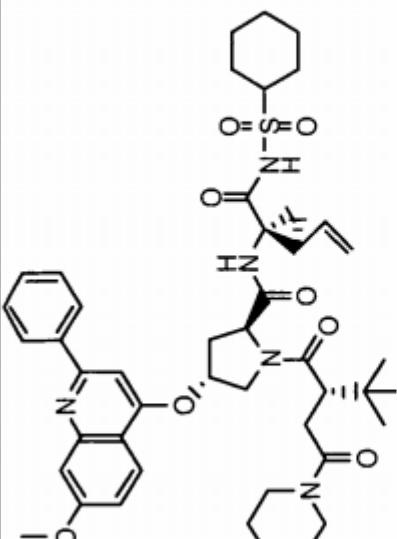
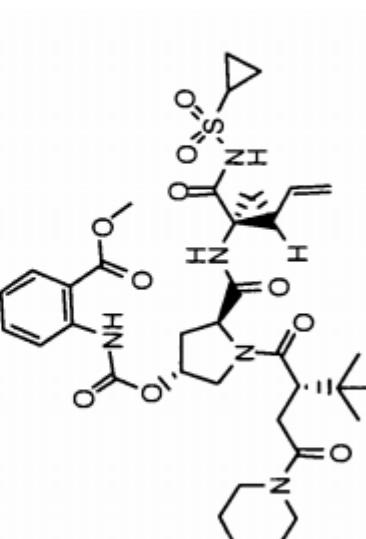
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
81.			***	1,73	867
82.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(4-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,49	818

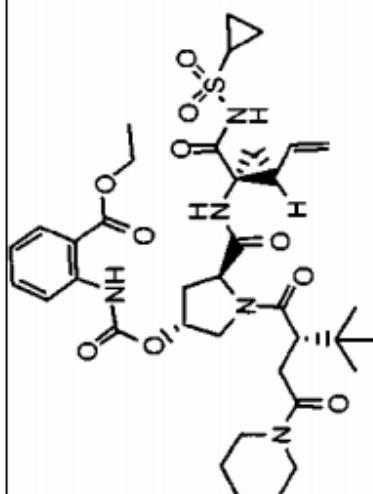
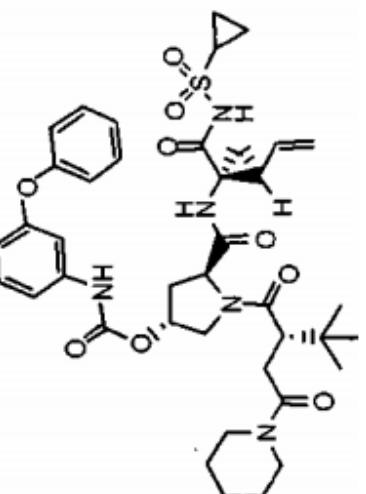
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
83.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-(3-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanol)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquindolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida	***	1,51	818
84.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-hydroxypyrrolidin-2-carboxamida	**	3,63	567
85.		3,4-dihydroisoquinolina-2(1H)-carboxilato de (3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl	***	3,79	727

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
86.		(2S,4R)-1-((S)-2-ciclopentil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanil)-N-((1R,2R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,11	812
87.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(pirroldin-1-il)butanil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,43	786

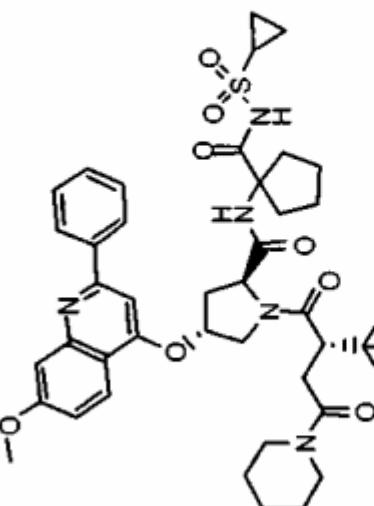
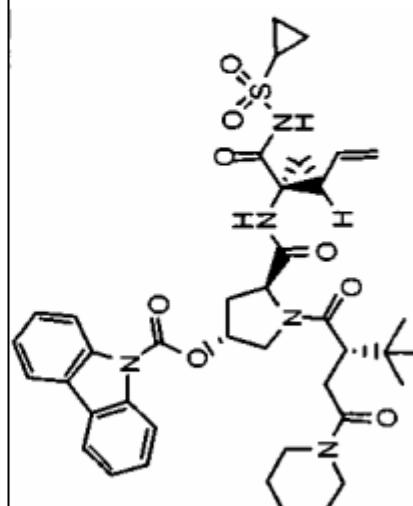
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
88.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-((S)-2-(dimeticcarbamoyl)pirrolidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-illoxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,25	858
89.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-illoxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,48	822

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	I <sub>a</sub>	MS+1
90.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-(3-(dimethylamino)pirrolidin-1-yl)-4-oxobutanol)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,65	830
91.		(2S,4R)-N-((1R,2R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)oxy)-1-((R)-4-methyl-2-(2-oxo-2-(piperidin-1-yl)pentanoyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,1	800

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
92.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclohexylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-vinylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,72	842
93.		2-((3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-3-yl)carbonilamino)benzoato de metilo	***	2,81	745

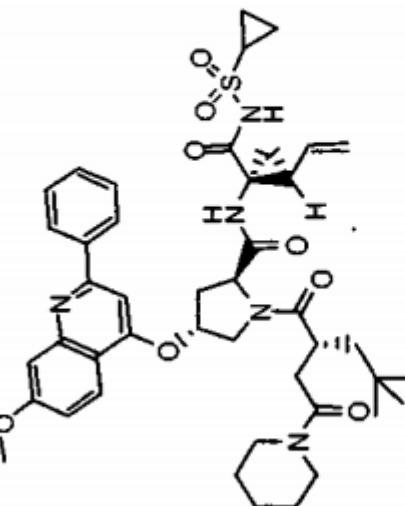
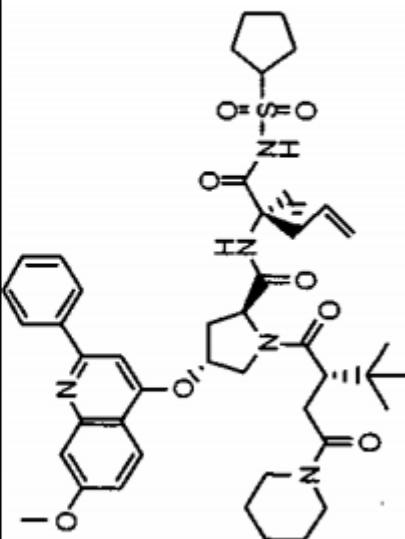
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
94.		2-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-oxi)carbonilamino)benzoato de etilo	***	4.2	759
95.		3-fenoxifenilcarbamato de (3R,5S)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-ilo	**	4.25	778

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
96.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(2-(isopropylamino)iazol-4-yl)-7-methoxyquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3.45	864
97.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((cyclopropylsulfonylcarbamoyl)ciclobutyl)-4-(7-methoxy-2-fenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1.51	788

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
98.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-[(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)cyclopentyl]-4-(7-methoxy-2-phenylquinoxolin-4-oxo-2-carboxamido)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,54	802
99.		9H-carbazol-9-carboxylato de (3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-2-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopentyl)pirrolidin-3-ilo	***	3,25	761

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
100.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-morpholino-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(2-(isopropilamino)iazol-4-il)-7-metoxiquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,97	866,5
101.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-ili)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-metoxisoquinolin-1-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,93	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	Ia	MS+1
102.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(tert-butylamino)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-methoxyisquinolin-1-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida			
103.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(farnamino)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-methoxyisquinolin-1-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
104.		(2S,4R)-N-((1R,2S)-1-(cyclopentylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-1-((R)-4,4-dimethyl-2-oxo-2-(piperidin-1-yl)ethyl)pentanoil)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-2-oxo-2-phenyl-4H-pyran-4-one)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,17	814
105.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopentylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxo-2-phenyl-4H-pyran-4-one)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,71	828

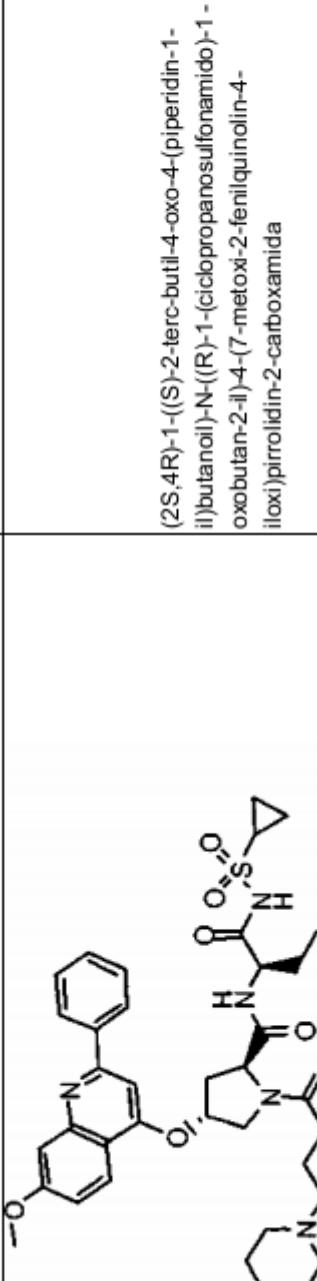
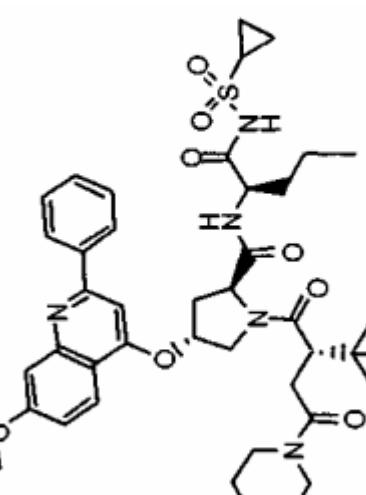
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
106.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-ii)butanoyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)-N-((1R,2S)-1-(1-metilciclopropilulfamiloilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,58	814
107.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-ii)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(N-ciclopropilulfamiloilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,58	815

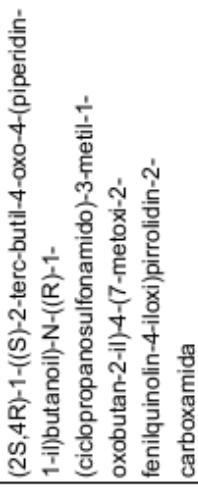
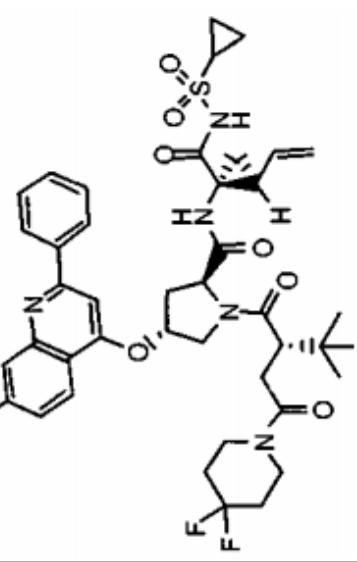
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
108.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,57	836
109.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((S)-1-(cyclopropanosulfonamido)-1-oxobutan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	**	145	776

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
110.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-1-(cyclopropanesulfonamido)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)oxo)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,5	790
111		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-1-(cyclopropanesulfonamido)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)oxo)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,46	776

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
112.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-2-(cyclopropanesulfonamido)-2-oxo-1-fenilethyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	**	1.51	825
113.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-1-oxapentan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	**	1.51	790

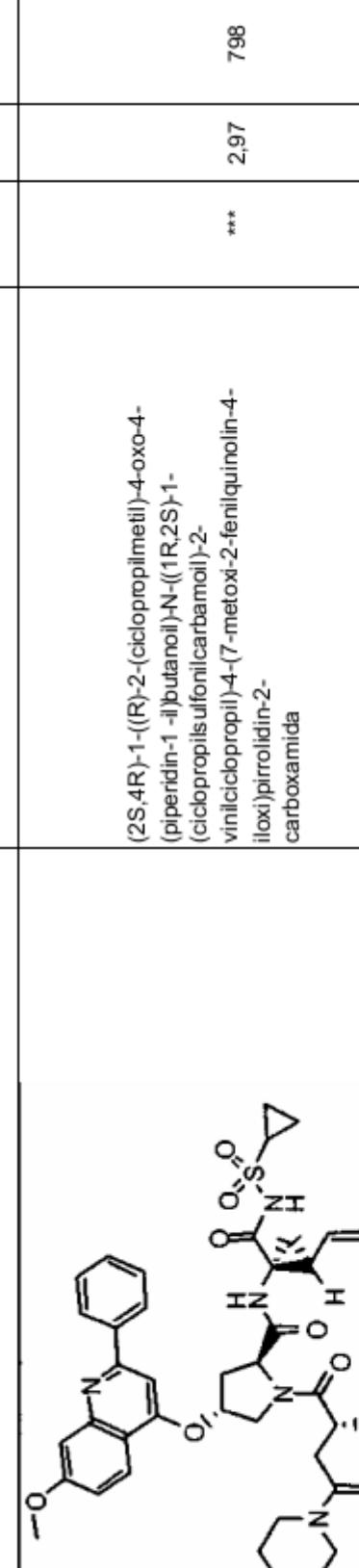
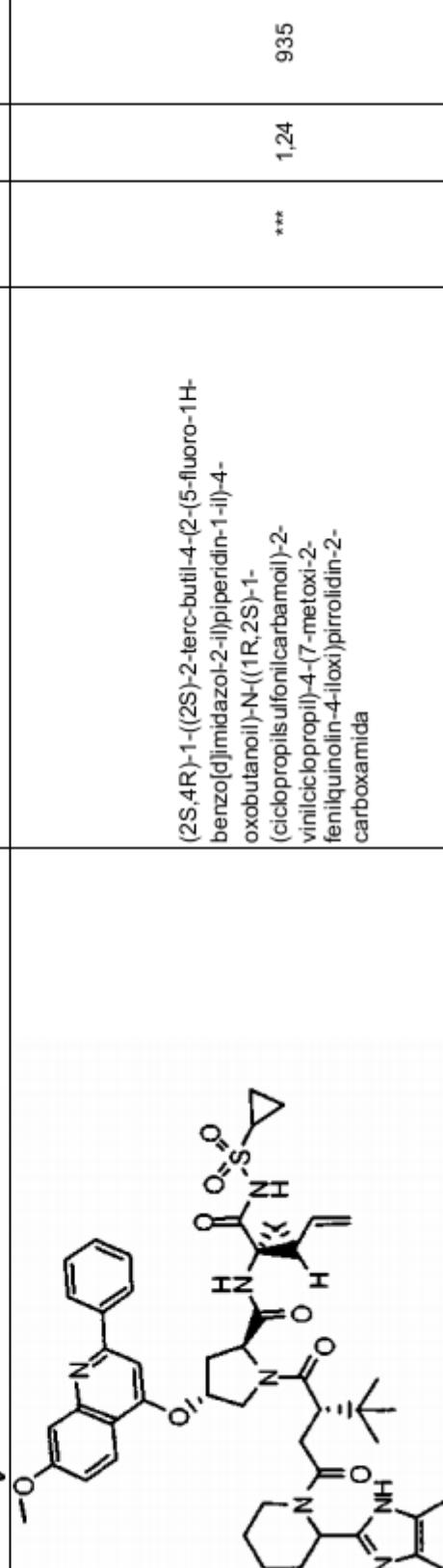
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
114.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-1-(cyclopropanesulfonamido)-1-oxopropan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,39	762
115.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-1-(cyclopropanesulfonamido)-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,56	805

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
116.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((R)-1-(cyclopropanosulfonamido)-1-oxobutan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,48	777
117.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((R)-1-(cyclopropanosulfonamido)-1-oxopentan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,55	791

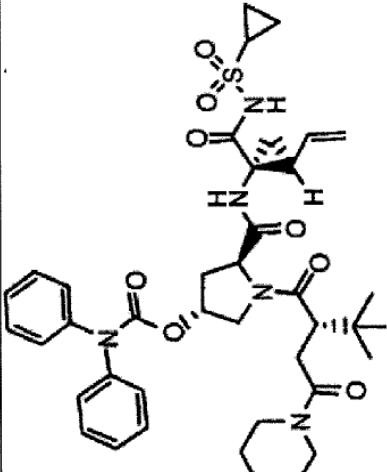
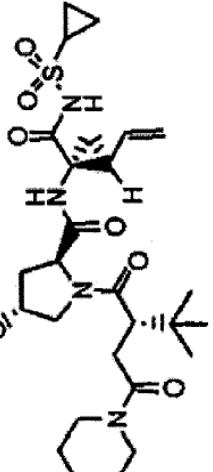
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
118.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((R)-1-(cyclopropanesulfonamido)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida	**	1.55	791
119.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(4,4-difluorobutyl)-4-(4-oxobutan-1-yl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida	***	1.55	837

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
120.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(ethylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1.51	788
121.		(2S,4R)-1-((S)-2-cyclopropyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	2.81	784

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
122.		(2S,4R)-1-(S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanilo-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropil)-4-(2-(piperidin-2-yl)ieno[3,2-d]pirimidin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	**	2,7	778,5
123.		10H-fenotiazin-10-carboxilato de (3R,5S)-1-(S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanilo-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropilcarbamoyl)-4-(2-(piperidin-3-iloxy)pirrolidin-3-iloxy)pirrolidin-3-iloxy	**	2,4	793

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
124.		(2S,4R)-1-((R)-2-(ciclopropilmetil)-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanilo)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	2.97	798
125.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-(2-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)pyridin-1-yl)-4-oxobutanilo)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1.24	935

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
126.		(2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butyl-4-(5-fluoro-2-(piperidin-2-yl)-1H-benzod[d]imidazol-1-yl)-4-oxobutanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirolidin-2-carboxamida	**	1.35	935
127.		(2S,4R)-4-(1H-benzod[d]imidazol-1-yl)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-(2-(cyclopropanosulfonamido)-2-oxoethyl)pirolidin-2-carboxamida	**	1.27	
128.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(4,5-difenil-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pirolidin-2-carboxamida	**	2.21	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
129.		difenilcarbamato de (3R,5S)-1-(S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-ol	**	2,75	763
130.		10,11-dihydro-5H-dibenzol[b,f]azepin-5-carboxilato de (3R,5S)-1-(S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-ol	**	2,81	789

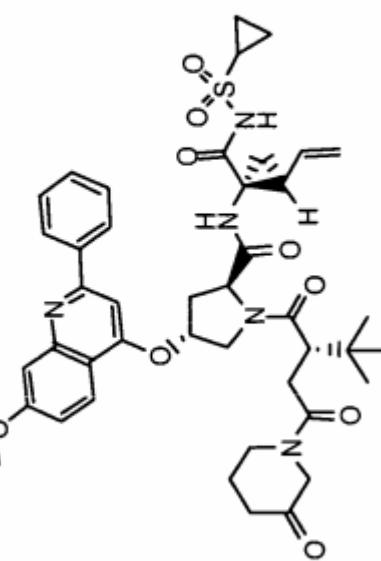
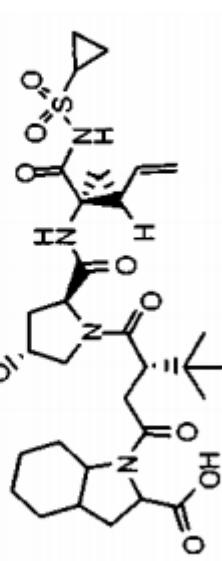
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
131.		5H-dibenzo[b,f]azepin-5-carboxilato de (2S)-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)pirrolidin-3-ilo)vinilciclopropilcarbamoyl)pirrolidin-3-ilo)	**	2,81	787
132.		(2S,4S)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,83	800

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
133.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(3-phenylquinoxalin-2-yl)oxo)propanoylphenylcyclohexylamine	**		
134.		(2S,4R)-1-((R)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)oxo)propanoylphenylcyclohexylamine	**	2,16	800

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
135.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(sec-butylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,66	816
136.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)-N-((1R,2S)-1-(propilsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,1	802

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>30</sub>	ta	MS+1
137.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(2-(dimetilamino)taiazol-4-yl)-7-metoxyquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,03	850,4
138.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-morpholino-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(2-(dimetilamino)taiazol-4-yl)-7-metoxyquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,73	852,4

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
139.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(4,5-difениl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3	
140.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-3-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,23	878

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
141.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(3-oxopiperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenylquinolin-4-yl)oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,8	815
142.		ácido 1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-fenylquinolin-4-yl)oxi)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanol)octahidro-1H-indol-2-carboxilico	***	1,98	885

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS <sup>+</sup> 1
143.					802,3
144.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-(piperidin-2-yl)quinazolin-4-yl)butanamide	***	2,76	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
145		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(1-ethylcyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,21	828
146		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)oxi)-N-((1R,2S)-1-(1-propylcyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,36	842

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
147.		(2S,4R)-N-((1R,2S)-1-(1-benzoic acid, 2-oxo-2-tert-butyl-4-oxo-4-tert-butyl-2-vinylcyclopropyl)-1-(S)-2-tert-butyl-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	**	2,44	890
148.		(2S,4R)-1-(S)-2-tert-butyl-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	**	1,87	835

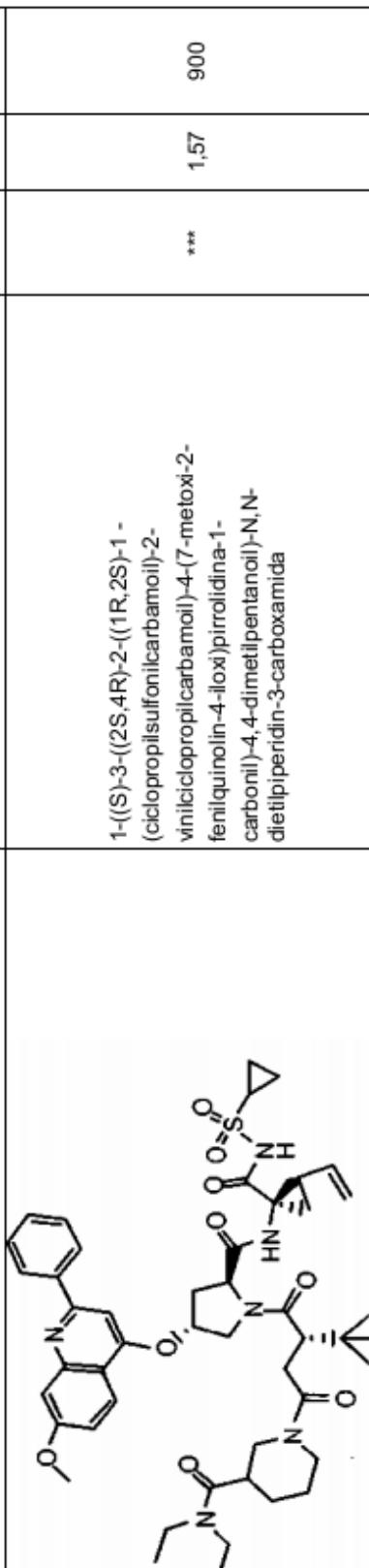
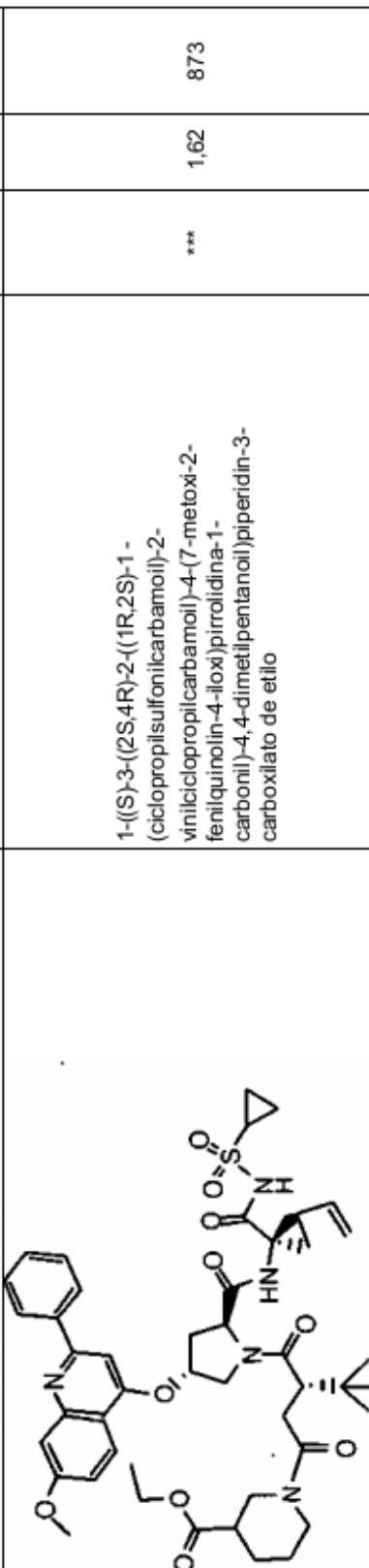
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
149.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-ethylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,03	903
150.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(4-(piperidin-2-yl)-8,9-dihydrofuran(2,3-h)quinolin-2-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,68	



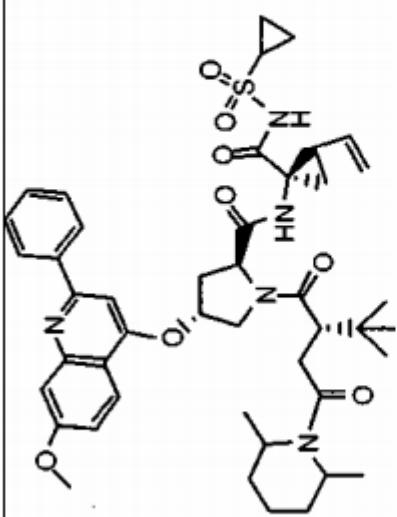
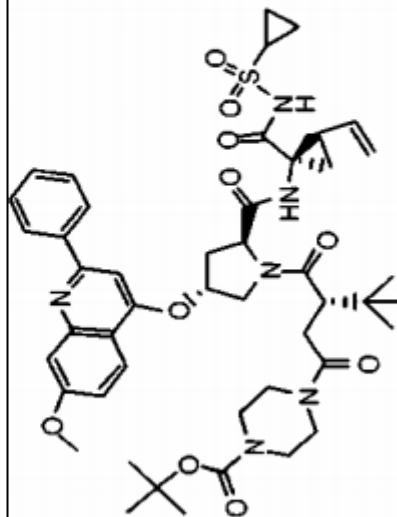
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
153.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-morfolino-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilclopipropil)-4-(2-(piridin-2-yl)-8,9-dihydrofuran(2,3-h)quinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	***	2,49	815,3
154.		10H-fenoazin-10-carboxilato de (3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piridin-1-yl)butanoil)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilclopipilcarbamoil)pirrolidin-3-ilo	**	2,84	777

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
155.		3,6-dichloro-9H-carbazol-9-carboxylato de (3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-ilo	***	3,1	829
156.		N-(3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)isoquinolin-6-carboxamida			1,98

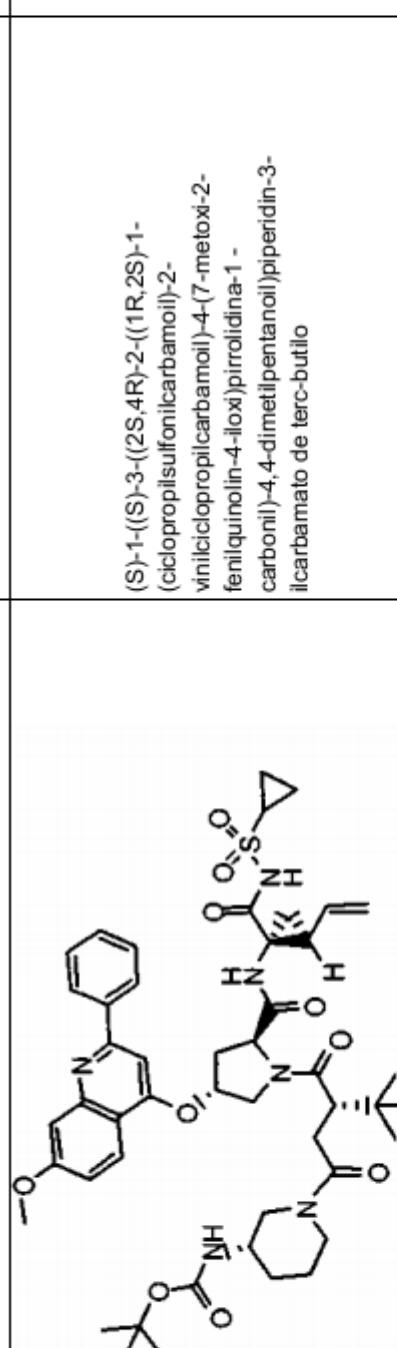
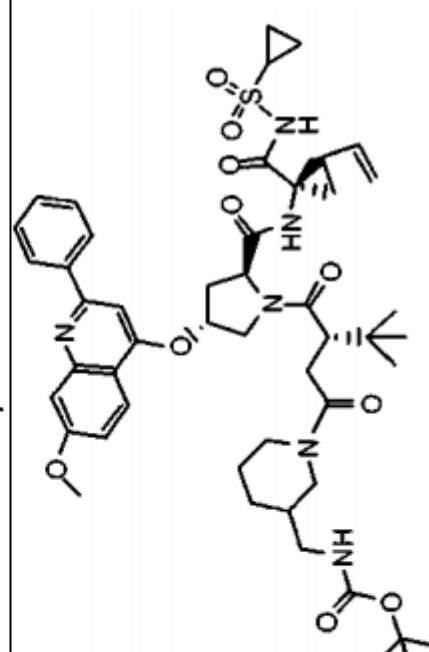
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
157.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-(trifluoromethyl)quinolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida	2,59		
158.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(1-chlorocyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida	***	2,44	834

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
159.		1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropilcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimetilpentanoil)-N,N-dietilpiperidin-3-carboxamida	***	1,57	900
160.		1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropilcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimetilpentanoil)piperidin-3-carboxilato de etilo	***	1,62	873

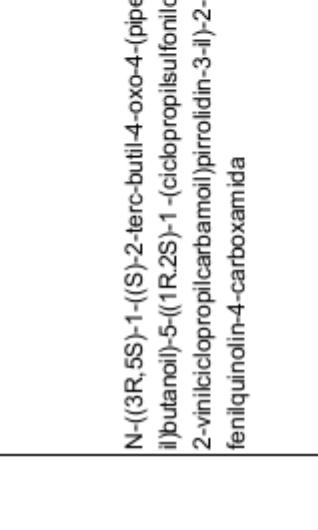
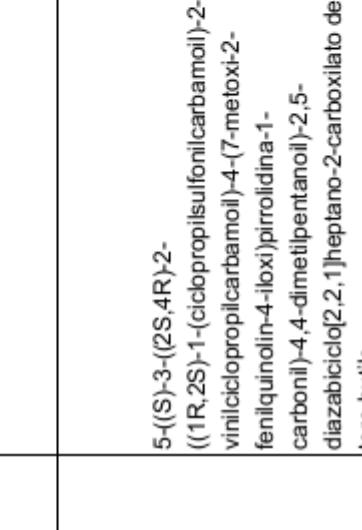
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
161.		1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropylcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)piprolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoyl)piprolidin-3-il(metil)carbamato der terc-butilo	***	1,68	916
162.		(2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(3-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoyl)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoyl)-2-vinilciclopropyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)piprolidin-2-carboxamida	***	1,66	869

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
163.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-(2,6-dimethylphenyl-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,69	829
164.		4-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoyl)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo	***	1,62	902

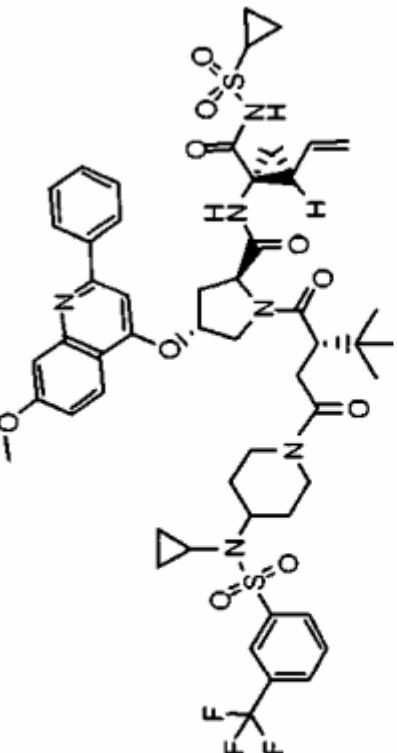
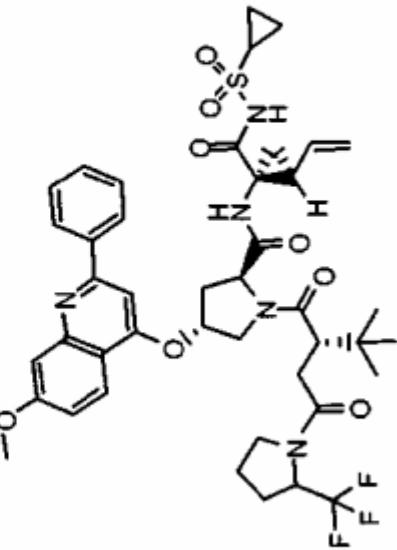
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
165		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinaldin-2-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,16	801,5
166		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(morpholino-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinaldin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	3,19	803,5

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
167.		(S)-1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-iloxy)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoyl)piperidin-3-ylcarbamato de terc-butilo	***	1,68	916
168.		(1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-iloxy)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoyl)piperidin-3-yl)methylcarbamato de terc-butilo	***	1,81	930

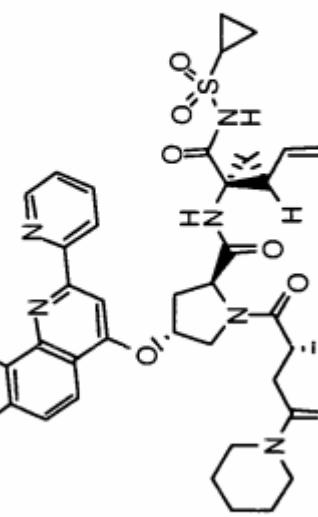
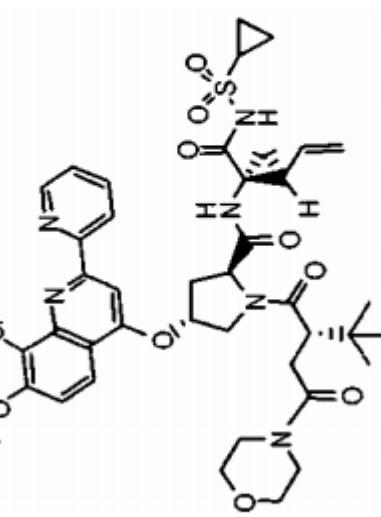
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
169.		(2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(3-oxo-8-azabiciclo[3.2.1]octan-8-yl)butanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,4	841
170.			***	1,61	869

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
171.		N-(3R, 5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl-2-phenylquinolin-4-carboxamida	***	1.96	
172.		5-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropylsulfonylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)oxy)pirrolidina-1-carbonyl)-4,4-dimethylpentanoyl)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de (1S,4S)-terc-butilo	***	1.7	914

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
173.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropylcarbamoil)pirrolidin-3-yl)acridin-9-carboxamida	1,49		
174.		(2S,4R)-1-((2S)-2-(2-(2-oxa-5-azabiciclo[2.2.1]heptan-5-yl)-2-oxoethyl)-3,3-dimethylbutanoyl)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,44	815

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
175.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(4-(N-cyclopropyl-3-(trifluoromethyl)fentisulfonamido)pirrolidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1.91	1064
176.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(2-(trifluoromethyl)pirrolidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1.71	855

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
177.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida	***	2,79	760
178.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoyl)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida	***	2,62	796

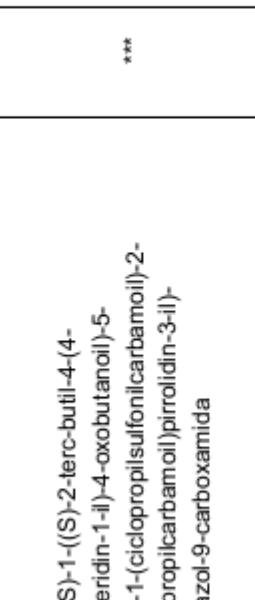
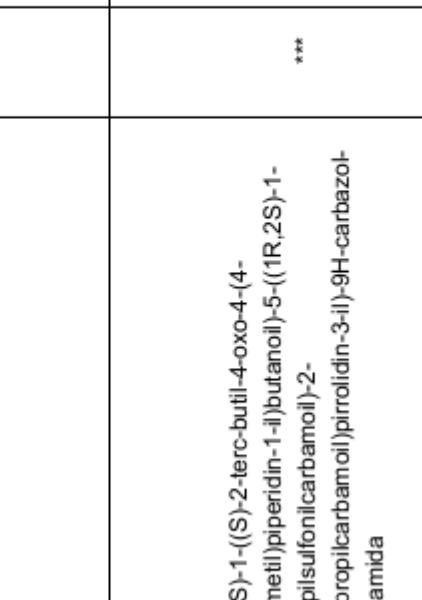
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
179.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-yl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,83	835
180.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-morpholino-4-oxobutanoyl)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-yl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,58	838

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
181.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(piridin-2-yl)quinolin-4-oxi)-N-((1R,2S)-1-(cidropipilsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***	1.82	872
182.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(4-fenylpiperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cidropipilsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***	1.86	877

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
183.		(2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butyl-4-(octahydroquinolin-1(2H)-il)-4-oxobutanoyl)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***	1,85	855
184.		(R)-1-((S)-3-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(cyclopropylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoyl)pirrolidin-3-ylcarbamato de terc-butilo	***	1,73	902

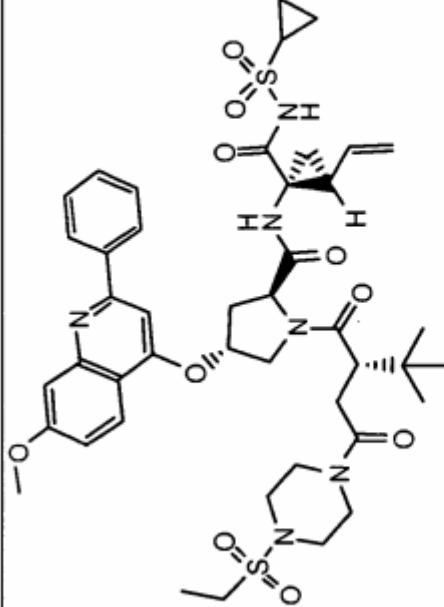
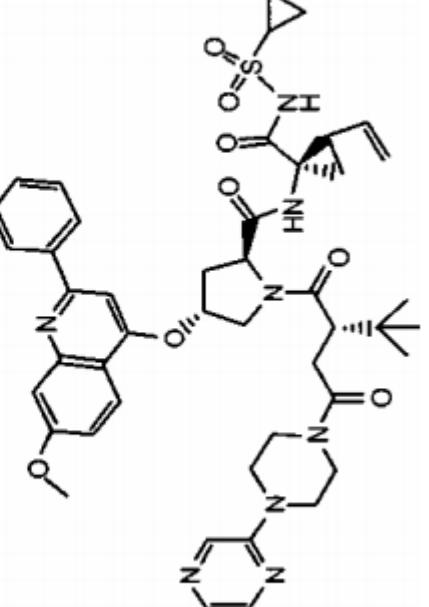


Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
187.		N-(3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanol-4-oxobutanol-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida	***	2,28	796
188.		N-(3R,5S)-1-((2S)-2-terc-butyl-4-(3-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanol-4-oxobutanol-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida	***	2,26	778

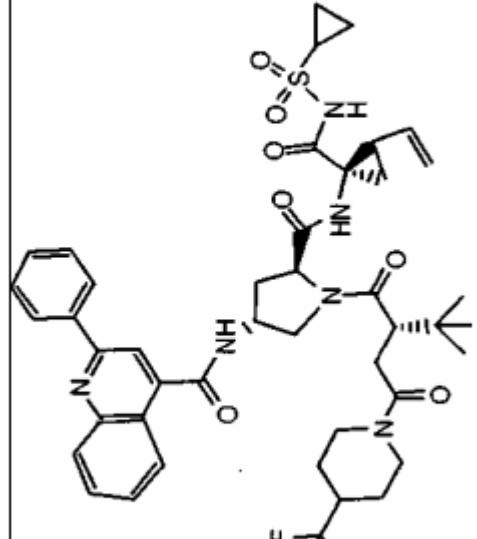
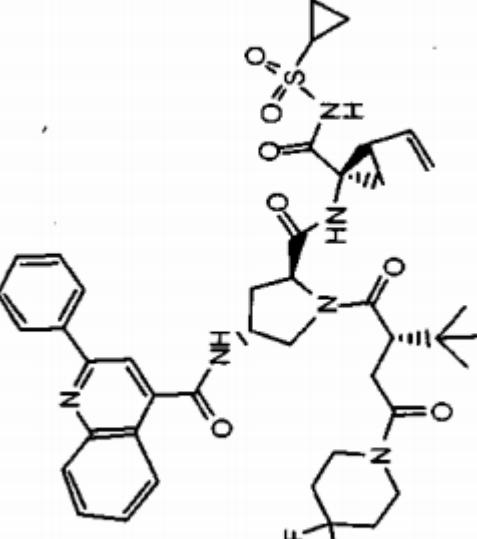
Comp. ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
189.	 <p>N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(4-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanyl)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinilcyclopropylcarbamoil)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida</p>	***	2,16	778
190.	 <p>N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)piperidin-1-yl)butanoyl)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinilcyclopropylcarbamoil)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida</p>	***	2,36	828

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
191.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(pyridin-1-yl)butanoyl)-5-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-N-(pyridin-2-ylmethyl)-9H-carbazol-9-carboxamida		***	
192.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoyl)-5-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-N-(pyridin-2-ylmethyl)-9H-carbazol-9-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
193		N-((3R,5S)-1-((S,S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropropylidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-5-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirimidin-3-yl)-N-(pyridin-2-ylmethyl)-9H-carbazol-9-carboxamida		***	
194.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-oxi)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirimidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
195.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(4-(ethylsulfonil)piperazin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		
196.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(piperazin-2-yl)piperazin-1-yl)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		

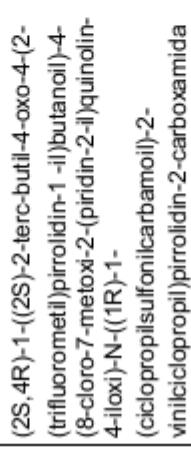
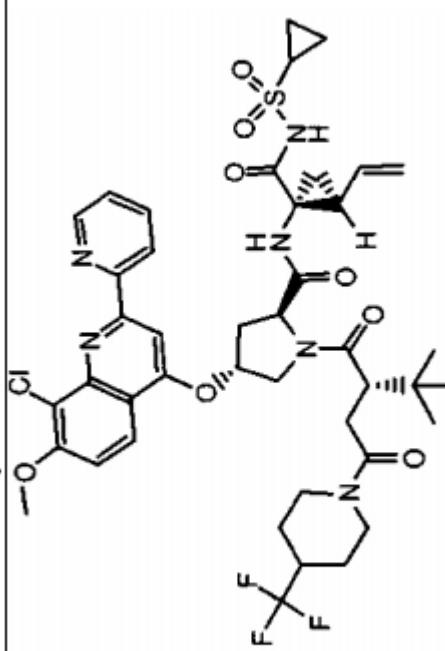
Comp	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
197.		***			
198.		N-((3R,5S)-1-((2S)-2-(2-(2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)-2-oxoethyl)-3,3-dimethylbutanoyl)-5-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinylcyclopropylcarbamoil)pirrolidin-3-yl)-9H-carbazol-9-carboxamida			***

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
199.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)piperidin-1-yl)butanoil)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-2-fenilquinolin-4-carboxamida ***			
200.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-2-fenilquinolin-4-carboxamida ***			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
201.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanol)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinilcyclopropylcarbamoil)pirrolidin-3-yl)-2-phenylquinolin-4-carboxamida	***		
202.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanol)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoil)-2-vinilcyclopropylcarbamoil)pirrolidin-3-yl)-2-phenylquinolin-4-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
203.		N-((3R,5S)-1-((S)-4-(azepan-1-yl)-2-tert-butyl-4-oxobutanol)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-2-phenylquinolin-4-carboxamida		***	
204.		N-((3R,5S)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-oxobutanol)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)pirrolidin-3-yl)-2-phenylquinolin-4-carboxamida		***	

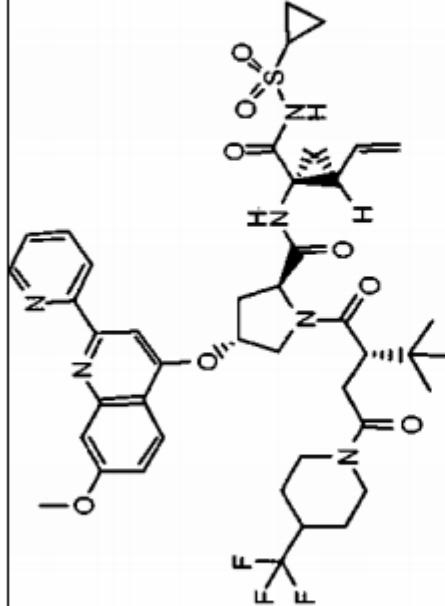
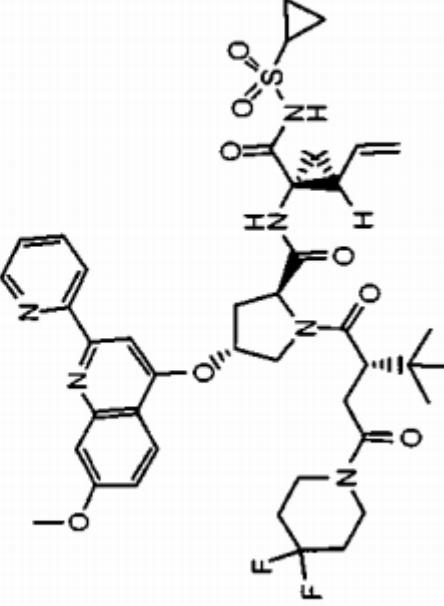
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
205.		N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(4-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-5-((1R,2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylpirrolidin-3-yl)-2-fernilquinolin-4-carboxamida		***	
206.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-4-(8-chloro-7-metoxi-2-(piridin-2-yl)quinaldin-4-yl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylpirrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
207.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(2-(trifluoromethyl)pirrolidin-1-yl)butanoil)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(piridin-2-yl)quinolin-4-oxi)-N-((1R)-1-(ciclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilciclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***		
208.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)piridin-1-yl)butanoil)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(piridin-2-yl)quinolin-4-oxi)-N-((1R)-1-(ciclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinilciclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
209.		(2S,4R)-1-(2S)-2-terc-butyl-4-(3-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-4-(8-chloro-7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-oxyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pyrrolidin-2-carboxamida	***		
210.		ácido (1R)-1-((2S,4R)-1-(S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxyl)-N-((1R)-1-(butanoyl)-2-vinylcyclopropyl)pyrrolidin-2-carboxamido	*		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
211.		(2S)-1-((3S)-3-((2S,4R)-2-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropylcarbamoyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxo)pirrolidina-1-carbonil)-4,4-dimethylpentanoil)-N-(tiazol-2-yl)piperidin-2-carboxamida			***
212.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-((S)-2-(tiazol-2-ylcarbamoyl)pirrolidin-1-yl)butanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida			***

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	1a	MS <sup>+1</sup>
213.		(2R,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	***		
214.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-(piridin-2-yl)quinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
215.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-yl)butanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-yl)quinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***		
216.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(4,4-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-yl)quinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
217.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida ***			
218.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(4-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida ***			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
219.		(2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butyl-4-(3-fluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-2-vinilclopipil)-4-(7-metoxi-2-(pindin-2-yl)quinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida			
220.		(2S,4R)-1-((2S)-2-(2-(2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)-2-oxoethyl)-3,3-dimethylbutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-2-vinilclopipil)-4-(7-metoxi-2-(pindin-2-yl)quinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
221.		*			
222.		(2S,4R)-1-(S)-4-(azetidin-1-yl)-2-tert-butyl-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropisulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
223.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoroazetidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida ***			
224.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3-chloroazetidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilcyclopropyl)-4-(7-metoxi-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida ***			

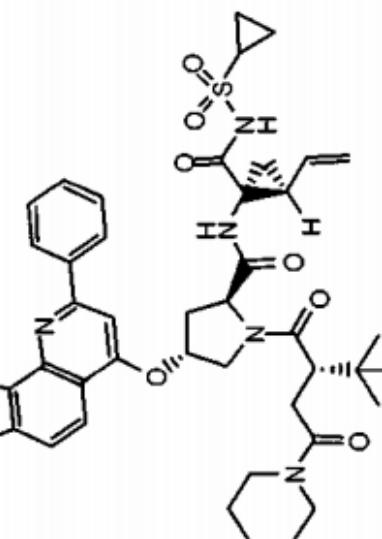
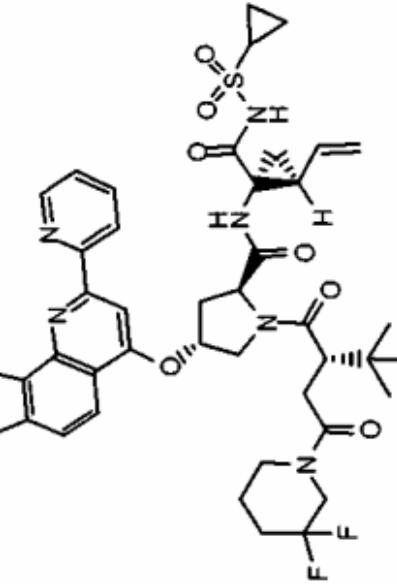
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
225.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-fenilquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***		***
226.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-metil-2-fenilquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida	***		***

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
227.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(2-phenylazetidin-1-yl)butanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	
228.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-(2-(3-methoxyphenyl)azetidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
229.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida ***			
230.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(4-isopropyltiazol-2-yl)-7-methoxyquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida ***			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
231.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(8-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		
232.		(2S,4R)-1-((2S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(2-(5-fenil-1H-pirazol-3-yl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-phenylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		

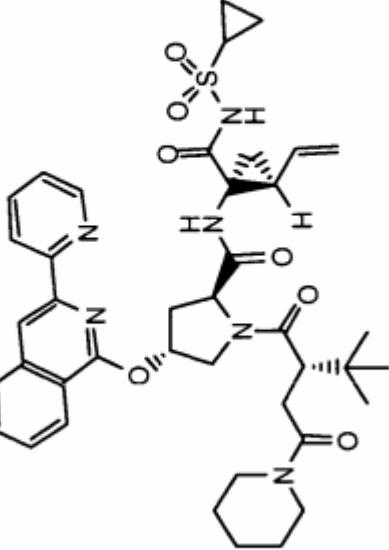
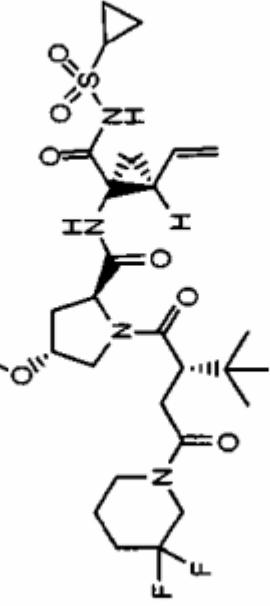
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
233.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(6-methoxy-3-fenlnaftalen-1-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		
234.		(2R,4R)-1-((R)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-2-fenilquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	Ia	MS+1
235.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-fenil-8,9-dihydro-7H-cyclopenta[h]quinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	
236.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(piridin-2-yl)-8,9-dihydro-7H-cyclopenta[h]quinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
237.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopentylsulfonamido)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(pyridin-2-yl)-8,9-dihydro-7H-cyclopentalh)quinolin-4-oxo-2-carboxamida		***	
238.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopentylsulfonamido)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(2-(isopropylamino)tetrazol-4-yl)-7-methoxy-8-methylquinolin-4-oxo-2-carboxamida		***	

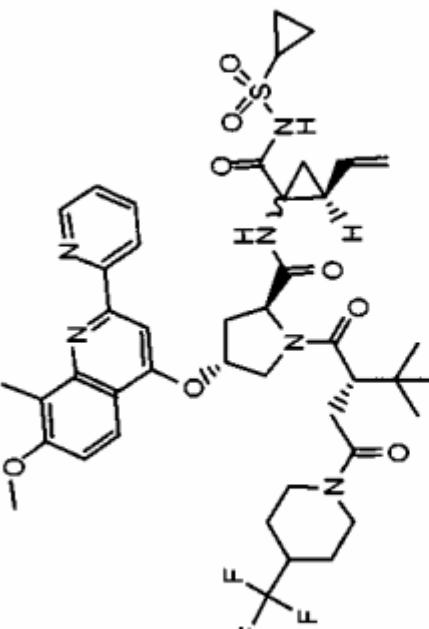
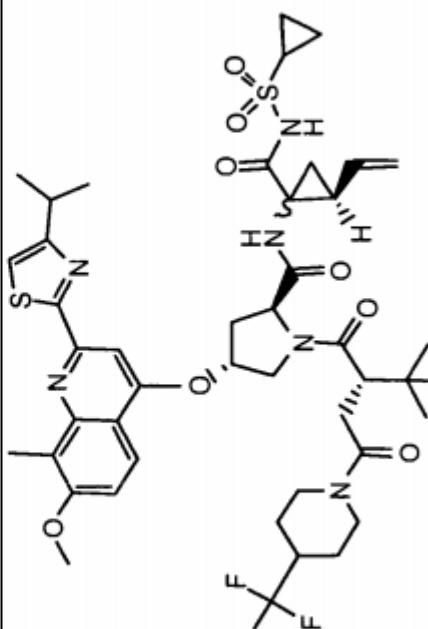
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
239.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-oxo-4-(2S)-1-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-8-methyl-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***		
240.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)pirrolidin-1-yl)butanoil)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-8-methyl-2-fenilquinolin-4-iloxy)pirrolidin-2-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
241.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonamido)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-8-methyl-2-familiquinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida		***	
242		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoil)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonamido)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(piperidin-2-yl)-8,9-dihydro-7H-cyclopenta[h]quinolin-4-oxo)pirrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
243.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(5-chloro-6-metoxi-3-(pyridin-2-yl)isoquinolin-1-oxi)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida ***			
244.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoyl)-4-(5-chloro-6-metoxi-3-(pyridin-2-yl)isoquinolin-1-oxi)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida ***			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
245.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)piperidin-1-yl)butanoyl)-4-(5-chloro-6-methoxy-3-(pyridin-2-yl)isoquinolin-1-yl)N-((S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida	***		
246.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,3-enoxybutanoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-8-methyl-2-(pyridin-2-yl)quinalin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		

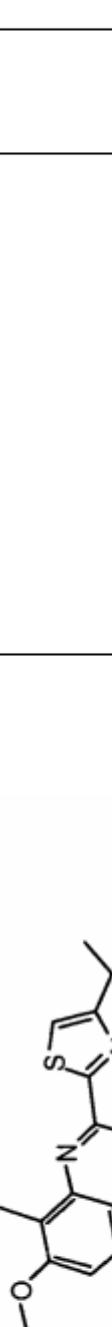
Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
247.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-4-(5-cloro-6-methoxyquinolin-1-oxi)-N-((2S)-1-(cyclopolsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropyl)pirrolidin-2-carboxamida ***			
248.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(cyclopolsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropyl)-4-(2-(4-isopropylitiazol-2-yl)-7-metoxi-8-metilquinolin-4-oxi)pirrolidin-2-carboxamida ***			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
249.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)piperidin-1-yl)butanoil)-N-((S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-8-methyl-2-(pyridin-2-yl)quinolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida		***	
250.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)piperidin-1-yl)butanoil)-N-((S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(4-isopropyltiazol-2-yl)-7-methoxy-8-methylquinolin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
251.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoyl)-N-((2S)-1-(ciclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylciclopropyl)-4-(2-(4-isopropyl)azol-2-yl)-7-metoxquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		
252.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-(3,3-difluoropiperidin-1-yl)-4-oxobutanoyl)-N-((2S)-1-(ciclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylciclopropyl)-4-(7-metoxi-8-metil-2-(pyridin-3-yl)quinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida	***		

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
253.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-oxo-4-(4-(trifluoromethyl)pyridin-1-yl)butanoyl)-N-((S)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(7-methoxy-8-methyl-2-(pyridin-3-yl)quinaldin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	
254.		(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butyl-4-(3,3-difluoropyridin-1-yl)-4-oxobutyl)-N-((1R)-1-(cyclopropylsulfonilcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(2-isopropylazol-4-yl)-7-methoxy-8-methylquinolin-4-yl)pirrolidin-2-carboxamida		***	

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	t <sub>a</sub>	MS+1
255.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(4-isopropylazol-2-yl)-7-methoxy-8-methylquinolin-4-yl)pirroldin-2-carboxamida ***			
256.		(2S,4R)-1-((S)-2-tert-butyl-4-oxo-4-(piperidin-1-yl)butanoyl)-N-((2S)-1-(cyclopropylsulfonylcarbamoyl)-2-vinylcyclopropyl)-4-(2-(4-isopropylazol-2-yl)-7-methoxy-8-methylquinolin-4-yl)pirroldin-2-carboxamida			

Comp.	ESTRUCTURA	Nombre	CE <sub>50</sub>	ta	MS+1
257.		$(2S,4R)-1-((2S)-2\text{-terc\text{-}butyl}-4-(3\text{-fluoropiperidin-1\text{-il}})-4\text{-oxobutanoil})\text{-}N\text{-}((2S)-1\text{-ciclopropilsulfonilcarbamoil})\text{-}2\text{-vinilciclopropil})\text{-}4\text{-}((2\text{-}(4\text{-isopropiltiazol-2\text{-il}})\text{-}7\text{-metoxi-8\text{-methylquinolin-4\text{-iloxi}})\text{pirrolidin-2\text{-carboxamida}}$			

\*\*\*\* (CE<sub>50</sub> < 1 micromolar), \*\* (CE<sub>50</sub> entre 1 micromolar y 10 micromolar) y \* (CE<sub>50</sub> superior a 10 micromolar)

## EJEMPLO 3. ENSAYO PARA IDENTIFICAR COMPUESTOS QUE INHIBEN LA REPLICACIÓN DEL VHC

Los compuestos que se reivindican en el presente documento se someten a ensayo para la capacidad para inhibir la replicación viral del replicón de la Hepatitis C en células cultivadas en las que se ha incorporado el constructo del replicón del HCV. El sistema de replicón del VHC se describió en Bartenschlager, *et al.* (Science, 285, páginas 110-113 (1999)). El sistema de replicón es predictivo de la actividad anti-VHC *in vivo*; los compuestos que son activos en seres humanos evidencian de forma uniforme la actividad en el ensayo del replicón.

En este ensayo, se tratan células que contienen replicón del VHC con diferentes concentraciones del compuesto de ensayo para determinar la capacidad del compuesto de ensayo para suprimir la replicación del replicón del VHC. Como un control positivo, las células que contienen el replicón del VHC se tratan con diferentes concentraciones de interferón alfa, un inhibidor conocido de la replicación del VHC. El sistema de ensayo del replicón del VHC incluye Neomicina Fosfotransferasa (NPT) como un componente del replicón en sí mismo para detectar la transcripción de los productos genéticos del replicón en la célula huésped. Las células en las que el replicón del VHC se está replicando activamente tienen niveles elevados de NPT; el nivel de NPT es proporcional a la replicación del VHC. Las células en las que el replicón del VHC no se está replicando también tienen niveles bajos de NPT y por lo tanto no sobreviven cuando se tratan con Neomicina. El nivel de NPT de cada muestra se mide usando un ELISA capturado.

A continuación se presenta un protocolo para someter a ensayo la capacidad de los compuestos para inhibir la replicación viral de células cultivadas del replicón de la Hepatitis C en las que se ha incorporado el constructo del replicón.

3A. *Replicón del VHC y Expresión del Replicón*

El genoma del VHC consiste en un solo ORF que codifica una poliproteína de 3000 aminoácidos. El ORF está flanqueado en el lado 5' por una región sin traducir que sirve como un sitio de entrada al ribosoma interno (IRES) y en el lado 3' por una secuencia altamente conservada necesaria para la replicación viral (3'-NTR). Las proteínas estructurales, necesarias para la infección vírica, se localizan cerca del extremo 5' del ORF. Las proteínas no estructurales, denominadas NS2 a NS5B comprenden el resto del ORF.

El replicón del VHC contiene, 5'-3', el VCH-IRES, el gen de la neomicina fosfotransferasa (neo), el IRES del virus de la encefalomielitis, que dirige la traducción de las secuencias del VHC de NS3 a NS5B, y el 3'-NTR. La secuencia del replicón del VHC se ha depositado en GenBank (Nº de Registro AJ242652).

El replicón se transfecta en células Huh-7 usando métodos convencionales tales como electroporación.

3B. *Mantenimiento Celular*

El equipo y los materiales incluyen, pero no se limitan a, células que contienen replicón del VHC de Huh-7, medios de mantenimiento (DMEM (medio de Eagle modificado con Dulbecco) complementado con FBS al 10 %, L-glutamina, aminoácidos no esenciales, penicilina (100 unidades/ml), estreptomicina (100 microgramos/ml), y 500 microgramos/ml de Geneticina (G418), medios de identificación sistemática (DMEM complementado con FBS al 10 %, L-glutamina, aminoácidos no esenciales, penicilina (100 unidades/ml) y estreptomicina (100 microgramos/ml)), placas para cultivo de tejidos de 96 pocillos (fondo plano), placas de 96 pocillos (fondo en U para dilución de fármacos), Interferón alfa para control positivo, reactivo de fijación (tal como metanol: acetona), anticuerpo primario (conejo anti-NPTII), anticuerpo secundario: Eu-N11, y solución de potenciación.

Las células que contienen el replicón del VHC soportan altos niveles de replicación del replicón del ARN viral cuando su densidad es adecuada. La sobreconfluencia causa disminución de la replicación del ARN viral. Por lo tanto, las células se deben mantener en crecimiento en fase logarítmica en presencia de 500 microgramos/ml de G418. Generalmente, las células deberían pasar dos veces a la semana una dilución de 1: 4-6. El mantenimiento celular se realiza como sigue a continuación:

Las células que contienen el replicón del VHC se examinan con un microscopio para asegurar que las células crecen bien. Las células se aclaran una vez con PBS y se añaden 2 ml de tripsina. La mezcla de células/tripsina se incuba a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub> durante 3-5 minutos. Despues de la incubación, se añaden 10 ml de medios completos para detener la reacción de tripsinización. Las células se extraen con cuidado, se ponen en un tubo de 15 ml, y se centrifugan a 1200 rpm durante 4 minutos. La solución de tripsina/ medio se retira. Se añade medio (5 ml) y las células se mezclan cuidadosamente. Se hace el recuento de las células.

A continuación, las células se siembran en placas de 96 pocillos a una densidad de 6000-7500 células/100 microlitros/ pocillo (6-7,5 x 10<sup>5</sup> células/10 ml/placa). A continuación, las placas se incuban a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5 %.

Las células se examinan con un microscopio aproximadamente 24 horas después de la siembra y antes de añadir los fármacos. Si el recuento y la dilución se realizaron correctamente, las células son confluentes en un 60-70 % y casi todas las células deberían unirse y extenderse uniformemente en el pocillo.

5      *3C. Tratamiento de células que contienen replicón del VHC con Compuesto de Ensayo*

Las células que contienen el replicón del VHC se aclaran una vez con PBS; a continuación se añaden 2 ml de tripsina. Las células se incuban a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5 % durante 3-5 minutos. Se añaden 10 ml de medio completo para detener la reacción. Las células se extraen con cuidado, se ponen en un tubo de 15 ml, y se centrifugan a 1200 rpm durante cuatro minutos. La solución de tripsina/medio se retira y se añaden 5 ml de medio (500 ml de DMEM (alta glucosa)) del N° de catálogo 12430-054 de BRL; 50 ml de FBS al 10 %, Geneticina G418 al 5 % (50 mg/ml, N° de catálogo 10131-035 de BRL), 5 ml de aminoácidos no esenciales MEM (100x del N° 11140-050 de BRL) y se añaden 5 ml de pen-estrep (N° 15140-148 de BRL). Las células y los medios se mezclan cuidadosamente.

10     Las células se siembran con medio de identificación sistemática (500 ml de DMEM (N° 21063-029 de BRL), 50 ml de FBS (N° 10082-147 de BRL) y 5 ml de aminoácidos no esenciales MEM (N° 11140-050 de BRL) a 6000-7500 células/100 µl/pocillo de placa de 96 pocillos (6-7,5 x 10<sup>5</sup> células/10 ml/placa). Las placas se colocan en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5 % a 37 °C durante una noche.

15     *3D. Ensayo*

20     A la mañana siguiente, los fármacos (compuestos de ensayo o interferón alfa) se diluyen en placas de fondo en U de 96 pocillos con medios o con DMSO/medios, dependiendo de la concentración final elegida para la identificación sistemática. Generalmente para 6 concentraciones de cada ensayo se aplican compuestos que varían de 10 micromolar a 0,03 micromolar. Se colocan 100 µl de la dilución del compuesto de ensayo en pocillos de la placa de 96 pocillos que contienen las células del replicón del VHC. Se añade en medios sin fármaco a algunos pocillos como un control negativo. Se sabe que el DMSO afecta al crecimiento celular. Por lo tanto, si se usan fármacos diluidos en DMSO, todos los pocillos, incluyendo los pocillos de control negativo (medios solamente) y control positivo (interferón alfa), deben contener la misma concentración de DMSO, para identificación sistemática de la dosis individual. Las placas se incuban a 37 °C en un entorno de CO<sub>2</sub> al 5 % humidificador durante tres días.

25     En el día cuatro, se cuantifica el ensayo de NTPII. El medio se vierte desde las placas y las placas se lavan una vez en 200 µl de PBS. A continuación el PBS se decanta y las placas se golpean suavemente en una toalla de papel para retirar cualquier resto de PBS. Las células se fijan *in situ* con 100 µl/pocillo de metanol:acetona (1:1) enfriados previamente (-20 °C) y las placas colocan a -20 °C durante 30 minutos.

30     La solución de fijado se vierte desde las placas y se permite que las placas se sequen al aire completamente (aproximadamente una hora). El aspecto de la capa celular seca se registra en la densidad de las Células en los potrillos tóxicos se puntuá a simple vista. Como alternativa, se puede evaluar la viabilidad celular usando el ensayo de MTS que se describe a continuación.

35     Los pocillos se bloquean con 200 µl de solución de bloqueo (FBS al 10 %; NGS al 3 % en PBS) durante 30 minutos a temperatura ambiente. La solución de bloqueo se retira y se añaden a cada pocillo 100 µl de conejo anti-NPTII diluidos a 1:1000 en solución de bloqueo. A continuación las placas se incuban 45-60 minutos a temperatura ambiente. Despues de la incubación, los pocillos se lavan seis veces con solución de PBS-Tween-20 al 0,05 %. Se añaden a cada pocillo 100 µl de cabra anti-conejo conjugado con Europio (EU) diluido a 1:15.000 en tampón de bloqueo y se incuba a temperatura ambiente durante 30-45 minutos. Las placas se lavan de nuevo y se añaden a cada pocillo 100 µl de solución de potenciación (N° 4001-0010 de Perkin Elmer). Cada placa se agita (aprox. 30 rpm) en un agitador de placas durante tres minutos. Se transfieren 95 µl desde cada pocillo a una placa de color negro; la señal de EU se cuantifica en un lector de placas VICTOR de Perkin-Elmer (EU-Lance).

40     Cuando en este ensayo se someten a ensayo los Compuestos 11, 16, 25, 33, 38, 39, y 40, éstos presentan valores de CE<sub>50</sub> de aproximadamente 10 micromolar o inferior.

45     **EJEMPLO 4. ENSAYOS DE CITOTOXICIDAD**

45     Para asegurar que la disminución de la replicación del replicón se debe a la actividad del compuesto frente al replicón del VHC se usan en lugar de ensayos de toxicidad no específicos para cuantificar la citotoxicidad del compuesto.

50     *4A. Ensayos de albúmina de proteína celular para citotoxicidad*

55     Las medidas de albúmina de proteína celular proporcionan un marcador de citotoxicidad. Los niveles de proteína obtenidos a partir de ensayos de albúmina celular también se pueden usar para proporcionar una referencia de normalización para la actividad antiviral de los compuestos. En el ensayo de albúmina de proteína se tratan células

que contienen el replicón del VHC durante tres días con diferentes concentraciones de helioxantina; un compuesto que se conoce por que es citotóxico a concentraciones elevadas. Las células se lisan y el lisado celular se usa para unir anticuerpo de cabra anti-albúmina unido a placa a temperatura ambiente (de 25 °C a 28 °C) durante 3 horas. A continuación la placa se lava 6 veces con 1X de PBS. Después de retirar por lavado las proteínas sin unir, se aplica a albúmina de suero anti-humano monoclonal de ratón para unir la albúmina en la placa. A continuación el complejo se detecta usando IgG de anti-ratón marcada con fosfatasa como un segundo anticuerpo.

5 **4B. Ensayo de MTS para Citotoxicidad**

10 La viabilidad celular también se puede determinar con Ensayo de Proliferación Celular de Solución CELLTITER 96 AQUEOUS ONE (Promega, Madison WI), un ensayo colorimétrico para determinar el número de células viables. En este método, antes de fijar las células, se añaden a cada pocillo 10-20 µl de reactivo de MTS de acuerdo con las instrucciones del fabricante, las placas se incuban a 37 °C y se leen a una DO de 490 nm. Durante el periodo de incubación las células vivas encubren el reactivo de MTS a un producto de formazán que absorbe a 490 nm. Por lo tanto, la absorbancia a 490 nm es directamente proporcional al número de células vivas en cultivo.

15 Se puede obtener una comparación directa de los métodos de Albúmina Celular y MTS para determinar la citotoxicidad tal como sigue a continuación: Las células se tratan con diferentes concentraciones de compuesto de ensayo o Helioxantina durante un periodo de tres días. Antes de la lisis para detección de albúmina tal como se ha descrito anteriormente, el reactivo de MTS se añade de acuerdo con las instrucciones del fabricante a cada pocillo y se incuba a 37 °C y se lee a DO de 490 nm. La cuantificación de la albúmina celular se realiza a continuación tal como se ha descrito anteriormente.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el compuesto es:

- 5 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(piridin-2-il)-8,9-dihidrofuro[2,3-h]quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; (152)
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-morfolino-4-oxobutanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(piridin-2-il)-8,9-dihidrofuro[2,3-h]quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; (153)
- 10 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; (165)
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; (179)
- 15 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-morfolino-4-oxobutanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; (180)
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; (181)
- N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-3-il)-9H-carbazol-9-carboxamida; (183)
- 20 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(4,4-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; (194)
- N-((3R,5S)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-5-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-3-il)-2-fenilquinolin-4-carboxamida; (201)
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; 206
- 25 (2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(2-(trifluorometil)pirrolidin-1-il)butanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; 207
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; 208
- 30 (2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-4-(8-cloro-7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; 209
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 214
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 215
- 35 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(4,4-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 216
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 217
- 40 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(4-fluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 218
- (2S,4R)-1-((2S)-2-terc-butil-4-(3-fluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 219
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoroazetidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 223
- 45 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3-cloroazetidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 224
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(4-isopropilittazol-2-il)-7-metoxiquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 230
- 50 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(8-metoxi-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 231
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(piridin-2-il)-8,9-dihidro-7H-ciclopenta[h]quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 237
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(isopropilamino)tiazol-4-il)-7-metoxi-8-metilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 238
- 55 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 239
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 240
- 60 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-fenilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 241
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(piperidin-1-il)butanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(piridin-2-il)-8,9-dihidro-7H-ciclopenta[h]quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 242
- (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-4-(5-cloro-6-metoxi-3-(piridin-2-il)isoquinolin-1-iloxi)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; 244
- 65 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 236

(2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-4-(5-cloro-6-metoxiisoquinolin-1-iloxi)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)pirrolidin-2-carboxamida; 247  
 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(4-isopropiltiazol-2-il)-7-metoxi-8-metilquinolin4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 248  
 5 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-N-((S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-(piridin-2-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 249  
 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-N-((S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(4-isopropiltiazol-2-il)-7-metoxi-8-metilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 250  
 10 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(4-isopropiltiazol-2-il)-7-metoxi-8-metilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 251  
 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)4-oxobutanoil)-N-((2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-(piridin-3-il)quinolin4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 252  
 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-oxo-4-(4-(trifluorometil)piperidin-1-il)butanoil)-N-((S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(7-metoxi-8-metil-2-(piridin-3-il)quinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 253 o  
 15 (2S,4R)-1-((S)-2-terc-butil-4-(3,3-difluoropiperidin-1-il)-4-oxobutanoil)-N-((1R)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropil)-4-(2-(2-isopropiltiazol-4-il)-7-metoxi-8-metilquinolin-4-iloxi)pirrolidin-2-carboxamida; 254.

2. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos o sales de la reivindicación 1, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20

3. Un compuesto de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de la infección por hepatitis C.