

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 540 052**

51 Int. Cl.:

C07D 405/14 (2006.01)

A61K 31/4178 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2012 E 12704582 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2015 EP 2673271**

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

30 Prioridad:

07.02.2011 US 201161440086 P

25.03.2011 US 201161467602 P

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

08.07.2015

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

**BENDER, JOHN A.;
LOPEZ, OMAR D.;
WANG, GAN;
BELEMA, MAKONEN y
KADOW, JOHN F.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 540 052 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores del virus de la hepatitis C

5 En general, la presente descripción se refiere a compuestos antivirales, y más específicamente, a compuestos que pueden inhibir la función de la proteína NS5A codificada por el virus de la hepatitis C (HCV), las composiciones que comprenden dichos compuestos y métodos para inhibir la función de la proteína NS5A.

10 El HCV es un patógeno humano de gran importancia que se calcula infecta a alrededor de 170 millones de personas en todo el mundo - aproximadamente cinco veces la cantidad de infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. Una fracción considerable de estos individuos infectados con HCV desarrolla enfermedad hepática progresiva grave, que incluye cirrosis y carcinoma hepatocelular.

15 En la actualidad, el tratamiento de referencia contra HCV, que utiliza una combinación de ribavirin e interferón pegilado, presenta una tasa de éxito que no es óptima para lograr una respuesta viral sostenida, y provoca varios efectos secundarios. Por ello, desde hace tiempo existe una necesidad clara de desarrollar terapias eficaces para atender esta necesidad médica insatisfecha.

20 El HCV es un virus de ARN de cadena positiva. En función de una comparación de la secuencia de aminoácidos deducida y la gran similitud en la región 5' no traducida, el HCV se clasificó como un género separado en la familia *Flaviviridae*. Todos los miembros de la familia *Flaviviridae* tienen viriones envueltos que contienen un genoma de ARN de cadena positiva que codifica todas las proteínas específicas del virus conocidas mediante la traducción de un marco de lectura abierto simple, ininterrumpido.

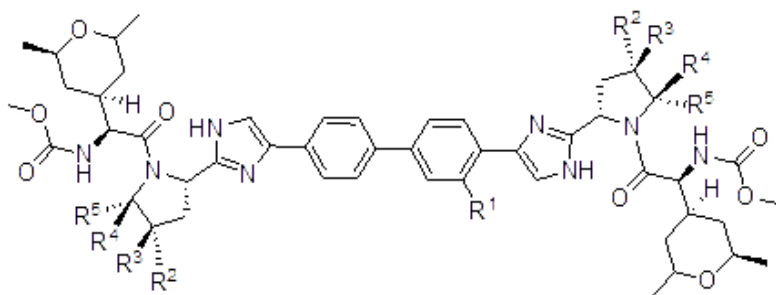
25 Existe una importante heterogeneidad en el nucleótido y la secuencia de aminoácidos codificada en todo el genoma de HCV debido a una alta tasa de error de la ARN polimerasa dependiente de ARN codificado que carece de capacidad de corrección de errores. Se caracterizaron al menos seis genotipos principales, y se describieron más de 50 subtipos con distribución en todo el mundo. La importancia clínica de la heterogeneidad genética del HCV demostró propensión a mutaciones durante el tratamiento con monoterapia; por ello, se necesitan opciones de
30 tratamiento adicionales. El posible efecto modulador de los genotipos en la patogénesis y la terapia continúan aún son difíciles de dilucidar.

35 El genoma de ARN de HCV monocatenario tiene, aproximadamente, 9500 nucleótidos de longitud y tiene un marco de lectura abierto (ORF) simple que codifica una gran poliproteína simple de alrededor de 3000 aminoácidos. En las células infectadas, esta poliproteína se escinde en múltiples sitios mediante proteasas celulares y virales para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso de HCV, la generación de proteínas no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se lleva a cabo mediante dos proteasas virales. Se cree que la primera es una metaloproteasa y se escinde en la unión NS2-NS3; la segunda es una serina proteasa que se encuentra en la región del terminal N de NS3 (en la presente, también denominada NS3 proteasa) y media
40 todas las escisiones posteriores corriente abajo de NS3, tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para los sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B restantes. Se cree que la proteína NS4A cumple varias funciones actuando como cofactor para NS3 proteasa y colaborando en la localización de membranas de NS3 y otros componentes de la replicasa viral. Es necesaria la formación de un complejo NS3-NS4A para la actividad de proteasa adecuada, lo que resulta en una mayor eficacia proteolítica de los eventos de escisión. La proteína NS3
45 también muestra actividades de nucleósido-trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B (en la presente, también denominada HCV polimerasa) es una ARN polimerasa dependiente de ARN que participa en la replicación del genoma del HCV con otras proteínas de HCV, inclusive NS5A, en un complejo de replicasa.

50 Se pretende obtener compuestos útiles para tratar a los pacientes infectados con HCV, que inhiben selectivamente la replicación viral de HCV. En particular, se pretende obtener compuestos que sean eficaces para inhibir la función de la proteína NS5A. La proteína HCV NS5A se describe, por ejemplo, en las siguientes referencias: S. L. Tan, et al., *Virology*, 284:1-12 (2001); K.-J. Park, et al., *J. Biol. Chem.*, 30711-30718 (2003); T. L. Tellinghuisen, et al., *Nature*, **435**, 374 (2005); R. A. Love, et al., *J. Virol.*, **83**, 4395 (2009); N. Appel, et al., *J. Biol. Chem.*, **281**, 9833 (2006); L. Huang, *J. Biol. Chem.*, **280**, 36417 (2005); C. Rice, et al., WO2006093867.

55 Bachand, *et. al.* en WO2008/021927, publicado el 21 de febrero de 2008, describen una serie de compuestos de bifenilo útiles para el tratamiento del virus de la hepatitis C. Los nuevos compuestos de la presente descripción están comprendidos en la definición de Fórmula en WO2008/021927 y no se describen en Bachand, *et al.* De manera sorprendente, se descubrió que estos compuestos tienen atributos únicos que los hacen útiles para el tratamiento
60 del virus de la hepatitis C.

En un primer aspecto, la presente descripción provee un compuesto de la Fórmula (I)



(I),

o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde

R¹ se selecciona de hidrógeno, metilo y flúor;

5 R² se selecciona de hidrógeno y metilo;

R³ y R⁴ son, cada uno, hidrógeno; o

R³ y R⁴, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo de ciclopropilo; y

R⁵ se selecciona de hidrógeno y metilo.

10 En una primera forma de realización del primer aspecto, la presente descripción provee un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde R¹ es hidrógeno.

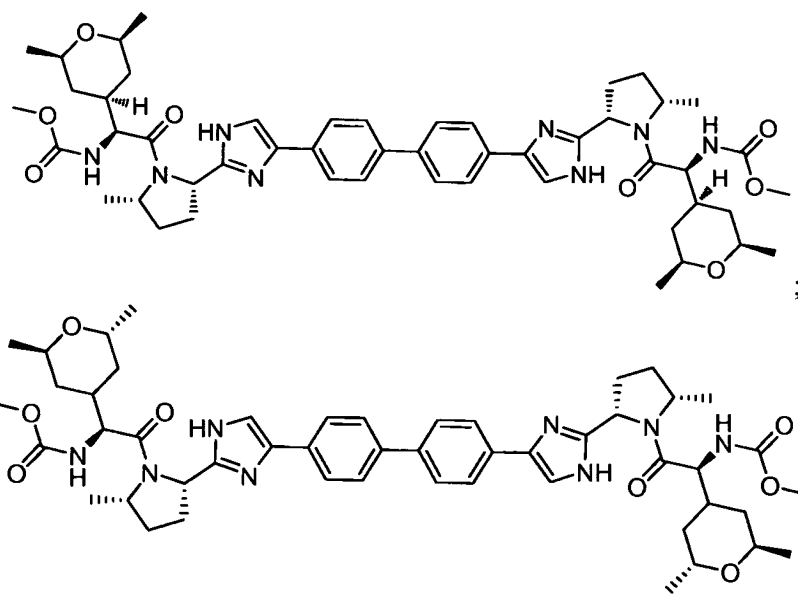
En una segunda forma de realización del primer aspecto, la presente descripción provee un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde R¹ es flúor. En una tercera forma de realización, R², R³ y R⁴ son, cada uno, hidrógeno, y R⁵ es metilo.

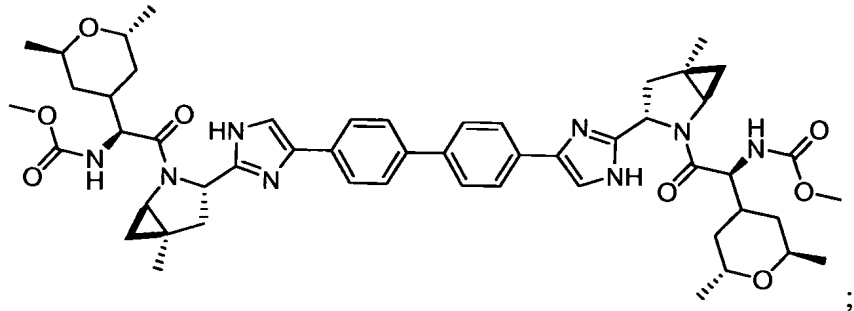
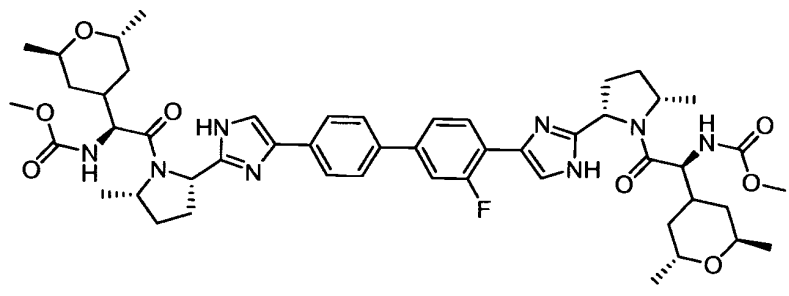
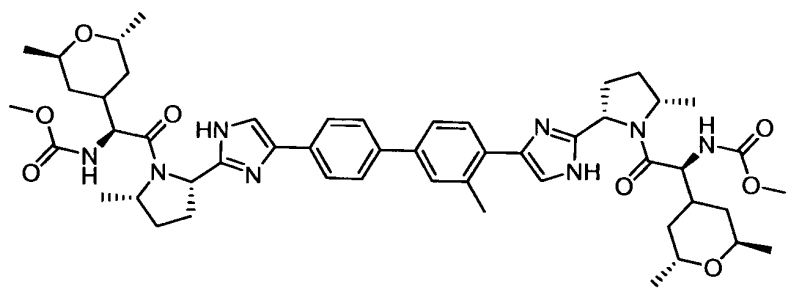
15

En una cuarta forma de realización del primer aspecto, la presente descripción provee un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde R¹ es metilo. En una quinta forma de realización, R², R³ y R⁴ son, cada uno, hidrógeno, y R⁵ es metilo.

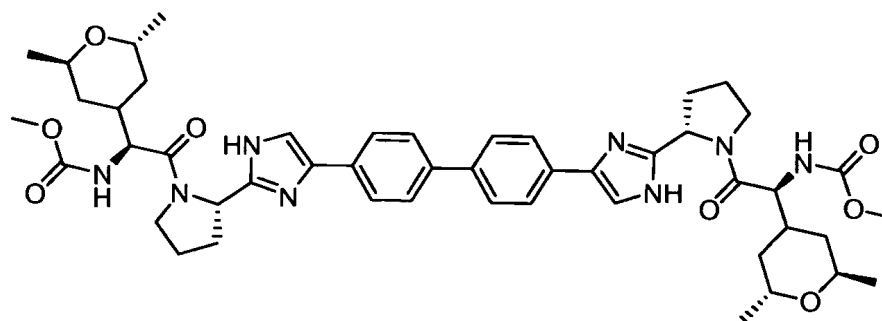
20

En un segundo aspecto, la presente descripción provee un compuesto seleccionado de





y



5

o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

10 En un tercer aspecto, la presente descripción provee una composición que comprende un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En una primera forma de realización del tercer aspecto, la composición también comprende uno, dos o tres compuestos adicionales que tienen actividad contra el HCV. En una segunda forma de realización del tercer aspecto, al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o ribavirin. En una tercera forma de realización, el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, 15 interferón alfa 2A, interferón lambda e interferón tau linfoblastoide.

20 En una cuarta forma de realización del tercer aspecto, la presente descripción provee una composición que comprende un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico y uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad contra el HCV, en donde al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de la respuesta de los linfocitos T *helper* (linfocitos T auxiliares) tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, imiqimod, ribavirin, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadine y rimantadine.

25 En una quinta forma de realización del tercer aspecto, la presente descripción provee una composición que comprende un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, un

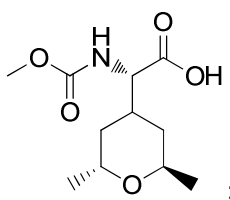
vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico y uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad contra el HCV, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada de metaloproteasa de HCV, serina proteasa de HCV, polimerasa de HCV, Helicasa de HCV, proteína NS4B de HCV, entrada de HCV, montaje de HCV, egreso de HCV, proteína NS5A de HCV e IMPDH para el tratamiento de infección por HCV.

En un cuarto aspecto, la presente descripción provee un compuesto de Fórmula (I), o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, para su uso en un método para tratar una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En una primera forma de realización del cuarto aspecto el compuesto de Fórmula (I), o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, para su uso en un método también comprende administrar 1, 2 o 3 compuestos adicionales que tienen actividad contra el HCV antes, durante o después de la administración del compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En una segunda forma de realización del cuarto aspecto, al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o ribavirin. En una tercera forma de realización del cuarto aspecto, el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón lambda e interferón tau linfoblastoide.

En una cuarta forma de realización del cuarto aspecto, la presente descripción provee un compuesto de Fórmula (I), o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, para su uso en un método para tratar una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, y uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad contra el HCV antes, durante o después de la administración del compuesto de la Fórmula (I) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de la respuesta de los linfocitos T *helper* tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, imiquimod, ribavirin, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadine y rimantadine.

En una quinta forma de realización del cuarto aspecto, la presente descripción provee un compuesto de Fórmula (I), o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, para su uso en un método para tratar una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, y uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad contra el HCV antes, durante o después de la administración del compuesto de la Fórmula (I) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada de metaloproteasa de HCV, serina proteasa de HCV, polimerasa de HCV, helicasa de HCV, proteína NS4B de HCV, entrada de HCV, montaje de HCV, egreso de HCV, proteína NS5A de HCV e IMPDH para el tratamiento de infección por HCV.

En otro aspecto, la presente descripción provee un compuesto que es



o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otras formas de realización de la presente descripción pueden comprender combinaciones adecuadas de dos o más de las formas de realización y/o aspectos que se describen en la presente.

Sin embargo, otras formas de realización y aspectos de la descripción serán evidentes de acuerdo con la descripción que se provee más adelante.

Los compuestos de la presente descripción también existen como tautómeros; por lo tanto, la presente descripción también comprende todas las formas tautoméricas.

La descripción de la presente descripción se debe interpretar de acuerdo con las leyes y los principios de la unión química.

Se debe tener en cuenta que los compuestos incluidos en la presente descripción son aquellos que son adecuadamente estables para usar como agentes farmacéuticos.

En caso de inconsistencia, la presente descripción, incluso sus definiciones, prevalecerá.

Como se usan en la presente memoria descriptiva, los siguientes términos tienen los significados indicados:

Como se usan en la presente, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen la referencia al plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

5 En los compuestos de la presente descripción existen centros asimétricos. Estos centros se indican con los símbolos “R” o “S”, según la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono quiral. Se debe tener en cuenta que la descripción abarca todas las formas isoméricas estereoquímicas, o sus mezclas, que tienen la capacidad de inhibir NS5A. Los estereoisómeros individuales de los compuestos se pueden preparar sintéticamente
10 de materiales de inicio disponibles en el comercio que contienen centros quirales o mediante la preparación de mezclas de productos estereoisoméricos, seguido de separación, tal como la conversión en una mezcla de diastereómeros, seguido de separación o recristalización, técnicas cromatográficas, o separación directa en columnas cromatográficas quirales. Los compuestos de inicio de estereoquímica particular están disponibles en el comercio o pueden prepararse y resolverse mediante técnicas conocidas en el arte.

15 Ciertos compuestos de la presente descripción también pueden existir en diferentes formas conformacionales estables que se pueden separar. La asimetría de torsión causada por la rotación restringida alrededor de un enlace simple asimétrico, por ejemplo, por impedimento estérico o tensión del anillo, puede permitir la separación de diferentes conformeros. La presente descripción incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y sus
20 mezclas.

La expresión “compuestos de la presente descripción”, y expresiones equivalentes, abarcan compuestos de la Fórmula (I), y enantiómeros, diastereómeros y sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico. De manera similar, las referencias a intermediarios pretenden abarcar sus sales, cuando el contexto lo permita.

25 Se pretende que la presente descripción incluya todos los isótopos de átomos que ocurren en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números másicos. A fin de brindar ejemplos generales y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Por lo general, los compuestos de la invención rotulados de manera isotópica se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en el arte o mediante
30 procesos análogos a los que se describen en la presente, usando un reactivo adecuado rotulado de manera isotópica en lugar de un reactivo no rotulado. Dichos compuestos pueden tener diversos usos posibles, por ejemplo, como estándares y reactivos para determinar la actividad biológica. En el caso de isótopos estables, es posible que dichos compuestos tengan el potencial de modificar favorablemente propiedades biológicas, farmacológicas o farmacocinéticas.

Los compuestos de la presente descripción pueden existir como sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Como se usa en la presente, la expresión “sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico”
40 representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente descripción que son solubles o dispersables en agua o aceite, que son adecuadas, dentro del alcance del criterio médico sensato, para usar en contacto con los tejidos de los pacientes sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica ni otros problemas o complicaciones proporcionales con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para el uso previsto. Las sales se pueden preparar durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos o, en forma separada, mediante la reacción de un átomo de nitrógeno adecuado con un ácido adecuado. Las sales de adición
45 ácida representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencensulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato; digluconato, dibromhidrato, diclorhidrato, diyodhidrato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietansulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metansulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalensulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluensulfonato y undecanoato. Los ejemplos de ácidos que se pueden usar para formar sales de adición aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y ácidos orgánicos, tales como ácido oxálico, maleico, succínico y cítrico.

55 Cuando sea posible que, para usar en terapia, se puedan administrar cantidades terapéuticamente eficaces de un compuesto de la Fórmula (I) y las sales de este aceptables desde el punto de vista farmacéutico como producto químico sin tratar, es posible presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica. En consecuencia, la descripción también provee composiciones farmacéuticas, que incluyen cantidades terapéuticamente eficaces de compuestos de la Fórmula (I), o sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y uno o más
60 vehículos, diluyentes o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz”, como se usa en la presente, se refiere a la cantidad total de cada componente activo que es suficiente para mostrar un beneficio significativo para el paciente, por ejemplo, una reducción de la carga viral. Cuando se aplica a un ingrediente activo individual, administrado solo, la expresión se refiere a ese ingrediente solo. Cuando se aplica a una combinación, la expresión se refiere a cantidades combinadas de ingredientes activos que producen el efecto terapéutico, ya sea que se administren de manera combinada, serial o simultánea. Los
65 compuestos de la Fórmula (I) y sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, son como se

describieron anteriormente. El/los vehículo(s), diluyente(s) o excipiente(s) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para su receptor. De acuerdo con otro aspecto de la presente descripción, también se provee un proceso para preparar una formulación farmacéutica, que incluye mezclar un compuesto de la Fórmula (I) o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Como se usa en la presente, la expresión "aceptable desde el punto de vista farmacéutico" se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del criterio médico sensato, son adecuados para usar en contacto con los tejidos de los pacientes sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica ni otros problemas o complicaciones proporcionales con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para el uso previsto.

Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de unidad de dosificación que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por unidad de dosis. Los niveles de dosificación de alrededor de 0,01 a alrededor de 250 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal por día, preferentemente, de alrededor de 0,05 a alrededor de 100 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos de la presente descripción son típicos en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de la enfermedad mediada por HCV. Por lo general, las composiciones farmacéuticas de esta descripción se administrarán de alrededor de 1 a alrededor de 5 veces por día o, de manera alternativa, como una infusión continua. Dicha administración puede usarse como terapia crónica o aguda. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con los materiales vehículos para producir una forma de dosificación única variará según la afección que se trate, la gravedad de la afección, el tiempo de administración, la vía de administración, la tasa de excreción del compuesto que se utiliza, la duración del tratamiento, y la edad, el sexo, el peso y la afección del paciente. Las formulaciones de unidad de dosificación preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria, como se indicó anteriormente en la presente, o una fracción de adecuada de estas, de un ingrediente activo. El tratamiento puede iniciarse con pequeñas dosis que sean considerablemente menores que la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, la dosis se aumenta mediante pequeños incrementos hasta alcanzar el efecto óptimo según las circunstancias. En general, con máxima preferencia, el compuesto se administra a un nivel de concentración que, con frecuencia, brindará resultados antivirales eficaces sin causar ningún efecto secundario dañino ni perjudicial.

Cuando las composiciones de esta descripción comprenden una combinación de un compuesto de la presente descripción y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional, por lo general, están presentes en niveles de dosificación de alrededor de 10 a 150 % y, con mayor preferencia, de alrededor de 10 a 80 % de la dosis que habitualmente se administra en un régimen de monoterapia.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración mediante cualquier vía adecuada, por ejemplo, por vía oral (incluso, bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluso bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluso, infusiones o inyecciones subcutáneas, intracutáneas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales, intravenosas o intradérmicas). Las formulaciones se pueden preparar mediante cualquier método conocido en el arte de la farmacia, por ejemplo, asociando el ingrediente activo con el vehículo o excipiente. Se prefieren la administración oral o la administración por inyección.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral se pueden presentar como unidades diferenciadas, tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o en emulsiones líquidas de aceite-agua o emulsiones de agua-aceite.

Por ejemplo, para la administración oral en forma de comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un vehículo oral, no tóxico, aceptable desde el punto de vista farmacéutico e inerte, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan al pulverizar el compuesto hasta obtener un tamaño fino adecuado y mezclarlo con un vehículo farmacéutico triturado de modo similar, tal como un hidrato de carbono comestible, por ejemplo, almidón o manitol. También puede haber saborizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

Las cápsulas se obtienen al preparar una mezcla en polvo, como se describió anteriormente, y rellenar las vainas de gelatina formadas. Se pueden agregar deslizantes o lubricantes, tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de relleno. También se puede agregar un agente desintegrante o solubilizante, tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento al momento de ingerir la cápsula.

Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar en la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes de desintegración y colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como glucosa o beta-lactosa, endulzantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y similares. Los lubricantes que se usan en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los desintegrantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, betonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, mediante la preparación de una mezcla en polvo, la granulación o compresión (*slugging*), la adición de un

lubricante y desintegrante, y el prensado en forma de comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara al mezclar el compuesto, triturado de modo adecuado, con un diluyente o una base, como se describió anteriormente, y como opción, con un aglutinante, tal como carboximetilcelulosa, un alginato, agente de gelificación o polivinilpirrolidona, un retardador de la solución, tal como parafina, un acelerador de la resorción, tal como una sal cuaternaria, y/o un agente de absorción, tal como betonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo se puede granular al humedecerla con un aglutinante, tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos, y hacerla pasar a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla en polvo se puede hacer correr a través de la máquina formadora de comprimidos para obtener trozos con forma imperfecta que se quiebran en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se peguen a los moldes formadores de comprimidos mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada luego se compacta en comprimidos. Los compuestos de la presente descripción también se pueden combinar con un vehículo inerte de flujo libre y compactar en forma de comprimidos directamente sin recurrir a las etapas de granulación o compresión. Se puede proveer un recubrimiento protector transparente u opaco, que consiste en una capa selladora de laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento de cera. Se pueden agregar colorantes a estos recubrimientos para distinguir las diferentes unidades de dosificación.

Se pueden preparar fluidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires, en forma de unidad de dosificación, de manera que una cierta cantidad contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar al disolver el compuesto en una solución acuosa adecuadamente saborizada, mientras que los elixires se pueden preparar mediante el uso de un vehículo no tóxico. También se pueden agregar solubilizantes y emulgentes, tales como alcoholes de isoestearilo etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos saborizantes, tales como aceite de menta o endulzantes naturales, o sacarina u otros endulzantes artificiales y similares.

Cuando correspondiese, las formulaciones de unidad de dosificación para la administración oral se pueden microencapsular. La formulación también se puede preparar para prolongar o mantener la liberación, por ejemplo, mediante el recubrimiento o la inclusión del material particulado en polímeros, ceras o similares.

Los compuestos de la Fórmula (I) y las sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico también se pueden administrar en forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar de varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de la Fórmula (I) y las sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico también se pueden suministrar mediante el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales con los que se unen las moléculas del compuesto. Los compuestos también se pueden acoplar con polímeros solubles como vehículos de fármacos direccionables. Esos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidafenol, polihidroxietilaspirtamidafenol o polietilenoóxido-polilisina sustituida con residuos de palmitoílo. Además, los compuestos se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, polepsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliactales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfipáticos de Hidrogeles.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica se pueden presentar como parches diferenciados que se pretende permanezcan en contacto directo con la epidermis del receptor durante un período prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede suministrar desde el parche mediante iontoforesis, como se describe, en general, en *Pharmaceutical Research* 1986, 3(6), 318.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, *sprays*, aerosoles o aceites.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal se pueden presentar como supositorios o enemas.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal, en las que el vehículo es un sólido, incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el rango de 20 a 500 micrómetros, que se administra de la manera en que se proporciona el medicamento, es decir, mediante la rápida inhalación a través del pasaje nasal desde un recipiente del polvo sostenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas para la administración como pulverizador nasal o gotas para la nariz, en las que el vehículo es un líquido, incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración por inhalación incluyen vaporizaciones o polvillos de partículas finas, que se pueden generar mediante varios tipos de aerosoles, nebulizadores o insufladores dosificadores.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones pulverizables.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación se vuelva isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosis única o de múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en condiciones de secado por congelación (liofilizadas) que solo requieren la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de usarlas. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Se debe tener en cuenta que, además de los ingredientes mencionados en particular anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en el arte teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión; por ejemplo, los que sean adecuados para la administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

El término "paciente" incluye seres humanos y otros mamíferos.

El término "tratar" se refiere a: (i) prevenir una enfermedad, un trastorno o una afección en un paciente que puede tener predisposición a la enfermedad, el trastorno y/o la afección, pero que aún no se le ha diagnosticado; (ii) inhibir la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, detener su desarrollo; y (iii) aliviar la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, causar la regresión de la enfermedad, del trastorno o de la afección.

Los compuestos de la presente descripción también pueden administrarse con ciclosporina, por ejemplo, ciclosporina A u otros análogos que actúan mediante un mecanismo similar. En ensayos clínicos, se demostró que la ciclosporina A es eficaz contra HCV (*Hepatology* 2003, 38, 1282; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 313, 42; *J. Gastroenterol.* 2003, 38, 567).

En la siguiente Tabla 1 se enumeran algunos ejemplos de compuestos que pueden administrarse con los compuestos de esta descripción. Los compuestos de la descripción pueden administrarse con otros compuestos activos contra el HCV en una terapia de combinación, ya sea de manera conjunta o separada, o combinando los compuestos en una composición.

Tabla 1

Nombre comercial	Clase fisiológica	Tipo de inhibidor o diana	Empresa de origen
NIM811		Inhibidor de ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Inmunomodulador	Sciclone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista de TLR9	Coley
Batabulin (T67)	Anticancerígeno	Inhibidor de β -tubulina	Tularik Inc., South San Francisco, CA
ISIS 14803	Antiviral	antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., Nueva York, NY
Summetrel	Antiviral	antiviral	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	Antiviral	Inhibidor de HCV	Achillion / Gilead
Compuestos de pirazolopirimidina y sales de WO-2005047288 26 de mayo de 2005	Antiviral	Inhibidores de HCV	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirin	Antiviral	Inhibidor de IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Merimepodib (VX-497)	Antiviral	Inhibidores de IMPDH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antiviral	Anticuerpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Israel
Telaprevir (VX-950, LY-570310)	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa de NS3	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly and Co. Inc., Indianápolis, IN

ES 2 540 052 T3

HCV-796	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Wyeth / Viropharma
NM-283	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Idenix / Novartis
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Gene Labs / Novartis
GL-60667	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Gene Labs / Novartis
2'C MeA	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Gilead
PSI 6130	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Roche
R1626	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Roche
2'C Metil adenosina	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Merck
JTK-003	Antiviral	Inhibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokio, Japón
Levovirin	Antiviral	Ribavirin	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
Ribavirin	Antiviral	Ribavirin	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidine	Antiviral	Profármaco Ribavirin	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Heptazyme	Antiviral	Ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
SCH 503034	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
Zadazim	Inmunomodulador	Inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Ceplene	Inmunomodulador	Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
CellCept	Inmunosupresor	Inmunosupresor de IgG de HCV	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Civacir	Inmunosupresor	Inmunosupresor de IgG de HCV	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL
Albuferon - α	Interferón	Albúmina IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferón	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
Omega IFN	Interferón	IFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β y EMZ701	Interferón	IFN- β y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá
Rebif	Interferón	IFN- β 1a	Serono, Ginebra, Suiza
Roferon A	Interferón	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Intron A	Interferón	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ

ES 2 540 052 T3

Intron A y Zadaxin	Interferón	IFN- α 2b/ α 1-timosina	RegeneRx Biopharma. Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Rebetron	Interferón	IFN- α 2b/ribavirin	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferón	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, CA
Interferon- β	Interferón	Interferón- β -1a	Serono
Multiferon	Interferón	IFN de larga duración	Viragen/ Valentis
Wellferon	Interferón	IFN- α 1 linfoblastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, Reino Unido
Omniferon	Interferón	IFN- α natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferón	IFN- α 2a PEGilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Pegasys y Ceplene	Interferón	IFN- α 2a PEGilado / inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Pegasys y Ribavirin	Interferón	IFN- α 2a PEGilado /ribavirin	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
PEG-Intron	Interferón	IFN- α 2b PEGilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron / Ribavirin	Interferón	IFN- α 2b PEGilado /ribavirin	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Protección Hepática	Antifibrótico	Indevis Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Protección Hepática	Inhibidor de caspasa	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
ITMN-191 (R-7227)	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de NS5B replicasa	Genelabs
ANA-971	Antiviral	Agonista de TLR-7	Anadys
Boceprevir	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
TMS-435	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Tibotec BVBA, Mechelen, Bélgica
BI-201335	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
MK-7009	Antiviral	Inhibidor de serina proteasa	Merck
PF-00868554	Antiviral	Inhibidor de replicasa	Pfizer
ANA598	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa no nucleósido	Anadys Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, EE.UU.
IDX375	Antiviral	Inhibidor de replicasa no nucleósido	Idenix Pharmaceuticals, Cambridge, MA, EE.UU.
BILB 1941	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa	Boehringer Ingelheim Canada Ltd R&D, Laval, QC, Canadá

PSI-7851	Antiviral	Inhibidor de polimerasa nucleósido	Pharmasset, Princeton, NJ, EE.UU.
PSI-7977	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa nucleótido	Pharmasset, Princeton, NJ, EE.UU.
VCH-759	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa	ViroChem Pharma
VCH-916	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa	ViroChem Pharma
GS-9190	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa	Gilead
Peg-interferon lamda	Antiviral	Interferón	ZymoGenetics/Bristol-Myers Squibb
INX-189	Antiviral	Inhibidor de NS5B polimerasa nucleótido	Inhibitex

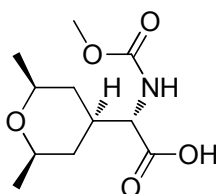
Los compuestos de la presente descripción también pueden usarse como reactivos de laboratorio. Los compuestos pueden ser útiles a la hora de brindar herramientas de investigación para el diseño de ensayos de replicación viral, la validación de sistemas de ensayos en animales y estudios de biología estructural, con el fin de obtener más información sobre los mecanismos de la enfermedad por HCV. Además, los compuestos de la presente descripción son útiles para establecer o determinar el sitio de unión de otros compuestos antivirales, por ejemplo, mediante inhibición competitiva.

Los compuestos de la presente descripción también pueden usarse para tratar o prevenir la contaminación viral de materiales y, por ende, para reducir el riesgo de infección viral del personal médico, del personal del laboratorio, o de pacientes que están en contacto con tales materiales, por ejemplo, sangre, tejido, vestimenta e instrumentos quirúrgicos, vestimenta e instrumentos de laboratorio, y aparatos y materiales de extracción o transfusión de sangre.

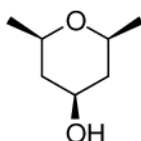
La presente descripción pretende abarcar compuestos que tienen la Fórmula (I) cuando se preparan mediante procesos sintéticos o metabólicos, que incluyen los que ocurren en el cuerpo humano o animal (*in vivo*), o en procesos que ocurren *in vitro*.

Las abreviaturas que se usan en la presente solicitud, incluidas, en particular, en los siguientes ejemplos, son conocidas por los expertos en el arte. Algunas de las abreviaturas que se usan son las siguientes: h para horas; EtOAc para acetato de etilo; hex para hexanos; DCM para diclorometano; DEAD para azodicarboxilato de dietilo; Ph₃P para trifenilfosfina; Et₂O para dietiléter; THF para tetrahidrofurano; LiHMDS para hexametildisilazida de litio; Ph para fenilo; DIEA, DIPEA o iPr₂EtN para diisopropiletilamina; EtOH para etanol; MeOH para metanol; DMSO para dimetilsulfóxido; RT, Rt, rt o R_t para temperatura ambiente o tiempo de retención (según el contexto); ON u o/n para durante la noche; min para minutos; DCM para diclorometano; HATU para hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; DMF para N,N-dimetilformamida; TFA para ácido trifluoroacético; HOBT o HOBT para hidroxibenzotriazol; DME para 1,2-dimetoxietano; y DMAP para N,N-dimetilaminopiridina.

Terminación 1



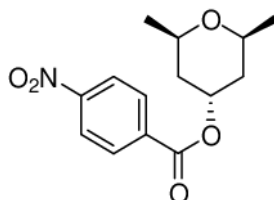
Terminación 1, etapa a



Se disolvió 2,6-dimetil-4H-piran-4-ona (15 g, 121 mmol) en etanol (300 ml), y se agregó 10 % de Pd/C (1,28 g, 1,21 mmol). La mezcla se hidrogenó en un agitador Parr en H₂ (70 psi) a temperatura ambiente durante 72 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de tierra diatomácea (Celite®) y se lavó con etanol. El filtrado se concentró al vacío, y el residuo se purificó mediante cromatografía flash (de 10 % a 30 % de EtOAc/Hex).

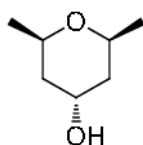
Se aislaron dos fracciones de aceites transparentes. Las primeras fracciones de elución eran una mezcla de (2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-ol (Terminación 1 [Cap-1], etapa a) y (2R,4s,6S)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-ol (1,2 g), mientras que las últimas fracciones de elución correspondieron solo a la Terminación 1, etapa a (10,73 g). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 3,69 - 3,78 (1 H, m), 3,36 - 3,47 (2 H, m), 2,10 (1 H, br. s.), 1,88 (2 H, dd, $J=12,05$, 4,73 Hz), 1,19 (6 H, d, $J=6,10$ Hz), 1,10 (2 H, q, $J=10,70$ Hz). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ ppm 71,44 (2 C), 67,92 (1 C), 42,59 (2 C), 21,71 (2 C).

Terminación 1, etapa b



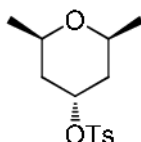
Se agregó por goteo DEAD (166 ml, 330 mmol) a una solución de la Terminación 1, etapa a (10,73, 82 mmol), ácido 4-nitrobenzoico (48,2 g, 288 mmol) y Ph_3P (86 g, 330 mmol) en benceno (750 ml). Se detectó evolución de calor, y la solución ámbar resultante se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. El solvente se retiró a presión reducida, y el residuo se trituró con Et_2O (200 ml) para retirar óxido de trifenilfosfina (10 g). La mezcla restante se purificó mediante Biotage® (de 0 a 5 % EtOAc/Hex ; 300 g de columna x 4). Se aisló un sólido blanco correspondiente a la Terminación 1, etapa b (19,36 g). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,27 - 8,32 (2 H, m), 8,20 - 8,24 (2 H, m), 5,45 (1 H, quin, $J=2,82$ Hz), 3,92 (2 H, dqd, $J=11,90$, 6,10, 1,53 Hz), 1,91 (2 H, dd, $J=14,80$, 2,29 Hz), 1,57 (2 H, dt, $J=14,65$, 3,05 Hz), 1,22 (6 H, d, $J=6,10$ Hz). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ ppm 163,81 (1 C), 150,55 (1 C), 135,94 (1 C), 130,64 (2 C), 123,58 (2 C), 70,20 (1 C), 68,45 (2 C), 36,95 (2 C), 21,84 (2 C). LC-MS: Anal. calc. para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_5$: 279,11; encontrado 279,12.

Terminación 1, etapa c



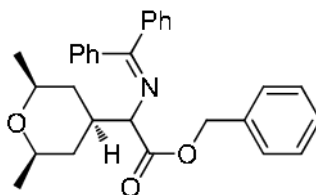
Se agregó una solución de LiOH (8,30 g, 347 mmol) en agua (300 ml) a una solución de la Terminación 1, etapa b (19,36 g, 69,3 mmol) en THF (1000 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se retiró THF a presión reducida, y la capa acuosa se diluyó con más agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron al vacío. Se recuperó un residuo oleoso con un sólido blanco. La mezcla se trituró con hexanos, y el sólido se retiró mediante filtración para obtener un aceite transparente correspondiente a la Terminación 1, etapa c (8,03 g). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 4,21 (1 H, quin, $J=2,82$ Hz), 3,87 - 3,95 (2 H, m), 1,72 (1 H, br. s.), 1,63 (2 H, dd, $J=14,34$, 2,14 Hz), 1,39 - 1,47 (2 H, m), 1,17 (6 H, d, $J=6,41$ Hz). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ ppm 67,53 (2 C), 64,71 (1 C), 39,99 (2 C), 21,82 (2 C).

Terminación 1, etapa d



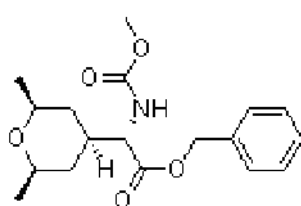
Se agregó cloruro de p-tosilo (23,52 g, 123 mmol) a una solución de la Terminación 1, etapa c (8,03 g, 61,7 mmol) y piridina (19,96 ml, 247 mmol) en CH_2Cl_2 (750 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 36 h. Debido a que la reacción no se completó, se retiró CH_2Cl_2 a presión reducida, y se continuó la agitación durante 48 h más. Luego, la mezcla se agregó a CH_2Cl_2 (100 ml) y agua (100 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se separó, y la capa orgánica se lavó intensamente con HCl acuoso 1 N (2 X 50 ml). Luego, la capa orgánica se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. Se aisló un aceite amarillo correspondiente a la Terminación 1, etapa d (14,15 g), que se solidificó al vacío como un sólido blancuzco. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,80 (2 H, d, $J=8,24$ Hz), 7,35 (2 H, d, $J=7,93$ Hz), 4,88 (1 H, quin, $J=2,82$ Hz), 3,79 - 3,87 (2 H, m), 2,46 (3 H, s), 1,76 (2 H, dd, $J=14,50$, 2,59 Hz), 1,36 (2 H, ddd, $J=14,34$, 11,60, 2,75 Hz), 1,12 (6 H, d, $J=6,10$ Hz). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ ppm 144,64 (1 C), 134,24 (1 C), 129,82 (2 C), 127,61 (2 C), 77,34 (1 C), 67,68 (2 C), 37,45 (2 C), 21,61 (1 C), 21,57 (2 C). LC-MS: Anal. calc. para $[\text{2M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{O}_8\text{S}_2$: 569,22; encontrado 569,3.

Terminación 1, etapa e

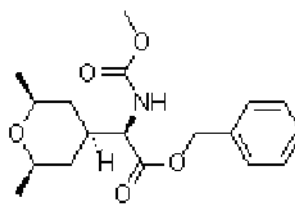


Se agregó LiHMDS (29,7 ml, 29,7 mmol, 1 M en THF) a una solución de la Terminación 1, etapa d (7,05 g, 24,8 mmol) y 2-(difenilmetileno)acetato de bencilo (8,57 g, 26,0 mmol) en tolueno (80 ml) a temperatura ambiente en un tubo a presión, y la mezcla resultante luego se agitó durante 5 h a 100 °C. La reacción se inactivó con agua (100 ml), se extrajo con EtOAc, se lavó con agua, se secó en MgSO_4 , se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante Biotage® (de 0 % a 15 % EtOAc/Hex; 240 g de columna), y se aisló un aceite amarillo correspondiente a la Terminación 1, etapa e (8,76 g) como una mezcla racémica. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,62 - 7,71 (2 H, m), 7,30 - 7,45 (11 H, m), 7,05 (2 H, dd, $J=7,65, 1,63$ Hz), 5,13 - 5,22 (2 H, m), 3,89 (1 H, d, $J=6,78$ Hz), 3,46 (2 H, dq, $J=11,27, 5,90, 2,01$ Hz), 2,34 - 2,45 (1 H, m), 1,58 - 1,66 (1 H, m), 1,34 - 1,43 (1 H, m), 1,19 (3 H, d, $J=6,02$ Hz), 1,03 - 1,16 (4 H, m), 0,83 - 0,97 (1 H, m). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm 170,84 (1 C), 170,68 (1 C), 139,01 (1 C), 135,96 (1 C), 135,51 (1 C), 130,04 (1 C), 128,49 (2 C), 128,20 (1 C), 128,09 (4 C), 127,97 (2 C), 127,85 (1 C), 127,67 (2 C), 127,47 (2 C), 72,76 (1 C), 72,46 (1 C), 69,77 (1 C), 65,99 (1 C), 39,11 (1 C), 35,90 (1 C), 35,01 (1 C), 21,74 (1 C), 21,65 (1 C). LC-MS: Anal. calc. para $[\text{2M}+\text{Na}]^+$ $\text{C}_{58}\text{H}_{62}\text{N}_2\text{NaO}_6$: 905,45; encontrado 905,42.

Terminación 1, etapa f



Terminación 1, etapa f.1



Terminación 1, etapa f.2

Se disolvió la Terminación 1, etapa e (8,76 g, 19,84 mmol) en THF (100 ml) y se trató con HCl 2 N en agua (49,6 ml, 99 mmol). La solución transparente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, y luego, se retiró THF a presión reducida. La capa acuosa restante se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml) y se concentró al vacío para obtener la amina cruda correspondiente. El residuo se absorbió en CH_2Cl_2 (100 ml) y se cargó con DIEA (11,8 ml, 67,6 mmol) y cloruro de metilo (1,962 ml, 25,3 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (50 ml) y se lavó con agua (100 ml) y salmuera (100 ml). La capa orgánica se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante Biotage® (de 15 % a 25 % EtOAc/Hex; 80 g de columna). Se recuperó un aceite incoloro transparente correspondiente a la Terminación 1, etapa f, racémica (5,27 g). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,32 - 7,41 (5 H, m), 5,13 - 5,28 (3 H, m), 4,36 (1 H, dd, $J=8,16, 4,64$ Hz), 3,69 (3 H, s), 3,30 - 3,47 (2 H, m), 2,00 - 2,16 (1 H, m), 1,52 (1 H, d, $J=12,55$ Hz), 1,33 (1 H, d, $J=12,30$ Hz), 1,15 (6 H, dd, $J=6,02, 5,02$ Hz), 0,88 - 1,07 (2 H, m). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ ppm 171,39 (1 C), 156,72 (1 C), 135,20 (2 C), 128,60 (2 C), 128,57 (1 C), 128,52 (2 C), 72,77 (1 C), 72,74 (1 C), 67,16 (1 C), 57,81 (1 C), 52,40 (1 C), 38,85 (1 C), 35,56 (1 C), 34,25 (1 C), 21,94 (2 C). LC-MS: Anal. calc. para $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_5$: 336,18; encontrado 336,3.

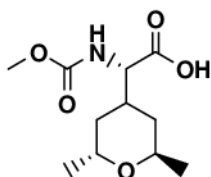
Se desarrolló un método quiral para separar la mezcla racémica usando 20 % de etanol como modificador en una columna CHIRALPAK® AS-H (50 x 500 mm, 20 μm) (longitud de onda = 220 nm; velocidad de flujo = 100 ml/min durante 22 min; solvente A = 0,1 % de dietilamina en heptanos; solvente B = EtOH). Los dos isómeros separados correspondieron a 2-((2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-((metoxicarbonil)amino)acetato de (S)-bencilo (Terminación 1, etapa f.1) (tiempo de reacción = 9,8 min, 2,2 g) y 2-((2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-((metoxicarbonil)amino)acetato de (R)-bencilo (Terminación 1, etapa f.2) (tiempo de reacción = 16,4 min, 2,1 g), y cada uno de ellos exhibió los mismos datos analíticos que la mezcla correspondiente (véase más atrás).

45 Terminación 1

Se disolvió 2-((2R,4r,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-((metoxicarbonil)amino)acetato de (S)-bencilo

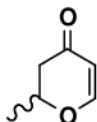
(Terminación 1, etapa f.1) (2,2 g, 6,6 mmol) en MeOH (50 ml) en una botella Parr y se cargó con 10 % de Pd/C (0,349 g, 0,328 mmol). Luego, la suspensión se colocó en un agitador Parr, y la mezcla se purgó con N₂ (3X), se colocó en 40 psi de H₂ y se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. El catalizador se filtró a través de una almohadilla de tierra diatomácea (Celite®), y el solvente se retiró a presión reducida para obtener un sólido ámbar correspondiente a la Terminación 1 (1,6 g). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,74 (1 H, br. s.), 7,35 (1 H, d, *J*=6,10 Hz), 3,85 (1 H, br. s.), 3,53 (3 H, s), 3,35 (2 H, ddd, *J*=15,95, 9,99, 6,10 Hz), 1,97 (1 H, br. s.), 1,48 (2 H, t, *J*=13,28 Hz), 1,06 (6 H, d, *J*=6,10 Hz), 0,82 - 1,00 (2 H, m). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 176,93 (1 C), 156,72 (1 C.), 72,10 (1 C), 71,92 (1 C), 58,54 (1 C), 51,35 (1 C), 36,88 (1 C), 35,82 (1 C), 34,71 (1 C), 21,90 (2 C). Nota: La estereoquímica absoluta de la Terminación 1 se determinó mediante análisis de rayos X de cristal único de un análogo de éster preparado de la Terminación 1 y (S)-fenetanol.

Terminación 2



15 *Ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acético*

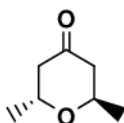
Terminación 2, etapa a



20 Referencia: S. Danishefsky; *et al. J. Org. Chem.* **1982**, 47, 1597.

Se agregó por goteo trifluoruro de boro eterato (3,81 ml, 30,5 mmol) a una solución agitada y enfriada (-78 °C) de (E)-(4-metoxibuta-1,3-dien-2-iloxi)trimetilsilano (5,0 g, 29 mmol) y acetaldehído (3,28 ml, 58,0 mmol) en dietiléter (100 ml) en nitrógeno. La reacción se agitó a -78 °C durante 2,5 h y, luego, se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (40 ml), se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con dietiléter (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron hasta obtener un aceite amarillo/naranja. El aceite crudo se purificó con Biotage® Horizon (110 g de SiO₂, 25-40 % EtOAc/hexanos) para obtener 2-metil-2H-piran-4(3H)-ona racémica (Terminación 2, etapa a) (2,2 g) como un aceite amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d) δ ppm 7,35 (d, *J*=6,0 Hz, 1 H), 5,41 (dd, *J*=6,0, 1,0 Hz, 1 H), 4,51 - 4,62 (m, 1 H), 2,41 - 2,57 (m, 2 H), 1,47 (d, *J*=6,3 Hz, 3 H).

Terminación 2, etapa b



35 Referencia: Reddy, D. S.; *et al. J. Org. Chem.* **2004**, 69, 1716-1719.

Se agregó una solución de metil litio 1,6 M en dietiléter (20,9 ml, 33,4 mmol) a una suspensión agitada de yoduro de cobre(I) (4,25 g, 22,30 mmol) en dietiléter (30 ml) a 0 °C y en nitrógeno. La reacción se agitó a 0 °C durante 20 min, y luego, se agregó 2-metil-2H-piran-4(3H)-ona racémica (1,25 g, 11,2 mmol) en dietiléter (12,0 ml) durante 10 min. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en NH₄Cl (acuoso) saturado y se agitó durante 20 min. La solución se extrajo con dietiléter (4 x 60 ml), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (~ 80 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para obtener (2R,6R)-2,6-dimetildihidro-2H-piran-4(3H)-ona racémica (Terminación 2, etapa b) (1,34 g) como un aceite naranja. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,28 - 4,39 (m, 2 H), 2,55 (ddd, *J*=14,1, 4,8, 1,5 Hz, 2 H), 2,24 (ddd, *J*=14,1, 6,5, 1,5 Hz, 2 H), 1,28 (d, *J*=6,3 Hz, 6 H).

Terminación 2, etapa c

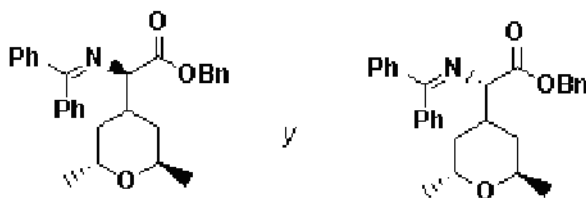


Terminación 2, etapa c.1 Terminación 2, etapa c.2

- 5 Se agregó borohidruro de sodio (0,354 g, 9,36 mmol) en porciones a una solución agitada de (2R,6R)-2,6-dimetildihidro-2H-piran-4(3H)-ona racémica (Terminación 2, etapa b) (1,2 g, 9,4 mmol) en MeOH (30 ml) a 0 °C. La solución se agitó durante 10 min a 0 °C, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La reacción se vertió en NH₄Cl saturado (~50 ml), se agitó durante 20 min y luego se concentró parcialmente (a ~1/2 de volumen).
 10 Se formó un precipitado, se agregó agua hasta que se volvió homogéneo, y luego, la solución se extrajo con DCM (3 x 60 ml). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N y luego se extrajo con DCM (3 x 60 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para formar un aceite amarillo turbio (1,08 g). El aceite crudo se disolvió en DCM (8,0 ml), y luego, se agregaron p-tosil-Cl (2,68 g, 14,0 mmol) y piridina (1,51 ml, 18,7 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 d. La reacción se diluyó con NH₄Cl saturado (~ 60 ml) y se extrajo con DCM (3 x 30 ml). La fase orgánica combinada se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró
 15 para obtener un aceite marrón. El aceite se purificó en Biotage® Horizon (80 g de SiO₂, 10-25 % EtOAc/hexanos) para obtener 4-metilbencensulfonato de (2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-ilo racémico (Terminación 2, etapa c) (1,63 g) como un aceite incoloro transparente viscoso. Tiempo de retención de LC-MS: 3,321 min; m/z 284,98 [M+H]⁺. Los datos de LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda
 20 del detector de 220 nM. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de H₂O / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de H₂O / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,81 (d, J=8,3 Hz, 2 H), 7,36 (d, J=8,0 Hz, 2 H), 4,81 - 4,92 (m, 1 H), 4,17 - 4,26 (m, 1 H), 3,78 - 3,87 (m, 1 H), 2,47 (s, 3 H), 1,91 - 1,99 (m, 1 H), 1,78 - 1,86 (m, 1 H), 1,65 - 1,72 (m, 1 H), 1,46 (ddd, J=12,9, 9,4, 9,3 Hz, 1 H), 1,20 (dd, J=6,5, 4,8 Hz, 6 H).

- La mezcla racémica se separó en los enantiómeros individuales en múltiples inyecciones usando purificación SFC preparativa quiral (columna preparativa Chiralpak AD-H, 30 x 250 mm, 5 μm, 10 % 1:1 de EtOH/heptano en CO₂, 70 ml/min durante 10 min) para obtener 4-metilbencensulfonato de (2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-ilo (Terminación 2, etapa c.1) (577 mg) como el primer pico de elución y 4-metilbencensulfonato de (2S,6S)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-ilo (Terminación 2, etapa c.2) (588 mg) como el segundo pico de elución. Cada enantiómero se aisló como un aceite incoloro transparente que se solidificó para obtener un sólido blanco después
 35 del reposo.

Terminación 2, etapa d



Terminación 2, etapa d.1 Terminación 2, etapa d.2

- 40 En un tubo a presión de 48 ml, se agitaron 4-metilbencensulfonato de (2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-ilo (Terminación 2, etapa c.1) (575 mg, 2,02 mmol) y 2-(difenilmetileno)acetato de bencilo (733 mg, 2,22 mmol) en THF (2 ml) y tolueno (10 ml). La solución incolora transparente se purgó con nitrógeno, luego se agregó LiHMDS (1,0 M en THF) (2,22 ml, 2,22 mmol), y el recipiente se selló y se calentó a 100 °C durante 8 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en 1/2 de NH₄Cl saturado (acuoso) (~50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml).
 45 Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron hasta obtener un aceite naranja crudo. El aceite se purificó en Biotage® Horizon (40 g de SiO₂, 10-25 % EtOAc/hexanos)

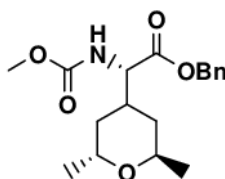
para obtener el producto deseado impuro (501 mg) como un aceite naranja. Este material se volvió a purificar en Biotage® Horizon (25 g de SiO₂, 6-12 % EtOAc/hexanos) para obtener una mezcla ~1:1 de diastereómeros (Terminación 2, etapa d) (306 mg) como un aceite naranja viscoso.

- 5 La mezcla se separó en los diastereómeros individuales en múltiples inyecciones usando purificación SFC preparativa quiral (columna preparativa Chiralcel OJ-H, 30 x 250 mm, 5 µm, 10 % 1:1 EtOH/heptano en CO₂ a 150 bar, 70 ml/min durante 10 min) para obtener 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-
 10 ((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(difenilmetileno)acetato de (*R*)-bencilo (Terminación 2, etapa d.1) (124 mg) como el primer pico de elución y 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(difenilmetileno)acetato de (*S*)-bencilo (Terminación 2, etapa d.2) (129 mg) como el segundo pico de elución. Se aisló cada diastereómero como un aceite amarillo viscoso.

Datos analíticos para 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(difenilmetileno)acetato de (*R*)-bencilo (Terminación 2, etapa d.1): ¹H NMR (400 MHz, D₄-MeOH) δ ppm 7,57 - 7,61 (m, 2 H), 7,41 - 7,48 (m, 4 H), 7,33 - 7,40 (m, 7 H), 7,03 - 7,08 (m, 2 H), 5,22 (d, *J*=12,1 Hz, 1 H), 5,16 (d, *J*=12,1 Hz, 1 H), 4,09 - 4,19 (m, 1 H), 3,84 (d, *J*=6,8 Hz, 1 H), 3,75 - 3,83 (m, 1 H), 2,53 - 2,64 (m, 1 H), 1,58 - 1,65 (m, 1 H), 1,33 - 1,43 (m, 1 H), 1,26 - 1,32 (m, 1 H), 1,24 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H), 1,10 (d, *J*=6,0 Hz, 3 H), 0,98 - 1,08 (m, 1 H). Tiempo de retención de LC-MS: 4,28 min; *m/z* 442,16 [M+H]⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de H₂O / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de H₂O / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

25 Datos analíticos para 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(difenilmetileno)acetato de (*S*)-bencilo (Terminación 2, etapa d.2): ¹H NMR (400 MHz, D₄-MeOH) δ ppm 7,57 - 7,61 (m, 2 H), 7,41 - 7,50 (m, 4 H), 7,33 - 7,40 (m, 7 H), 7,04 - 7,08 (m, 2 H), 5,22 (d, *J*=12,1 Hz, 1 H), 5,16 (d, *J*=12,1 Hz, 1 H), 4,20 (qd, *J*=6,4, 6,3 Hz, 1 H), 3,86 (d, *J*=6,5 Hz, 1 H), 3,74 - 3,83 (m, 1 H), 2,53 - 2,64 (m, 1 H), 1,60 (td, *J*=12,7, 5,6 Hz, 1 H), 1,38 - 1,51 (m, 2 H), 1,26 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H), 1,04 (d, *J*=6,0 Hz, 3 H), 0,79 - 0,89 (m, 1 H). Tiempo de retención de LC-MS: 4,27 min; *m/z* 442,17 [M+H]⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de H₂O / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de H₂O / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

Terminación 2, etapa e



40 Se disolvió 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(difenilmetileno)acetato de (*S*)-bencilo (Terminación 2, etapa d.2) (129,6 mg, 0,294 mmol) en THF (2 ml) y luego se trató con HCl 2 N (1,0 ml, 2,1 mmol) en agua. La reacción se agitó durante 2 h y luego se concentró en un flujo de nitrógeno durante la noche. El residuo crudo se disolvió en DCM (2 ml) y DIPEA (0,21 ml, 1,2 mmol), luego se trató con cloroformiato de metilo (0,032 ml, 0,41 mmol)
 45 y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se diluyó con agua (~ 2,5 ml) y se extrajo con DCM (4 x 2 ml). La fase orgánica combinada se concentró en un flujo de nitrógeno durante la noche, y el residuo se purificó con Biotage® Horizon (4 g de SiO₂, 10-50 % EtOAc/hexanos) para obtener 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acetato de (*S*)-bencilo (Terminación 2, etapa e) (56 mg) como un vidrio incoloro. Tiempo de retención de LC-MS: 3,338 min; *m/z* 335,99 [M+H]⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de H₂O / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de H₂O / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray. ¹H NMR (400 MHz, D₄-MeOH) δ ppm 7,29 - 7,42 (m, 5 H), 5,28 (d, *J*=12,0 Hz, 1 H), 5,09 (d, *J*=12,0 Hz, 1 H), 4,10 - 4,20 (m, 2 H), 3,68 - 3,78 (m, 1 H), 3,65 (s, 3 H), 2,22 - 2,36 (m, 1 H), 1,42 - 1,54 (m, 2 H), 1,29 - 1,38 (m, 1 H), 1,17 (d, *J*=6,8 Hz, 3 H), 1,04 (d, *J*=6,0 Hz, 3 H), 0,89 - 1,00 (m, 1 H).

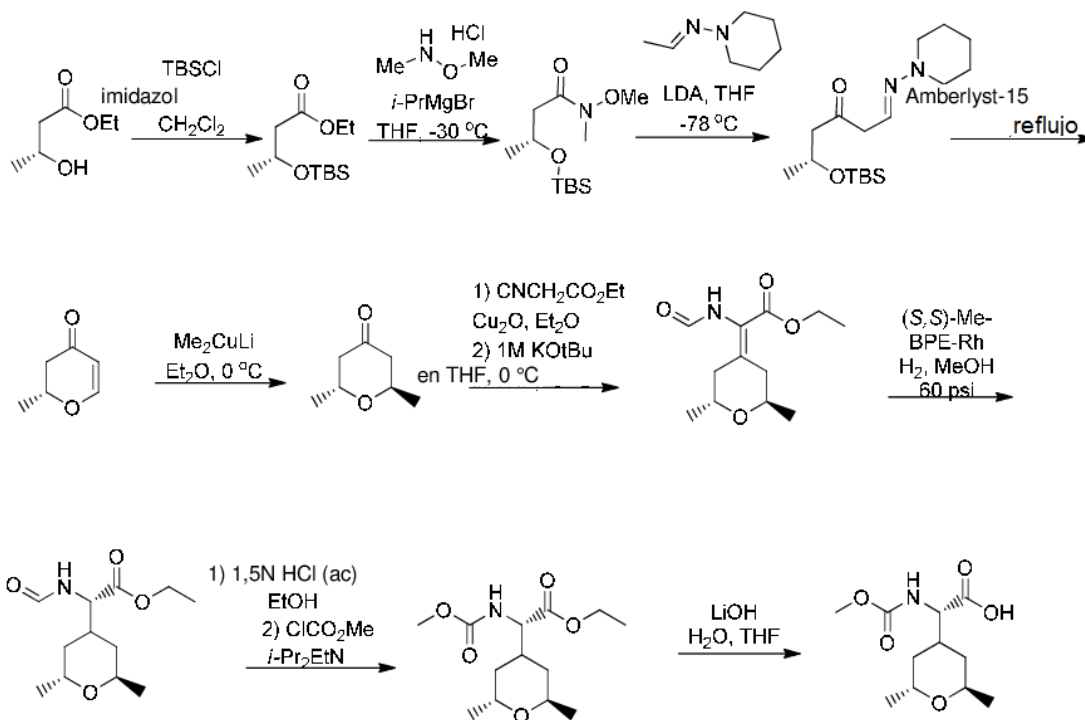
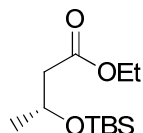
Terminación 2

Se disolvió 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acetato de (*S*)-bencilo (Terminación 2, etapa e) (56 mg, 0,167 mmol) en MeOH (4 ml) y luego se trató con 10 % de Pd/C (12 mg, 0,012 mmol). La mezcla de reacción se purgó al vacío con nitrógeno (4 x) y luego con hidrógeno (4 x), y se agitó en un globo de hidrógeno durante la noche. La reacción se filtró a través de Celite® y se concentró para obtener ácido (*S*)-2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acético (Terminación 2) (41 mg) como un aceite incoloro. ¹H NMR (400 MHz, D₄-MeOH) δ ppm 4,22 (quin, *J*=6,4 Hz, 1 H), 4,04 - 4,11 (m, 1 H), 3,78 - 3,87 (m, 1 H), 3,66 (s, 3 H), 2,26 - 2,39 (m, 1 H), 1,63 (d, *J*=13,1 Hz, 1 H), 1,51 - 1,60 (m, 1 H), 1,42 - 1,49 (m, 1 H), 1,27 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H), 1,11 (d, *J*=6,3 Hz, 3 H), 0,97 - 1,08 (m, 1 H).

Nota: La estereoquímica absoluta de la Terminación 2 se determinó mediante análisis de rayos X de cristal único de un análogo de amida preparado de un epímero de la Terminación 2 (ácido (*R*)-2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-(metoxicarbonil)amino)acético y (*S*)-1-(naftalen-2-il)etanamina.

En el Esquema 1, se ilustra una síntesis alternativa de la Terminación 2. Las primeras cuatro etapas que dan como resultado (*R*)-2-metil-2*H*-piran-4(3*H*)-ona se realizaron con adaptaciones de un procedimiento informado (Anderson, K. R; *et al. Org. Proc. Res. Dev.* 2010, 14, 58). La conversión de (*R*)-2-metil-2*H*-piran-4(3*H*)-ona en (2*R*,6*R*)-2,6-dimetildihidro-2*H*-piran-4(3*H*)-ona se logró con adaptaciones de un procedimiento informado (Reddy, D. S.; *et al. J. Org. Chem.* 2004, 69, 1716). A continuación se brindan más detalles.

Esquema 1

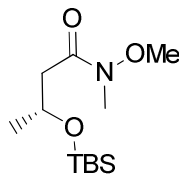
3-(*ter*-butildimetilsililo)butanoato de (*R*)-etilo

Se agregó *ter*-butilclorodimetilsilano (547 g, 3,63 mol) a una solución agitada de 3-hidroxi-*R*-butanoato de etilo (400 g, 3,03 mol) en DCM (800 ml) en nitrógeno a 0 °C. A la mezcla de reacción, se agregó imidazol (412 g, 6,05 mol) en porciones durante 20 min; en ese tiempo, la mezcla se volvió una suspensión blanca espesa. Se agregó más DCM (175 ml), y la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El sólido blanco se retiró mediante filtración, se enjuagó con DCM (500 ml), se dividió en agua (1 l) y DCM (500 ml), y la capa acuosa se volvió a extraer con más DCM (500 ml). El filtrado se combinó con las capas orgánicas, se lavó con agua (500 ml) y salmuera, se secó en mgSO₄ y se filtró. El producto se concentró y se secó en alto vacío para obtener 3-(*ter*-

butildimetilsililoxi)butanoato de (*R*)-etilo (777,5 g), que contenía impurezas no identificadas. Los datos analíticos del producto crudo se recopilaron con los datos informados en la literatura. El material se usó sin purificación adicional.

(*R*)-3-(*ter*-butildimetilsililoxi)-*N*-metoxi-*N*-metilbutanamida

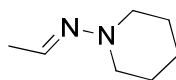
5



Se agregó, por goteo, una solución de cloruro de isopropilmagnesio 2 M en THF (800 ml, 1,60 mol) mediante una cánula durante 60 min a una solución agitada de 3-(*ter*-butildimetilsililoxi)butanoato de (*R*)-etilo (131 g, 532 mmol) y *N,O*-dimetilhidroxilamina/HCl (80 g, 824 mmol) en THF seco (850 ml) mientras se mantenía la temperatura interna entre -30 °C y -20 °C. La suspensión se agitó durante 3 h entre -20 y -10 °C y se inactivó mientras estaba fría con solución de cloruro de amonio acuoso saturado (400 ml). La mezcla de reacción se dividió en agua (200 ml) y dietiléter (500 ml), y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con dietiléter (1 l). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en mgSO_4 , se filtraron, se concentraron y se secaron en alto vacío para obtener (*R*)-3-(*ter*-butildimetilsililoxi)-*N*-metoxi-*N*-metilbutanamida. La reacción se repitió 6 veces para obtener un total de 717 g de material. Los datos analíticos se recopilaron con los datos informados en la literatura. El material se usó sin purificación adicional.

N-etilidenpiperidin-1-amina

20

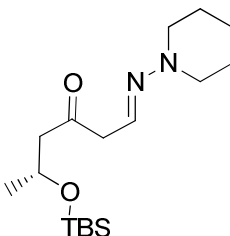


Para referencias pertinentes, véase: (a) Marques-Lopez, E.; *et al. Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 20, 3457. (b) Corey, E.; *et al. Chem. Ber.* **1978**, 111, 1337. (c) Chudek, J. A. *et al. J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **1985**, 8, 1285.

Se agregó por goteo piperidin-1-amina (754 ml, 6,99 mol) durante 60 min a acetaldehído mantenido a 0 °C (304 ml, 5,38 mol) mientras se agitaba en nitrógeno.

[Precaución: La adición es exotérmica. En esta escala, el embudo de goteo que contenía piperidin-1-amina se volvió caliente debido al acetaldehído que se había evaporado y condensado en el embudo de goteo]. Después de 1 h a 0 °C y 1 h a temperatura ambiente, se equipó el recipiente de reacción con un condensador de reflujo de 16 pulgadas, se calentó a 40 °C y se agitó durante 20 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se dividió en dietiléter (700 ml) y salmuera (300 ml). La capa orgánica se lavó con agua, y la capa acuosa se extrajo con dietiléter (2 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en mgSO_4 , se filtraron y se concentraron en alto vacío durante 8 h para obtener (*E*)-*N*-etilidenpiperidin-1-amina (772 g)(contenía impurezas) como un aceite amarillo. Los datos analíticos se recopilaron con los datos informados en la literatura. El material se usó sin purificación adicional.

(*E*)-5-((*R*)-*ter*-butildimetilsililoxi)-1-(piperidin-1-ilimino)hexan-3-ona



40

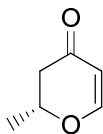
Se agregó *n*-BuLi en hexanos (2,5 M, 644 ml, 1,61 mol) durante 40 min a una solución agitada de diisopropilamina (245 ml, 1,72 mol) en THF seco (23 l) a 0 °C en nitrógeno. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, y luego se agregó por goteo una solución de (*E*)-*N*-etilidenpiperidin-1-amina (203 g, 1,61 mol) en THF seco (100 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h, y la suspensión se enfrió a -78 °C y se trató por goteo con una solución de (*R*)-3-(*ter*-butildimetilsililoxi)-*N*-metoxi-*N*-metilbutanamida (280,4 g, 1,073 mol) en THF seco (100 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a -78 °C, se calentó lentamente a temperatura ambiente y luego se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se dividió en agua (600 ml) y dietiléter (1,5 l), y la capa acuosa se volvió a extraer con dietiléter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en mgSO_4 , se filtraron y se concentraron para obtener un aceite color ámbar. El aceite crudo se purificó a través de una columna corta (3 l de gel de sílice en un embudo de vidrio aglomerado de 4 l previamente equilibrado con 5 % de EtOAc/hexanos; luego, el aceite crudo se disolvió en 50 ml de DCM/hexanos (1:5), se cargó en la parte superior del gel de sílice y, finalmente,

50

la columna se eluyó con 5-40 % EtOAc/hexanos) para obtener (*E*)-5-((*R*)-*ter*-butildimetilsililoxi)-1-(piperidin-1-ilimino)hexan-3-ona. Las fracciones impuras se combinaron, se concentraron y se volvieron a purificar con Biotage® Horizon (300 g de SiO₂, 15-45 % EtOAc/hexanos) para obtener más producto (230 g total). Los datos analíticos se

5

(*R*)-2-metil-2*H*-piran-4(3*H*)-ona

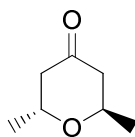


10 Se agregó en una porción Amberlyst-15 (122 g, 372 mmol) (forma seca, perlas marrón pálido, Alfa Aesar, Stock # 89079 o L14146) a una solución agitada de (*E*)-5-((*R*)-*ter*-butildimetilsililoxi)-1-(piperidin-1-ilimino)hexan-3-ona (121 g, 372 mmol) en THF seco (1,2 l). La mezcla se sometió a reflujo durante 2,5 h, se enfrió, se filtró y se concentró hasta obtener un líquido color ámbar. El líquido crudo se purificó a través de una columna corta (el

15 un producto crudo se disolvió en 30 ml de 5% EtOAc/hexanos y se cargó en la parte superior de 1,5 l de gel de sílice en un embudo de vidrio aglomerado de 4 l previamente equilibrado con 5 % EtOAc/hex; la columna se eluyó con 5-50 % EtOAc/hexanos) para obtener enona (*R*)-2-metil-2*H*-piran-4(3*H*)-ona. Nota: El solvente se retiró mediante evaporación giratoria cuidadosa (la temperatura del baño fue menor o igual a la temperatura ambiente), pero se detectó cierto producto deseado en la trampa de recuperación. Este material se concentró para retirar el solvente usando una columna Vigreux de 20 pulgadas con un cabezal de destilación y se combinó con el material original. El

20 producto total deseado se volvió a purificar mediante destilación para obtener un aceite incoloro (17,8 g) con un punto de ebullición de 68-70 °C a 10 mm de Hg. Rotación óptica: +212,8 a *c* = 0,46 g/100 ml CHCl₃.

(2*R*,6*R*)-2,6-dimetildihidro-2*H*-piran-4(3*H*)-ona



25

Se agregó metilíto en dietiléter (1,6 M, 218 ml, 349 mmol) en porciones de ~10 ml durante 20 min a una suspensión agitada de yoduro de cobre (I) (44,3 g, 233 mmol) en dietiléter (350 ml) enfriada a 0 °C en nitrógeno. La mezcla de

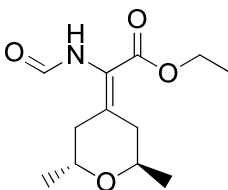
30 reacción se agitó a 0 °C durante 30 min, y luego se agregó por goteo (*R*)-2-metil-2*H*-piran-4(3*H*)-ona (13,5 g, 116 mmol) en dietiléter (150 ml) durante 30 min. Se retiró el baño frío, y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se agregó lentamente (durante ~5 min) a una solución agitada de NH₄Cl saturado (acuoso) (~ 750 ml) y hielo. Se agregaron más dietiléter (~500 ml) y agua (~150 ml), y la solución, que contenía un precipitado gris, se agitó durante la noche. Las capas orgánicas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con dietiléter (500 ml) y DCM (500 ml). La fase orgánica combinada se secó

35 (MgSO₄), se filtró y se concentró (la temperatura del baño evaporador giratorio se mantuvo a temperatura ambiente o a una temperatura inferior a esta) hasta obtener un aceite naranja. El aceite crudo se purificó con Biotage® Horizon (240 g de SiO₂, 1-4 % de dietiléter en DCM; la columna se equilibró previamente con DCM) para obtener (2*R*,6*R*)-2,6-dimetildihidro-2*H*-piran-4(3*H*)-ona (13,4 g, 86 % de pureza mediante ¹H-NMR) como un aceite amarillo claro. [Nota: El material se concentró cuidadosamente y se observó que contenía 10 % p/p de DCM mediante ¹H-

40 NMR. El análisis por ¹H-NMR también indicó que el material estaba contaminado con ~2,5 % de TBDMSOH acumulado de una reacción previa y 1,6 % de (2*R*,6*S*)-2,6-dimetildihidro-2*H*-piran-4(3*H*)-ona]. Los datos analíticos del producto se recopilaron con los datos informados en la literatura, y el material se usó sin purificación adicional. ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 4,41-4,25 (m, 2 H), 2,55 (ddd, *J* = 14,1, 4,8, 1,4 Hz, H), 2,24 (ddd, *J* = 14,1, 6,5, 1,5 Hz, 2 H), 1,28 (d, *J* = 6,5 Hz, 6 H).

45

2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetil-2*H*-piran-4(3*H*,5*H*,6*H*)-iliden)-2-formamidoacetato de etilo

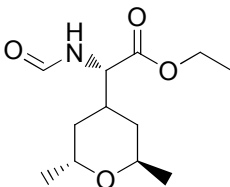


50 Se agregó óxido cuproso (2,21 g, 15,4 mmol) a una solución agitada de 2-isocianoacetato de etilo (12,7 ml, 116 mmol) en dietiléter (300 ml), y la suspensión se agitó vigorosamente durante 10 min. Se agregó (2*R*,6*R*)-2,6-dimetildihidro-2*H*-piran-4(3*H*)-ona (15,2 g, 103 mmol, 87 % de pureza con 13 % p/p de DCM) en dietiléter (100 ml)

durante 15 min, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se trató con KO-*t*Bu 1 M (116 ml, 116 mmol) en THF, que se agregó en porciones de 10 ml durante ~ 15 min y luego se agitó a 0 °C durante 1 h. Se agregó una solución de ácido acético (6,66 ml, 116 mmol) en DCM (60 ml), y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción cruda se dividió en agua (~300 ml) y dietiléter (~300 ml), y la capa acuosa se volvió a extraer con DCM (300 ml). La fase orgánica combinada se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró hasta obtener un aceite rojo oscuro, que se solidificó al vacío. El producto crudo se purificó con cromatografía Biotage® Horizon (300 g de SiO₂; se cargó en una columna usando una cantidad mínima de DCM; se eluyó con 40-60 % EtOAc/hexanos, que se mantuvo al 40 % para cuatro volúmenes de columna). Las fracciones tempranas del producto deseado también contenían la versión de los estereoisómeros *cis* del producto deseado como impureza. Estas fracciones impuras se combinaron, se concentraron para obtener 8,9 g de un aceite amarillo claro que se volvió a purificar con cromatografía Biotage® Horizon (240 g de gel de sílice; se eluyó con 40-65 % EtOAc/hexanos, que se mantuvo al 40 % para cinco volúmenes de columna). Todas las fracciones con producto deseado puro de ambas purificaciones, según se determinó por TLC, se combinaron y se concentraron para obtener 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetil-2*H*-piran-4(3*H*,5*H*,6*H*)-iliden)-2-formamidoacetato de etilo (18,8 g) como un sólido amarillo claro contaminado con <1 % (HPLC) de la variante isomérica de dimetilo *cis*.

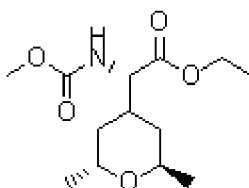
Los datos de ¹H- y ¹³C-NMR del material puro presentan una mezcla 2:1 de rotámeros de amida: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,24 (d, *J* = 1,3 Hz, 0,66 H), 7,98 (d, *J* = 11,5 Hz, 0,33 H), 6,71 (br. s., 0,66 H), 6,56 (d, *J* = 12,0 Hz, 0,33 H), 4,32-4,00 (m, 4 H), 3,05 (dd, *J* = 14,3, 4,3 Hz, 0,33 H), 2,92 (d, *J* = 5,3 Hz, 1,33 H), 2,82 (dd, *J* = 14,3, 6,5 Hz, 0,33 H), 2,62 (dd, *J* = 13,9, 3,9 Hz, 0,33 H), 2,45 (dd, *J* = 14,1, 3,8 Hz, 0,66 H), 2,24 (dd, *J* = 13,8, 7,3 Hz, 0,33 H), 2,14-2,04 (m, 0,66 H), 1,37-1,29 (m, 3 H), 1,28-1,18 (m, 6 H). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 164,5 (0,66 C), 163,9 (0,33 C), 163,8 (0,33 C), 159,3 (0,66 C), 147,5 (0,33 C), 147,0 (0,66 C), 120,3 (0,33 C), 118,6 (0,66 C), 68,1 (0,66 C), 67,8 (0,33 C), 67,4 (0,33 C), 66,8 (0,66 C), 61,1 (0,33 C), 60,9 (0,66 C), 38,2 (0,66 C), 37,4 (0,33 C), 36,2 (0,33 C), 36,0 (0,66 C), 20,5 (0,66 C), 20,1 (0,33 C), 19,5 (0,33 C), 19,2 (0,66 C), 13,8 (s, 1 C). Tiempo de retención de LC-MS: 1,85 min; *m/z* 242,45 (M+H)⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3μ C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min. El solvente A fue 10 % de acetonitrilo / 90 % de H₂O / 0,1 % de ácido trifluoroacético, y el solvente B fue 10 % de H₂O / 90 % de acetonitrilo / 0,1 % de ácido trifluoroacético. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-formamidoacetato de (*S*)-etilo



Se hizo burbujear nitrógeno a través de una solución de 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetil-2*H*-piran-4(3*H*,5*H*,6*H*)-iliden)-2-formamidoacetato de etilo (17,0 g, 70,5 mmol) en MeOH (480 ml) durante 10 min en un recipiente de hidrogenación Parr de 2,5 l. Luego, se agregó tetrafluoroborato de (-)-1,2-bis((2*S*,5*S*)-2,5-dimetilfosfolano)etan(ciclooctadien)-rodio (I) (0,706 g, 1,27 mmol), y el recipiente de reacción se selló, se purgó al vacío con nitrógeno (4 x) y luego con hidrógeno (4x). La solución de reacción se agitó a 60 psi de hidrógeno durante 3 d, se retiró del agitador y se concentró hasta obtener un aceite rojo oscuro. El aceite crudo se purificó con cromatografía Biotage® Horizon (300 g de SiO₂, 50-75 % EtOAc/hexanos) para obtener 2-((2*R*,6*R*)-2,6-dimetiltetrahydro-2*H*-piran-4-il)-2-formamidoacetato de (*S*)-etilo (17,4 g, contiene 5,9 % p/p de solventes (EtOAc y DCM) mediante ¹H-NMR) como un aceite viscoso amarillo claro. Los datos de ¹H-NMR indican una mezcla 10:1 de dos rotámeros de amida. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,26 (s, 0,9 H), 8,01 (d, *J* = 11,8 Hz, 0,1 H), 6,15 (d, *J* = 8,5 Hz, 0,9 H), 5,96-5,84 (m, 0,1 H), 4,68 (dd, *J* = 9,0, 5,0 Hz, 0,9 H), 4,33-4,17 (m, 3 H), 3,87 (dd, *J* = 10,2, 6,4 Hz, 0,1 H), 3,75 (dq, *J* = 11,5, 6,0, 2,0 Hz, 1 H), 2,41-2,29 (m, 0,9 H), 2,29-2,19 (m, 0,1 H), 1,72-1,28 (m, 3 H), 1,28-1,23 (m, 6 H), 1,17-1,10 (m, 3 H), 1,09-0,96 (m, 1 H). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170,6, 160,3, 68,1, 64,0, 61,4, 54,2, 36,0, 33,1, 30,6, 21,9, 16,7, 13,9. Tiempo de retención de LC-MS: 1,64 min; *m/z* 244,25 (M+H)⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3μ C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min. El solvente A fue 10 % de acetonitrilo / 90 % de H₂O / 0,1 % de ácido trifluoroacético, y el solvente B fue 10 % de H₂O / 90 % de acetonitrilo / 0,1 % de ácido trifluoroacético. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonil-amino)acetato de (S)-etilo



Fórmula química: C₁₃H₂₃NO₅

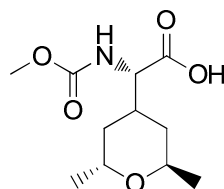
Peso molecular: 273,33

- 5 En un recipiente de 1 equipado con un condensador que se tapó con un tabique y se ventiló con una aguja, se calentó una solución de 2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-formamidoacetato de (S)-etilo (17,6 g, 72,3 mmol) en etanol (409 ml) y HCl 1,5 N (acuoso) (409 ml) en un baño de aceite previamente equilibrado a 52 °C durante 7,5 h. El componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se azeotropó con EtOH (2 x 50 ml) y se secó al vacío durante la noche para obtener una espuma blanca. La espuma blanca se disolvió en DCM (409 ml), y se agregaron por goteo N,N-diisopropiletilamina (38,0 ml, 218 mmol) durante 10 min y, luego, clorocarbonato de metilo (8,40 ml, 109 mmol) durante 10 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4,5 h y luego se inactivó cuidadosamente con HCl 1 N (100 ml). Las capas se separaron, y la capa orgánica se lavó con HCl 1 N (50 ml) y luego con solución básica acuosa (50 ml de agua + 2 ml de NaHCO₃ saturado). La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo se purificó con Biotage® (300 g de SiO₂; la muestra se cargó en una columna con una cantidad mínima de cloroformo y se eluyó con 30 % EtOAc/hexanos) para obtener 2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonil-amino)acetato de (S)-etilo (13,8 g) como un aceite amarillo viscoso. ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 5,23 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 4,34-4,15 (m, 4 H), 3,81-3,72 (m, 1 H), 3,70 (s, 3 H), 2,35-2,23 (m, 1 H), 1,63-1,51 (m, 2 H), 1,34-1,27 ('m' y 't' superpuestos, J = 7,0 Hz, 1 H & 3 H), 1,25 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,14 (d, J = 6,0 Hz, 3 H), 1,11-0,99 (m, 1 H). Tiempo de retención de LC-MS: 2,89 min; m/z 296,23 (M+Na)⁺. Los datos de LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3μ C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min. El solvente A fue 10 % de MeOH / 90 % de H₂O / 0,1 % de ácido trifluoroacético, y el solvente B fue 10 % de H₂O / 90 % de MeOH / 0,1 % de ácido trifluoroacético. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

Nota adicional: el producto anterior se volvió a purificar mediante cromatografía SFC (180 mg/inyección, con un rendimiento de 7,2 g/h) antes de la etapa de hidrólisis para retirar una pureza no identificada. Condiciones:

30	Columna:	ChiralPak AD-H 25 X 3cm , 5μ
	Temperatura de la columna:	25 °C
	Velocidad de flujo:	150 ml/min
	Fase móvil:	CO ₂ /MeOH= 93/7
	Volumen de inyección:	1,0 ml (180 mg/ml)
35	Modelo de inyección:	Apilado (inyección/tiempo de ejecución (min) = 1,47/3,0)
	Longitud de onda del detector:	220 nm
	Solvente de muestra:	CH ₃ OH/CH ₃ CN=1:1(v/v)

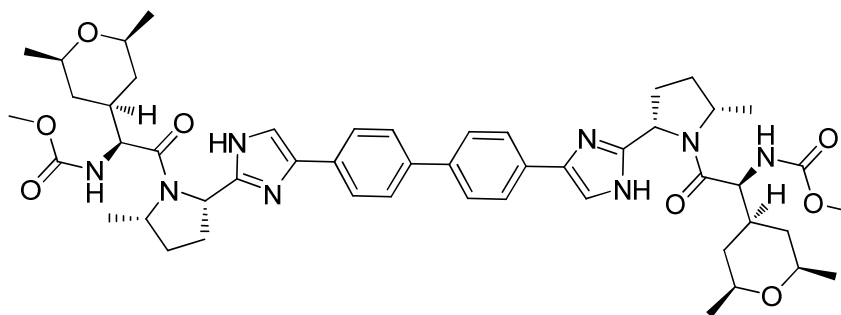
40 Ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acético (Terminación 2)



- Se agregó por goteo hidróxido de litio hidrato (8,51 g, 203 mmol) en H₂O (270 ml) a una solución agitada de 2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonil-amino)acetato de (S)-etilo (27,7 g, 101 mmol) en THF (405 ml) durante 65 min, mientras se mantenía la temperatura interna <5 °C. La mezcla de reacción se agitó en un baño de hielo durante 40 min y luego en un baño de agua a temperatura ambiente durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró parcialmente para retirar THF y luego se dividió en agua (250 ml) y DCM (250 ml). La capa acuosa se ajustó a pH = 2 con HCl 1 N (205 ml) y luego se extrajo con acetato de isopropilo (7 x 250 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (1 x 600 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron. El aceite viscoso resultante se trató con tolueno (100 ml) y éter (75 ml), se evaporó y se secó al vacío para obtener la

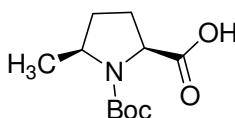
Terminación 2 (25,8 g, con 0,33 eq. de tolueno) como una espuma blanca. Pureza mediante SFC quiral >99,9 % (Chiralpak AD-H (25 x 0,46 cm, 5 μm) 5 % de EtOH en CO₂, 3 ml/min, 35 °C, 220 nm, 100 bar). Pureza mediante HPLC 95,6 % (columna: Sunfire C8 75 x 4,6 mm ID; 2,5 μm; 40 °C; fase móvil: A = agua c/ 0,1 % ácido fórmico; B = CH₃CN c/ 0,1 % ácido fórmico). LC/MS (ES+) 228,1 (M+H - H₂O)⁺. Mediante ¹H-NMR se observó que el material contenía alrededor de 0,33 eq. de tolueno. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,29 (d, *J* = 8,6 Hz, 1 H), 4,46-4,25 (m, 2 H), 3,82 (dd, *J* = 9,7, 5,9 Hz, 1 H), 3,74 (s, 3 H), 2,46-2,30 (m, 1 H), 1,76-1,55 (m, 2 H), 1,51-1,35 (m, 1 H), 1,29 (d, *J* = 6,8 Hz, 3 H), 1,18 (d, *J* = 6,2 Hz, 3 H), 1,18-1,06 (m, 1 H). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 174,1, 156,7, 68,3, 64,4, 57,5, 52,2, 35,8, 32,6, 30,3, 21,6, 16,7.

10 Ejemplo 1



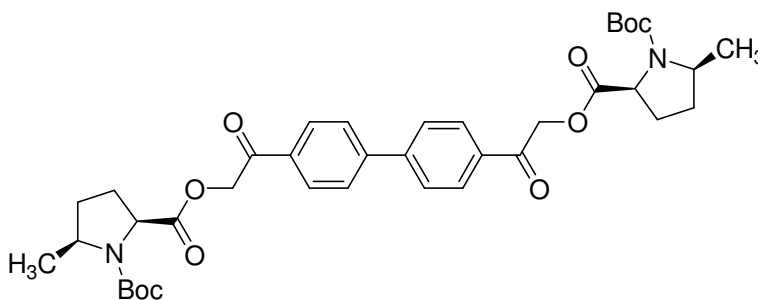
15 (4,4'-bifenildiilbis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindil))((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandil))biscarbamato de dimetilo

Ejemplo 1, etapa a



20 El compuesto anterior se sintetizó de acuerdo con un protocolo de la literatura (*J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 3520) con las siguientes modificaciones de purificación: el material crudo se recristalizó de EtOAc/hexanos a temperatura ambiente para obtener el Ejemplo 1, etapa a, como un cristal blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,32 (br m, 1 H), 3,89 (br m, 1 H), 2,40 (br m, 1 H), 2,00 (m, 2 H), 1,65 (m, 1 H), 1,45 (s, 9 H), 1,20 (d, *J* = 5,6, 3 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+Na]⁺ C₁₁H₂₀NO₄Na: 252,12; encontrado 252,21.

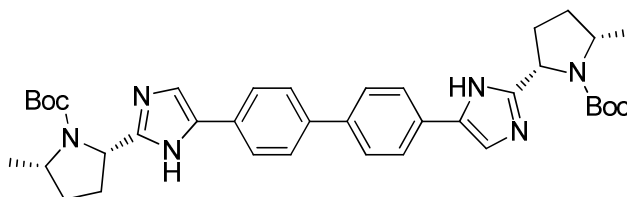
Ejemplo 1, etapa b



30 A una mezcla del Ejemplo 1, etapa a (7,12 g, 31,1 mmol) y 1,1'-(bifenil-4,4'-diil)bis(2-bromoetanova) (6,0 g, 15 mmol) en acetonitrilo (100 ml), se agregó por goteo *i*-Pr₂EtN (5,56 ml, 31,8 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se dividió en CH₂Cl₂ (100 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con agua y salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío para obtener el Ejemplo 1, etapa b como una espuma blanca (9,83 g), que se usó en la siguiente etapa sin purificación. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,01 (4 H, t, *J*=7,32 Hz), 7,73 (4 H, d, *J*=6,71 Hz), 5,18 - 5,66 (4 H, m), 4,51 (1 H, t, *J*=7,17 Hz), 4,42 (1 H, t, *J*=7,32 Hz), 4,06 (1 H, d, *J*=3,36 Hz), 3,95 (1 H, d, *J*=5,19 Hz), 2,27 - 2,37 (4 H, m), 2,01 - 2,17 (2 H, m), 1,67 - 1,82 (2 H, m), 1,39 - 1,52 (18 H, m), 1,32 (6 H, t, *J*=6,56 Hz). LC-MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₃₈H₄₉N₂O₁₀ 693,34; encontrado 693,34.

40

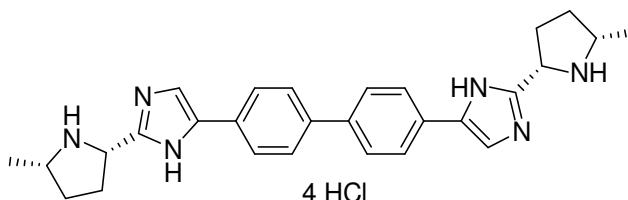
Ejemplo 1, etapa c



- 5 Se calentó una mezcla del Ejemplo 1, etapa b (9,83 g, 14,19 mmol) y acetato de amonio (10,94 g, 142 mmol) en xileno (160 ml) en un tubo a presión a 140 °C durante 4 horas. El componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se dividió en CH₂Cl₂ (140 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ saturada (100 ml), se secó (Na₂SO₄) y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó con Biotage® (de 20 % a 50 % de EtOAc/Hex; 300 g de columna) para obtener el Ejemplo 1, etapa c como un sólido marrón claro (4,3 g). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11,73 (2 H, br. s.), 7,83 (3 H, d, J=7,63 Hz), 7,62 - 7,76 (5 H, m), 7,27 - 7,55 (2 H, m), 4,82 (2 H, br. s.), 3,89 (2 H, br. s.), 2,10 (6 H, d, J=15,26 Hz), 1,58 - 1,89 (2 H, m), 1,11 - 1,52 (24 H, m). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₃₈H₄₉N₆O₄: 653,37; encontrado 653,60.

- 15 Procedimiento alternativo: una mezcla del Ejemplo 1, etapa b (157 g, 227 mmol), acetato de amonio (332 g, 4310 mmol) e imidazol (54,1 g, 795 mmol) en tolueno (1,2 l) se calentó a 80 °C durante 1 h mientras se barría el espacio de cabeza con nitrógeno. Se aumentó la temperatura a 85 °C, y la mezcla de reacción se agitó durante 18 h. Se retiró el solvente, y el residuo se disolvió en DCM (2 l), se lavó con agua (1 l) y NaHCO₃ saturado (3 l), y luego se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en MeOH (4 l), se concentró a ~900 ml y se dejó reposar a temperatura ambiente. Después de 2 h, el sólido precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con MeOH y se secó para obtener un sólido blanco. Este material se recrystalizó de metanol (se disolvió en 4 l, luego se redujo a ~0,9 l) y se secó para obtener el Ejemplo 1, etapa c como un sólido blanco (99,5 g). El compuesto crudo del licor madre se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (300 g de SiO₂, 20-50 % de EtOAc/hexanos) para obtener un producto adicional como un sólido blanco (13,0 g).

25 Ejemplo 1, etapa d



- 30 Se agregó por goteo HCl 4 N en dioxano (8,23 ml, 32,9 mmol) a una solución de CH₂Cl₂ (100 ml) del Ejemplo 1, etapa c (4,3 g, 6,6 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El retiro del componente volátil al vacío produjo la sal de HCl del Ejemplo 1, etapa d como un sólido amarillo (3,6 g). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,55 (2 H, br. s.), 9,73 (2 H, br. s.), 8,12 - 8,26 (2 H, m), 8,03 (4 H, d, J=8,03 Hz), 7,92 (4 H, d, J=6,02 Hz), 5,07 (2 H, m, J=7,53 Hz), 3,82 (2 H, br. s.), 2,53 - 2,65 (4 H, m), 2,27 (2 H, dd, J=12,42, 6,40 Hz), 1,85 - 1,99 (2 H, m), 1,45 (6 H, d, J=6,27 Hz). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₂₈H₃₃N₆: 453,28; encontrado 453,21.

- 40 El nivel de pureza del producto desprotegido anterior se podría mejorar mediante la aplicación del siguiente procedimiento de recrystalización: Se agregó 2-propanol (242 ml) mediante un embudo de adición durante 15 min a una solución del Ejemplo 1, etapa d (60,5 g, pureza de 98,9 % mediante HPLC) en agua (121 ml) con agitación a 60 °C, mientras se mantenía la temperatura interna entre 50 °C y 60 °C. La solución se agitó durante 5 min más, se retiró el manto de calor, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El sólido precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con 2-propanol y se secó al vacío durante la noche para obtener un sólido amarillo (54,4 g) con pureza de 99,7 % mediante HPLC (columna: BEH C18 150 mm (L) x 2,1 mm (ID), 1,7 μm, fase móvil: A: 0,05 % de TFA en agua; B: 0,05 % de TFA en ACN). KF 15,3 % en peso (6,0 mol de H₂O).

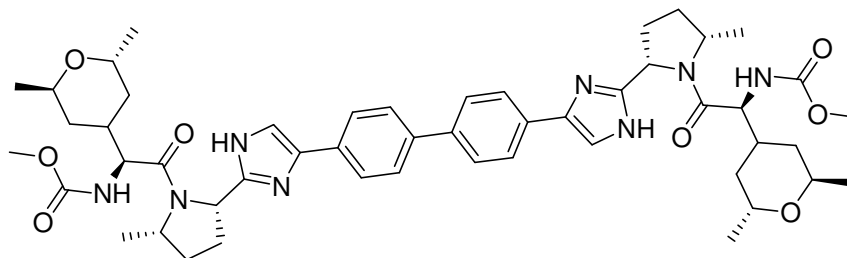
45 Ejemplo 1

- 50 Se agregó HATU (1,60 g, 4,21 mmol) a una solución de una sal de HCl del Ejemplo 1, etapa d (1,2 g, 2,0 mmol), Terminación 1 (1,01 g, 4,11 mmol) y DIEA (2,1 ml, 12 mmol) en DMF (20 ml), y la solución amarilla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se diluyó con EtOAc (75 ml) y se lavó con agua (100 ml). La capa acuosa se volvió a extraer con EtOAc (75 ml), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con 50 % de solución de NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml). Luego se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo restante se diluyó con CH₃OH y se sometió a purificación mediante HPLC de fase inversa:

Solvente A: 5 % de MeCN / 95 % de agua / 10 nM de NH₄OAc; solvente B: 95 % de MeCN / 5 % de agua / 10 nM de NH₄OAc; columna: Sunfire Prep C18 50 x 300 mm 10 u; longitud de onda: 220 nM; velocidad de flujo: 150 ml/min; gradiente: 0 % de B a 70 % de B durante 25 min con un tiempo de mantenimiento de 5 min. La concentración al vacío produjo (4,4'-bifenildiilbis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindiil))((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil))biscarbamato de dimetilo (Ejemplo 1) como una espuma blancuzca (1,2 g). La cristalización de EtOAc/éter de petróleo produjo un sólido blancuzco amorfo. ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) (de la sal de TFA) δ 7,92 (br. s., 8 H), 7,59 (d, J=7,9 Hz, 2 H), 5,03 (t, J=8,5 Hz, 2 H), 4,69 - 4,60 (m, 2 H), 4,00 (t, J=8,4 Hz, 2 H), 3,55 (s, 6 H), 3,36 (br. s., 1 H), 3,33 - 3,26 (m, 2 H), 3,21 (br. s., 2 H), 2,37 (br. s., 1 H), 2,26 (d, J=11,3 Hz, 1 H), 1,95 - 1,81 (m, 3 H), 1,65 (d, J=10,7 Hz, 2 H), 1,48 (d, J=6,4 Hz, 6 H), 1,28 - 1,23 (m, 4 H), 1,10 - 0,99 (m, 16 H), 0,90 - 0,75 (m, 4 H)

LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₅₀H₆₇N₈O₈: 907,51; encontrado 907,8. Tiempo de retención = 3,99 min y >95 % de índice de homogeneidad en las siguientes condiciones de LC --Columna: Phenomenex-Luna 2,0 X 50 mm 3 μm; inicio % B = 0; final % B = 100; tiempo de gradiente = 10 min; velocidad de flujo = 4 ml/min; longitud de onda = 220; solvente A = H₂O : ACN 95 % : 5 % 10 mm de acetato de amonio; solvente B = H₂O : ACN 5 % : 95 % 10 mm de acetato de amonio.

Ejemplo 2



(4,4'-bifenildiilbis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindiil))((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil))biscarbamato de dimetilo

Se agregó HATU (63,6 mg, 0,167 mmol) a una solución agitada de ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acético (Terminación 2) (41 mg, 0,17 mmol) y la sal de HCl del Ejemplo 1, etapa d (45,5 mg, 0,076 mmol) en DMF (0,9 ml) y DIPEA (0,11 ml, 0,61 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y luego se concentró en un flujo de nitrógeno durante la noche. El residuo se disolvió en MeOH, se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa (Phenomenex Luna C18(2) 100 x 30 mm, 10 micrómetros; MeOH/agua c/ amortiguador de TFA) para obtener la sal de TFA de (4,4'-bifenildiilbis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindiil))((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil))biscarbamato de dimetilo (Ejemplo 2) (62,5 mg) como un sólido amarillo claro. ¹H NMR indica la presencia de una mezcla de rotámeros; para el rotámero principal: ¹H NMR (400MHz, MeOH-d₄) δ 8,02 - 7,93 (m, 3 H), 7,88 (br s, 7 H), 5,18 (dd, J=10,7, 7,2 Hz, 2 H), 4,77 (quin, J=6,6 Hz, 2 H), 4,27 - 4,17 (m, 2 H), 4,15 (d, J=9,3 Hz, 2 H), 3,72 - 3,66 (m, 2 H), 3,67 (s, 6 H), 2,72 - 2,50 (m, 2 H), 2,48 - 2,16 (m, 6 H), 1,99 (dd, J=12,2, 5,6 Hz, 2 H), 1,76 - 1,59 (m, 2 H), 1,57 (d, J=6,5 Hz, 6 H), 1,52 - 1,40 (m, 2 H), 1,30 (dd, J=9,7, 6,7 Hz, 2 H), 1,22 (d, J=6,8 Hz, 6 H), 1,06 (d, J=6,0 Hz, 6 H), 0,97 (app q, J=12,0 Hz, 2 H). Tiempo de retención de LC-MS: 3,84 min; m/z 905,38 [M-H]. Los datos de LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nM. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de H₂O / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de H₂O / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray. Alternativamente, el Ejemplo 2 se puede preparar de la siguiente manera:

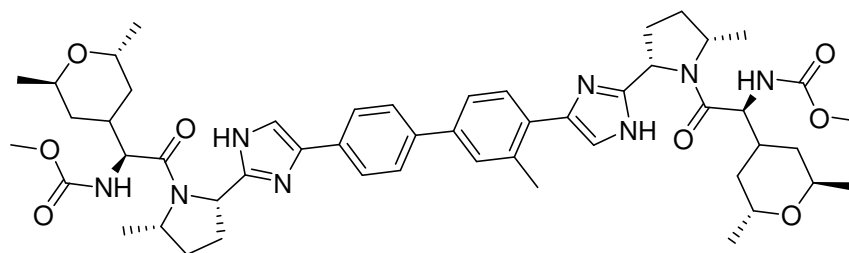
Una mezcla de ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acético (Terminación 2) (25,1 g, 91,0 mmol), 1-óxido de 2-hidroxipiridina (10,12 g, 91 mmol) y EDC (19,0 g, 99,0 mmol) en DMSO (400 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A esta solución se agregó el Ejemplo 1, etapa d (sal de HCl; 29,2 g, 41,4 mmol), y la solución amarilla resultante se enfrió a 10 °C con un baño de agua/hielo. Luego, se agregó *i*-Pr₂EtN (26,7 g, 207 mmol) a la mezcla de reacción y, una vez que se completó la adición, se retiró el baño de hielo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 25,5 h antes de inactivarla vertiéndola en una mezcla de hielo (1600 g) y agua (400 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El sólido blanco se recolectó en un embudo Buchner mediante filtración y luego se secó al vacío con un flujo de nitrógeno que pasaba a través de la parte superior del embudo de filtro durante la noche para obtener un sólido húmedo (124 g). El sólido húmedo se disolvió en DCM (500 ml), se lavó con agua (3 x 250 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró para obtener un sólido marrón claro (39,5 g). Este material se combinó con un material similar de otro lote (total 44,4 g) y

se purificó mediante cromatografía usando un dispositivo ISCO (2 x 330 g de gel de sílice, 0-30 % de MeOH/DCM) para obtener el Ejemplo 2 (38,1 g) como un sólido marrón con una pureza de 98,6 % mediante HPLC. El material se descoloró de la siguiente manera: Se disolvieron 43,1 g de material en EtOH (500 ml) y luego se trató con carbón activado (8,6 g). La mezcla se calentó a 50 °C durante 1 h, el carbón se retiró mediante filtración (3 capas de papel de filtro), y la torta de filtrado se trató con más EtOH (300 ml). El filtrado se evaporó hasta secarse y se secó al vacío con un baño de agua caliente para obtener un sólido blancuzco (43,0 g). El producto se pudo purificar adicionalmente con un protocolo SFC:

Condiciones de purificación de SFC:

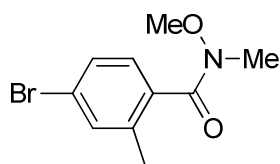
10	Rendimiento:	1,2 g/h
	Amt por inyecciones	30 mg
	Columna:	Princeton CN 25 X 3 cm, 5 μ
	Temperatura de la columna:	45 °C
15	Velocidad de flujo:	200 ml/min
	Fase móvil:	CO ₂ /[MeOH/DCM = 1:1 (en v/v)] = 80/20
	Volumen de inyección:	2,5 ml (12 mg/ml)
	Modelo de inyección:	Apilado (inyección/tiempo de ejecución (min) = 1,5/3,2)
	Longitud de onda del detector:	316 nm
20	Solvente de muestra:	CH ₃ OH/DCM = 1:1 (v/v)

Ejemplo 3



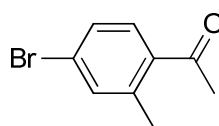
25 *((3-metil-4,4'-bifenildil)bis(1H-imidazol-4,2-diil)((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindil)((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandil))biscarbamato de dimetilo*

30 *Ejemplo 3, etapa a*



35 A una solución de ácido 4-bromo-2-metilbenzoico (10 g, 46,5 mmol) en DMF (150 ml), se agregó clorhidrato de N, O-dimetilhidroxilamina (5,44 g, 55,8 mmol) a temperatura ambiente y luego HOBt (8,55 g, 55,8 mmol). Luego, se agregó EDC (10,7 g, 55,8 mmol) seguido de DIPEA (24,4 ml, 140 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (150 ml), se lavó con agua (3 x 250 ml) y salmuera (150 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para obtener el Ejemplo 3, etapa a, crudo (9,5 g), que se usó como tal en la siguiente etapa. ¹H NMR (CDCl₃, δ = 7,26 ppm, 400 MHz): δ 7,37 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 7,34 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1 H), 7,14 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 3,47 (s, 3 H), 3,30 (s, 3 H), 2,31 (s, 3 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₁₀H₁₃⁸¹BrNO₂: 260,01; encontrado 260,0.

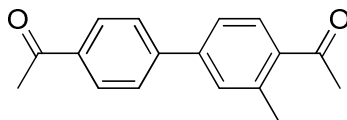
Ejemplo 3, etapa b



45 El Ejemplo 3, etapa a (9,5 g, 36,8 mmol) se disolvió en dietiléter (150 ml) y se enfrió a 0 °C. Luego, se agregó yoduro de metilmagnesio (3,0 M en dietiléter, 24,54 ml, 73,6 mmol) por goteo durante 10 minutos. La reacción se agitó durante 6 h a 40 °C y, luego, se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se

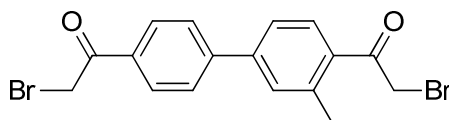
enfrió a 0 °C, se inactivó con hielo y luego con HCl 1,5 N (50 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con metiléter de ter-butilo (2 x 100 ml), se secó en Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice, 60-120, EtOAc: éter de petróleo, 2:98) para obtener el Ejemplo 3, etapa b (6,25 g) como un líquido pálido. ¹H NMR (CDCl₃, δ = 7,26 ppm, 400 MHz): δ 7,55 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,41 (s, 1 H), 7,40 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 2,55 (s, 3 H), 2,50 (s, 3 H).

Ejemplo 3, etapa c



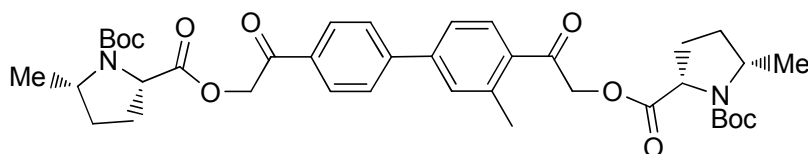
Se agregó ácido 4-acetilfenilborónico (5,39 g, 32,9 mmol) a un tubo sellado que contiene el Ejemplo 3, etapa b (7,0 g, 32,9 mmol) en MeOH (75,0 ml), y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 10 minutos. Luego, se agregó K₂CO₃ (9,08 g, 65,7 mmol), seguido de Pd(Ph₃P)₄ (1,139 g, 0,986 mmol), y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 10 minutos más. La mezcla de reacción se calentó a 75 °C durante 12 h. Luego, se concentró a presión reducida, y el residuo se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (50 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante combiflash (Silicycle, SiO₂, 10-15 % EtOAc/éter de petróleo) para obtener el Ejemplo 3, etapa c (6,5 g) como un sólido blanco. ¹H NMR (CDCl₃, δ = 7,26 ppm, 400 MHz): δ 8,06-8,04 (m, 2 H), 7,81 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,72-7,70 (m, 2 H), 7,54-7,49 (m, 2 H), 2,65 (s, 3 H), 2,63 (s, 6 H).

Ejemplo 3, etapa d



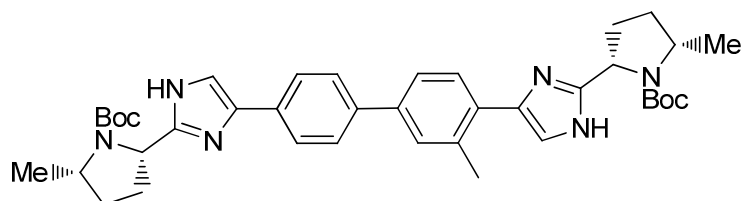
Se agregó lentamente bromo (1,12 ml, 21,8 mmol) (diluido en 10 ml de dioxano) (durante 10 minutos) a una solución del Ejemplo 3, etapa c (2,75 g, 10,90 mmol) en dioxano (50 ml) a 10 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se inactivó con 10 % de NaHCO₃ (25 ml) y se extrajo con DCM (50 ml). La fase orgánica se secó en Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener el Ejemplo 3, etapa d, crudo (5,0 g), que se usó como tal en la siguiente etapa sin purificación. LC/MS: Anal. Calc. para [M+H]⁺ C₁₇H₁₅^{79/81}Br₂O₂: 410,94; encontrado 411,0.

Ejemplo 3, etapa e



A una solución del Ejemplo 3, etapa d, crudo (5,1 g, 12 mmol) en acetonitrilo (75 ml), se agregó ácido (2S,5S)-1-(ter-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (Ejemplo 1, etapa a) (5,70 g, 24,9 mmol) seguido de DIPEA (8,69 ml, 49,7 mmol) a 0 °C. Después de 10 minutos, la temperatura se elevó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con 10 % de NaHCO₃ (50 ml) y salmuera (50 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante combiflash (Silicycle, SiO₂, 25-30 % EtOAc/éter de petróleo) para obtener el Ejemplo 3, etapa e (5,8 g) como un aceite amarillo pálido. ¹H NMR (CDCl₃, δ = 7,26 ppm, 400 MHz): δ 8,00 (app bd, 2 H), 7,71 (app d, 3 H), 7,53-7,51 (m, 2 H), 5,61-5,34 (m, 2 H), 5,29-5,04 (m, 2 H), 4,51-4,36 (m, 2 H), 4,09-3,91 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,35-2,21 (m, 4 H), 2,15-2,04 (m, 2 H), 1,80-1,63 (m, 2 H), 1,47/1,44 (s, 18 H), 1,35-1,27 (m, 6 H). LC/MS: Anal. calc. para [M-H]⁻ C₃₉H₄₉N₂O₁₀: 705,35; encontrado 705,30.

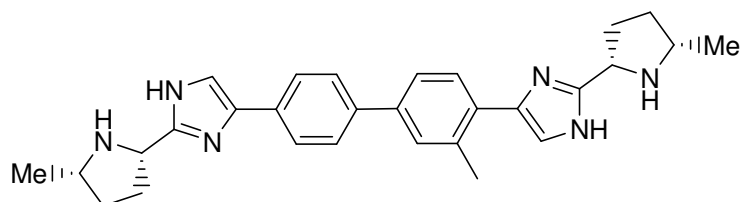
Ejemplo 3, etapa f



- 5 A una solución del Ejemplo 3, etapa e (5,6 g, 7,92 mmol) en xilenos (75 ml), se agregó NH_4OAc (12,21 g, 158 mmol), y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 10 minutos. Después de calentarla durante 18 h a 130 °C, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y los componentes volátiles se retiraron a presión reducida. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con 10 % de NaHCO_3 (50 ml) y salmuera (50 ml), se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante combiflash (columna Redi Sep, C-18, 30-40 % acetonitrilo :10 mM bicarbonato de amonio) para obtener el Ejemplo 3, etapa f (2,3 g) como un sólido amarillo pálido. ^1H NMR (DMSO- d_6 , δ = 2,50 ppm, 400 MHz): δ 12,27/12,0/11,77/11,71 (s, 2 H), 7,92-7,63 (m, 5 H), 7,58-7,47 (m, 3 H), 7,24 (br s, 1 H), 4,90-4,75 (m, 2 H), 3,92-3,84 (m, 2 H), 2,54 (s, 3 H), 2,20-2,01 (m, 6 H), 1,73-1,65 (m, 2 H), 1,48-1,12 (m, 24 H). LC/MS: Anal. calc. para $[\text{M}-\text{H}]^-$ $\text{C}_{39}\text{H}_{49}\text{N}_6\text{O}_4$: 665,39; encontrado 665,4.

15

Ejemplo 3, etapa g



- 20 A una solución del Ejemplo 3, etapa g (1,55 g, 2,32 mmol) en MeOH (10 ml), se agregó HCl/MeOH (4 N, 58,1 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Los componentes volátiles se retiraron al vacío, y el residuo se coevaporó con DCM seco (3 x 25 ml). El sólido resultante se expuso a alto vacío para obtener la sal de HCl del Ejemplo 3, etapa g (1,3 g) como un sólido amarillo pálido. ^1H NMR (MeOD, δ = 3,34 ppm, 400 MHz): δ 8,06 (br s, 1 H), 7,98 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 7,90 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 7,86 (br s, 1 H), 7,78 (br s, 1 H), 7,74 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,71 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 5,27-5,20 (m, 2 H), 4,04-4,00 (m, 2 H), 2,80-2,67 (m, 4 H), 2,59 (s, 3 H), 2,55-2,46 (m, 2 H), 2,15-2,06 (m, 2 H), 1,60 (d, J = 6,4, 6 H). LC/MS: Anal. calc. para $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_6$: 467,28; encontrado 467,2.

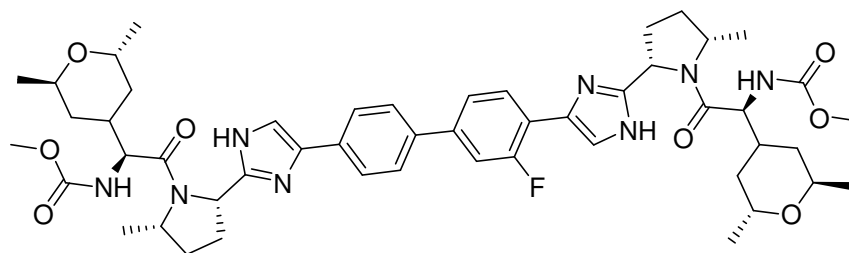
25

Ejemplo 3

- 30 Se agregó HATU (60,5 mg, 0,159 mmol) a una solución agitada de ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-(metoxicarbonilamino)acético (Terminación 2) (39 mg, 0,16 mmol) y la sal de HCl del Ejemplo 3, etapa g (44,3 mg, 0,072 mmol) en DMF (0,9 ml) y DIPEA (0,10 ml, 0,58 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se concentró en un flujo de nitrógeno durante la noche. El residuo se diluyó con MeOH, se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa (Phenomenex Luna C18(2) 100 x 30 mm, 10 micrómetros; MeOH/agua con amortiguador de TFA) para obtener la sal de TFA de ((3-metil-4,4'-bifenildiil)bis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindiil))((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil)))biscarbamato de dimetilo (Ejemplo 3) (60,2 mg) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (400MHz, MeOH- d_4) δ 8,01 - 7,84 (m, 5 H), 7,78 - 7,54 (m, 4 H), 5,75 (d, J =6,0 Hz, 0,4 H), 5,19 (ddd, J =10,7, 6,9, 4,0 Hz, 1,6 H), 4,84 - 4,72 (m, 2 H), 4,36 - 4,12 (m, 4 H), 3,85 - 3,58 (m, 8 H), 2,69 - 1,95 (m, 13 H), 1,75 - 1,40 (m, 10 H), 1,37 - 1,02 (m, 14 H), 0,96 (app q, J =12,2 Hz, 2 H). Tiempo de retención de LC-MS: 4,050 min; m/z 461,31 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0% de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de agua / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de agua / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

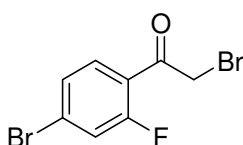
45

Ejemplo 4



5 *((3-fluoro-4,4'-bifenildiil)bis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindiil)((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil)))biscarbamato de dimetil*

Ejemplo 4, etapa a



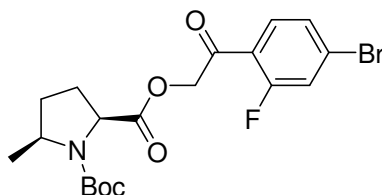
10

A una solución de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)etanon (5,0 g, 23 mmol) en dioxano (150 ml) y éter (150 ml) en un baño de agua helada a 0 °C, se agregó bromo (1,18 ml, 23,0 mmol) por goteo. La reacción se agitó durante 1 h, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La mezcla se dividió entre EtOAc (50 ml) y NaHCO₃ saturado (50 ml), y la capa orgánica se lavó con agua y se secó en Na₂SO₄. El componente volátil se evaporó al vacío, y el sólido se secó al vacío durante la noche para obtener el Ejemplo 4, etapa a (6,94 g) como un sólido blanco. ¹H NMR (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): 7,87-7,79 (m, 2 H), 7,62-7,60 (m, 1 H), 4,84 (s, 2 H).

15

Ejemplo 4, etapa b

20

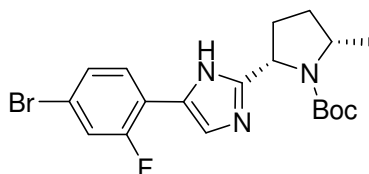


A una solución del Ejemplo 4, etapa a (2,58 g, 8,72 mmol) y ácido (2S,5S)-1-(ter-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (2,00 g, 8,72 mmol) en acetonitrilo (50 ml), se agregó DIEA (2,285 ml, 13,08 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 64 h. El solvente se retiró al vacío, y el residuo se dividió entre EtOAc (40 ml) y agua (30 ml). La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se evaporó al vacío para obtener el Ejemplo 4, etapa b (3,8 g) como un sólido amarillo. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7,87 (m, 1 H), 7,44 (m, 2 H), 5,42-5,09 (m, 2 H), 4,53-4,40 (m, 1 H), 4,10-3,95 (m, 1 H), 2,31 (m, 2 H), 2,09 (m, 1 H), 1,75 (m, 1 H), 1,49-1,46 (dos singuletes, 9 H), 1,33 (m, 3 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+Na]⁺ C₁₉H₂₄BrNNaO₅: 466,06; encontrado: 466,03.

25

30

Ejemplo 4, etapa c



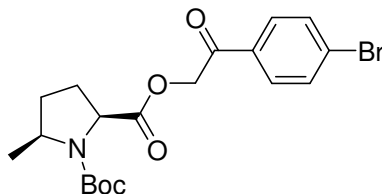
35 A un tubo de presión que contenía una solución del Ejemplo 4, etapa b (3,8 g, 8,6 mmol) en xilenos (40 ml), se agregó acetato de amonio (6,59 g, 86 mmol), y el recipiente de reacción se tapó y se calentó a 140 °C durante 6 h. El componente volátil se evaporó al vacío, y el residuo se dividió entre DCM (80 ml) y agua (50 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con NaHCO₃ saturado y se secó con Na₂SO₄. El retiro del solvente al vacío dio como resultado un aceite rojo que se purificó mediante cromatografía flash (0-40 % EtOAc/hexano) para obtener el Ejemplo 4, etapa c (2,3 g) como un sólido marrón. ¹H NMR (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): 7,98 (app. t, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,65 (dd, J

40

= 11, 1,9 Hz, 1 H), 7,45 (dd, $J = 8,3, 2, 1$ H), 7,36 (m, 1 H), 4,85 (m, 1 H), 3,90 (m, 1 H), 2,15-2,07 (m, 3 H), 1,73 (m, 1 H), 1,40-1,17 (m, 12 H). LC/MS: Anal. calc. para $[M+Na]^+$ $C_{19}H_{23}^{79}BrFN_3NaO_2$: 446,09; encontrado: 446,00.

Ejemplo 4, etapa d

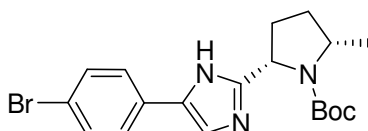
5



A una solución de 2-bromo-1-(4-bromofenil)etanona (2,425 g, 8,72 mmol) y ácido (2S,5S)-1-(ter-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico (2 g, 8,72 mmol) en acetonitrilo (50 ml), se agregó DIEA (1,524 ml, 8,72 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El solvente se retiró al vacío, y el residuo se dividió entre EtOAc (40 ml) y agua (30 ml). La fase orgánica se lavó con $NaHCO_3$ saturado y salmuera, y se secó con Na_2SO_4 . Al retirar el componente volátil al vacío, se obtuvo el Ejemplo 4, etapa d (1,74 g) como un sólido amarillo claro, que se usó sin purificación adicional. 1H NMR (DMSO- d_6 , $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): 7,95-7,90 (m, 2 H), 7,81 (m, 1 H), 7,79 (m, 1 H), 5,63-5,44 (m, 2 H), 4,36 (m, 1 H), 3,99 (m, 1 H), 2,27 (m, 1 H), 2,09 (m, 2 H), 1,63 (m, 1 H), 1,41-1,37 (dos singuletes, 9 H), 1,19 (m, 3 H). LC/MS: Anal. calc. para $[M+Na]^+$ $C_{19}H_{24}BrNNaO_5$: 448,07; encontrado: 448,06.

Ejemplo 4, etapa e

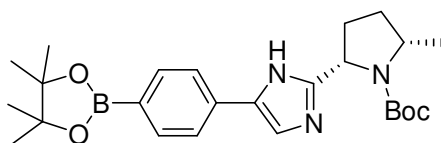
20



A un tubo de presión que contenía una solución del Ejemplo 4, etapa d (3,4 g, 8,0 mmol) en xilenos (40 ml), se agregó acetato de amonio (6,15 g, 80 mmol), y la mezcla se calentó a 140 °C durante 6 h. El componente volátil se retiró al vacío, el residuo se dividió cuidadosamente entre DCM (60 ml) y $NaHCO_3$ saturado (30 ml), y la capa orgánica se separó y se secó con Na_2SO_4 . El solvente se retiró al vacío para obtener un sólido rojo, que se purificó mediante cromatografía flash (5-50 % EtOAc/Hexano) para obtener el Ejemplo 4, etapa e (2,65 g) como un sólido marrón claro. 1H NMR (DMSO- d_6 , $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): 7,73-7,71 (m, 2 H), 7,59-7,50 (m, 3 H), 4,80 (m, 1 H), 3,89 (m, 1 H), 2,10 (m, 3 H), 1,71 (m, 1 H), 1,40-1,17 (m, 12 H). LC/MS: Anal. calc. para $[M+Na]^+$ $C_{19}H_{24}BrN_3NaO_2$: 428,09; encontrado: 428,07.

30

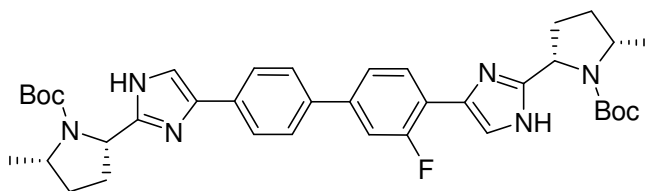
Ejemplo 4, etapa f



A una solución del Ejemplo 4, etapa e (2,64 g, 6,50 mmol) y 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (3,30 g, 13,0 mmol) en dioxano (40 ml), se agregó acetato de potasio (1,594 g, 16,24 mmol). La mezcla se desgasificó mediante burbujeo de nitrógeno durante 10 min, se agregó $Pd(Ph_3P)_4$ (0,375 g, 0,325 mmol) y se continuó con el desgasificado durante 15 min más. Luego, el recipiente de reacción se selló y se calentó a 80 °C durante 16 h. El componente volátil se evaporó al vacío, y el residuo se dividió entre DCM (100 ml) y $NaHCO_3$ parcialmente saturado (50 ml). La capa orgánica se separó, se secó con Na_2SO_4 y se evaporó al vacío para obtener un aceite rojo crudo que se purificó mediante cromatografía flash (10-90 % EtOAc/hexanos). Se obtuvo el Ejemplo 4, etapa f (2,7 g) como una espuma amarilla. 1H NMR (DMSO- d_6 , $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): 7,77 (d, $J = 8,3$ Hz, 2 H), 7,64-7,53 (m, 3 H), 4,80 (m, 1 H), 3,88 (m, 1 H), 2,09 (m, 3 H), 1,73 (m, 1 H), 1,43-1,08 (m, 24 H). LC/MS: Anal. calc. para $[M+H]^+$ $C_{25}H_{37}BrBN_3O_4$: 454,29; encontrado: 454,23.

45

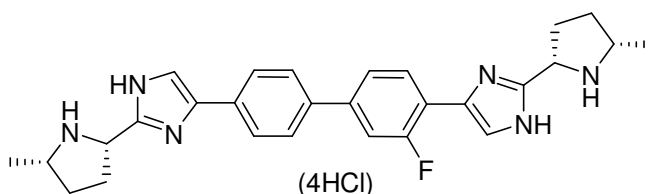
Ejemplo 4, etapa g



5 A un tubo de presión que contenía una solución del Ejemplo 4, etapa f (2,70 g, 5,96 mmol) y Ejemplo 4, etapa c (2,30 g, 5,42 mmol) en DME (70 ml), se agregó agua (17,50 ml) y bicarbonato de sodio (2,27 g, 27,1 mmol). La mezcla se desgasificó mediante burbujeo de nitrógeno durante 15 min, se agregó Pd(Ph₃P)₄ (0,313 g, 0,271 mmol) y se continuó con el desgasificado durante 15 min más. El recipiente de reacción se selló y se calentó a 80 °C durante 15 h. El solvente se evaporó al vacío, y el residuo se dividió entre DCM (100 ml) y agua (50 ml). La capa orgánica se separó, se secó con Na₂SO₄, el componente volátil se retiró al vacío, y el sólido crudo rojo resultante se purificó mediante cromatografía flash (30-100 % EtOAc/Hexano). Se obtuvo el Ejemplo 4, etapa g (1,95 g) como un sólido amarillo. ¹H NMR (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): 8,10 (m, 1 H), 7,87-7,71 (m, 4 H), 7,61-7,55 (m, 3 H), 7,37 (m, 1 H), 4,85 (m, 2 H), 3,91 (m, 2 H), 2,11 (m, 6 H), 1,76 (m, 2 H), 1,42-1,08 (m, 24 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₃₅H₄₈FN₆O₄: 671,37; encontrado: 671,35.

15

Ejemplo 4, etapa h



20 A una suspensión del Ejemplo 4, etapa g (1,95 g, 2,91 mmol) en dioxano (10 ml), se agregó HCl 4 N en dioxano (9,72 ml, 320 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Se agregó metanol (1 ml) y se continuó agitando durante 1 h. El componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se secó al vacío durante la noche. La sal de HCl del Ejemplo 4, etapa H (1,7 g) se recolectó como un sólido amarillo. ¹H NMR (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): 10,34/10,29/9,43/9,08 (cuatro S amplios, ~4 H), 8,16 (t, J = 8,3 Hz, 1 H), 8,10 (br s, 1 H), 8,00 (d, J = 8,3 Hz, 2 H), 7,92 (d, J = 8,3 Hz, 2 H), 7,78-7,72 (m, 3 H), 4,99-4,89 (m, 2 H), 3,80 (m, 2 H), 2,53-2,42 (m, 4 H), 2,25 (m, 2 H), 1,87 (m, 2 H), 1,44 (d, J = 6,5, 3 H), 1,43 (d, J = 6,5, 3 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₂₈H₃₂FN₆: 471,27; encontrado: 471,17.

25

Ejemplo 4

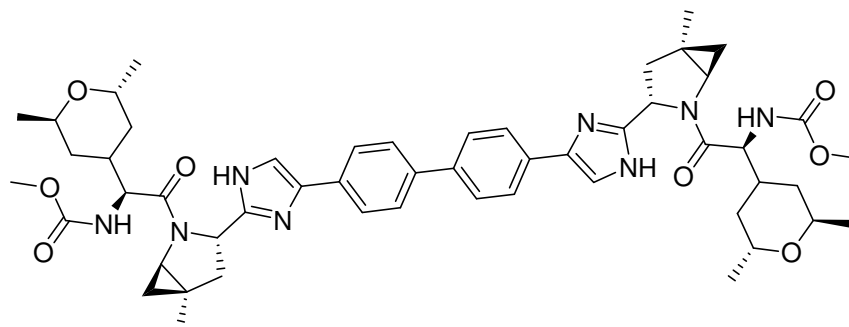
30

Se agregó HATU (59,4 mg, 0,156 mmol) a una solución de ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-((metoxicarbonil)amino)acético (Terminación 2) (38,3 mg, 0,156 mmol) y la sal de HCl del Ejemplo 4, etapa h (43,8 mg, 0,071 mmol) en DMF (0,9 ml) y DIPEA (0,10 ml, 0,57 mmol). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se concentró en un flujo de nitrógeno durante la noche. El residuo se disolvió en MeOH (3 ml), se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa (Phenomenex Luna C18(2) 100 x 30 mm, 10 micrómetros; MeOH/agua con amortiguador de TFA) para obtener la sal de TFA de ((3-fluoro-4,4'-bifenildiil)bis(1H-imidazol-4,2-diil((2S,5S)-5-metil-2,1-pirrolidindiil))((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil))biscarbamato de dimetilo (Ejemplo 4) (67,2 mg) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400MHz, MeOH-d₄) δ 8,10 - 7,84 (m, 7 H), 7,77 - 7,69 (m, 2 H), 5,78 - 5,71 (m, 0,4 H), 5,19 (td, J=10,6, 7,2 Hz, 1,6 H), 4,83 - 4,74 (m, 2 H), 4,36 - 4,12 (m, 4 H), 3,85 - 3,62 (m, 8 H), 2,72 - 1,95 (m, 10 H), 1,76 - 1,40 (m, 10 H), 1,35 - 1,02 (m, 14 H), 0,96 (app q, J=12,2 Hz, 2 H). Tiempo de retención de LC-MS: 4,031 min; m/z 463,28 [1/2M+H]⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de agua / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de agua / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

45

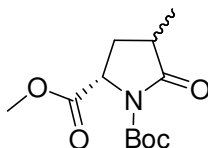
50

Ejemplo 5



- 5 (4,4'-bifenildiilbis(1H-imidazol-4,2-diil((1R,3S,5R)-5-metil-2-azabicyclo[3,1,0]hexan-3,2-diil)((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahidro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil)))biscarbamato de dimetilo

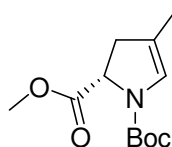
Ejemplo 5, etapa a



10

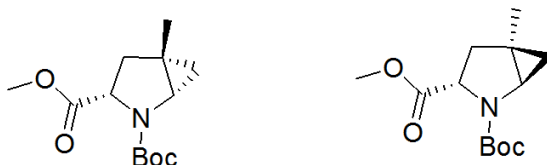
El éster anterior se preparó como una mezcla diastereomérica a partir de (S)-1-ter-butil 2-metil 5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de acuerdo con el procedimiento descrito en *Tetrahedron Letters*, **2003**, 3203-3205.

15 Ejemplo 5, etapa b



- 20 A una solución enfriada (-50 °C) de tolueno (45 ml) del Ejemplo 5, etapa a (4,75 g, 18,5 mmol), se agregó Superhydride (19,20 ml de 1M/THF, 19,20 mmol) por goteo durante 10 min. Se agregó base de Hunig (13,6 ml, 78 mmol), y se agitó durante 10 min; se agregó DMAP (0,122 g, 0,997 mmol) como un sólido, se agitó durante 15 min; y se agregó anhídrido trifluoroacético (2,98 ml, 21,1 mmol) por goteo durante 15 min; se retiró el baño de enfriamiento y se continuó agitando durante 4 h, mientras se calentaba a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó con agua (50 ml), NaCl saturado (30 ml), y la fase orgánica se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó con cromatografía flash (8-60 % EtOAc/Hexano) para obtener el Ejemplo 5, etapa b como un aceite amarillo (2,85 g). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6,36 (s, 0,5 H), 6,25 (s, 0,5 H), 4,70-4,57 (m, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 2,96 (m, 1 H), 2,54 (m, 1 H), 1,70 (s, 3 H), 1,50 (s, 4,5 H), 1,44 (s, 4,5 H).

30 Ejemplo 5, etapa c

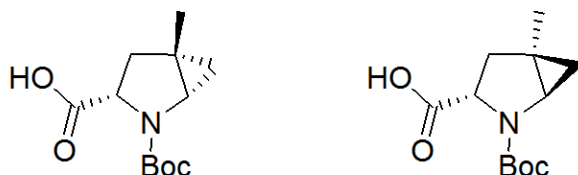


Ejemplo 5, etapa c.1 Ejemplo 5, etapa c.2

- 35 Se agregó dietilzinc (1,1 M en tolueno, 59,1 ml, 65,0 mmol) por goteo durante 20 min a una solución de tolueno enfriada (-23 °C) (60 ml) del Ejemplo 5, etapa b (5,23 g, 21,7 mmol), y se agitó durante 10 min. Se agregó cloriodometano (9,44 ml, 130 mmol) por goteo durante 10 min, y la mezcla de reacción se agitó a -21 °C durante 16 h. Se agregó NaHCO₃ saturado (60 ml) a la mezcla de reacción, se retiró el baño de enfriamiento, y la mezcla se agitó durante 10 min. Luego, se filtró, y la torta de filtrado se lavó con tolueno (50 ml). El filtrado se dividió, y la capa

orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó con cromatografía flash (2-10 % EtOAc/Hexano) para obtener el Ejemplo 5, etapa c.1 (primera elución; aceite incoloro; 2,88 g) y el Ejemplo 5, etapa c.2 (segunda elución; aceite incoloro; 1,01 g). La asignación estereoquímica relativa se realizó en función de estudios NOE. Ejemplo 5, etapa c.1: ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 4,65-4,52 (m, 1 H), 3,72 (s, 3 H), 3,28-3,17 (m, 1 H), 2,44-2,32 (m, 1 H), 2,16-2,10 (m, 1 H), 1,51-1,42 (dos s, 9 H), 1,24 (s, 3 H), 1,07 (m, 1 H), 0,69-0,60 (m, 1 H). Ejemplo 5, etapa c.2: ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 4,0 (m, 1 H), 3,76 (s, 3 H), 3,32-3,16 (m, 1 H), 2,43 (m, 1 H), 2,01 (m, 1 H), 1,44 (s, 9 H), 1,35 (s, 3 H), 0,76-0,66 (m, 2 H).

Ejemplo 5, etapa d



Ejemplo 5, etapa d.1 *Ejemplo 5, etapa d.2*

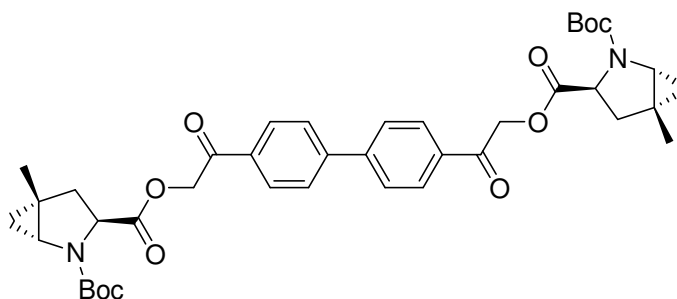
10

A una solución del Ejemplo 5, etapa c.1 (2,88 g, 11,3 mmol) en etanol (20 ml), se agregó una solución de LiOH (0,324 g, 13,5 mmol) en agua (10,00 ml), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. La mayor parte del componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se dividió entre agua (20 ml) y éter (20 ml). La capa acuosa se enfrió en un baño de agua helada, se acidificó con HCl 1 N hacia una región de pH de 2 y se extrajo con EtOAc (30 ml, 4 X). La fase orgánica combinada se secó con Na_2SO_4 y se evaporó al vacío para obtener el Ejemplo 5, etapa d.1 como un sólido pegajoso (2,55 g). ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 4,64 (m, 1 H), 3,25 (appt s, 1 H), 2,70-2,40 (m, 1 H), 2,14 (m, 1 H), 1,54-1,44 (m, 9 H), 1,27 (s, 3 H), 1,10-0,80 (m, 1 H), 0,67 (m, 1 H). El Ejemplo 5, etapa d.2 se preparó de manera similar del Ejemplo 5, etapa c.2. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 4,13 (app br s, 1 H), 3,06 (app br s, 1 H), 2,55/2,41 (superposición app br s, 2 H), 1,51 (s, 9 H), 1,27 (s, 3 H), 0,76 (app t, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 0,60 (app br s, 1 H).

15

20

Ejemplo 5, etapa e



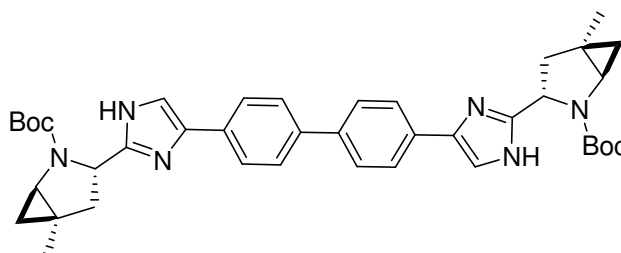
25

A una suspensión del Ejemplo 5, etapa d.2 (1,09 g, 4,52 mmol) y 1,1'-(bifenil-4,4'-diil)bis(2-bromoetanol) (0,869 g, 2,19 mmol) en acetonitrilo (40 ml), se agregó DIEA (0,789 ml, 4,52 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se dividió entre EtOAc (70 ml) y agua (50 ml). La capa orgánica se lavó con NaHCO_3 saturado (50 ml), se secó con Na_2SO_4 , se evaporó al vacío y se secó al vacío para obtener el Ejemplo 5, etapa e (1,54 g) como una espuma blanca. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, $\delta = 2,5$ ppm, 400 MHz): 8,13 (d, $J=8,3$ Hz, 4 H), 7,99 (d, $J=8,5$ Hz, 4 H), 5,70-5,54 (m, 4 H), 4,17 (m, 2 H), 3,13-3,11 (m, 2 H), 2,58-2,46 (m, 2 H), 2,19 (m, 2 H), 1,42-1,37 (dos s, 18 H), 1,24 (s, 6 H), 0,76-0,70 (m, 4 H). LC/MS: Anal. calc. para $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{NaO}_{10}$: 739,32; encontrado: 739,52.

30

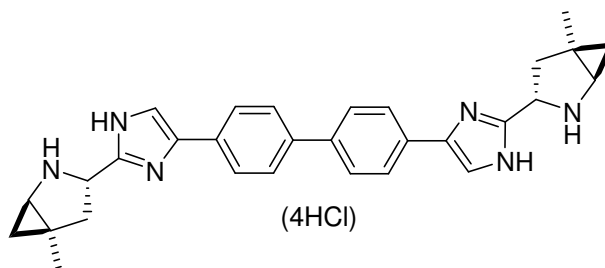
35

Ejemplo 5, etapa f



A un tubo de presión que contenía una solución del Ejemplo 5, etapa e (1,54 g, 2,15 mol) en xilenos (40 ml), se agregó acetato de amonio (1,656 g, 21,48 mmol), y el recipiente se tapó y se calentó a 140 °C durante 5 h. El componente volátil se retiró al vacío, y el residuo se dividió cuidadosamente entre DCM (50 ml) y agua (50 ml) mientras se agregaba suficiente NaHCO₃ saturado, de modo que al final de la división, la capa acuosa fuera neutra o básica. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se evaporó al vacío, y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía flash (10-100 % EtOAc/Hexano) para obtener Ejemplo 5, etapa f (0,65 g) como un sólido marrón. ¹H NMR (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): 7,84-7,65 (m, 8 H), 7,55-7,54 (m, 1,7 H), 7,32-7,30 (m, 0,3 H), 4,60 (m, 2 H), 3,20 (m, 2 H), 2,48-2,43 (m, 2 H), 2,12 (m, 2 H), 1,45-1,07 (m, 24 H), 0,77 (m, 2 H), 0,69 (m, 2 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₄₀H₄₉N₆O₄: 677,38; encontrado: 677,45.

Ejemplo 5, etapa g

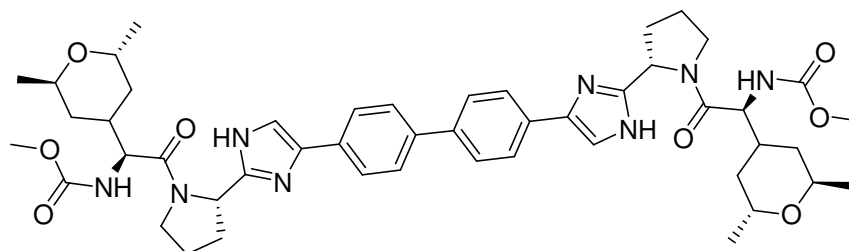


A una solución del Ejemplo 5, etapa f (0,65 g, 0,960 mmol) en dioxano (5 ml), se agregó HCl 4 N en dioxano (5,84 ml, 192 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El componente volátil se retiró al vacío y se secó al vacío durante la noche para obtener la sal de HCl del Ejemplo 5, etapa g (0,6 g) como un sólido marrón. ¹H NMR (DMSO-d₆, δ = 2,5 ppm, 400 MHz): 10,5-10 (br s, ~3,2 H), 7,99 (br s, 2 H), 7,95 (d, J = 8,5, 4 H), 7,85 (d, J = 8,5 Hz, 4 H), 4,76 (m, 2 H), 3,18 (m, 2 H), 2,61-2,46 (m, 4 H; se superpone con una señal de solvente), 1,35 (s, 6 H), 1,30 (m, 2 H), 0,82 (app br t, J = 7,1, 2 H). LC/MS: Anal. calc. para [M+H]⁺ C₃₀H₃₃N₆: 477,28; encontrado: 477,22.

Ejemplo 5

Se agregó HATU (68,2 mg, 0,179 mmol) a una solución agitada de ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-((metoxicarbonil)amino)acético (Terminación 2) (44 mg, 0,18 mmol) y la sal de HCl del Ejemplo 5, etapa g (50,8 mg, 0,083 mmol) en DMF (0,8 ml) y DIPEA (0,12 ml, 0,67 mmol). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y se concentró en un flujo de nitrógeno durante la noche. El residuo se disolvió en MeOH (~ 2,5 ml), se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa (Phenomenex Luna C18(2) 100 x 30 mm, 10 micrómetros; MeOH/agua con amortiguador de TFA) para obtener la sal de TFA de (4,4'-bifenildiiilbis(1H-imidazol-4,2-diiil((1R,3S,5R)-5-metil-2-azabicyclo[3,1,0]hexan-3,2-diiil)((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil)))biscarbamato de dimetilo (Ejemplo 5) (49,5 mg) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400MHz, MeOH-d₄) δ 7,93 (s, 2 H), 7,90 - 7,82 (m, 8 H), 5,02 (t, J=8,5 Hz, 2 H), 4,48 (d, J=8,0 Hz, 2 H), 4,26 - 4,18 (m, 2 H), 3,80 - 3,71 (m, 2 H), 3,68 (s, 6 H), 3,60 (d, J=3,3 Hz, 2 H), 2,77 (dd, J=13,4, 9,2 Hz, 2 H), 2,28 (dd, J=13,1, 7,8 Hz, 4 H), 1,56 - 1,44 (m, 6 H), 1,42 (s, 6 H), 1,25 (d, J=6,8 Hz, 6 H), 1,09 (d, J=6,0 Hz, 6 H), 1,06 - 0,91 (m, 6 H). Tiempo de retención de LC-MS: 3,900 min; m/z 466,29 [1/2M+H]⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nM. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 5 % de MeOH / 95 % de agua / 10 mM de acetato de amonio, y el solvente B fue 5 % de agua / 95 % de MeOH / 10 mM de acetato de amonio. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

Ejemplo 6



(4,4'-bifenildiiilbis(1H-imidazol-4,2-diiil(2S)-2,1-pirrolidindiiil((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-oxo-

2,1-etandiil))biscarbamato de dimetilo

Se agregó HATU (81 mg, 0,212 mmol) a una solución agitada de la sal de HCl de 4,4'-bis(2-((S)-pirrolidin-2-il)-1H-imidazol-5-il)-1,1'-bifenilo (preparada en WO2008/021927) (56,2 mg, 0,099 mmol) y ácido (S)-2-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-((metoxicarbonil)amino)acético (Terminación 2) (52 mg, 0,21 mmol) en DMF (1,0 ml) y DIPEA (0,14 ml, 0,79 mmol). La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y luego se concentró en un flujo de nitrógeno. El residuo se disolvió en MeOH (~ 5 ml), se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa (Phenomenex Luna C18(2) 100 x 30 mm, 10 micrómetros; MeOH/agua con amortiguador de TFA) para obtener la sal de TFA de (4,4'-bifenildiilbis(1H-imidazol-4,2-diil(2S)-2,1-pirrolidindiil((1S)-1-((2R,6R)-2,6-dimetiltetrahydro-2H-piran-4-il)-2-oxo-2,1-etandiil))biscarbamato de dimetilo (Ejemplo 6) (83 mg) como un sólido amarillo claro. ¹H NMR (400MHz, MeOH-d₄) δ 7,96 (s, 2 H), 7,91 - 7,84 (m, 8 H), 5,26 (t, J=7,5 Hz, 2 H), 4,24 - 4,09 (m, 6 H), 3,93 - 3,84 (m, 2 H), 3,74 - 3,68 (m, 2 H), 3,67 (s, 6 H), 2,63 - 2,55 (m, 2 H), 2,39 - 2,12 (m, 8 H), 1,57 (d, J=11,0 Hz, 2 H), 1,51 - 1,41 (m, 2 H), 1,32 - 1,25 (m, 2 H), 1,22 (d, J=7,0 Hz, 6 H), 1,05 (d, J=6,0 Hz, 6 H), 0,98 (app q, J=12,3 Hz, 2 H). Tiempo de retención de LC-MS: 1,660 min; m/z 879,8 [M+H]⁺. Los datos LC se registraron en un cromatógrafo de líquidos Shimadzu LC-10AS equipado con una columna Phenomenex-Luna 3u C18 2,0 x 50 mm usando un detector SPD-10AV UV-Vis con una longitud de onda del detector de 220 nm. Para las condiciones de elución se usaron velocidad de flujo de 0,8 ml/min, gradiente de 100 % de solvente A / 0 % de solvente B a 0 % de solvente A / 100 % de solvente B, tiempo de gradiente de 4 min, tiempo de mantenimiento de 1 min y tiempo de análisis de 5 min, cuando el solvente A fue 10 % de acetonitrilo / 90 % de agua / 0,1% de ácido trifluoroacético y el solvente B fue 10 % de agua / 90 % de acetonitrilo / 0,1 % de ácido trifluoroacético. Los datos de MS se determinaron con una plataforma Micromass para LC en modo electrospray.

Actividad biológica

En la presente descripción, se usó un ensayo de replicación de HCV que se preparó, se condujo y se validó como se describe en el PCT/US2006/022197 de propiedad conjunta y en O'Boyle et. al. *Antimicrob Agents Chemother.* **2005** Apr; 49(4):1346-53. También se usaron, como se describió, métodos de ensayo recomendados que incorporan informantes de luciferasa de fuentes comerciales (Apath.com).

Se usaron células replicón de HCV-neo y células replicón que contenían sustituciones de resistencia en la región NS5A para evaluar la familia de compuestos descrita en la presente. Se determinó que los compuestos tenían distintos grados de actividad inhibitoria reducida en células que contenían mutaciones, en comparación con la potencia inhibitoria correspondiente contra las células de tipo silvestre. Por ello, los compuestos de la presente descripción pueden ser eficaces para inhibir la función de la proteína NS5A del HCV y se entiende que son eficaces en las combinaciones antes descritas en la solicitud PCT/US2006/022197 y WO/04014852 de propiedad conjunta. Debe tenerse en cuenta que los compuestos de la presente descripción puede inhibir varios genotipos del HCV. La Tabla 2 muestra los valores EC₅₀ (concentración inhibitoria eficaz al 50 %) de los compuestos representativos de la presente descripción contra el genotipo 1b del HCV de tipo silvestre, el genotipo 1b LV/YH del HCV mutante de doble resistencia, el genotipo 1a del HCV y el genotipo 1a YH mutante de resistencia simple.

Los compuestos de la presente descripción pueden inhibir el HCV mediante mecanismos adicionales a la inhibición de NS5A o diferentes. En una forma de realización, los compuestos de la presente descripción inhiben el replicón del HCV y, en otra forma de realización, los compuestos de la presente descripción inhiben la NS5A. Los compuestos de la presente descripción pueden inhibir varios genotipos del HCV que contienen múltiples variantes de las secuencias de NS5A.

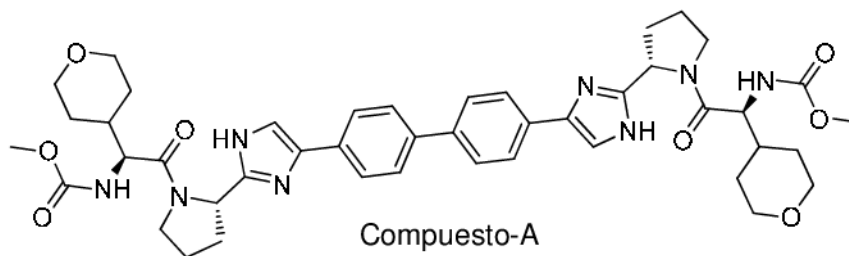
Estudios farmacocinéticos de dosis única intravenosa (IV) y oral (PO) en ratas

La farmacocinética de los Ejemplos 1 a 6 y el compuesto A (WO2008/021927) se caracterizaron en ratas macho Sprague-Dawley (260 - 310 g)(véase la Tabla 2). En estos estudios, dos grupos de animales (N = 3 por grupo) recibieron una infusión intravenosa (IV) (2 mg/kg durante 10 minutos) a través de la vena yugular o por gavage oral (5 mg/kg) en un vehículo de 100 % de PEG 400 o 90:5:5 de PEG 400:etanol:TPGS, respectivamente. Las ratas del grupo de dosificación oral se sometieron a ayuno durante la noche. Las muestras de sangre en serie se obtuvieron a 0,17 (IV únicamente), 0,25; 0,5; 0,75; 1, 2; 4; 6; 8 y 24 h después de la dosis. Las muestras de sangre (~0,3 ml) se recolectaron de la vena yugular en tubos que contenían K₃EDTA y, luego, se centrifugaron a 4 °C (1500-2000xg) para obtener plasma. Las muestras de plasma se almacenaron a -20 °C hasta el análisis mediante LC/MS/MS.

Se desarrolló un método bioanalítico mediante el uso de separación por cromatografía de líquidos, y luego, la detección por espectrometría de masa en tándem (LC/MS/MS) para el análisis de compuestos en plasma de rata. La detección se realizó mediante el control de la reacción seleccionada. Se seleccionaron iones que representan las especies precursoras (M+H)⁺ en cuadrípulo 1 y se disociaron por colisión con N₂ para generar iones de productos específicos, que se controlaron posteriormente mediante cuadrípulo 3. Las curvas estándares se prepararon en plasma de ratas macho y se procesaron de la misma manera que las muestras de prueba para generar datos cuantitativos.

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon usando métodos no compartimentales mediante Kinetica. No se

usaron valores por debajo del límite de cuantificación (LLOQ) en los cálculos. El área debajo de la curva (AUC) se calculó usando la regla trapezoidal lineal.



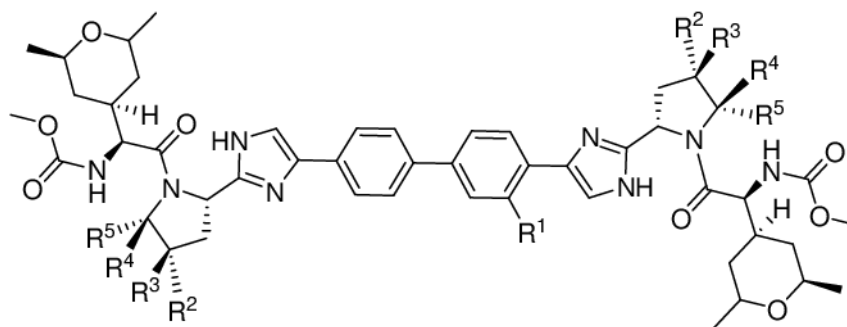
5

Tabla 2

	PK 24 h rata (Auc, nM.h; biodisponibilidad oral)	EC50 (uM)				G 1a (CC50, uM)
		G 1b tipo silvestre	G 1b LV/YH	G 1a tipo silvestre	G 1a YH	
Compuesto-A	103; 1,3 %	1,19E-04	0,020	5,11E-05	0,013	63,90
Ejemplo 1	1603; 15 %	3,96E-06	3,19E-03	5,48E-06	9,77E-04	8,46
Ejemplo 2	2219; 12 %	8,03E-06	1,15E-04	6,43E-06	1,58E-04	5,89
Ejemplo 3	4486; 17 %	6,41E-06	1,91E-04	5,20E-06	1,08E-03	6,15
Ejemplo 4	1729; 16 %	4,15E-06	4,36E-04	5,95E-06	4,02E-04	7,75
Ejemplo 5	539; 6,3 %	6,85E-06	9,85E-06	3,72E-06	6,07E-05	5,34
Ejemplo 6	1356; 5 %	3,67E-05	6,59E-04	1,62E-05	3,83E-04	15,42

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I)



(I),

5

o una sal de este aceptable del mismo el punto de vista farmacéutico, en donde

R¹ se selecciona de hidrógeno, metilo y flúor;

R² se selecciona de hidrógeno y metilo;

R³ y R⁴ son, cada uno, hidrógeno; o

R³ y R⁴, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo ciclopropilo; y

R⁵ se selecciona de hidrógeno y metilo.

10

15 2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde R¹ es hidrógeno.

3. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde R¹ es flúor.

20

4. El compuesto de la reivindicación 3, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde

R², R³ y R⁴ son cada uno hidrógeno; y

R⁵ es metilo.

25

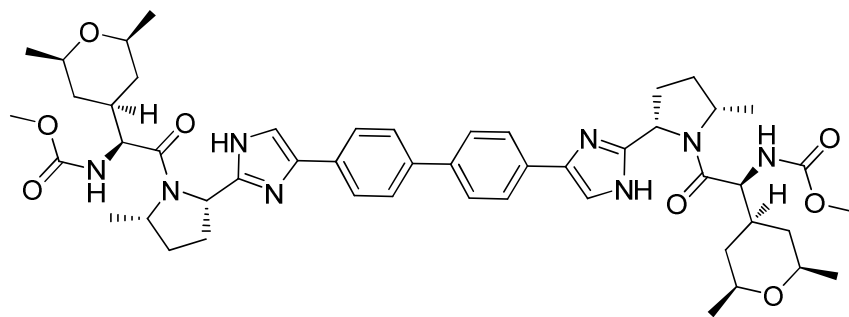
5. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde R¹ es metilo.

30 6. El compuesto de la reivindicación 5, en donde

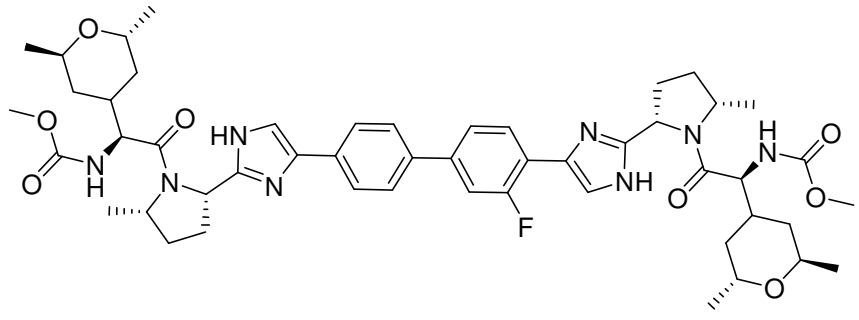
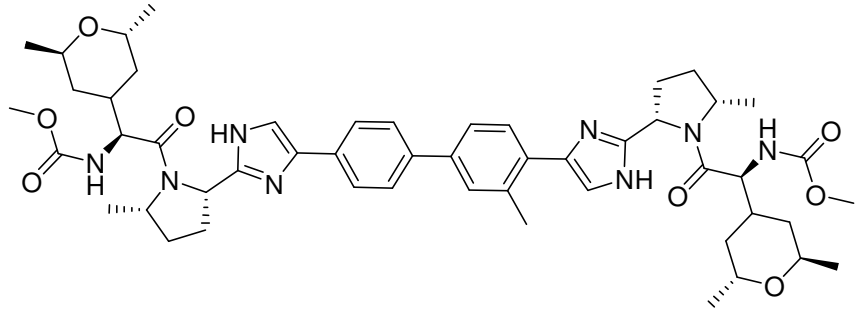
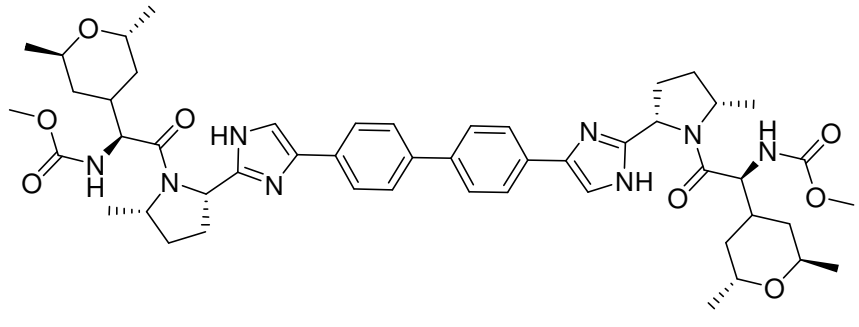
R², R³ y R⁴ son cada uno hidrógeno; y

R⁵ es metilo.

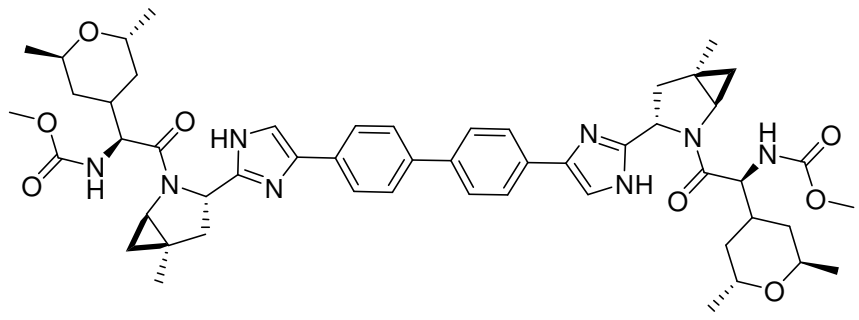
35 7. Un compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de:



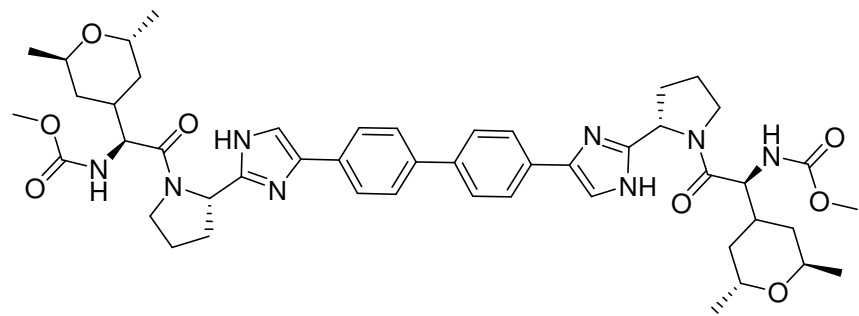
;



5



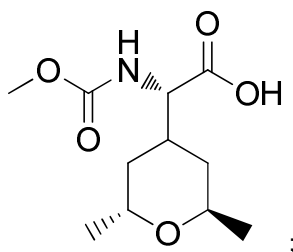
y



10

o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

8. Un compuesto que es



o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

- 5 9. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, y un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.
- 10 10. La composición de la reivindicación 9, que comprende además uno, dos o tres compuestos adicionales que tienen actividad contra HCV.
11. La composición de acuerdo con la reivindicación 10, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es un inerferón o un ribavirin.
- 15 12. La composición de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón lambda e interferón tau linfoblastoide.
- 20 13. La composición de la reivindicación 10, en donde al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de la respuesta de los linfocitos T *helper* tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, imiqimod, ribavirin, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadine y rimantadine.
- 25 14. La composición de la reivindicación 10, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada de metaloproteasa de HCV, serina proteasa de HCV, polimerasa de HCV, helicasa de HCV, proteína NS4B de HCV, entrada de HCV, montaje de HCV, egreso de HCV, proteína NS5A de HCV e IMPDH para el tratamiento de infección por HCV.
- 30 15. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, para su uso en un método para tratar una infección por HCV en un paciente.
- 35 16. El compuesto para el uso de la reivindicación 15 que además comprende administrar uno, dos o tres compuestos adicionales con actividad contra HCV antes, después o al mismo tiempo que el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.
- 40 17. El compuesto para el uso de la reivindicación 16, en donde al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o un ribavirin.
- 45 18. El compuesto para el uso de la reivindicación 17, en donde el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón consenso, interferón alfa 2A, interferón lambda e interferón tau linfoblastoide.
19. El compuesto para el uso de la reivindicación 16, en donde al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que mejora el desarrollo de una respuesta de los linfocitos T *helper* de tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, imiqimod, ribavirin, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadine y rimantadine.
20. El compuesto para el uso de la reivindicación 16, en donde al menos uno de los compuestos es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada de metaloproteasa de HCV, serina proteasa de HCV, polimerasa de HCV, helicasa de HCV, proteína NS4B de HCV, entrada de HCV, montaje de HCV, egreso de HCV, proteína NS5A de HCV e IMPDH para el tratamiento de infección por HCV.