(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 548 286**

(51) Int. Cl.:

C07D 403/14 (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01)
A61K 31/12 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2011 E 11784875 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015 EP 2635571**

(54) Título: **Nuevos inhibidores del virus de la hepatitis C**

(30) Prioridad:

01.06.2011 US 201161492267 P
17.02.2011 US 201161444046 P
04.11.2010 US 410267 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.10.2015

(73) Titular/es:

THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC
(100.0%)
901 Gateway Boulevard
South San Francisco, CA 94080, US

(72) Inventor/es:

MCKINNELL, ROBERT MURRAY;
LONG, DANIEL D.;
VAN ORDEN, LORI JEAN;
JIANG, LAN;
LOO, MANDY;
SAITO, DAISUKE ROLAND;
ZIPFEL, SHEILA;
STANGELAND, ERIC L.;
LEPACK, KASSANDRA;
OGAWA, GAVIN;
HUANG, XIAOJUN y
ZHANG, WEIJIANG

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 548 286 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos inhibidores del virus de la hepatitis C

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

La invención se refiere a compuestos útiles como inhibidores de la replicación del virus de la hepatitis C (VHC). La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a compuestos para su uso en terapia, por ejemplo para tratar la infección por el VHC, y a procedimientos e intermedios útiles para preparar dichos compuestos.

Estado de la técnica

Estimaciones recientes indican que el número de personas infectadas por el virus de la hepatitis C (VHC) en todo el mundo es de más de 170 millones, incluyendo 3 millones de personas en Estados Unidos. Se piensa que la tasa de infección es de aproximadamente de 4 a 5 veces la del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Mientras que en algunos individuos, la respuesta inmunitaria natural es capaz de superar al virus, en la mayoría de los casos se establece una infección crónica, lo que lleva a un mayor riesgo de desarrollar cirrosis hepática y carcinomas hepatocelulares. Por tanto, la infección por hepatitis C supone un grave problema de salud pública.

Antes de mediados de 2011, la norma aceptada de la atención para el VHC implicó el uso de un interferón pegilado que se cree que actúa reforzando la respuesta inmunitaria del organismo, junto con ribavirina. Por desgracia, el curso del tratamiento es largo, por lo general de 48 semanas, a menudo acompañado de efectos secundarios adversos graves, incluidos depresión, síntomas parecidos a los de la gripe, fatiga y anemia hemolítica, y poco efectiva hasta en el 50 % de los pacientes. A mediados de 2011, en Estados Unidos se aprobaron dos inhibidores de la proteasa del VHC para su uso en combinación con interferón y ribavirina. Aunque se han notificado mejores tasas de curación, el curso de la terapia sigue siendo largo y se acompaña de efectos secundarios indeseables. De acuerdo con lo anterior, sigue existiendo una importante necesidad no satisfecha en el tratamiento del VHC.

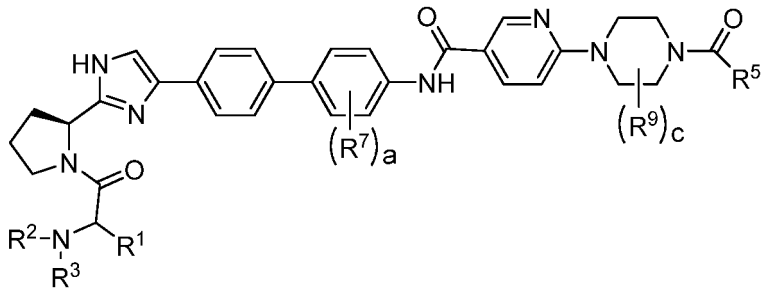
El virus responsable de la infección por VHC se ha identificado como un virus de ARN de cadena positiva que pertenece a la familia *Flaviviridae.* El genoma del VHC codifica una poliproteína que durante el ciclo de vida viral se escinde en diez proteínas individuales, incluidas proteínas tanto estructurales como no estructurales. Se ha demostrado que las seis proteínas no estructurales, denominadas NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B, son necesarias para la replicación del ARN. En particular, la proteína NS5A parece desempeñar un papel significativo en la replicación viral, así como en la modulación de la fisiología de la célula huésped. Los efectos de la NS5A sobre la señalización del interferón, también se han identificado la regulación del crecimiento celular y la apoptosis. (Macdonald y col., Journal of General Virology (2004), 85, 2485 – 2502.) Se espera que los compuestos que inhiben la función de la proteína NS5A proporcionen un nuevo enfoque para la terapia del VHC.

El documento WO 2010/094977 describe compuestos útiles en el tratamiento de la hepatitis C.

Sumario de la invención

En un aspecto, la invención proporciona nuevos compuestos que inhiben la replicación del virus VHC.

Por consiguiente, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I):



(I)

en la que

R^1 se selecciona entre alquilo C_{1-6}, fenilo, y cicloalquilo C_{3-6}, en la que alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con $-OR^q$, donde R^q es hidrógeno o alquilo C_{1-3};
R^2 se selecciona entre hidrógeno y alquilo C_{1-6};
R^3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo C_{1-6}, -C(O)Oalquilo C_{1-6}, $-C(O)NR^aR^b$, -C(O)cicloalquilo C_{3-6}, y -

$S(O)_2$alquilo C_{1-3};
en la que
R^a y R^b son de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-6};
R^5 se selecciona entre alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-6}, alcoxi C_{1-6}, $-C(R^kR^d)NR^eR^f$, $-NR^gR^h$, heteroarilo, heterociclo y $-CH_2$-heteroarilo;
en la que:

cualquier heteroarilo o heterociclo tiene 5 o 6 átomos de anillo;
alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes escogidos de forma independiente entre $-OR^c$, -NHC(O)alquilo C_{1-3}, y -NHC(O)Oalquilo C_{1-3};
alcoxi C_{1-6} está opcionalmente sustituido con $-OR^d$;
cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes escogidos de forma independiente entre alquilo C_{1-3} y halo;
cualquier heterociclo está opcionalmente sustituido con uno, dos, o tres sustituyentes escogidos de forma independiente entre alquilo C_{1-3}, halo, -C(O)Oalquilo C_{1-3} -C(O)alquilo C_{1-6}, -C(O)cicloalquilo C_{3-6}, -C(O)NHalquilo C_{1-6} y -C(O)NHcicloalquilo C_{3-6};
en la que cualquier -C(O)alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con -NHC(O)O alquilo C_{1-3}, $-OR^n$, $-NR^dR^e$, o heterociclo,
cualquier -C(O)cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3}, y
cualquier -C(O)NHalquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con $-OR^n$ o cicloalquilo C_{3-6};
cualquier heteroarilo está opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-3};
R^c se escoge de forma independiente entre hidrógeno, alquilo C_{1-6}, y fenilo;
R^k, R^d, R^e, R^g, y R^h son cada uno de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-3};
R^f se selecciona entre hidrógeno y -C(O)alquilo C_{1-3};
R^n es de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-3};

R^7 se selecciona entre halo, alquilo C_{1-6}, y alcoxi C_{1-6} en la que alquilo C_{1-6} y alcoxi C_{1-6} están opcionalmente sustituidos con uno, dos, o tres halo; y
R^9 es alquilo C_{1-3};
a es 1 o 2; y
c es 1 o 2;

o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

Según se usa a continuación en la presente memoria, la frase "compuesto de fórmula (I)" significa un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es decir, esta frase significa un compuesto de fórmula (I) en forma de base libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, a menos que se indique lo contrario.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más de otros agentes terapéuticos útiles para tratar las infecciones por el virus de la hepatitis C.

Los compuestos de la invención encuentran utilidad en un procedimiento para tratar una infección viral de la hepatitis C en un mamífero, comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o de una composición farmacéutica de la invención. Además, los compuestos de la invención encuentran utilidad en un procedimiento de tratamiento de una infección por el virus de la hepatitis C en un mamífero, comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero un compuesto o una composición farmacéutica de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos útiles para tratar las infecciones por el virus de la hepatitis C. Adicionalmente, los compuestos de la invención encuentran utilidad en un procedimiento para inhibir la replicación del virus de la hepatitis C en un mamífero, comprendiendo el procedimiento administrar un compuesto o una composición farmacéutica de la invención.

En aspectos separados y distintos, la invención proporciona asimismo procedimientos de síntesis e intermedios que se describen en el presente documento y que resultan útiles en la preparación de los compuestos de la invención.

La invención también proporciona un compuesto de la invención como se describe en el presente documento para su uso en terapia médica, así como el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de una formulación o medicamento para tratar una infección por el virus de la hepatitis C en un mamífero.

Descripción detallada de la invención

Entre otros aspectos, la invención proporciona inhibidores de la replicación del VHC de fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y productos intermedios para la preparación de los mismos. Se pretende que los siguientes sustituyentes y valores proporcionen ejemplos representativos de diversos aspectos de la presente invención. Se pretende que estos valores representativos definan adicionalmente dichos aspectos y no se pretende excluir otros valores ni limitar el alcance de la presente invención.

R^1 se selecciona entre alquilo C_{1-6}, fenilo y cicloalquilo C_{3-6}, en la que alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con -OR^q;
donde R^q es hidrógeno o alquilo C_{1-3}.

En un aspecto específico, R^1 se selecciona entre alquilo C_{1-6} y fenilo.

En un aspecto específico, R^1 es alquilo C_{1-3}

En otro aspecto específico, R^1 es isopropilo.

R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-6}.

En un aspecto específico, R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-3}; o R^2 es hidrógeno.

R^3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo C_{1-6}, -C(O)Oalquilo C_{1-6}, -C(O)NR^aR^b, -C(O)cicloalquilo C_{3-6}, y -$S(O)_2$alquilo C_{1-3}, en la que R^a y R^b son de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-6}.

En aspectos específicos, R^3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo C_{1-6}, y -C(O)Oalquilo C_{1-6}; y R^3 es -C(O)Oalquilo C_{1-3}.

En un aspecto específico, R^1 es alquilo C_{1-6}, R^2 es hidrógeno y R^3 es -C(O)Oalquilo C_{1-6}.

En otro aspecto específico, R^1 es isopropilo, R^2 es hidrógeno y R^3 es -C(O)OCH_3.

En otros aspectos específicos, R^1 es fenilo y R^2 y R^3 son cada uno alquilo C_{1-3}, o R^1 es fenilo y R^2 y R^3 son cada uno etilo; o R^1 es fenilo, R^2 es hidrógeno y R^3 es -C(O)Oalquilo C_{1-3}.

En un aspecto específico, R^5 se selecciona entre alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-6}, alcoxi C_{1-6}, -C(R^kR^d)NR^eR^f, -NR^gR^h, heteroarilo, heterociclo y -CH_2-heteroarilo, en la que cualquier heteroarilo o heterociclo tiene cinco o seis átomos de anillo; cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3}; cualquier heterociclo está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes escogidos entre alquilo C_{1-3} halo, -C(O)Oalquilo C_{1-3}, -C(O)alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con -NHC(O)Oalquilo C_{1-3} y -C(O)cicloalquilo C_{3-6} opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3}; R^k, R^d, R^e, R^g, y R^h son cada uno de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-3}; y R^f se selecciona entre hidrógeno y C(O)alquilo C_{1-3}.

En otro aspecto específico, R^5 se selecciona entre cicloalquilo C_{3-4}, -$CH_2NR^eR^f$, -NR^gR^h, imidazolilo, pirazolilo, pirimidinilo y pirrolidinilo; en la que: cicloalquilo C_{3-4} está opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3}; pirrolidinilo está sustituido con metilo y un sustituyente escogido entre -C(O)Oalquilo C_{1-3}, -C(O)alquilo C_{1-6}, y -C(O)NHalquilo C_{1-6}, en la que C(O)alquilo C_{1-6} está sustituido con -NHC(O)Oalquilo C_{1-3}, -OR^n, -NR^dR^e, o heterociclo.

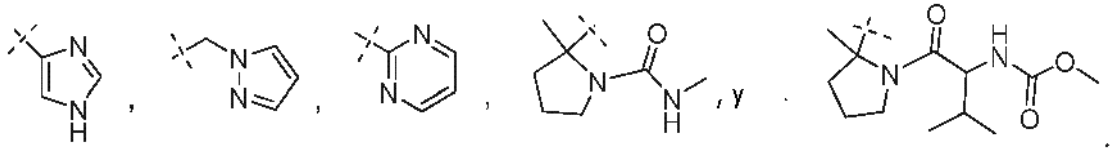
En otro aspecto específico, R^5 se escoge entre, -O-terc-butilo, ciclopropilo, terc-butilo, -$NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo, pirimidinilo, pirazolilo, imidazolilo, -CH_2-pirazolilo, 1-acetilpirrolidinilo, éster metílico de ácido 2-metilpirrolidin-1-carboxílico, 1-ciclopropil-2-metilpirrolidina, 1-(2,2-dimetilciclopropil)-2-metilpirrolidina y éster metílico de ácido [-2-metil-1-(2- metil-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico.

En otro aspecto específico, R^5 se escoge entre, -O-terc-butilo, ciclopropilo, terc-butilo, -$NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo, pirimidinilo, pirazolilo, imidazolilo, -CH_2-pirazolilo, y 1-acetilpirrolidinilo.

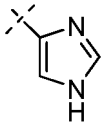
En otro aspecto, R^5 es un anillo heteroarilo de cinco o seis miembros;

En otro aspecto adicional, R^5 es ciclopropilo o 2,2-dimetilciclopropilo.

En otro aspecto, R^5 se selecciona entre -$NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo,



En otro aspecto, R^5 se selecciona entre -$NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo, y



En otro aspecto adicional, R^5 es $-NHCH_3$,

R^7 se escoge de forma independiente entre halo, alquilo C_{1-6}, y alcoxi C_{1-6} en la que alquilo C_{1-6} y alcoxi C_{1-6} están opcionalmente sustituidos con uno, dos, o tres halo.

En un aspecto específico, R^7 es halo.

En otro aspecto específico, R^7 es cloro o flúor.

En otro aspecto específico, R^7 se selecciona entre metilo, $-CF_3$, $-OCH_3$, $-OCF_3$ y flúor.

En otro aspecto específico, R^7 se selecciona entre flúor, cloro, $-CF_3$ y $-OCF_3$.

En un aspecto específico, R^9 es metilo.

a es 1 o 2.

En un aspecto específico, *a* es 1.

c es 1 o 2.

En un aspecto específico, *c* es 2.

En otro aspecto específico, *c* es 1.

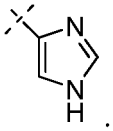
Un grupo particular de compuestos de fórmula (I) es un grupo en el que:

R^5 se selecciona entre cicloalquilo C_{3-4}, $-CH_2NR^eR^f$, $-NR^gR^h$, imidazolilo, pirazolilo, pirimidinilo y pirrolidinilo; en la que:

cicloalquilo C_{3-4} está opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3};
pirrolidinilo está sustituido con metilo y a sustituyente escogido entre -C(O)Oalquilo C_{1-3}, -C(O)alquilo C_{1-6}, -C(O)NHalquilo C_{1-6}, en la que
-C(O)alquilo C_{1-6} está sustituido con -NHC(O)Oalquilo C_{1-3}, $-OR^n$, $-NR^dR^e$ o heterociclo;
donde R^e, R^g, y R^h son cada uno de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-3}; y R^f se selecciona entre hidrógeno y -C(O)alquilo C_{1-3},

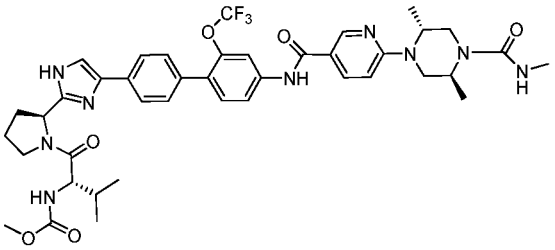
Otro grupo de compuestos de fórmula (III) es un grupo en el que:

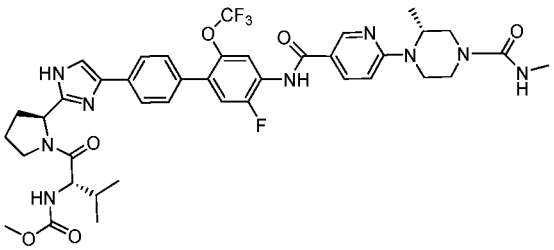
R^1 es isopropilo, R^2 es hidrógeno; R^3 es $-C(O)OCH_3$;
R^7 se selecciona entre flúor, cloro, $-CF_3$ y $-OCF_3$; R^9 es metilo; y
R^5 se selecciona entre $-NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo, y

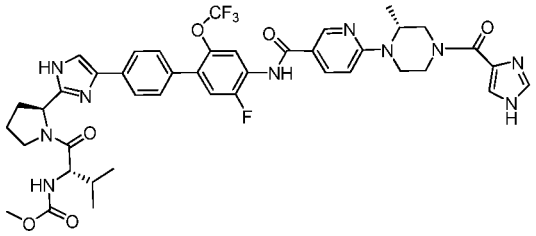


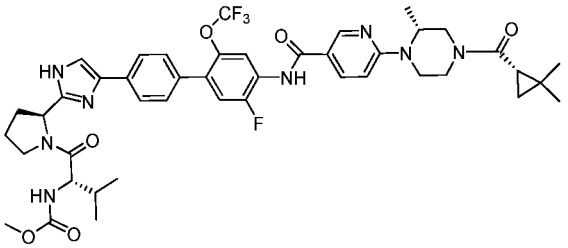
En un aspecto, la invención proporciona los compuestos de los Ejemplos 15-38, 41-49, 51-55, 57-65, 77 y 78 y las Tablas 21 y 24-28 siguientes.

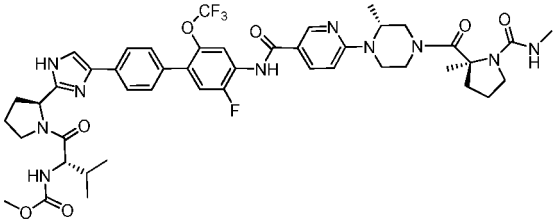
En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto escogido entre los compuestos mostrados a continuación

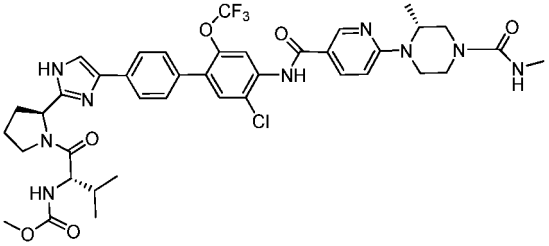


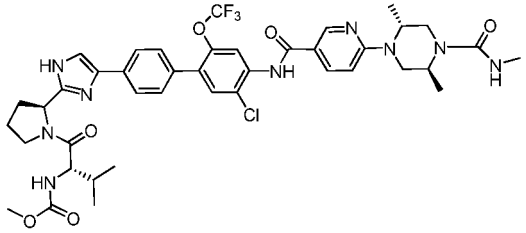


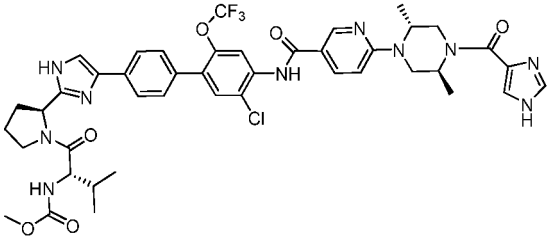


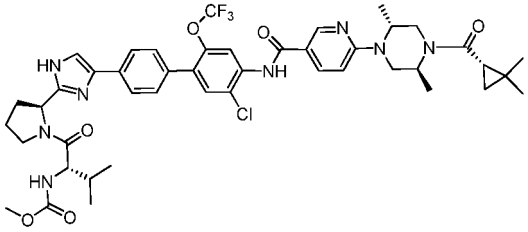


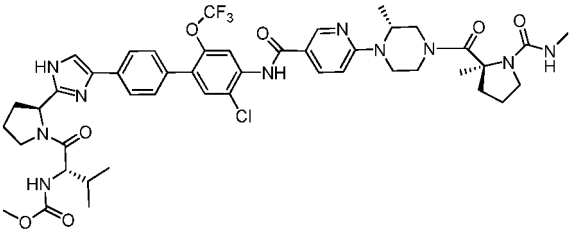


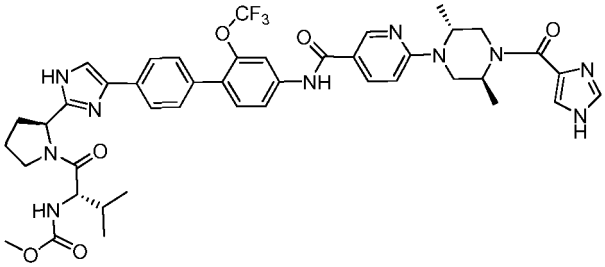


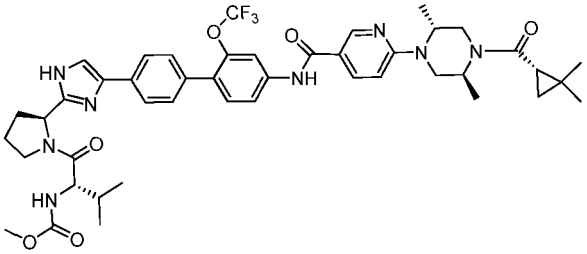


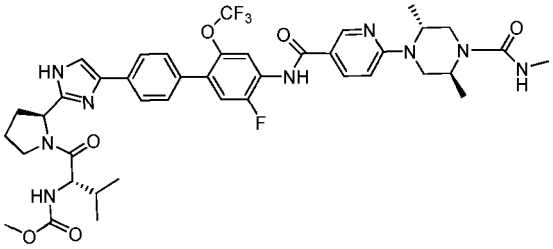


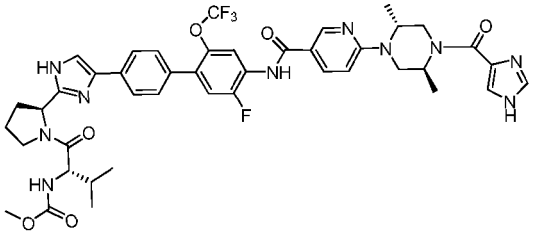


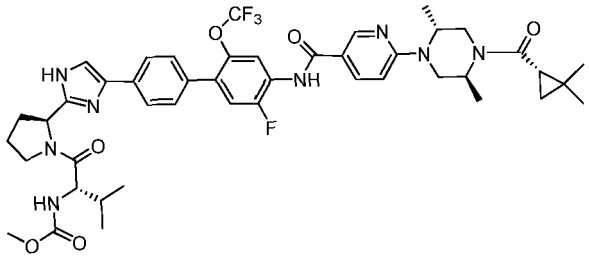


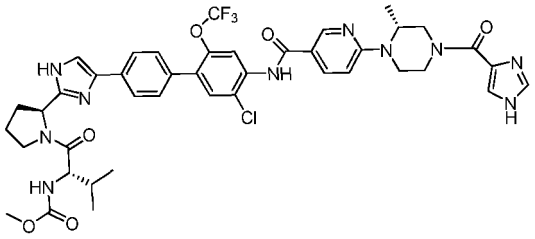


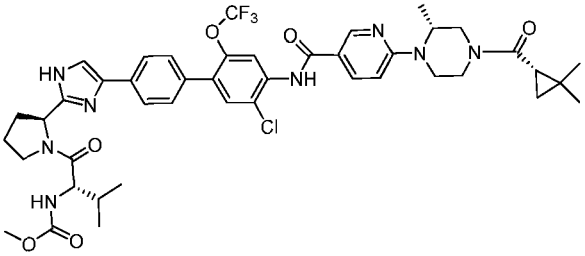


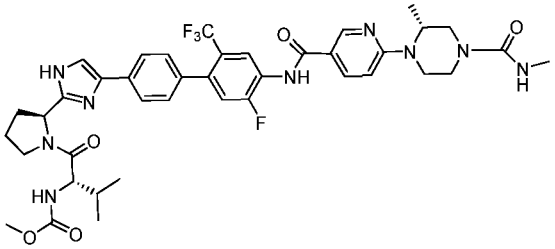


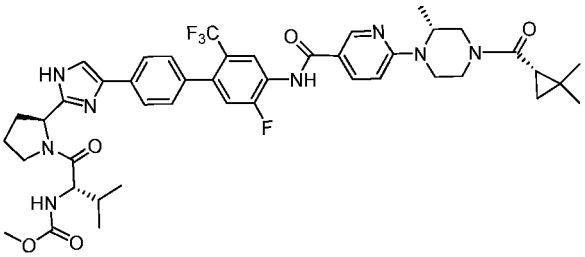


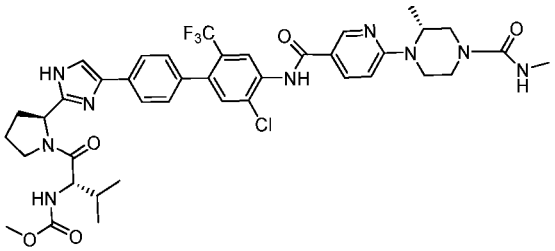


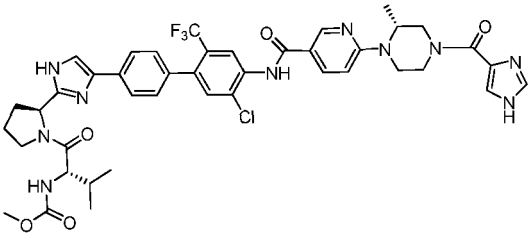


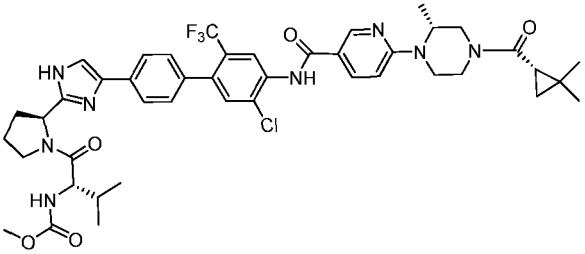


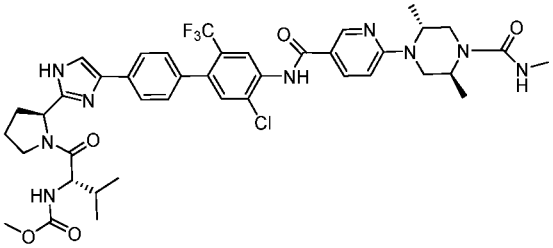


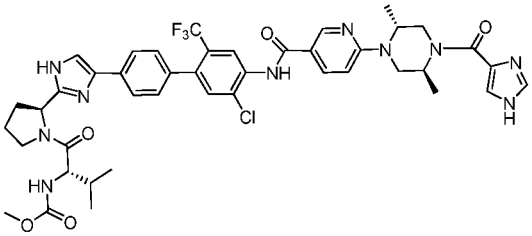


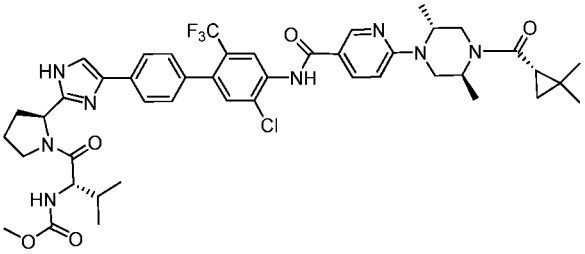






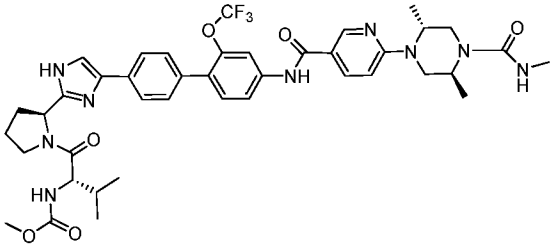


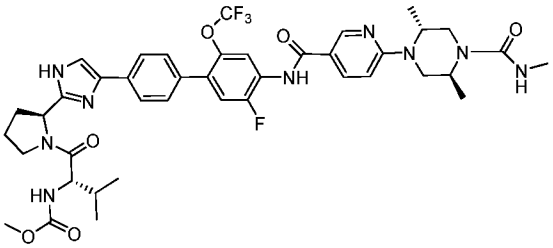


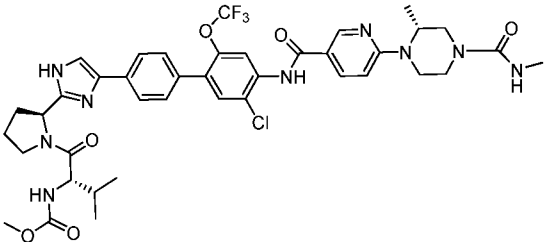


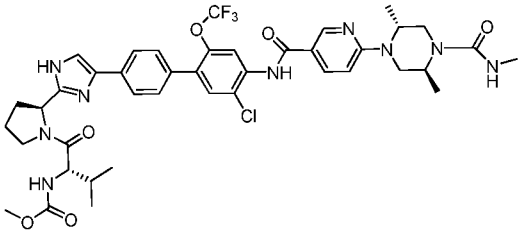
y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto escogido entre los siguientes compuestos



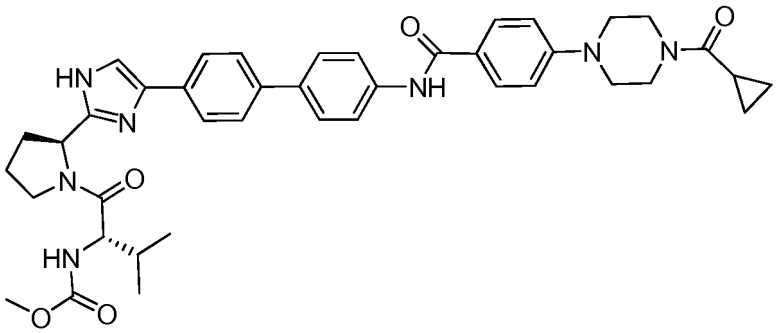






y sus sales farmacéuticamente aceptables.

La convención de nomenclatura química usada en la presente memoria se ilustra para el siguiente compuesto (no dentro del ámbito de la invención):



que es éster metílico de ácido {(S)-1-[(S)-2-(4-{4'-[4-(4-ciclopropanocarbonil-piperazin-1-il)-benzoilamino]-bifenil-4-il}-1H-imidazol-2-il)-pirrolidin-1-carbonil]-2-metil-propil}-carbámico de acuerdo con las convenciones IUPAC tal y como se pone en práctica en el soporte lógico AutoNom, (MDL Information Systems, GmbH, Frankfurt, Alemania).

Los compuestos de la invención contienen uno o más centros quirales y por tanto, dichos compuestos (y sus intermedios) pueden existir en forma de mezclas racémicas; estereoisómeros puros (es decir, enantiómeros o diastereoisómeros); mezclas enriquecidas en estereoisómeros y similares. Se pretende que los compuestos quirales mostrados o nombrados en la presente memoria sin una estereoquímica definida en el centro quiral incluyan cualesquiera o todos las variaciones de estereoisómeros posibles en el esterocentro definido, a menos que se indique lo contrario. El dibujo o nomenclatura de un estereoisómero particular significa que el estereocentro indicado tiene la estereoquímica designada, teniendo presente que pueden estar presentes también cantidades menores de otros estereoisómeros a menos que se indique lo contrario, con la condición de que no se elimine la utilidad del compuesto mostrado o nombrado por la presencia de otro estereoisómero.

Los compuestos de fórmula (I) también contienen diversos grupos básicos (por ejemplo, grupos amino) y por tanto, dichos compuestos pueden existir en forma de base libre o en varias formas de sales, tales como forma de sal mono-protonada, forma de sal di-protonada, forma de sal tri-protonada o sus mezclas. Dichas formas se incluyen dentro del ámbito de la presente invención, a menos que se indique lo contrario.

La presente invención también incluye compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I), es decir, compuestos de fórmula (I) en los que se ha sustituido un átomo o están enriquecidos con un átomo que tiene el mismo número atómico pero diferente número másico de la masa atómica que predomina en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en un compuesto de fórmula (I) incluyen, pero sin limitarse a, ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{13}N, ^{15}N, ^{15}O, ^{17}O, ^{18}O, ^{35}S, ^{36}Cl, y ^{18}F. De particular interés, son los compuestos de fórmula (I) enriquecidos en tritio o carbono-14, pudiéndose usar dichos compuestos, por ejemplo, en estudios de distribución de tejidos. También son de particular interés los compuestos de fórmula (I) enriquecidos en deuterio, especialmente en un punto del metabolismo, los cuales se espera que tengan una mayor estabilidad metabólica. De manera adicional, de particular interés son los compuestos de fórmula (I) enriquecidos en un isótopo que emite positrones, tales como

^{11}C, ^{18}F, ^{15}O y ^{13}N, que se pueden usar, por ejemplo, en estudios de Tomografía de Emisión de Positrones (PET).

Definiciones

Cuando se describe la presente invención que incluye sus diversos aspectos y realizaciones, los siguientes términos tienen los siguientes significados, a menos que se especifique lo contrario.

El término "alquilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente saturado que puede ser lineal o ramificado o sus combinaciones. A menos que se defina lo contrario, normalmente dichos grupos alquilo contienen de 1 a 10 átomos de carbono. Los grupos alquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, metilo (Me), etilo (Et), n-propilo (n-Pr) o (nPr), isopropilo (i-Pr) o (iPr), n-butilo (n-Bu) o (nBu), sec-butilo, isobutilo, terc-butilo (t-Bu) o (tBu), n-pentilo, n-hexilo, 2,2-dimetilpropilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, 2-etilbutilo, 2,2-dimetilpentilo y 2-propilpentilo.

Cuando se pretende un número específico de átomos de carbono para un término particular, el número de átomos de carbono se muestra después del término. Por ejemplo, la expresión "alquilo C_{1-3}" significa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono en la que los átomos de carbono están en una configuración químicamente aceptable, incluyendo configuraciones lineales o ramificadas.

El término "alcoxi" significa un grupo O-alquilo monovalente, en el que alquilo es como se ha definido con anterioridad. Los grupos alcoxi representativos incluyen, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi y butoxi.

El término "cicloalquilo" significa un grupo carbocíclico saturado monovalente que puede ser monocílico o multicíclico. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos cicloalquilo normalmente contienen de 3 a 10 átomos de carbono. Los grupos cicloalquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, ciclopropilo (cPr), ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo y adamantilo.

El término "heterociclo", "heterocíclico" o la expresión "anillo heterocíclico" significan un grupo no aromático cíclico saturado o parcialmente insaturado y monovalente, que tiene de 3 a 10 átomos de anillo totales, en el que el anillo contiene de 2 a 9 átomos de anillo de carbono y de 1 a 4 heteroátomos de anillo escogidos entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los grupos heterocíclicos pueden ser monocíclicos o multicíclicos (es decir, condensados o con puente). Los grupos heterocíclicos representativos incluyen, a modo de ejemplo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, imidazolidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, indolin-3-ilo, 2-imidazolinilo, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-2-ilo, quinuclidinilo, 7-azanorbornanilo y nortropanilo, en el que el punto de unión es en cualquier átomo de anillo de carbono o nitrógeno. Cuando el contexto haga que el punto de unión del grupo heterocíclico resulte evidente, dichos grupos se pueden denominar de forma alternativa como especies no valentes, es decir, pirrolidina, piperidina, piperazina, imidazol, etc.

El término "heteroarilo" o la expresión "anillo de heteroarilo" significa un grupo aromático monovalente que tiene de 5 a 10 átomos de anillo totales, en el que el anillo contiene de 1 a 9 átomos de anillo de carbono y de 1 a 4 heteroátomos de anillo escogidos entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los grupos heteroarilo pueden ser monocíclicos o multicíclicos. Los grupos heteroarilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, pirroilo, isoxazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, furanilo, triazinilo, tienilo, piridilo (o, de manera equivalente, piridinilo), pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, indolilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzoimidazolilo y benzotiazolilo, en el que el punto de unión es en cualquier átomo de anillo de nitrógeno o carbono disponibles. Cuando el contexto haga que el punto de unión del grupo heteroarilo resulte evidente, dichos grupos pueden denominarse de forma alternativa como especies no valentes, es decir, pirrol, isoxazol, isotiazol, pirazol, imidazol, etc.

El término "halo" significa fluoro, cloro, bromo y yodo.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad suficiente para llevar a cabo el tratamiento cuando se administra a un paciente que requiere dicho tratamiento.

El término "tratamiento", según se usa en la presente memoria, significa el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente (tal como infección vírica por hepatitis C), tal como un mamífero (en particular un humano) que incluye uno o más de los siguientes:

(a) evitar la aparición de la enfermedad, trastorno o afección médica, es decir, evitar la re-aparición de la enfermedad o afección médica o el tratamiento profiláctico de un paciente que se pre-dispone a la enfermedad o afección médica;
(b) mejorar la enfermedad, trastorno o afección médica, es decir, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente, incluyendo contra-restar los efectos de otros agentes terapéuticos;
(c) eliminar la enfermedad, trastorno o afección médica, es decir, ralentizar o detener el desarrollo de la enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente; o
(d) aliviar los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal que es aceptable para la administración a un

paciente o un mamífero, tal como un humano (por ejemplo, sales que tienen una seguridad de mamífero aceptable para un régimen de dosificación concreto). Las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen sales de ácido acético, ascórbico, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, edisílico, fumárico, gentísico, glucónico, glucorónico, glutámico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcico, naftalenosulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, naftaleno-2,6-disulfónico, nicotínico, nítrico, orótico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluensulfónico y xinafoico.

La expresión "sus sales" significa un compuesto formado cuando se sustituye el hidrógeno de un ácido por un catión, tal como un catión metálico o un catión orgánico. Por ejemplo, el catión puede ser una forma protonada de un compuesto de fórmula (I), es decir, una forma en la que se han protonado uno o más grupos amino por medio de un ácido. Normalmente, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable, aunque esto no es necesario para las sales de compuestos intermedios que no van destinados a la administración a un paciente.

La expresión "grupo protector de amino" significa un grupo protector apropiado para evitar reacciones no deseadas en un nitrógeno amino. Los grupos amino protectores representativos incluyen, pero sin limitarse a, formilo; grupos acilo, por ejemplo grupos alcanoilo, tales como acetilo y tri-fluoroacetilo; grupos alcoxicarbonilo, tales como terc butoxicarbonilo (Boc); grupos arilmetoxicarbonilo, tales como benciloxicarbonilo (Cbz) y 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc); grupos arilmetilo, tales como bencilo (Bn), tritilo (Tr) y 1,1-di-(4´-metoxfenil)metilo; grupos sililo, tales como trimetilsililo (TMS), terc-butildimetilsililo (TBDMS), [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y similares. Numerosos grupos protectores y su introducción y retirada, se describen en T. W. Green y G. M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, Wiley, Nueva York.

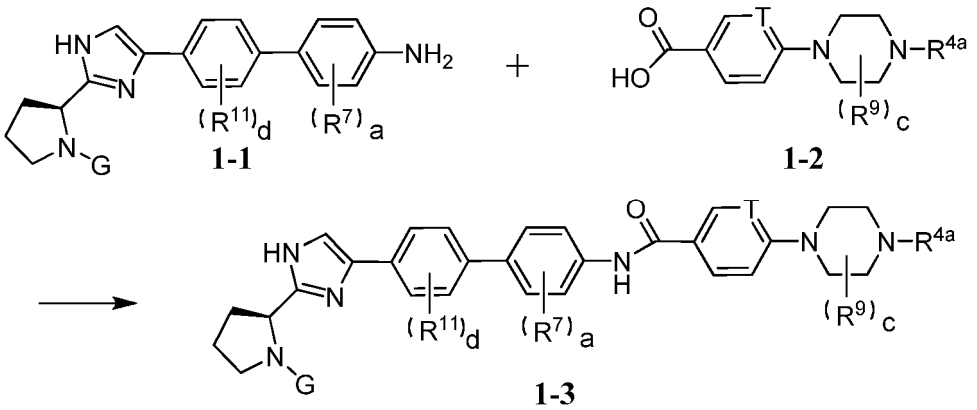
Procedimientos Sintéticos Generales

Los compuestos de la presente invención, y sus intermedios, se pueden preparar de acuerdo con los siguientes procedimientos generales usando materiales de partida disponibles comercialmente o preparados de forma rutinaria y reactivos. Los sustituyentes y variables (por ejemplo, R^1, R^2, R^3, R^4, etc.) usados en los siguientes esquemas tienen los mismos significados que los definidos en algún punto de la presente memoria, a menos que se indique lo contrario. Adicionalmente, los compuestos que tienen un átomo ácido o básico o un grupo funcional se pueden usar o se pueden producir como sal a menos que se indique lo contrario (en algunos casos, el uso de una sal en una reacción particular requiere la conversión de la sal en una forma no salina, por ejemplo, una base libre, usando procedimientos rutinarios antes de llevar a cabo la reacción).

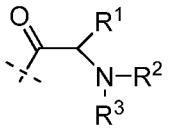
Aunque se puede mostrar o describir una realización particular de la presente invención en los siguientes procedimientos, los expertos en la técnica reconocerán que también se pueden preparar otras realizaciones o aspectos de la presente invención usando dichos procedimientos o por medio del uso de otros procedimientos, reactivos y materiales de partida conocidos por los expertos en la técnica. En particular, se apreciará que los compuestos de la presente invención se pueden preparar por medio de una variedad de rutas de procedimiento, en las cuales los reaccionantes se combinan con diferente orden para proporcionar intermedios diferentes en la ruta para generar productos finales.

En un procedimiento ejemplar de síntesis, se preparan los compuestos de fórmula (1-3) como se muestra en el Esquema 1 siguiente. En este y los siguientes esquemas, T representa N, d es 0 y R^7 y R^9 se definen como en la fórmula (I).

Esquema 1



En el Esquema 1, R^{4a} es un grupo protector de amino Pg o R^{4a} es un $-C(O)R^5$ como se ha definido en la fórmula (I), y G representa el grupo G_1



G_1

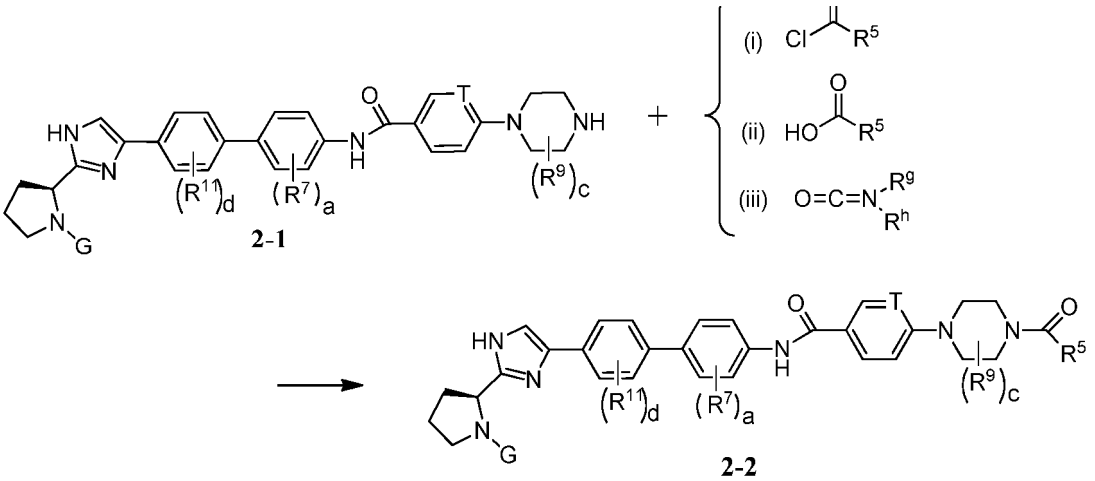
en la que R^1, R^2, y R^3 se definen como en la fórmula (I), o como grupo protector de amino Pg. Se hace reaccionar el intermedio de anilina **1-1** con ácido carboxílico **1-2** de acuerdo con las condiciones normales de formación de enlace de amida para proporcionar un compuesto de fórmula **1-3.** En algunos casos, en primer lugar se convierte el ácido carboxílico **1-2** en un cloruro de ácido y después se hace reaccionar con el intermedio de anilina **1-1** para proporcionar un compuesto de fórmula **1-3.** Como se muestra en los ejemplos siguientes, la reacción de formación de enlace de amida puede utilizar agentes de acoplamiento, tales como hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-ilo)uronio (HATU) o como 1,3 diciclohexilcarbodiimida (DCC), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC) o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidino-fosfonio (PyBop), opcionalmente combinado con 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt). Preferentemente, el procedimiento del Esquema 1 se usa para preparar los compuestos de fórmula **1-3** en la que R^7 está ausente *(a* es 0) o R^7 es un sustituyente rico en electrones tal como un alquilo no sustituido o alcoxi no sustituido, y la reacción se lleva a cabo en presencia de agentes de acoplamiento EDC y HOAt a una temperatura de aproximadamente 50 a aproximadamente 60 ºC. Preferentemente, únicamente uno de G y R^{4a} es un grupo protector, o, si están presentes dos grupos protectores, se usan grupos que se pueden retirar en diferentes condiciones.

Cuando se define la variable R^{4a} como $-C(O)R^5$ y se define la variable G como G_1, entonces el producto **1-3** de la reacción del Esquema 1 es un compuesto final de fórmula (I).

Alternativamente, cuando se define R^{4a} como $-C(O)R^5$ y se define G como grupo protector Pg, por ejemplo Boc, el producto **1-3** de la reacción del Esquema 1 es un intermedio protegido que posteriormente se somete a desprotección, por ejemplo, por medio de tratamiento con un ácido, y se hace reaccionar con un reactivo $X\text{-}G_1$, en la que x es un grupo saliente de halógeno, o con un ácido carboxílico de fórmula $HO\text{-}G_1$, el último en condiciones de formación de enlace de amida como se ha descrito con anterioridad, para proporcionar el producto deseado.

En otro procedimiento de síntesis a modo de ejemplo, se preparan los compuestos de fórmula **2-2** como se muestra en el Esquema 2:

Esquema 2



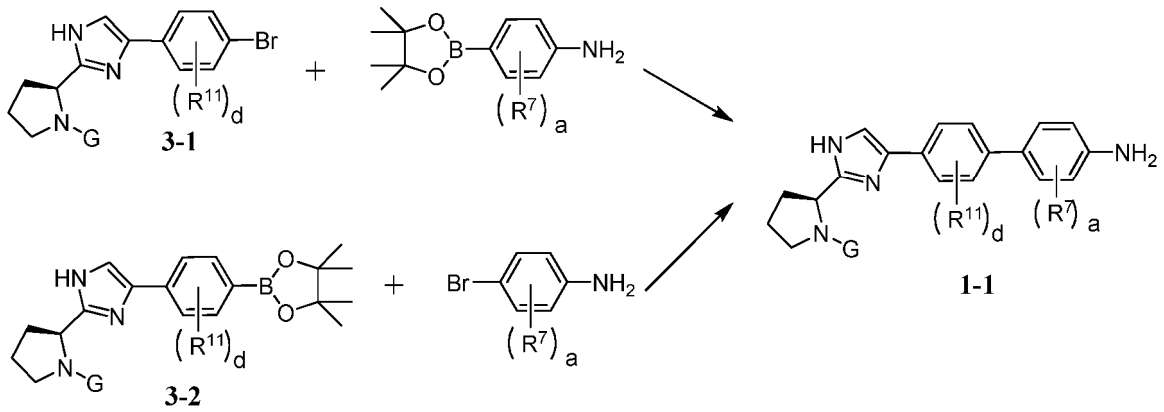
Cuando G representa G_1 en el intermedio **2-1**, entonces la reacción del Esquema 2, proporciona directamente los compuestos de la invención. Para preparar un compuesto de fórmula **2-2** en el que R^4 se define como $-C(OR)R^5$, se hace reaccionar el intermedio **2-1** con un cloruro ácido (reacción (i)) o, en el que R^5 se define como $-NR^gR^h$, con un isocianato (reacción (iii)) en presencia de una base. Alternativamente, se hace reaccionar un intermedio **2-1** con un ácido carboxílico (reacción (ii)) en condiciones de formación de enlace de amida para preparar un compuesto de fórmula **2-2**.

Como se ha descrito anteriormente, cuando G representa un grupo protector, una etapa de desprotección posterior, y el acoplamiento con un intermedio $X\text{-}G_1$ o $HO\text{-}G_1$ proporciona el producto final.

Los intermedios de los Esquemas anteriores se pueden preparar por medio de reacciones sintéticas convencionales. Por ejemplo, se puede preparar el intermedio de biaril anilina **1-1** por medio de reacción de acoplamiento de Suzuki en presencia de un catalizador de paladio (Miyaura y Suzuki, Chem. Rev. 1995, 95, 2457-2483). Como se muestra

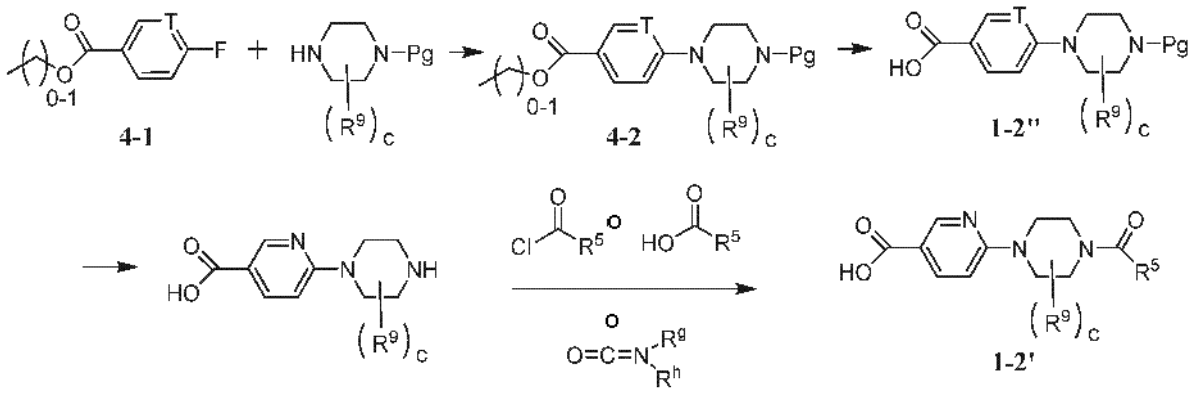
en el Esquema 3 siguiente, cualquier colaborador de acoplamiento puede portar el resto de boronato. Alternativamente, se puede usar un reactivo de ácido borónico en lugar de un reactivo de boronato, tal como el boronato de pinacol mostrado a continuación.

Esquema 3



El Esquema 4 muestra un procedimiento a modo de ejemplo para la preparación del intermedio **1-2** en el que R^{4a} representa Pg (compuesto **1-2"**) o R^{4a} representa, por ejemplo, -C(O)R^5 (compuesto **1-2´**).

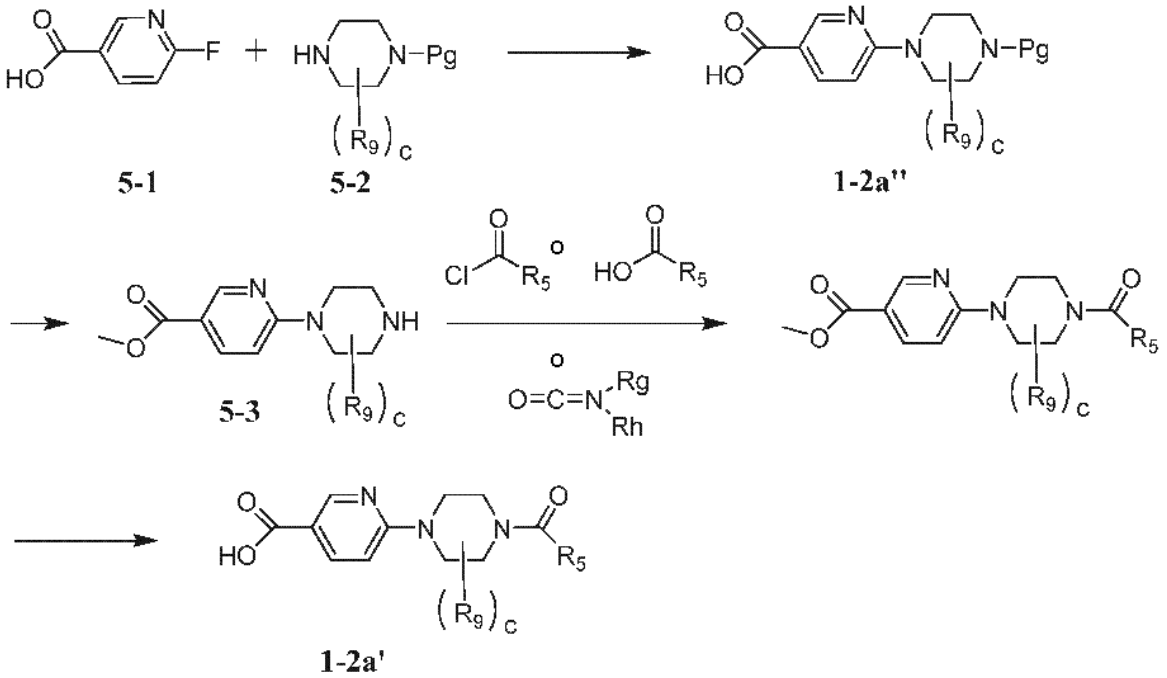
Esquema 4´



La reacción de una piperazina con un éster fluorobenzoico o un éster fluoronicotínico **4-1**, normalmente un éster metílico o etílico, se puede llevar a cabo en dimetilsulfóxido en presencia de un carbonato de potasio a temperatura elevada, normalmente de aproximadamente 100 ºC a aproximadamente 130 ºC. El intermedio resultante **4-2** posteriormente se hidroliza para proporcionar un intermedio protegido **1-2"**. Para preparar el intermedio **1-2´**, se puede someter a desprotección el intermedio protegido **1-2"**, en el que preferentemente el grupo protector es Boc, y posteriormente se hace reaccionar con un cloruro ácido, ácido carboxílico, o isocianato como en el Esquema 2 para proporcionar un intermedio **1-2´**.

El Esquema 5 muestra un procedimiento alternativo para la preparación del intermedio **1-2** en el que T representa nitrógeno y R^{4a} representa Pg (compuesto **1-2a"**) o R^{4a} representa -C(O)R^5 (compuesto **1-2a´**).

Esquema 5



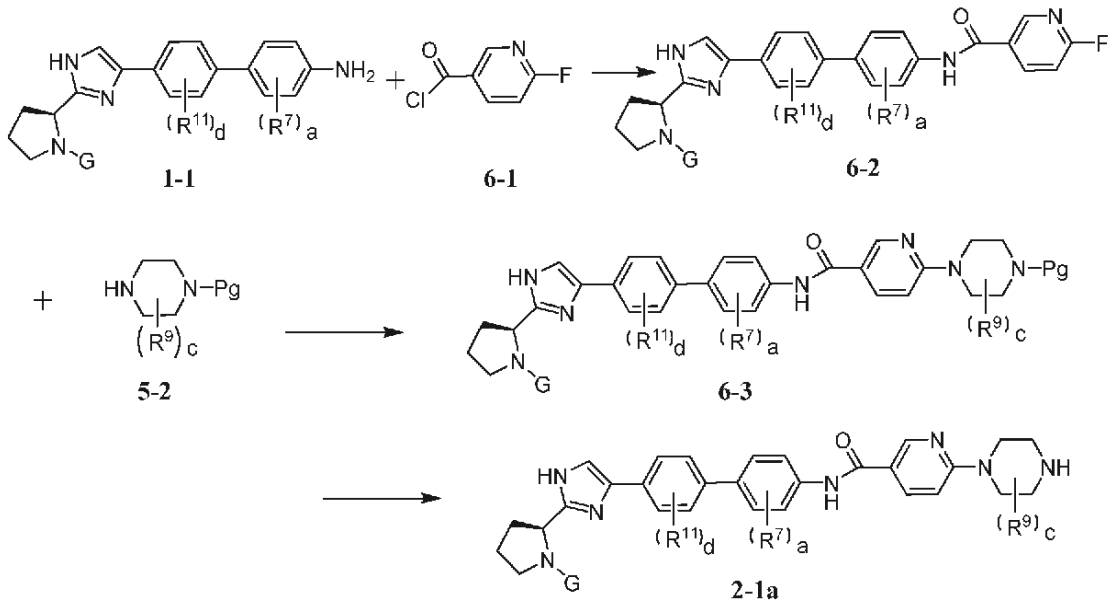
Normalmente, la reacción de ácido fluoronicotínico **5-1** con la piperazina protegida **5-2** para proporcionar el intermedio **1-2a"** se lleva a cabo usando cloruro de isopropilmagnesio a una temperatura por debajo de aproximadamente -20 ºC.

Para preparar el intermedio **1-2a"**, se puede someter a desprotección el intermedio **1-2a"**, en el que preferentemente el grupo protector es Boc, y esterificar por medio de reacción con ácido sulfúrico en metanol para proporcionar un intermedio de éster **5-3**, que se hace reaccionar con un cloruro ácido, ácido carboxílico o isocianato como en el Esquema 2 y posteriormente se hidroliza para proporcionar el intermedio **1-2a**´.

Se puede preparar el intermedio **2-1** en el que G representa G_1 por medio del procedimiento del Esquema 1 en el que la variable R4a se define como grupo protector Pg. En este caso, la fórmula **1-3** describe un intermedio protegido, que se somete a desprotección para proporcionar el intermedio **2-1**.

El Esquema 6 muestra un procedimiento alternativo para la preparación del intermedio **2-1** en el que T representa nitrógeno (compuesto **2-1a**).

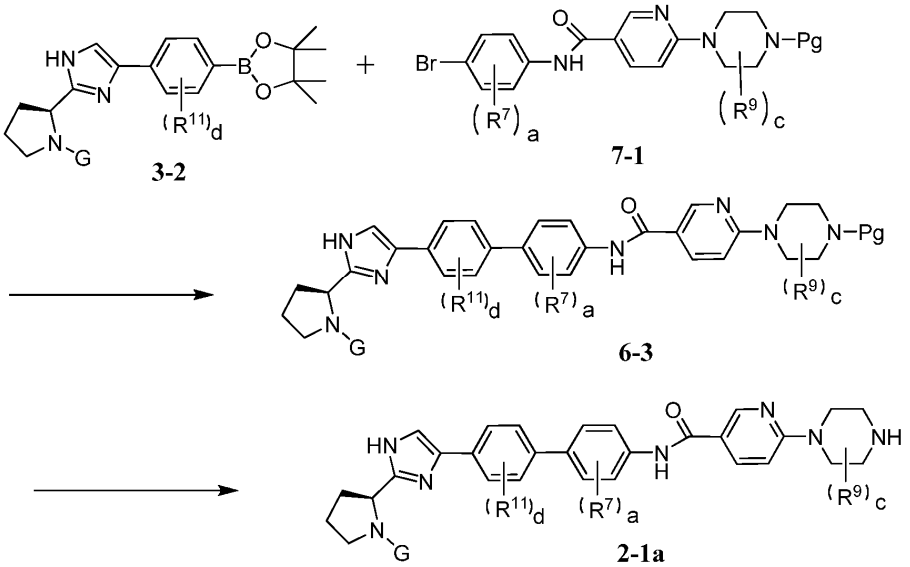
Esquema 6



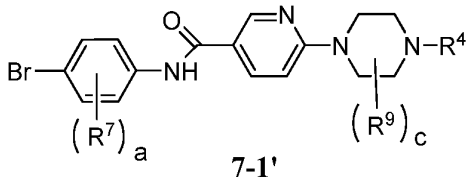
En una primera etapa, se hace reaccionar una bifenil anilina **1-1** con un cloruro de fluoropiridin carbonilo **6-1** en presencia de una base para proporcionar un fluoro intermedio **6-2**, que se hace reaccionar con un exceso de piperidina protegida **5-2** para proporcionar un intermedio protegido **6-3**. Normalmente, la reacción se lleva a cabo en presencia de una base con calentamiento a temperatura de aproximadamente 80 ºC a aproximadamente 120 ºC durante un período de aproximadamente 4 a aproximadamente 48 horas. Finalmente, se somete a desprotección el intermedio **6-3**, por ejemplo, por medio de tratamiento con ácido clorhídrico en un disolvente orgánico para proporcionar el intermedio **2-1a** en forma de sal de HCl.

Todavía otro procedimiento para la preparación del intermedio **2-1a** utiliza una reacción de acoplamiento de Suzuki del reactivo de boronato **3-2** con un intermedio 7-1, seguido de una etapa de desprotección, en las condiciones descritas anteriormente, como se muestra en el Esquema 7.

Esquema 7



Si se sustituye el intermedio protegido 7-1 por un intermedio 7-1´que porta el sustituyente R^4 en el que R^4 representa $-C(O)R^5$



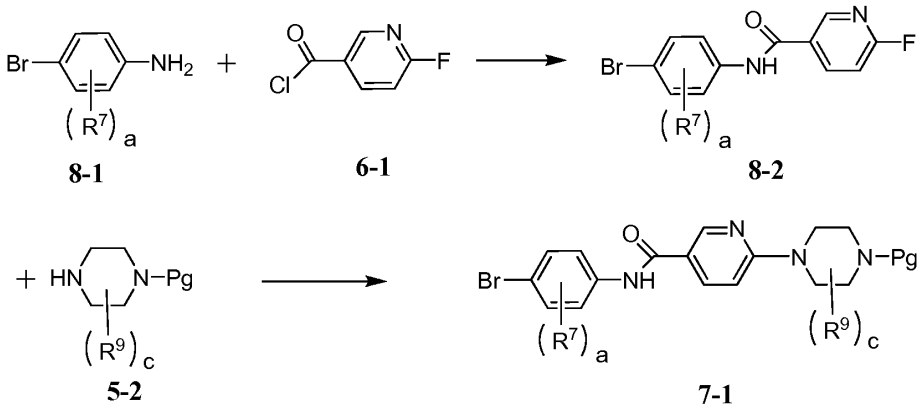
7-1'

entonces el acoplamiento de Suzuki del boronato **3-2** de la primera etapa del Esquema 7 proporcionaría directamente un compuesto final de la invención.

En la reacción de acoplamiento de Suzuki del Esquema 7, alternativamente, el colaborador de acoplamiento opuesto podría portar el resto de boronato, como se muestra en el Esquema 3.

Se puede preparar el intermedio de bromo **7-1**, por ejemplo, por medio de acoplamiento de amida de arilamina **8-1** con un cloruro de fluoropiridin carbonilo **6-1**, seguido de reacción con una piperazina protegida **5-2** como se muestra en el Esquema 8.

Esquema 8

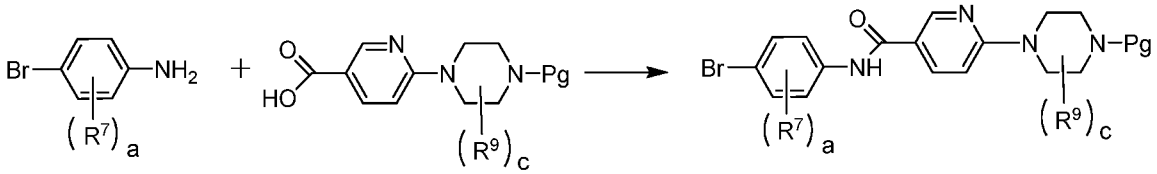


8-1 **6-1** **8-2**

5-2 **7-1**

Alternativamente, se puede preparar un intermedio **7-1** por medio de reacción de **8-1** con un intermedio de ácido carboxílico **1-2"** como se proporciona en el Esquema 9.

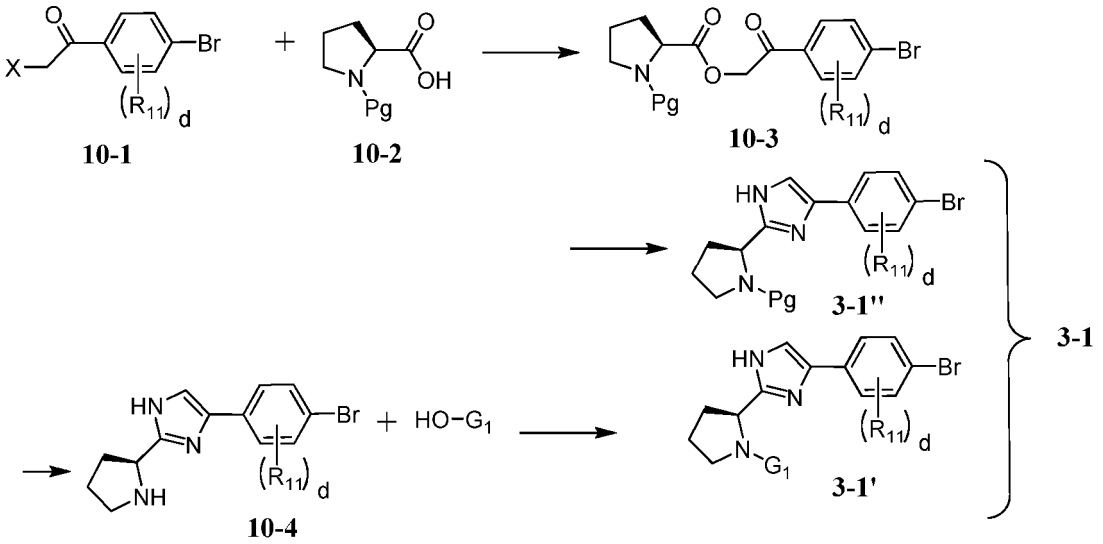
Esquema 9



8-1 **1-2"** **7-1**

Se pueden preparar los Intermedios 3-1 y 3-2 usados en la reacción de Suzuki del Esquema 3, por ejemplo, como se muestra en los Esquemas 10 y 11.

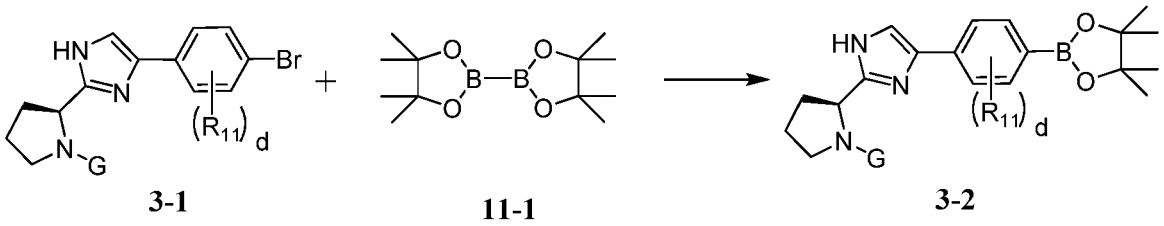
Esquema 10



El reactivo **10-1**, en el que X representa bromo o cloro se hace reaccionar con un ácido prolin carboxílico protegido **10-2** para proporcionar el intermedio **10-3**, que se convierte en el intermedio **3-1"**, en el que la variable G representa un grupo protector, en presencia de un exceso de acetato de amonio. Normalmente, la reacción de cierre de anillo se lleva a cabo a una temperatura entre aproximadamente 100 ºC y aproximadamente 120 ºC durante un período de aproximadamente 4 a aproximadamente 24 horas. Para proporcionar el compuesto **3-1**´ en el que la variable G representa G_1, normalmente se somete a desprotección el intermedio **3-1"** para proporcionar un intermedio **10-4**, que posteriormente se acopla con el reactivo HO-G_1, para proporcionar el compuesto **3-1**´.

Finalmente, para proporcionar el intermedio de boronato **3-2**, se hace reaccionar el intermedio **3-1** con **11-1** en presencia de un catalizador de paladio como se muestra en el Esquema 11.

Esquema 11



Para la preparación del intermedio **2-1a** del Esquema 7, se puede preparar un intermedio de boronato **3-2** in situ de acuerdo con el procedimiento del Esquema 11 y posteriormente se hace reaccionar con el intermedio **7-1** para proporcionar el intermedio **6-3** en un procedimiento de recipiente individual.

Los detalles con respecto a las condiciones de reacción específicas y otros procedimientos para la preparación de compuestos representativos de la invención o intermedios se describen en los ejemplos siguientes.

Se comprenderá además que la presente divulgación engloba los compuestos de fórmula (I) cuando se preparan por medio de procedimientos sintéticos tales como los descritos anteriormente y a continuación o por medio de procedimientos metabólicos que incluyendo los que tienen lugar *in vivo* en un cuerpo humano o animal o *in vitro*.

Composiciones Farmacéuticas

Los compuestos de la invención y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se utilizan típicamente en forma de una composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un paciente mediante cualquier vía de administración aceptable incluidas, entre otras, los modos de administración oral, rectal, vaginal, nasal, inhalado, tópica (incluida la transdérmica) y parenteral.

De acuerdo con lo anterior, en uno de sus aspectos de las composiciones, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula (I), en el que, como se ha definido anteriormente, “compuesto de fórmula (I)” significa un compuesto de fórmula (I) o una

sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Opcionalmente, dichas composiciones farmacéuticas pueden comprender otros agentes terapéuticos y/o de formulación, si se desea. Cuando se habla de composiciones y usos de las mismos, el "compuesto de la invención" también puede denominarse en el presente documento el "agente activo". Tal como se utiliza en el presente documento, el término "compuesto de la invención" pretende incluir todos los compuestos abarcados por la fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas de la Invención normalmente contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. Los expertos en la materia reconocerán, sin embargo, que una composición farmacéutica puede contener más de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, composiciones de relleno, o menos de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, dosis unitarias individuales diseñadas para administración múltiple para lograr una cantidad terapéuticamente efectiva.

Habitualmente, dichas composiciones farmacéuticas contendrán de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 95 % en peso del principio activo; preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 70 % en peso; y más preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 60 % en peso del principio activo.

En las composiciones farmacéuticas de la invención se puede utilizar cualquier vehículo o excipiente convencional. La elección de un vehículo o excipiente particular, o combinaciones de vehículos o excipientes, dependerá del modo de administración que se esté utilizando para tratar a un paciente particular o del tipo de enfermedad o afección médica. En este sentido, la preparación de una composición farmacéutica adecuada para un modo de administración particular se encuentra dentro del alcance de los expertos en las técnicas farmacéuticas. Adicionalmente, los vehículos o excipientes usados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención están disponibles comercialmente. A modo de ilustración adicional, las técnicas de formulación convencionales se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H.C. Ansel y col., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Ejemplos representativos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otros, los siguientes: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa, tal como celulosa microcristalina, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tampón, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas se preparan normalmente mezclando completa e íntimamente o fundiendo el agente activo con un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. La mezcla uniformemente combinada resultante se puede conformar o cargar en comprimidos, cápsulas, píldoras o similares utilizando procedimientos y equipos convencionales

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden envasarse preferentemente en forma de dosificación unitaria. La expresión "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada para administrar a un paciente, es decir, cada unidad contiene una cantidad predeterminada del agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado tanto solo como junto con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dichas formas de dosificación unitarias pueden ser cápsulas, comprimidos, píldoras y similares, o paquetes unitarios adecuados para administración parenteral.

En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención son adecuadas para administración oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, sellos, grageas, polvos, gránulos; o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite; o como un elixir o jarabe; y similares; conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como principio activo.

Cuando está destinada para administración oral en una forma de dosificación sólida (es decir, como cápsulas, comprimidos, píldoras o similares), las composiciones farmacéuticas de la invención comprenderán típicamente el agente activo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico. Opcionalmente o alternativamente, dichas formas de dosificación sólidas pueden comprender asimismo: cargas o expansores, tales como almidones, celulosa microcristalina ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido sílícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato sódico; agentes retardantes de la solución, tal como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerol; absorbentes, tales

como caolín y/o arcilla bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico, y/o mezclas de los mismos; agentes colorantes y agentes tampón.

En las composiciones farmacéuticas de la invención también puede haber presentes agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de revestimiento, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes. Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metasulfato sódico, sulfito sódico y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético, sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares. Los revestimientos para comprimidos, cápsulas, píldoras y similares incluyen los usados para revestimientos entéricos, tales como acetato ftalato de celulosa, acetato ftalato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de éster ácido metacrílico y ácido metacrílico, acetato de trimetilato de celulosa, carboximetiletilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular también para proporcionar una liberación lenta o controlada del agente activo utilizando, a título de ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables; u otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Además, las composiciones farmacéuticas de invención pueden contener opcionalmente, agentes opacificantes y pueden formularse de modo que liberen solo el principio activo o, preferentemente, en una porción determinada del tracto gastrointestinal, opcionalmente de un modo retardado. Ejemplos composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El agente activo también pueden estar en forma microencapsulada, si es adecuado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas adecuadas para administración oral incluyen, a título ilustrativo, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Las formas de dosificación líquidas normalmente comprenden el agente activo y un diluyente inerte , tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (por ejemplo, aceites de algodón, aceite de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos. Las suspensiones, además de los principios activos, puede contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilado, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma de tragacanto, y mezclas de los mismos.

Los compuestos de la presente Invención pueden también administrarse por vía parenteral (por ejemplo, mediante inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal). Para la administración parenteral, el agente activo típicamente se mezcla con un vehículo adecuado para la administración parenteral, incluyendo, a modo de ejemplo, soluciones acuosas estériles, solución salina, alcoholes de bajo peso molecular tales como propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, gelatina, ésteres de ácidos grasos tales como oleato de etilo, y similares. Las formulaciones parenterales pueden contener también uno o más antioxidantes, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes tampón o agentes dispersantes. Estas formulaciones pueden hacerse estériles mediante el uso de un medio inyectable estéril, un agente de esterilización, filtración, irradiación, o calor.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan para la administración por inhalación. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración mediante inhalación se encontrarán habitualmente en forma de aerosol o de polvos. Dichas composiciones se administran generalmente utilizando dispositivos de administración muy conocidos, tales como un inhalador con dosímetro, un inhalador de polvo seco, un nebulizador o un dispositivo de administración similar.

Cuando se administran por inhalación utilizando un recipiente presurizado, las composiciones farmacéuticas de la invención comprenderán habitualmente el principio activo y un propelente adecuado, tal como diclorodifluometano, triclorofluometano, diclorotetrafluometano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. Además, la composición farmacéutica se puede encontrar en forma de cápsula o cartucho (realizado, por ejemplo, a partir de gelatina) que comprenden un compuesto de la invención y un polvo adecuado para utilizar en un inhalador de polvo. Las bases adecuadas de polvo incluyen, a título de ejemplo, lactosa o almidón.

Los compuestos de la invención se pueden administrar también por vía transdérmica utilizando sistemas de y liberación transdérmica y excipientes conocidos. Por ejemplo, el agente activo se puede mezclar con potenciadores de la permeabilidad, tales como propilenglicol, monolaurato de polietilen glicol, azacicloalcan-2-onas y similares, e incorporar en un parche o un sistema de liberación similar. Si se desea, en dichas composiciones transdérmicas se pueden utilizar excipientes adicionales, incluidos agentes gelificantes, emulsionantes y tampones.

Utilidad

Se ha demostrado que los compuestos de la invención inhiben la replicación viral en ensayos de replicón del VHC y

por lo tanto, se espera que sean útiles para el tratamiento de infecciones por el virus de la hepatitis C.

En un aspecto, por lo tanto, los compuestos de la invención encuentran utilidad en un procedimiento de inhibición de la replicación del virus de la hepatitis C en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o de una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención.

En un aspecto, por lo tanto, los compuestos de la invención encuentran utilidad adicional en un procedimiento de inhibición del tratamiento de las infecciones por el virus de la hepatitis C en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o de una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención.

Los compuestos de la invención pueden inhibir la replicación viral mediante la inhibición de la función de la proteína NS5A codificada por el genoma del VHC. En un aspecto, por tanto, los compuestos de la invención encuentran utilidad en un procedimiento para inhibir la proteína NS5A del VHC en un mamífero, comprendiendo el procedimiento administrar al mamífero un compuesto o una composición de la invención.

Cuando se utilizan para tratar las infecciones por el VHC, los compuestos de la invención se administrarán habitualmente por vía oral en una única dosis diaria o en varias dosis al día, aunque se pueden usar otras formas de administración. Normalmente, la cantidad de agente activo administrado por dosis o la cantidad total administrada al día la determinará un médico, a la luz de circunstancias relevantes, incluida la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado y su actividad relativa, la edad, el peso y la respuesta de cada paciente individual y la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

Las dosis adecuadas para el tratamiento de las infecciones por VHC variarán de aproximadamente 1 a aproximadamente 2.000 mg / día del agente activo, incluyendo de aproximadamente 5 a aproximadamente 200 mg / día y desde aproximadamente 10 a aproximadamente 130 mg al día de agente activo para ser humano de 70 kg de promedio.

Terapia de combinación

Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con uno o más agentes que actúan por el mismo mecanismo o por diferentes mecanismos para efectuar el tratamiento del VHC. Clases útiles de agentes para terapia de combinación incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, inhibidores nucleosídicos o no nucleosídicos de la polimerasa de la NS5B del VHC, inhibidores de la helicasa, inhibidores de la proteína NS4B, inhibidores de la entrada viral del VHC, inhibidores de la ciclofilina, agonistas de los receptores de tipo toll, inhibidores de las proteínas del choque térmico, ARN de interferencia, ARN antisentido, inhibidores del sitio interno de entrada al ribosoma (IRES), tiazolidas, análogos de nucleósidos, tales como compuestos de ribavirina y otros relacionados, interferones y otros agentes inmunomoduladores, inhibidores de la inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) y otros inhibidores de la proteína NS5A. Agentes que actúan para inhibir la replicación del VHC por cualquier otro mecanismo también se pueden usar en combinación con los presentes compuestos.

Los inhibidores de la proteasa NS3 del VHC que se pueden usar en terapia de combinación incluyen, pero no se limitan a, telaprevir (VX–950), boceprevir (SCH–503034), TMC–435, narlaprevir (SCH–900518), vaniprevir (MK–7009), danoprevir (ITMN– 191, R–7227), BI–201335, ABT–450, BMS–650032, GS–9256, ACH–1625, ACH–2684, BMS–605339, VX–985, PHX–1766, BMS–791325, e IDX–320.

Ejemplos de inhibidores nucleosídicos de la polimerasa NS5B del VHC incluyen, pero no se limitan a, RG7128, IDX–184, PSI–7977, PSI–7851, PSI–938, INX–189 (INX–08189), RG7348, MK–0608, TMC–649128, y HCV–796, mientras que los inhibidores no nucleosídicos de la polimerasa NS5B del VHC, incluyen, entre otros, filibuvir (PF–8685540), tegobuvir (GS–9190), VX–222, VX–759, ANA–598 (setrobuvir), ABT–072, ABT–333, BI–207127, BMS–791325, MK–3281, IDX–37 y BMS– 824393.

Una amplia variedad de interferones e interferones pegilados, incluyendo los interferones alfa, beta, omega, y gamma, que tienen efectos antivirales, antiproliferativos o inmunomoduladores, se puede combinar con los presentes compuestos. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, Intron® A (interferon–alpha2b), Actimmune® (interferón–gamma–lb), Alferon N, Advaferon®, Roferon–A (interferón alfa–2a) PegIntron® (peginterferón–alfa 2b), Alfaferone, Pegasys® (peginterferón alfa–2a), Alfanative (interferón alfa), Zalbin™ (albinterferón alfa–2b), Infergon® (interferón alfacon– 1), Omega DUROS® (interferón omega), Locteron™ (interferón alfa), PEG–rIL–29 (interferón lambda pegilado) y Rebif® (interferón beta–1a).

Agentes antivirales análogos de nucleósidos incluyen, pero no se limitan a, ribavirina (Copegus®, Rebetol®, Virazole®) y viramidina (taribavirina). Los interferones y la ribavirina también se proporcionan en la forma de kits que incluyen, por ejemplo, pero sin limitaciones, Rebetron® (interferón alfa-2b / ribavirina) y Pegetron® (peginterferón alfa-2b / ribavirina).

Los compuestos útiles que actúan mediante otros mecanismos incluyen, pero no se limitan a: inhibidores de ciclofilina, tales como DEB-025, SCY-635, NIM-811, y ciclosporina y derivados; agonistas de los receptores de tipo toll, tales como resiquimod, IMO-2125, y ANA-773, inhibidores de la entrada del virus VHC, tal como civacir, tiazolidas, tales como nitazoxanida, e inhibidores virales de amplio espectro, tales como, inhibidores de la inosina-5'-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH).

Además, los compuestos de la invención pueden combinarse con un inhibidor de NS5A, por ejemplo, BMS-790052, AZD-7295, PPI-461, PPI-1301, GS-5885, o GSK2336805.

En otro aspecto, por lo tanto, la invención proporciona una combinación terapéutica para uso en el tratamiento de infecciones del virus de la hepatitis C, comprendiendo la combinación un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos útiles para tratar el VHC. Por ejemplo, la invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de la invención y uno o más agentes escogidos entre los inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, inhibidores nucleosídicos y no nucleosídicos de la proteína NS5B del VHC, interferones e interferones pegilados y ribavirina y análogos de nucleósidos relacionados. También se proporciona, por lo tanto, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos útiles para tratar el VHC.

Cuando se utiliza en la terapia de combinación, los agentes se pueden formular en una sola composición farmacéutica, como se ha divulgado anteriormente, o los agentes pueden proporcionarse en composiciones separadas que se administran simultáneamente o en diferentes momentos, por la misma o por diferentes vías de administración. Cuando se administran por separado, los agentes se administran lo suficientemente próximos en el tiempo a fin de proporcionar un efecto terapéutico deseado. Dichas composiciones se pueden envasar por separado o se pueden envasar conjuntamente en un kit. Las dos o más agentes terapéuticos en el kit pueden administrarse por la misma vía de administración o por diferentes vías de administración.

Finalmente, los compuestos de la invención también pueden encontrar utilidad como herramientas de investigación, por ejemplo, para el descubrimiento de nuevos inhibidores de la proteína NS5A del VHC o mecanismos explicativos de la replicación del VHC.

Se ha demostrado que los compuestos de la invención son potentes inhibidores de la replicación del VHC en ensayos de replicón del VHC, como se describe en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Se ofrecen los siguientes ejemplos sintéticos y biológicos para ilustrar la invención, y no se deben interpretar en modo alguno como limitantes del ámbito de la invención. Debería apreciarse que la numeración de las siguientes Preparaciones, Ejemplos y Tablas no aparece de forma consecutiva. R^{11a}, R^{11b}, R^{11c} y R^{11d}, cuando aparecen en las fórmulas, representan todos hidrógeno. En los ejemplos siguientes, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario. Las abreviaturas no definidas a continuación tienen los significados aceptados de forma general.

ACN	= acetonitrilo
DCM	= diclorometano
DMA	= *N,N*-dimetilacetamida
DMF	= *N,N*-dimetilformamida
DMSO	= dimetil sulfóxido
EDC	= hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
EtOAc	= acetato de etilo
h	= hora(s)
HATU	= hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-ilo)uronio
HCTU	= hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminio
HOAt	= 1-hidroxi-7-azabenzotriazol
min	= minuto(s)
$Pd(dppf)Cl_2$	= dicloro(1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dipaladio (II)
MTBE	= éter metil terc-butílico
TA	= temperatura ambiente
TFA	= ácido trifluoroacético
THF	= tetrahidrofurano

Se adquirieron los reactivos y los disolventes a partir de suministradores comerciales (Aldrich, Fluka, Sigma, etc.) y se usaron sin purificación adicional. Las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno, a menos que se indicara lo contrario. Se controló el avance de la reacción por medio de cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC anal.) y espectrometría de masas. Se trataron las mezclas de reacción como se ha descrito específicamente en cada reacción; comúnmente se purificaron por medio de extracción y otros procedimientos de purificación tales como cristalización dependiente de temperatura o disolvente, y precipitación. Además, se purificaron de forma rutinaria las mezclas de reacción por medio de HPLC de

preparación, normalmente usando rellenos de columna C18 o BDS y eluyentes convencionales. Las condiciones normales de HPLC de preparación se describen a continuación.

Se llevó a cabo la caracterización de los productos de reacción de forma rutinaria por medio de espectrometría de masas y RMN-^{1}H. Para los análisis de RMN, se disolvieron las muestras en disolvente deuterado (tales como CD_3OD, $CDCl_3$ o DMSO-d_6) y se adquirieron los espectros de RMN-^{1}H con un instrumento Varian Gemini 2000 (400 MHz) en condiciones de observación convencionales. Se llevó a cabo la identificación de compuestos por espectrometría de masas por medio del procedimiento de ionización por electro-pulverización (ESMS) con un instrumento de Applied Biosystems (Foster City, CA) modelo API 150 EX o un instrumento Agilent (Palo Alto, CA) modelo 1200 CL/MSD.

Condiciones Generales de HPLC de Preparación

Columna:	C18, 5 µm. 21,2 x 150 mm o C18, 5 µm 21 x 250 o C14 21x150
Temperatura de columna:	Temperatura ambiente
Caudal:	20,0 ml/min
Fases Móviles:	A = Agua + TFA al 0,05 %
	B = ACN + TFA al 0,05 %,
Volumen de inyección:	(100-1500 µl)
Long. onda detector:	214 nm

Se disolvieron los compuestos brutos en agua:ácido acético 1:1 a aproximadamente 50 mg/ml. Se llevó a cabo un ensayo de escala analítico de 4 minutos usando una columna C18 de 2,1 x 50 mm seguido de un ensayo de escala de preparación de 15 a 20 minutos usando una inyección de 100 µl con un gradiente basado en la retención de % de B del ensayo de escala analítico. Los gradientes exactos fueron dependientes de la muestra. Se comprobaron las muestras con impurezas de ensayo estrechas con una columna C18 de 21 x 250 mm y/o una columna C14 de 21 x 150 mm para una mejor separación. Se identificaron las fracciones que contenían el producto deseado por medio de análisis por espectrometría de masas.

Procedimientos de HPLC Analíticos A, B, C

Columna:	Zorbax Bonus-RP 3,5 µm. 4,6 x 150 mm
Temperatura de columna:	35 ºC
Caudal:	1,0 ml/min
Fases Móviles:	A = Agua/ACN (98:2) + TFA al 0,1 % B = Agua/ACN (10:90) + TFA al 0,1 %,
Volumen de inyección:	100-1500 µl
Long. onda detector:	254 nm (Procedimientos A y B) 214 nm (Procedimiento C)
Preparación de muestra:	Disolver en ACN:agua 1:1

Procedimiento de Gradiente A

21 min total (tiempo (min)/% B): 0,5/10, 15/60, 16,5/80, 17/80, 18/10, 21/10,

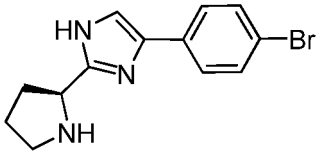
Procedimiento de Gradiente B

40 min total (tiempo (min)/% B): 0,5/15, 28/40, 30/80, 33/80, 35/15, 40/15,

Procedimiento de Gradiente C

29 min total (tiempo (min)/% B): 0,5/10, 24/90, 25/90, 26/10, 29/10

Preparación 1: 4-(4-bromo-fenil)-2-(S)pirrolidin-2-il-1H-imidazol



(a) 2-Bromo-1-(4-bromo-fenil)-etanona

Se añadió bromo (80 g, 500 mmol) gota a gota a una solución de 1-(4-bromo-fenil)-etanona (100 g, 500 mmol) en diclorometano (1500 ml) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante 3 h y posteriormente se concentró. Se lavó el residuo con diclorometano (100 ml) para proporcionar el compuesto bruto del título (120 g, rendimiento del 86 %) en forma de sólido blanco. RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm): 7,78 (d, *J* =8,4 Hz, 2H), 7,57 (d, *J* =8,4 Hz, 2H), 4,32 (s, 2H).

(b) Éster 2-[2-(4-bromo-fenil)-2-oxo-etílico] y terc-butílico de ácido (S)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico

Se añadió diisopropiletilamina (67 g, 518 mmol) gota a gota a una solución del producto de la etapa anterior (120 g, 432 mmol) y éster 1-terc-butílico de ácido (S)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico (L-Boc prolina) (102 g, 475 mmol) en acetonitrilo (2 l) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche y se concentró a sequedad. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (2 l) y se lavó con agua (2 l). Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se concentró para dar el compuesto bruto del título (178 g, rendimiento del 100 %).

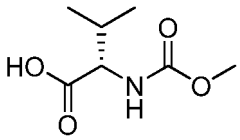
(c) Éster terc-butílico de ácido (S)-2-[4-(4-bromo-fenil)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carboxílico

Se calentó una solución del producto de la etapa anterior (178 g, 432 mmol) y acetato amónico (500 g, 6,5 mol) en tolueno (2 l) a reflujo durante la noche. Se retiró el disolvente y se disolvió el residuo en acetato de etilo (2 l) y se lavó con agua (2 l). Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice en éter de petróleo:acetato de etilo 1:3 para dar el compuesto del título (120 g, rendimiento del 71 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm): 7,56 (s, 1H), 7,39 (d, *J* =8,0 Hz, 2H), 7,24 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 4,88 (m, 1H), 3,33 (m, 2H), 2,94 (s, 1H), 2,07 (m, 2H), 1,88 (m, 1H), 1,42 (s, 9H).

(d) 4-(4-bromo-fenil)-2-(S)-pirrolidin-2-il-1H-imidazol

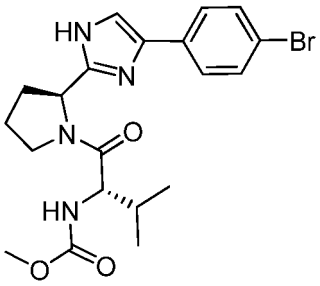
Se añadió HCl 4 N en metanol (60 ml) a una solución de éster terc-butílico de ácido (S)-2-[4-(4-bromo-fenil)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carboxílico (3 g, 7,6 mmol) en metanol (3 ml) a 0 ºC. Se agitó la mezcla de reacción durante 2 h y después se concentró para dar la sal de hidrocloruro bruta del compuesto del título (2,51 g rendimiento del 100 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Preparación 2: Ácido (S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butírico



Se trató una mezcla de ácido (S)-2-amino-3-metil-butírico (10 g, 85 mmol), NaOH (10,3 g, 255 mmol) en agua (100 ml) con metilclorocarbonato (8 g, 85 mmol) a 0 º C. Se agitó la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente y después se añadió HCl acuoso 5 N a la mezcla de reacción para ajustar el pH a 4. Se filtró la mezcla a través de una capa de Celite para dar el producto (10 g, rendimiento del 67 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^{1}H (CH_3OD, 400 MHz) δ (ppm) 4,05(d, 1H), 3,65(s, 3H), 2,14(m, 1H), 0,95(m, 6H).

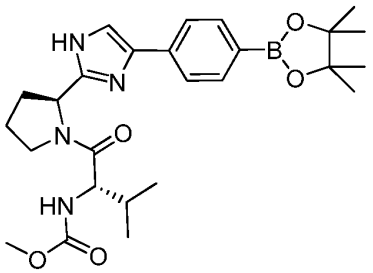
Preparación 3: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4-bromo-fenil)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se añadió trietilamina (2,3 g, 11,4 mmol) a una solución de hidrocloruro de 4-(4-bromo-fenil)-2-(S)-pirrolidin-2-il-1H-imidazol (2 g, 11,4 mol), ácido (S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butírico (2,5 g, 7,6 mmol) y HATU (4,3 g, 11,4 mmol) en dimetilformamida (50 ml) a 0 ºC en atmósfera de nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se trató con acetato de etilo (100 ml) y agua (1000 ml). Se lavó la fase orgánica se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice en éter de petróleo:acetato de etilo 1:1 para dar el compuesto del título (2,5 g rendimiento del 74 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ^{1}H (d_6-DMSO, 400 MHz) δ (ppm) 7,63 (d, *J* =8,8 Hz, 2H), 7,54 (m, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,26 (d, *J* =8,4 Hz, 1H), 5,03 (m, 1H), 4,02 (t, *J*

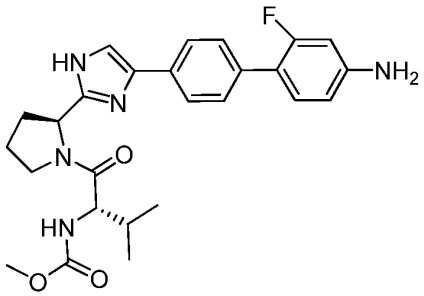
=8,4 Hz, 1H), 3,76 (m, 2H), 3,51 (s, 3H), 2,10 (m, 2H), 1,93 (m, 3H), 0,85 (d, *J* =6,8 Hz, 3H), 0,81 (d, *J* =6,8 Hz, 3H).

Preparación 9: Éster metílico de ácido [(S)-2-metil-l-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2- il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico



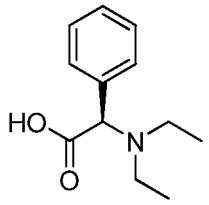
Se añadió $Pd(dppf)Cl_2,CH_2Cl_2$ (4,5 g, 5,5 mmol) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4-bromo-fenil)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (50 g, 0,11 mol), 4,4,5,5,4',4',5',5'-octametil-[2,2']bi[[1,3,2]dioxaborolanilo] (57 g, 0,22 mol) y acetato potásico (108 g, 1,1 mol) en dioxano (1000 ml) en atmósfera de nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción a 85 ºC durante una noche y después se añadieron acetato de etilo (100 ml) y agua (1000 ml). Se lavó la fase orgánica con agua (2 x 1000 ml) y salmuera (1000 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo 1:1) para dar el compuesto del título (22,5 g) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ^1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 7,71 (m, 3H), 7,32 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 5,56 (m, 1H), 5,18 (m, 1H), 4,23 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,55 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,38 (s, 1H), 2,13 (m, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,89 (m, 2H), 1,22 (s, 12H), 0,79 (d, 6H).

Preparación 10: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-2'-fluoro-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2- metil-propil)-carbámico



Se disolvieron éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (60 mg, 0,12 mmol) y 4-bromo-3-fluoroanilina (23 mg, 0,12 mmol) en 1,2-dimetoxietano (1,2 ml, 12 mmol) y agua (0,44 ml, 24 mmol). Se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno. Se añadió carbonato sódico (41,6 mg, 0,39 mmol) seguido de tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (21 mg, 0,018 mmol) y se purgó la mezcla con nitrógeno, se selló y se calentó a 85 ºC durante una noche. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (5 ml), y se lavó con agua (5 ml). Se concentró la fase orgánica, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (8 ml) y se purificó por HPLC de preparación para producir la sal de TFA que se pasó a través de resina PL-CO3 StratoSpheres™ (0,36 mmol) para proporcionar el compuesto del título (15 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{26}H_{30}FN_5O_3$ 480,23 encontrado 480,4.

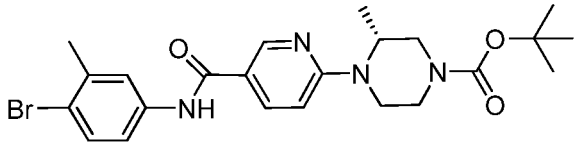
Preparación 14: Ácido (R)-dietilamino-fenil-acético



Se añadió cianoborohidruro de sodio (15 g, 238 mmol) en porciones, durante unos minutos, sobre una mezcla enfriada (hielo/agua) de ácido (R)-amino-fenil-acético (6,00 g, 39,7 mmol) y metanol (150 ml), y se agitó durante 5 min. Se añadió acetaldehído (40 ml) gota a gota durante 10 min. Se agitó la mezcla de reacción a la temperatura enfriada durante 45 min y a temperatura ambiente durante 6,6 h. Se enfrió de nuevo la mezcla de reacción a 0 ºC. Posteriormente, se añadió acetaldehído adicional (60 ml) gota a gota durante 10 min. Se agitó la mezcla de reacción a 0 ºC durante 45 min y a temperatura ambiente durante una noche. Se enfrió la mezcla de reacción con un baño de

hielo-agua y se trató con agua (3 ml). Se añadió HCl concentrado gota a gota durante 45 min hasta que el pH de la mezcla fue de 1,5-2,0, Se retiró el baño de refrigeración y se continuó la agitación al tiempo que se añadió HCl concentrado para mantener el pH de la mezcla en aproximadamente 1,5-2,0. Se agitó la mezcla de reacción durante la noche y se filtró y se concentró el filtrado a vacío. Se purificó el material bruto por HPLC de preparación y se lavó con acetato de etilo para proporcionar el compuesto del título en forma de sólido de color blanco brillante (5 g, rendimiento del 61 %). RMN ^{1}H (d_6-DMSO, 400 MHz) δ (ppm) 7,47 (m, 2H), 7,36 (m, 3H), 4,34 (s, 1H), 2,90 (m, 2H), 2,86 (m, 2H), 1,03 (t, 6H).

Preparación 17: Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-metil-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico



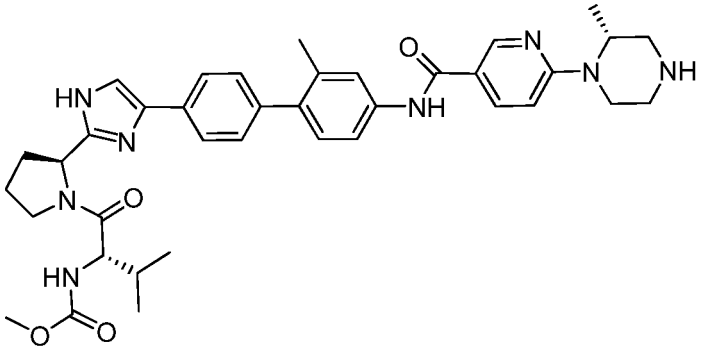
(a) N-(4-bromo-3-metil-fenil)-6-fluoro-nicotinamida

Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (170 mg, 1,1 mmol) disuelto en DCM (1 ml) a una solución de 4-bromo-3-metilanilina (200 mg, 1 mmol). Se observó un precipitado de color blanco. Se concentró la mezcla de reacción para producir la sal de HCl del producto deseado.

(b) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-metil-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxíico

Se disolvió el sólido de color blanco de la etapa anterior se disolvió en dimetil sulfóxido (2 ml, 30 mmol), se añadió éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil- piperazin-1-carboxílico (220 mg, 1,1 mmol), seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (2 ml, 10 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante una noche, se enfrió a TA y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-40 % acetato de etilo:hexanos) para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo claro (200 mg, rendimiento del 40 %). *(m/z):* $[M+H]^+$ calc. para $C2_3H_{29}BrN_4O_3$ 489,15 encontrado 489,4.

Preparación 18: Éster metílico de ácido ((S)-2-metil-{(S)-2-[4-(2'-metil-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propilo)-carbámico



(a) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4'-(2-[(S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-4-il}-2-metil-bifenil-4-ilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metilpiperazin-1-carboxílico

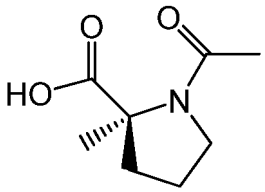
Se disolvió una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-14-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2- il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (200 mg, 0,41 mmol) y éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-metil- fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico (200 mg, 0,4 mmol; Preparación 17) en 1,2-dimetoxietano (4,25 ml, 40,9 mmol) y agua (0,74 ml, 40,9 mmol) y se purgó la mezcla en atmósfera de nitrógeno. Se añadió bicarbonato sódico (129 mg, 1,53 mmol), seguido de tetraquis(trifenifosfina)paladio (0) (70,8 mg, 0,0613 mmol). Se purgó de forma adicional la mezcla de reacción con nitrógeno, se selló en atmósfera de nitrógeno y se calentó a 90 ºC durante una noche. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (5 ml) y agua (3 ml); se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un aceite de color pardo, que se purificó por HPLC de fase inversa para producir el intermedio de sal de di-TFA del título. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{54}N_8O_6$ 779,43 encontrado 779,5.

(b) Éster metílico de ácido ((S)-2-metil-1-((S)-2-[4-(2'-metil-4'-([6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico

Se trató la sal de TFA de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (3 ml, 10 mmol) y se agitó a temperatura

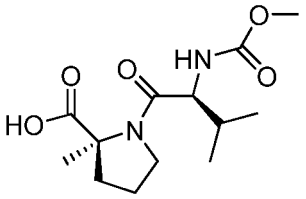
ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir la sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (180 mg, rendimiento total de 60 %). *(m/z):* $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H_{46}N_8O_4$ 679,37 encontrado 679,7.

Preparación 19: Ácido (S)-1-acetil-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico



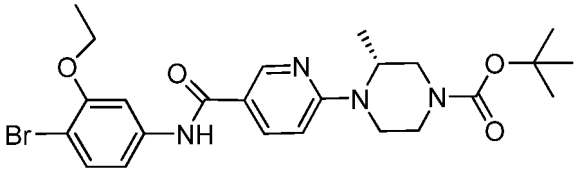
Se añadió una solución de cloruro de acetilo (31,9 mg, 0,406 mmol) disuelto en N,N-dimetil- acetamida (0,5 ml) a una solución de ácido (S)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (50,0 mg, 0,387 mmol) disuelto en N,N-dimetilacetamida (1,5 ml, 16 mmol), y después se añadió N,N-diisopropiletilamina (1 ml, 6 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se concentró la mezcla de reacción para producir el compuesto del título en forma de aceite de color marrón claro (30 mg, rendimiento del 40 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_8H_{13}NO_3$ 172,10 encontrado 172,2.

Preparación 20: Ácido (S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico



Se añadió HATU (1413 mg, 3,72 mmol) seguido de N,N-diisopropiletilamina (1,62 ml, 9,29 mmol) a una solución de ácido (S)-2-metoxicarbonilamino-3-butírico (543 mg, 3,10 mmol) disuelto en N,N-dimetilacetamida (10 ml, 11 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 10 min y después se añadió ácido (S)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (400 mg, 3,10 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche, se concentró por evaporación rotatoria, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (5 ml), se filtró y se purificó por HPLC de preparación. Se combinaron y liofilizaron las fracciones con el peso molecular deseado para dar el compuesto del título (604 mg rendimiento del 68 %). $[M+H]^+$ calc. para $C_{13}H_22N_2O_5$ 287,15 encontrado 287,0.

Preparación 21 Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-etoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1**-carboxílico**



(a) <u>N-(4-bromo-3-etoxi-fenil)-6-fluoro-nicotinamida</u>

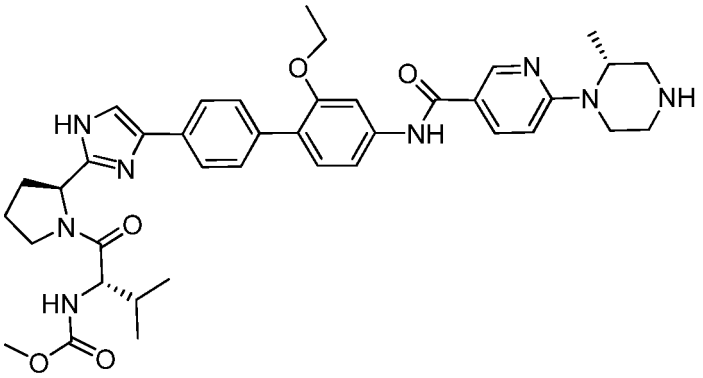
Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (240 mg, 1,5 mmol) disuelto en DCM (1,2 ml) a una solución de hidrocloruro de 4-bromo-3-etoxianilina (500 mg, 2 mmol) disuelto en DCM (7 ml). Se observó un precipitado de color blanco. Se agitó la mezcla de reacción durante 1 h y se concentró para producir produce la sal de HCl del intermedio del título.

(m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{14}H_{12}BrFN_2O_2$ 339,01 encontrado 339,0.

<u>(b) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-etoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il1-3-metil-piperazin-1-carboxílico</u>

Se disolvió el sólido de color blanco de la etapa anterior en DMSO (3,2 ml, 44 mmol), se añadió éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (300 mg, 1,5 mmol), seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (2,6 ml, 14,8 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante una noche, se enfrió a temperatura ambiente, y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por medio de cromatografía sobre gel de sílice (0-40 % de acetato de etilo:hexanos) para producir el compuesto del título en forma de sólido de color amarillo claro (324 mg, rendimiento del 42 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{24}H_{31}BrN_4O_4$ 519,15 encontrado 519,5.

Preparación 22: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(2'-etoxi-4'-1[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bi-fenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



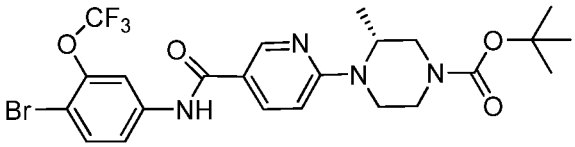
(a) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(2-etoxi-4'-{2-[(S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-4-il}-bi- fenil-4-ilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metilpiperazin-1-carboxílico

Se disolvió una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (253 mg, 0,52 mmol) y la sal de TFA éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-etoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico (324 mg, 0,52 mmol; Preparación 21) en 1,2-dimetoxietano (5,32 ml, 51,2 mmol) y agua (0,92 ml, 51,2 mmol) y se purgó la mezcla en atmósfera de nitrógeno. Se añadió bicarbonato sódico (161 mg, 1,92 mmol), seguido de tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (89 mg, 0,077 mmol). Se purgó la mezcla de reacción de forma adicional con nitrógeno, se selló en atmósfera de nitrógeno y se calentó a 90 ºC durante una noche. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo y agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir el intermedio del título en forma de un aceite de color pardo. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{44}H_{56}N_8O_7$ 809,43 encontrado 809,6.

(b) Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(2'-etoxi-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imida- zol-2-il1-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propilo)-carbámico

Se trató el aceite de color marrón de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (3,8 ml, 15,3 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir un sólido de color pardo. Se disolvió el sólido en solución de ácido acético:agua 1:1 (4 ml), se filtró y se purificó por medio de HPLC de fase inversa para producir la sal de Tri-TFA del compuesto del título en forma de sólido de color amarillo. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{39}H_{48}N_8O_5$ 709,37 encontrado 709,9.

Preparación 23-1: Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico



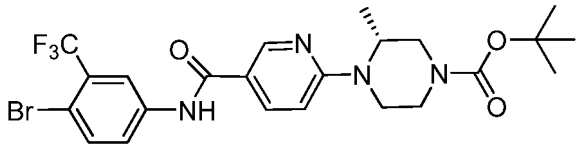
(a) N-(4-bromo-3-trifluorometoxifenil)-6-fluoro-nicotinamida

Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (190 mg, 1,2 mmol) disuelto en DCM (1 ml) a una solución de 4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilamina (300 mg, 1 mmol) disuelta en DCM (5 ml). Se observó un precipitado de color blanco. Se concentró la mezcla de reacción para producir la sal de HCl del intermedio del título (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{13}H_7BrF_4N_2O_2$ 378,96 encontrado 379,0.

(b) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il-3-metil-piperazin-1-carboxílico

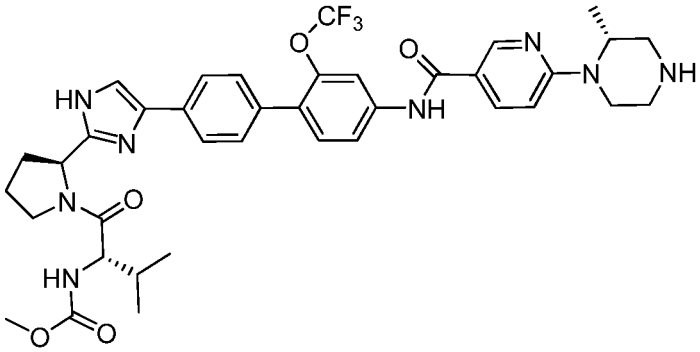
Se disolvió el sólido de color blanco de la etapa anterior en DMSO (2 ml) y se añadió éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (230 mg, 1,2 mmol), seguido de N,N-diisopropiletilamina (2 ml, 10 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante una noche, se enfrió a temperatura ambiente, y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-40 % acetato de etilo:hexanos) para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo claro (200 mg, rendimiento del 40 %). (m/z): [M+H]+ calc. para $C_{23}H_{26}BrF_3N_4O_4$ 559,11. 561,11 encontrado 561,0.

Preparación 23-2: Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico



Siguiendo el procedimiento de Preparación 23-1 sustituyendo 4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilamina (300 mg, 1 mmol) por 5-amino-2-bromobenzotrifluoruro (300 mg, 1 mmol), se preparó el intermedio del título (m/z): [M+H]+ calc. para $C_{23}H_{26}BrF_3N_4O_3$ 543,11.545,11 encontrado 545,4.

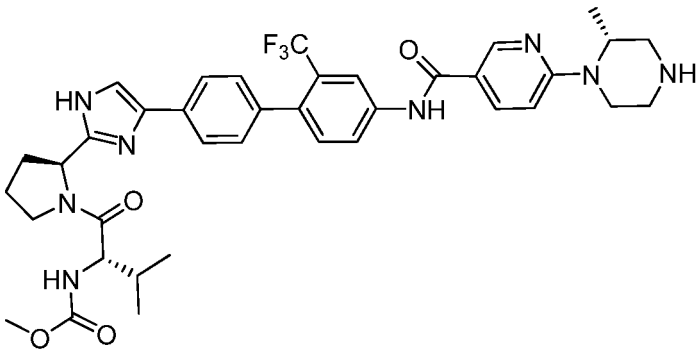
Preparación 24: Éster metílico de ácido ((S)-2-Metil-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico



Se disolvió una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2- il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (360 mg, 0,64 mmol) y éster terbutílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico (360 mg, 0,64 mmol; Preparación 23-1) en 1,2-dimetoxietano (6,69 ml, 64,4 mmol) y agua (1,16 ml, 64,4 mmol) y se purgó la mezcla en atmósfera de nitrógeno. Se añadió bicarbonato sódico (203 mg, 2,41 mmol), seguido de tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (112 mg, 0,097 mmol). Se purgó de forma adicional la mezcla de reacción con nitrógeno, se selló en atmósfera de nitrógeno y se calentó a 90 ºC durante una noche. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (5 ml) y agua (3 ml); se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un aceite de color pardo.

Se trató el aceite procedente de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (4 ml, 20 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir la sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo que se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de Tri-TFA del compuesto del título (150 mg, rendimiento total del 21 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H43F_3N_8O_5$ 749,33 encontrado 749,5.

Preparación 25: Éster metílico de ácido ((S)-2-metil-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico]

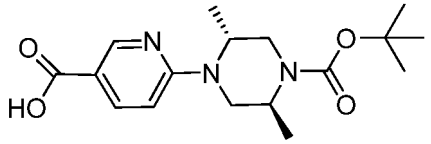


Se disolvió una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2- il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (280 mg, 0,57 mmol) y éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico (300 mg, 0,72 mmol; Preparación 23-2) en 1,4-dioxano (5,8 ml, 75 mmol) y agua (0,83 ml, 46 mmol). Se añadió carbonato de cesio (560 mg, 1,7 mmol), se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno y después se añadió aducto de éter metílico-ter-

butílico de cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2-aminoetil)fenil]paladio (II) (28 mg, 0,034 mmol). Se cerró herméticamente la mezcla de reacción con nitrógeno y se calentó a 95 ºC durante 3 h. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo y agua; se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un aceite de color naranja.

Se trató el aceite de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (4 ml, 20 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir la sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo que se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de Tri-TFA del compuesto del título (150 mg, rendimiento total del 24 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H4_3F_3N_8O_4$ 733,34 encontrado 733,5.

Preparación 26: Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-(5-carboxi-piridin-2-il)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico



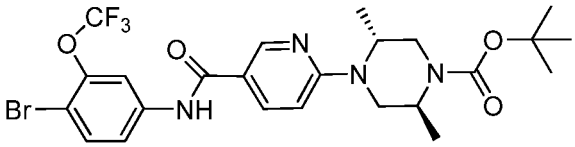
(a) Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-(5-metoxicarbonil-piridin-2-il)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico

Se calentó una mezcla de éster metílico de ácido 6-fluoronicotínico (200 mg, 1,29 mmol) y éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico a 120 ºC en DMSO (2,0 ml) con carbonato de potasio (178 mg, 1,29 mmol) durante 2 h. Se separó la mezcla de reacción entre acetato de etilo (20,0 ml) y agua (5,0 ml). Se lavó la fase orgánica con agua (2 x 5,0 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar el intermedio del título en forma de un aceite amarillento.

(b) Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-(5-carboxi-piridin-2-il)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico

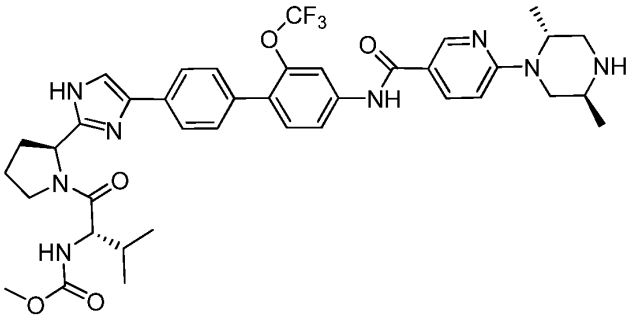
Se disolvió el aceite de la etapa previa en metanol (10,0 ml. 247 mmol) y agua (2,5 ml. 140 mmol) y se trató con hidróxido de litio monohidratado (108 mg, 2,58 mmol) a 40 ºC durante la noche. Se concentró la mezcla de reacción; se disolvió el residuo en una solución de ácido acético:agua 1:1 (6 ml), se filtró y se purificó por HPLC de fase inversa. Se combinaron las fracciones deseadas y se secaron por congelación para proporcionar la sal de Tri-TFA del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (327 mg, rendimiento del 56 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{17}H_{25}N_3O_4$ 336,18 encontrado 336,5.

Preparación 27: Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico



Se añadió una solución de éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-(5-carboxi-piridin-2-il)-2,5- dimetil-piperazin-1-carboxílico TFA (330 mg, 0,74 mmol; Preparación 26) y HCTU (401 mg, 0,97 mmol) en N,N-dimetilacetamida (3 ml) a una solución de 4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilamina (190 mg. 0,74 mmol) y N.N-diisopropiletilamina (0,65 ml, 3,73 mmol; en N.N-dimetilacetamida (3 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 50 ºC durante la noche. Se concentró la mezcla de reacción por evaporación rotatoria, se extrajo con acetato de etilo/carbonato de sodio sat., se secó sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-50 % acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (155 mg, rendimiento del 36 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{24}H_{28}BrF_3N_4O_4$ 573,12, 575,12 encontrado 575,5.

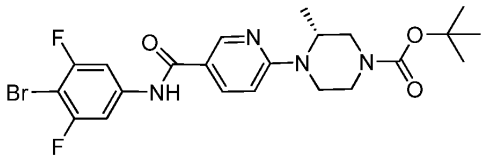
Preparación 28: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se disolvió una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (86 mg, 0,17 mmol) y éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (100 mg, 0,2 mmol, Preparación 27) en 1,4-dioxano (1,8 ml, 23 mmol) y agua (0,25 ml, 14 mmol). Se añadió carbonato de cesio (170 mg, 0,52 mmol). Se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno y después se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (12,1 mg, 0,011 mmol). Se cerró herméticamente la mezcla de reacción en atmósfera de nitrógeno y se calentó a 95 ºC durante una noche. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se concentró para producir un aceite de color naranja.

Se trató el aceite de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (2 ml, 7 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir la sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo que se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de tri-TFA del compuesto del título (150 mg, rendimiento total del 30 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{39}H_{45}F_3N_8O_5$ 763,35 encontrado 763,7.

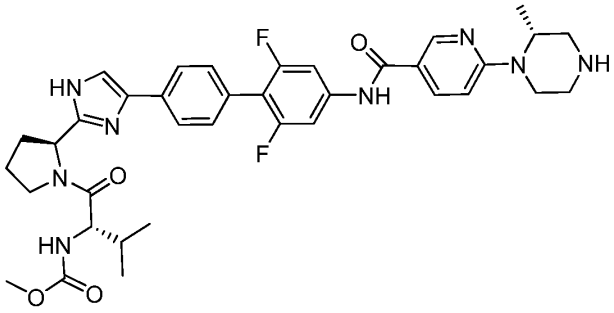
Preparación 31: Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3,5-difluoro-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico



Se añadió una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (190 mg, 1,2 mmol) disuelto en DCM (2 ml) a una solución de 4-bromo-3,5-difluoroanilina (250 mg, 1,2 mmol) disuelto en DCM (5 ml), seguido de la adición de N,N-diisopropiletilamina (100 ul, 0,60 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 1 h, y se concentró para producir un aceite transparente.

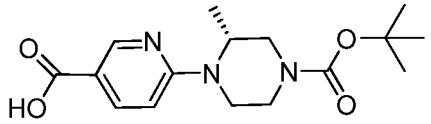
Se disolvió el aceite de la etapa anterior en DMSO (2,6 ml, 36 mmol) y éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (240 mg, 1,2 mmol) y se añadió N,N-diisopropiletilamina (2,1 ml, 12 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante una noche y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-40 % acetato de etilo:hexanos) para generar el producto del título en forma de un sólido de color blanco (rendimiento del 62 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{22}H_{25}BrF_2N_4O_3$ 511,11.513,11 encontrado 513,4.

Preparación 32: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(2',6'-difluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



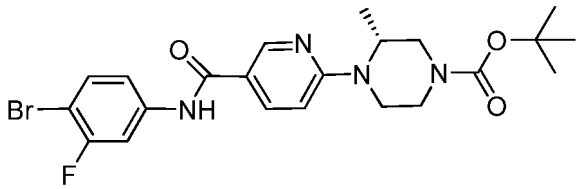
Siguiendo el procedimiento de la Preparación 24 en la escala de 0,4 mmol sustituyendo el Producto de la Preparación 23-1 por el producto de la Preparación 31, se preparó la sal de tri-TFA del compuesto del título. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{37}H_{42}F_2N_8O_4$ 701,33 encontrado 701,4.

Preparación 33: Éster terc-butílico de ácido (R)-4-(5-carboxi-piridin-2-il)-3-metil-piperazin-1-carboxílico



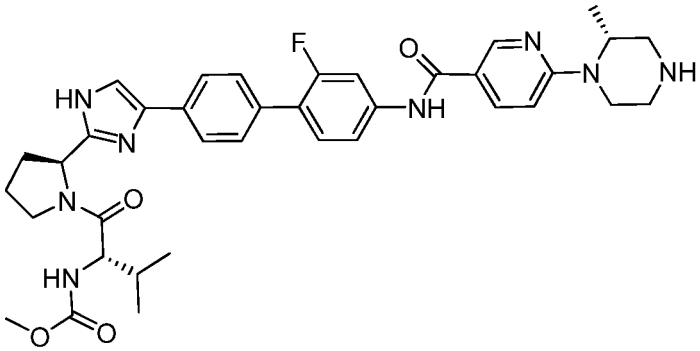
Se enfrió una mezcla de ácido 6-fluoronicotínico (150 g, 1,063 mol) y éster terc-butílico de ácido (R)-3-metilpiperazin-1-carboxílico (234,2 g, 1,169 mol) en tetrahidrofurano (1,75 l) a -40 ºC y después se añadió lentamente cloruro de isopropilmagnesio 2 M en tetrahidrofurano (1,196 l, 2,39 mol) manteniendo la temperatura por debajo de -20 ºC. Se calentó la mezcla de reacción lentamente a TA, se agitó a TA durante 4 h y después se añadieron HCl 1 N (1,75 l) y agua (1,175 l). Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (4 l). Se evaporó la fase orgánica para proporcionar un sólido bruto (534 g). Se añadieron acetona acetona (2 l) y agua (200 ml) al sólido bruto. Se calentó la mezcla de reacción resultante a 50 ºC y después se añadió agua (2,8 l) de forma lenta. Se añadieron los cristales seminales procedentes de un ensayo anterior a pequeña escala tras aproximadamente 1 l de agua. Se enfrió la mezcla de reacción a 20 ºC durante 3 h, se agitó a 20 ºC durante la noche y se filtró. Se lavó el sólido con acetona:agua 2:3 (2 x 500 ml) y se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título (329 g, rendimiento del 96 %) en forma de un sólido de color blanquecino. Procedimiento A HPLC: Tiempo de retención 9,73 min.

Preparación 34: Éster metílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-fluoro-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico



Se agitó una solución de éster terc-butílico de ácido (R)-4-(5-carboxi-piridin-2-il)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (150 mg, 0,47 mmol, Preparación 33), EDC (130 mg, 0,70 mmol) y HOAt (95 mg, 0,70 mmol) disuelto en DMA (4,3 ml, 47 mmol), se agitó a TA durante 30 min y después se añadió 4-bromo-3-fluoroanilina (89 mg, 0,47 mmol), seguido de N,N-diisopropiletilamina (0,2 ml, 1,2 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (elución: 0-40 % EtOAc:hexanos) para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (100 mg, rendimiento del 40 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{22}H_{26}BrFN_4O_3$ 493,12 encontrado 493,2.

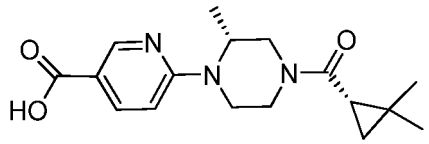
Preparación 35: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(2'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se disolvió una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (99 mg, 0,20 mmol) y éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-3-fluoro-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico (100 mg, 0,2 mmol, Preparación 34) en 1,2-dimetoxietano (2,06 ml, 19,9 mmol) y agua (0,358 ml, 19,9 mmol) y se purgó la mezcla en atmósfera de nitrógeno. Se añadió bicarbonato sódico (62,6 mg, 0,75 mmol), seguido de tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (34,4 mg, 0,030 mmol). Se purgó la mezcla de reacción de forma adicional con nitrógeno, se selló en atmósfera de nitrógeno, y se calentó a 90 ºC durante la noche. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (5 ml) y agua (3 ml); se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un aceite de color pardo.

Se trató el aceite de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (3 ml, 10 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, se concentró y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir la sal de HCl del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo, que se purificó por HPLC de fase inversa para producir la sal de tri-TFA del compuesto del título (100 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{37}H_{43}FN_8O_4$ 683,34 encontrado 683,8.

Preparación 36: Ácido 6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-nicotínico



(a) Éster metílico de ácido 6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-nicotínico

Se añadió lentamente ácido sulfúrico concentrado (37 ml) a una mezcla de éster terc-butílico de ácido (R)-4-(5-carboxi-piridin-2-il)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (50 g, 0,156 mol) y metanol (500 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 64 ºC, se agitó a 64 ºC durante la noche, se enfrió a TA y después se añadió agua con hielo (800 ml) seguido de hidróxido de sodio acuoso de 50 % (60 ml). Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (3 x 800 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato sódico y se evaporó para dar el intermedio del título en forma de un aceite. Procedimiento A de HPLC: Tiempo de retención 3,50 y 3,72 min.

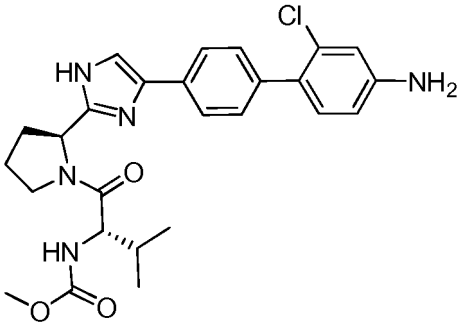
(b) Éster metílico de ácido 6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-nicotínico

Se añadió ácido (S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarboxílico (16,89 g, 0,148 mol) y HCTU (61,23 g 0,148 mol) a una solución enfriada del aceite de la etapa anterior en dimetilformamida (600 ml), seguido de N,N-diisopropiletilamina (51,6 ml, 0,296 mol). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche, se diluyó con acetato de etilo (1 l) y se lavó con carbonato de sodio:agua 1:1. Se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (500 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con bicarbonato sódico acuoso saturado (500 ml) y agua (1 l). Se extrajo la fase orgánica se extrajo con HCl 3 N (2 x 500 ml, 300 ml) y después se añadió NaOH acuoso de 50 % (169 g) al extracto acuoso combinado. Después de 30 min, se filtró la mezcla de reacción para dar un sólido (51,1 g). Se añadió acetona (300 ml) al sólido bruto, seguido de agua (450 ml). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante una noche y se filtró para dar el intermedio del título (36,86 g, 71,5 % y tras dos etapas) en forma de un sólido de color ligeramente amarillo. Procedimiento B HPLC: Tiempo de retención 15,05 min.

(c) Ácido 6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-nicotínico

Se añadió LiOH 2 M en agua (106 ml, 0,211 mol) a una mezcla del producto de la etapa anterior (35,0 g, 0,106 mol) y metanol (280 ml) manteniendo la temperatura por debajo de 30 ºC. Se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche, se concentró a presión reducida y después se añadió etanol (64 ml), seguido de HCl 1 N (230 ml). Se añadieron cristales seminales de un ensayo anterior a pequeña escala tras 160 ml de HCl. Después de 1 h, se filtró la mezcla para dar el compuesto del título (33,2 g, rendimiento del 99 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Procedimiento B HPLC: Tiempo de retención 8,27 min.

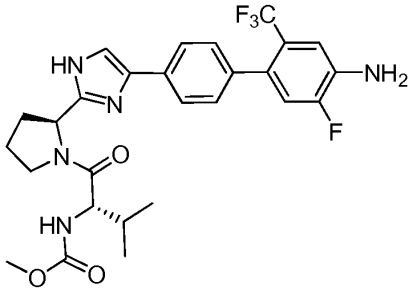
Preparación 37: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-2'-cloro-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se añadió carbonato de sodio acuoso saturado (0,2 ml) a una mezcla de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (100 mg, 0,20 mmol), 4-bromo-3-cloroanilina (46 mg, 0,22 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (23 mg, 0,02 mmol) y agua (0,3 ml). Se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno y después se añadió 1,4-dioxano (0,7 ml). Se desgasificó la mezcla de reacción, se agitó y se calentó a 90 ºC durante la noche. Se añadieron agua y acetato de etilo; se concentró la mezcla de reacción, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1 ml) y se purificó por HPLC de preparación. Se combinaron las fracciones, se ajustó a un pH de 8-9 con bicarbonato sódico acuoso y se extrajo con DCM. Se lavaron los extractos con agua, se secó con sulfato sódico y se concentró. Se disolvió el concentrado en

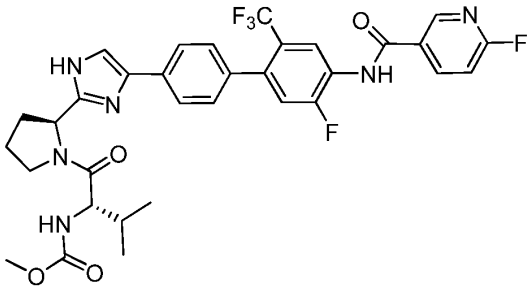
metanol y se concentró a vacío para proporcionar el compuesto del título (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{26}H_{30}ClN_5O_3$ 496,20 encontrado 496,7.

Preparación 39: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-5'-fluoro-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



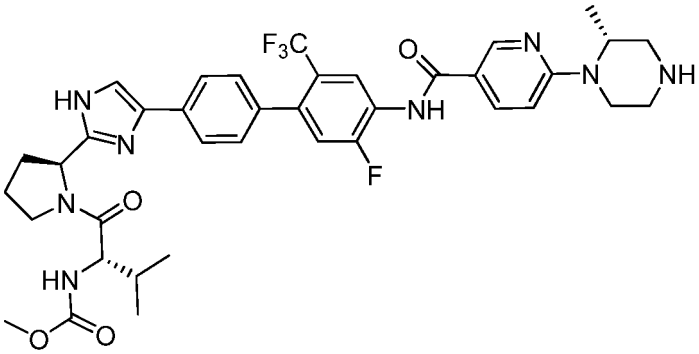
Se purgó con nitrógeno una mezcla de 4-bromo-2-fluoro-5-(trifluorometil)anilina (78 mg, 0,302 mmol) y éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (150 mg, 0,302 mmol) en tolueno (0,6 ml, 6 mmol) y agua (0,4 ml, 20 mmol). Se añadieron carbonato potásico (208,8 g, 1,511 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (35 mg, 0,030 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. Se tapó la mezcla de reacción y se calentó a 100 ºC durante la noche, se enfrió a TA y se separó entre acetato de etilo (5,0 ml) y agua (1,5 ml). Se seco la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar un aceite amarillento, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (12 g gel de sílice, 0-100 % EtOAc/hexanos). Se combinaron las fracciones deseadas y se concentraron para dar el intermedio del título en forma de un sólido de color amarillento (128 mg, rendimiento del 77 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{27}H_{24}F_4N_5O_3$ 548,22 encontrado 548,6.

Preparación 40: Éster metílico de ácido {(S)-1-[(S)-2-(4-{5'-fluoro-4'-[(6-fluoro-piridin-3-carbonil)-amino]-2'-trifluorometil-bifenil-4-il}-1H-imidazol-2-il)-pirrolidin-1-carbonil]-2-metil-propil}-carbámico



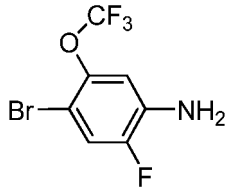
Se añadió cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (37 mg, 0,234 mmol) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-5'-fluoro-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (128 mg, 0,234 mmol; Preparación 39) en DCM (3 ml, 47 mmol) y DMA (0,3 ml, 3 mmol) y se agitó la solución resultante a TA durante la noche. Se concentró la mezcla de reacción por evaporación rotatoria para dar la sal de mono HCl del intermedio del título en forma de un aceite parduzco (163 mg), que se usó sin purificación adicional. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{33}H_{31}F_5N_6O4$ 671,23 encontrado 671,7.

Preparación 41: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



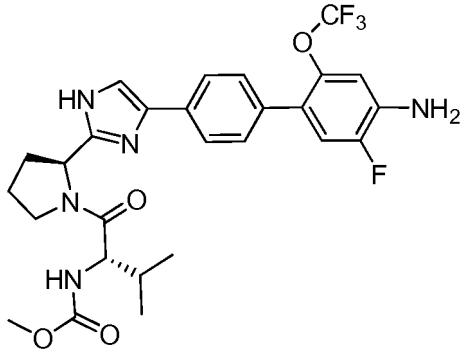
Se agitó una solución de éster metílico HCl de ácido {(S)-1-[(S)-2-(4-{5'-fluoro-4'-[(6-fluoro-piridin-3-carbonil)-amino]-2'-trifluorometil-bifenil-4-il}-1H-imidazol-2-il)-pirrolidin-1-carbonil]-2-metil-propil}-carbámico (100 mg, 0,141 mmol, Preparación 40), éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (283 mg, 1,414 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (246,3 ul, 1,414 mmol) en DMSO (1,5 ml, 21 mmol) a 120 ºC durante la noche. Se concentró la mezcla de reacción por evaporación rotatoria para proporcionar un intermedio bruto que se trató con HCl 4,0 M en 1,4-dioxano (1,0 ml, 4,0 mmol) durante 1 h, se concentró por evaporación rotatoria, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (8 ml), se filtró y se purificó por HPLC de fase inversa. Se combinaron las fracciones y se liofilizaron para dar la sal tri-TFA del intermedio del título (54 mg, rendimiento del 35 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H_{42}F_4N_8O_4$ 751,33 encontrado 751,7.

Preparación 42: 4-Bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenilamina



Se añadió lentamente una solución de N-bromosuccinimida (1,1 g, 6,2 mmol) disuelta en DMF (2 ml) a una mezcla de 2-fluoro-5-(trifluorometoxi)anilina (1 g, 5 mmol) disuelta en DMF (2 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h, se concentró y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (se eluyó con acetato de etilo:hexanos de 0-10 %) para producir el intermedio del título en forma de aceite de color rojo (818 mg, rendimiento del 58 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_7H_4BrF_4NO$ 273,94, 275,94 encontrado 276,1.

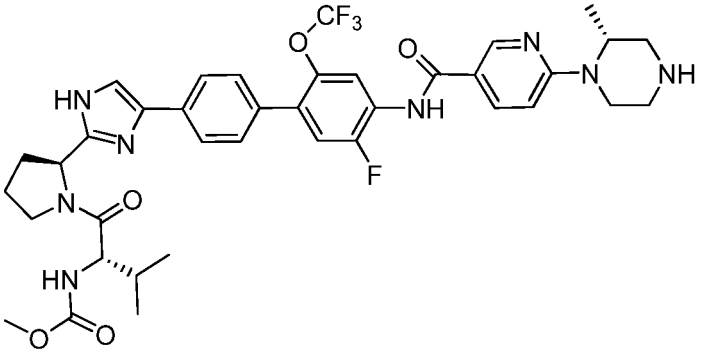
Preparación 43: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-5'-fluoro-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se añadió carbonato potásico (350 mg, 2,5 mmol) a una solución de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (250 mg, 0,50 mmol) y 4-bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenilamina (140 mg, 0,50 mmol; Preparación 42) disuelto en tolueno (2 ml) y agua (0,54 ml). Se purgó la mezcla de reacción en atmósfera de nitrógeno. se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (70 mg, 0,06 mmol) y se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno y se calentó a 100 ºC durante una noche. Se diluyó la mezcla de reacción en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un sólido de color rojo, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexanos de 0-100 %) para generar el producto deseado en forma de un sólido de color blanco con parte de impureza de óxido de trifenilfosfina. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{27}H_{29}F_4N_5O_4$ 564,2 encontrado 564,4.

Se disolvió el sólido (50 mg) en ácido acético:agua 1:1 (5 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa para producir la sal de TFA del intermedio del título en forma de un sólido de color blanco.

Preparación 44: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



(a) Éster metílico de ácido {(S)-1-[(S)-2-(4-{5'-fluoro-4'-[(6-fluoro-piridin-3-carbonil)-amino]-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il}-1H-imidazol-2-il)-pirrolidin-1-carbonil]-2-metil-propil}-carbámico

Se añadió lentamente cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (10 mg, 0,09 mmol;) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-5'-fluoro-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (50 mg, 0,09 mmol, Preparación 43) en DCM (0,6 ml, 9 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 5 min y después se concentró para proporcionar un sólido coloreado.

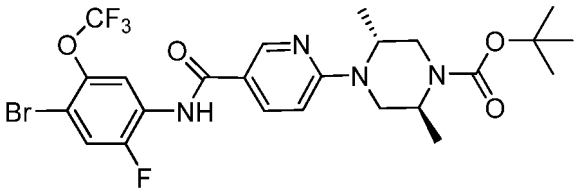
(b) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(5-fluoro-4'-{2-[(S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-4-il}-2-trifluorometoxi-bifenil-4-ilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxilic

Se disolvió el sólido de la etapa anterior en una mezcla de dimetil sulfóxido (0,20 ml, 2,8 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,32 ml, 1,8 mmol) y después se añadió éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (180 mg, 0,91 mmol) y se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante la noche y se concentró por medio de evaporación rotatoria para producir un aceite de color oscuro.

(c) Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bi-fenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidon-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

Se trató el aceite de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (2 ml, 8 mmol) y se calentó a 50 ºC durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción y se evaporó con acetato de etilo (2 x) para producir la sal de HCl del producto deseado en forma de un sólido, que se purificó por medio de HPLC de fase inversa para producir la sal de tri-TFA del producto deseado en forma de un sólido de color blanco (53 mg, rendimiento del 50 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H_42F_4N_8O_5$ 767,32 encontrado 767,7.

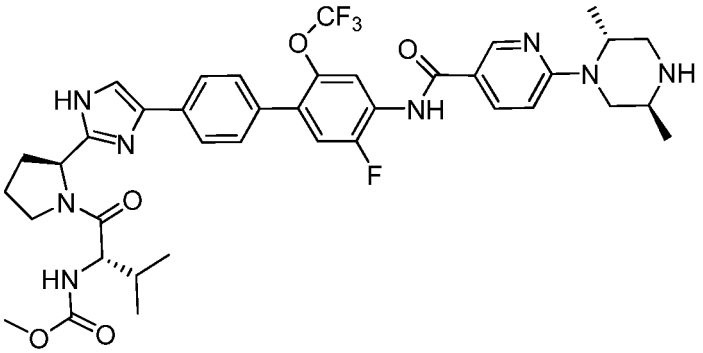
Preparación 49: Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico



Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonil (290 mg, 1,8 mmol) en DCM (1 ml) a una solución de 4-bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenilamina (500 mg, 2 mmol) disuelta en DCM (1 ml). Se añadieron unas pocas gotas de DMA y se concentró la mezcla de reacción para formar N-(4-bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenil)- 6-fluoro-nicotinamida en forma de sólido de color púrpura.

Se disolvió el sólido de la etapa anterior en una mezcla de N,N-diisopropiletilamina (0,7 ml, 4 mmol) y DMSO (0,7 ml, 10 mmol) y se añadió éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (590 mg, 2,7 mmol) y se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante la noche, se concentró por medio de evaporación rotatoria, se disolvió en una pequeña cantidad de DCM y se purificó por medio de cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexanos de 0-40 %) para producir el intermedio del título (613 mg, rendimiento del 57 %) en forma de un sólido de color blanco. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{24}H_{27}F_4N_4O_4$ 591,12 encontrado 591,4.

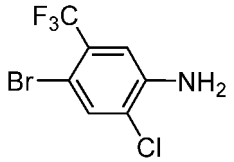
Preparación 50: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-5'-fluoro-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-ilo)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se añadió carbonato potásico (470 mg, 3,4 mmol) a una solución de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (340 mg, 0,68 mmol) y éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (400 mg, 0,68 mmol; Preparación 49) disuelto en tolueno (2,5 ml) y agua (0,73 ml). Se purgó la mezcla de reacción en atmósfera de nitrógeno. Se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (94 mg, 0,081 mmol) y se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno y se calentó a 100 ºC durante 4 h. Se diluyó la mezcla de reacción diluyó en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(5-fluoro-4'-{2-[(S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-4-il}-2-trifluorometoxi-bifenil-4-ilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico en forma de sólido rojo.

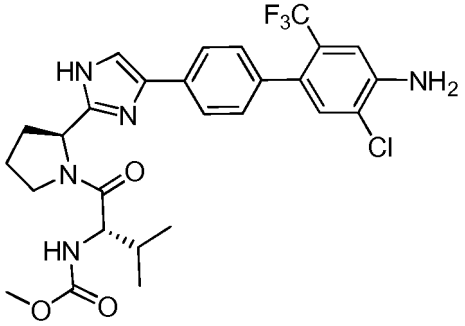
Se trató el sólido de la etapa anterior se trató con HCl 4 M en 1,4-dioxano (5 ml, 20 mmol) y se agitó a 50 ºC durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (8 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa. Se combinaron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se liofilizaron para producir la sal de tri-TFA del intermedio del título (490 mg, rendimiento del 64 %) en forma de un polvo de color blanco. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{39}H_{44}F_4N_8O_5$ 781,34 encontrado 781,6.

Preparación 51: 5-Amino-2-bromo-4-clorobenzotrifluoruro



Se añadió lentamente una solución de N-bromosuccinimida (1,0 g, 5,6 mmol) disuelta en DMF (3 ml) se añadió lentamente a una mezcla de 3-amino-4-clorobenzotrifluoruro (1 g, 5 mmol) disuelto en DMF (2 ml) y se agitó la mezcla de reacción a TA durante 20 min, se concentró, y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía instantánea (eluyendo con 100 % de hexanos) para producir el intermedio del título en forma de aceite de color rojizo (970 mg, rendimiento del 70 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_7H_4BrClF_3{}_N$ 273,92, 275,92 encontrado 276,2.

Preparación 52 Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-5'-cloro-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

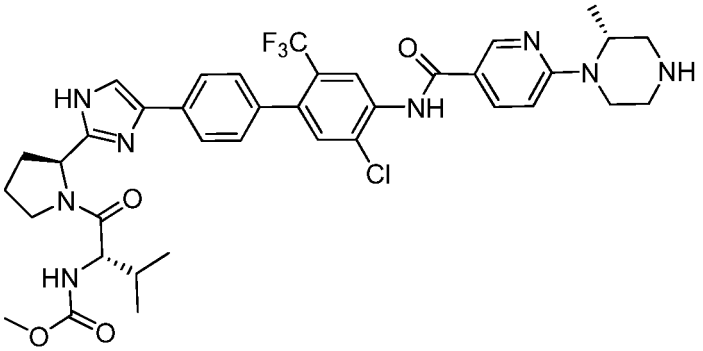


Se añadió carbonato potásico (280 mg, 2,0 mmol) a una solución de éster metílico de ácido [(S)-2-metil-1-((S)-2-{4-

[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-propil]-carbámico (200 mg, 0,40 mmol) y 5-amino-2-bromo-4-clorobenzotrifluoruro (110 mg, 0,40 mmol; Preparación 51) disuelto en tolueno (1,3 ml) y agua (0,43 ml). Se purgó la mezcla de reacción en atmósfera de nitrógeno. Se añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (56 mg, 0,48 mmol) y se purgó la mezcla de reacción con nitrógeno y se calentó a 100 ºC durante 4 h. Se diluyó la mezcla de reacción en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un sólido rojo, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexanos de 0-100 %) para generar el producto deseado en forma de un sólido de color amarillo.

Se disolvió el sólido (~30 mg) en ácido acético:agua 1:1 (5 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa para producir la sal de di-TFA del intermedio del título (31,1 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{27}H_{29}ClF_3N_5O_3$ 564,19 encontrado 564,2.

Preparación 53: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-cloro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

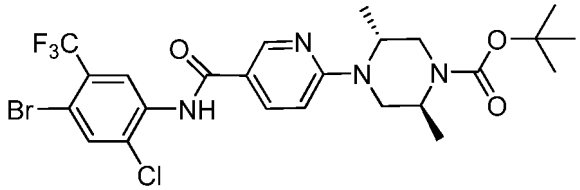


Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (14 mg, 0,091 mmol) disuelto en DCM (0,3 ml) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-5'-cloro-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (50 mg, 0,09 mmol; Preparación 52) disuelto en DCM (0,3 ml). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 5 min y se concentró para producir {(S)-1-[(S)-2-(4-{5'-cloro-4'-[(6-fluoro-piridin-3-carbonil)-amino]-2'-trifluorometil-bifenil-4-il}-1H-imidazol-2-il)-pirrolidin-1-carbonil]-2-metil-propil}-carbámico en forma de un sólido de color amarillo.

Se disolvió el sólido amarillo de la etapa anterior en una mezcla de DMSO (0,3 ml, 4 mmol) y N,N-diiso-propiletilamina (0,3 ml, 2 mmol) y se añadió éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (180 mg, 0,91 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 100 ºC durante 72 h, y se concentró por medio de evaporación rotatoria para producir éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(5-cloro-4'-{2-[(S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-4-il}-2-trifluorometil-bifenil-4-ilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazina-1-carboxílico en forma de aceite de color oscuro.

Se trató el aceite de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (2 ml, 8 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a 50 ºC durante 1 h, y se concentró a vacío para producir la sal de HCl del producto deseado, que se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (5 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa. Se combinaron las fracciones que contenían el producto deseado y se liofilizaron para producir la sal de tri-TFA del intermedio del título (30 mg, rendimiento del 30 %) en forma de un polvo de color blanco. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H_{42}ClF_3N_8O_4$ 767,30 encontrado 767,5.

Preparación 54: Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-2-cloro-5-trifluorometilfenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico

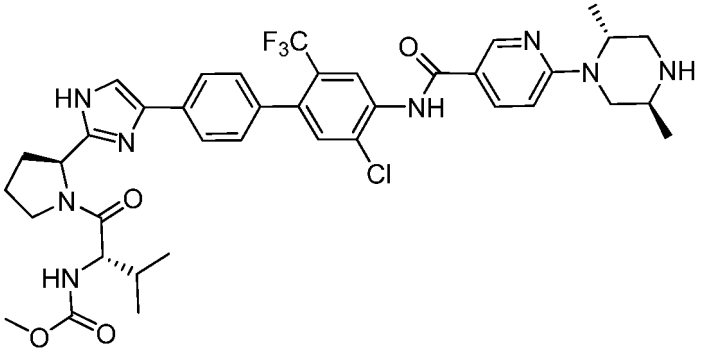


Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (270 mg, 1,70 mmol) en DCM (1 ml) a una solución de 5-amino-2-bromo-4-clorobenzotrifluoruro (466 mg, 1,70 mmol) disuelto en DCM (1 ml). Se añadieron unas pocas gotas de DMA y se concentró la mezcla de reacción para formar N-(4-bromo-2-cloro-5-trifluorometil-fenil)-6-fluoro-nicotinamida en forma de sólido de color púrpura.

Se trató la mitad del sólido de la etapa anterior con *N,N*-diisopropiletilamina (0,5 ml, 3 mmol), DMSO (0,5 ml, 7 mmol) y éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (273 mg, 1,27 mmol) y se calentó la

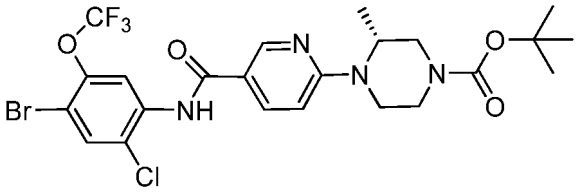
mezcla de reacción a 120 ºC durante una noche, se concentró por evaporación rotatoria, se disolvió en una pequeña cantidad de DCM y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexanos de 0-50 %) para producir el intermedio del título (288 mg, rendimiento del 29 %) en forma de un sólido de color amarillo. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{24}H_{27}F_4N_4O_4$ 591,09, 593,09 encontrado 593,2.

Preparación 55: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-5'-cloro-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Siguiendo el procedimiento de la Preparación 50 en la escala de 0,24 mol, sustituyendo éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-2-fluoro-5-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (Preparación 49) por éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-2-cloro-5-trifluorometil-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (140 mg, 0,24 mmol, Preparación 54), se preparó la sal de tri-TFA del intermedio del título (490 mg, rendimiento del 64 %) en forma de un polvo de color blanco. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{39}H_{44}ClF_3N_8O_4$ 781,31 encontrado 781,6.

Preparación 62: Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-2-cloro-5-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico



(a) 4-Bromo-2-cloro-5-trifluorometoxi-fenilamina

Se añadió lentamente una solución de N-clorosuccinimida (1,0 g, 7,8 mmol) en ACN (40 ml) a una mezcla de 4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilamina (2,0 g, 7,8 mmol) en ACN (60 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 60 ºC durante la noche y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se purificó por cromatografía ultrarrápida (40 g columna, de 100 % hexanos a 10 % EtOAc: hexanos) para generar el producto deseado en forma de aceite de color anaranjado (1,4 g, rendimiento del 64 %).

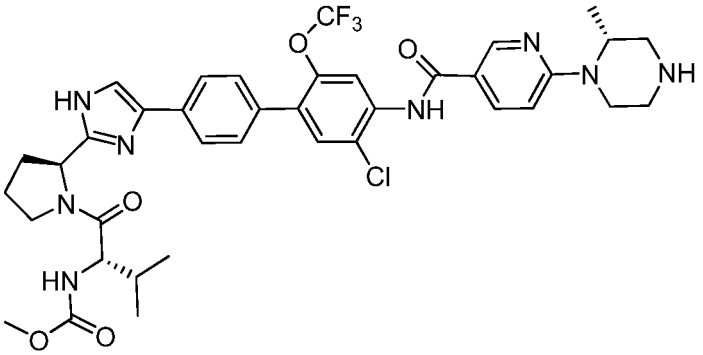
(b) N-(4-Bromo-2-cloro-5-trifluorometoxi-fenil)-6-fluoro-nicotinamida

Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (0,66 g, 4,1 mmol) en DCM (3 ml) a una solución del producto de la etapa anterior (1,2 g, 4,1 mmol) en DCM (5 ml) y se añadieron 20 gotas de DMA. Se concentró la mezcla de reacción para formar un sólido amarillento (2 g). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{13}H_6BrClF_4N_2O_2$ 412,92, 414,92 encontrado 413, 415.

(c) Éster terc-butílico de ácido (R)-4-[5-(4-bromo-2-cloro-5-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-3-metil-piperazin-1-carboxílico

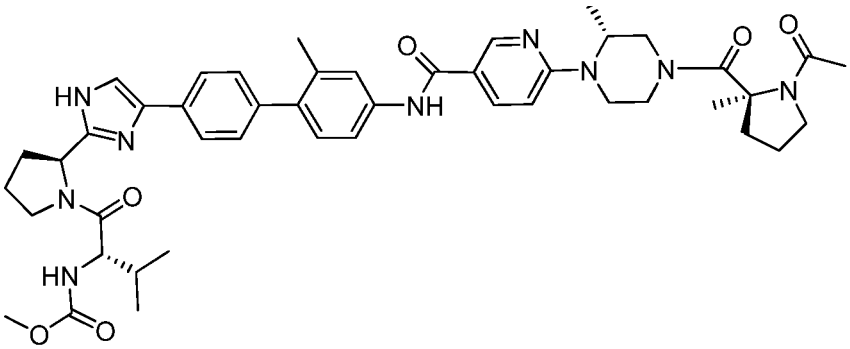
Se añadió éster terc-butílico de ácido (R)-3-metil-piperazin-1-carboxílico (726 mg, 3,62 mmol) a una mezcla de reacción del producto de la etapa anterior (999 mg, 2,42 mmol) en una mezcla de N,N-diisopropil- etilamina (0,84 ml, 4,83 mmol) y DMSO (0,86 ml, 12,08 mmol) y se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante la noche y se extrajo con acetato de etilo/agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se concentró a vacío. Se disolvió el aceite de color oscuro en una pequeña cantidad de DCM y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (24 g columna, 0-40 % acetato de etilo: hexanos) para producir el intermedio del título en forma de un sólido de color blanco (916 mg, rendimiento del 64 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{23}H_{25}BrClF_3N_4O_4$ 593,07, 595,07 encontrado 595,4.

Preparación 63: Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-cloro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Siguiendo el procedimiento de la Preparación 50, se hizo reaccionar el producto de la Preparación 62 (534 mg, 0,9 mmol) para proporcionar la sal de tri-TFA del compuesto del título en forma de un polvo de color blanco (186 mg, ~ rendimiento del18 %). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{38}H_{42}ClF_3N_8O_5$ 783,29 encontrado 784,3.

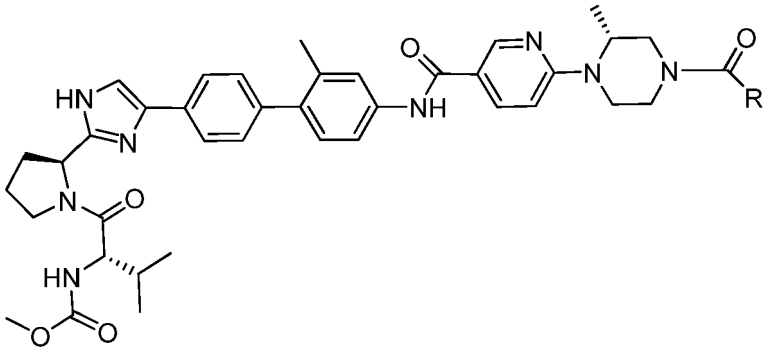
Ejemplo 15 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{5-[4'-({6-[(R)-4-((S)-1-acetil-2-metil-pirrolidin-2-carbonil) 2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-2'-metil-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil]-carbámico

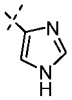
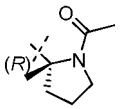


Se añadieron ácido (S)-1-acetil-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (3,2 mg, 0,019 mmol, Preparación 19) y HATU (11 mg, 0,028 mmol) a una solución de éster metílico tri-HCl de ácido [((S)-2-metil-1-{(S)-2-[5-(2'-metil-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-ilo)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico (15 mg, 0,019 mmol; Preparación 18) y *N,N*-diisopropiletilamina (33,1 ul, 0,190 mmol) disuelta en DMA (0,6 ml, 7 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (4 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de tri-TFA del compuesto del título (9,1 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{46}H_{57}N_9O_6$ 832,44 encontrado 832,4.

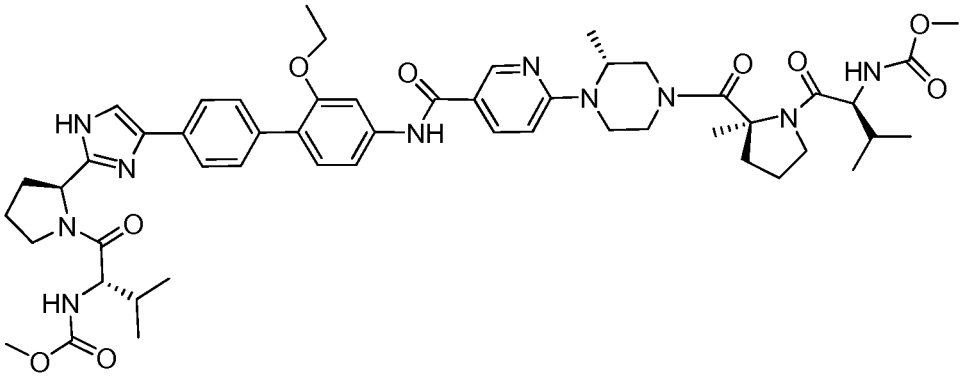
Ejemplos 16-20

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 15, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 19 (20 mg, 0,02 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
16		ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (38 ul, 0,019 mmol) HATU (11 mg, 0,028)	2 sal de TFA (11,4 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{44}H_{54}N_8O_5$ 775,42 encontrado 775,4
17		cloruro de ciclopropanocarbonilo (1,7 ul, 0,019 mmol)	2 sal de TFA (16,3 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{42}H_{50}N_8O_5$ 747,39 encontrado 747,4
18	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1 M en tolueno (19 ul, 0,019 mmol)	2 sal de TFA (14,8 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{40}H_{49}N_9O_5$ 736,39 encontrado 736,4
19		ácido imidazol-4-carboxílico (2,1 mg, 0,019 mmol), EDC (5,5 mg, 0,028 mmol) y HOAt (3,9 mg, 0,028 mmol)	3 sal de TFA (7,6 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{42}H_{48}N_{10}O_5$ 773,38 encontrado 773,4
20		ácido (R)-1-acetil-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (3,2 mg, 0,019 mmol HATU (11 mg, 0,028 mmol).	2 sal de TFA (12,1 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{46}H_{57}N_9O_6$ 832,44 encontrado 832,4

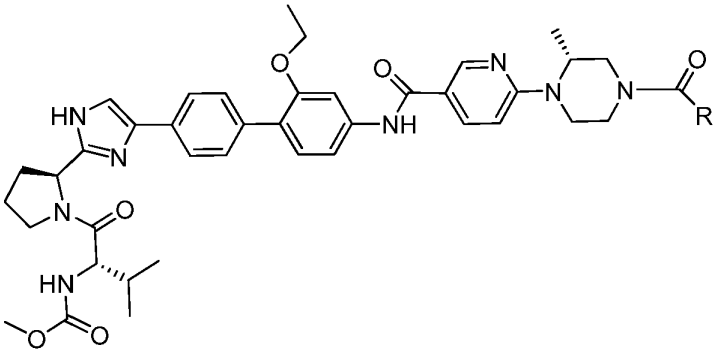
Ejemplo 21 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{4-[2'-etoxi-4'-({6-[(R)-4-((S)-1-{(S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril}-2-metil-pirrolidin-2-carbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-bifenil-4-il]-1H-imidazol- 2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil]-carbámico

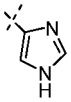


Se disolvió la sal de tri-TFA de éster metílico de ácido (S)-1-{(S)-2-[4-(2'-etoxi-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (30 mg, 0,03 mmol; Preparación 22) en DMA (1,0 ml, 11 mmol) y se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,015 ml, 0,086 mmol) seguido de una solución que contenía ácido (S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico 0,5 M en DMA (68,5 ul, 0,034 mmol) y HATU (13,0 mg, 0,034 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de tri-TFA del compuesto del título (13,5 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{52}H_{68}N_{10}O_9$ 977,52 encontrado 977,6.

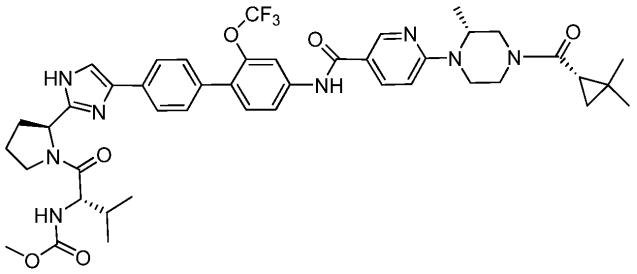
Ejemplos 22-24

Siguiendo del procedimiento del Ejemplo 21, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 22 (30 mg, 0,03 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
22		ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (69,5 ul, 0,034 mmol), HATU (13 mg, 0,034)	2 sal de TFA (23,8 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{45}H_{56}N_8O_6$ 805,43 encontrado 805,4
23	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1 M en tolueno(34,2 µl, 0,034 mmol)	2 sal de TFA (26,2 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H_{51}N_9O_6$ 766,40 encontrado 766,4
24		ácido imidazol-4-carboxílico (3,84 mg, 0,034 mmol), HATU (13 mg, 0,034)	3 sal de TFA (24 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{50}N_{10}O_6$ 803,39 encontrado 803,4

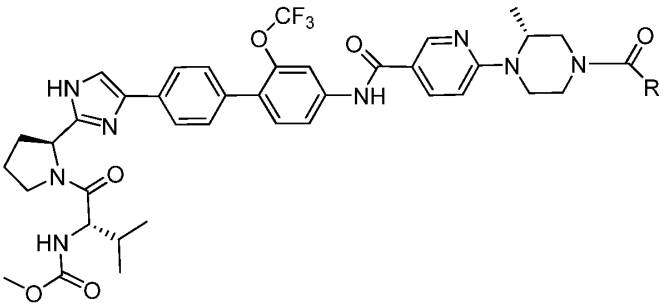
Ejemplo 25 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{5-[4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil]-carbámico

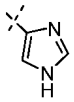


Se añadieron ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (28 ul, 0,014 mmol) y HATU (7,8 mg, 0,021 mmol) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-2-metil-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico $3[C_2HF_3O_2]$ (15 mg, 0,014 mmol; Preparación 24) y *N,N*-diisopropiletilamina (24 ul, 0,14 mmol) disuelta en DMA (0,5 ml, 5 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (11,4 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{44}H_{51}F_3N_8O_6$ 845,39 encontrado 845,4.

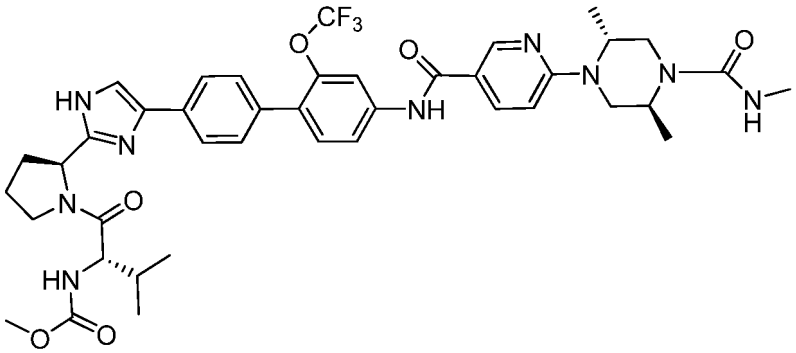
Ejemplos 26-28

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 25, Se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 24 (15 mg, 0,014 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
26	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1 M en tolueno (14 ul, 0,014 mmol)	2 sal de TFA (11,7 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{40}H_{46}F_3N_9O_6$ 806,35 encontrado 806,4
27		ácido imidazol-4-carboxílico (1,5 mg, 0,014 mmol), EDC (4,0 mg, 0,021 mmol) y HOAt (2,8 mg, 0,021 mmol)	3 sal de TFA (14,2 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{42}H_{45}F_3N_{10}O_6$ 843,35 encontrado 843,2
28		cloruro de ciclopropanocarbonilo (1,2 ul, 0,014 mmol)	2 sal de TFA (8,8 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{42}H_{47}F_3N_8O_6$ 817,36 encontrado 817,2

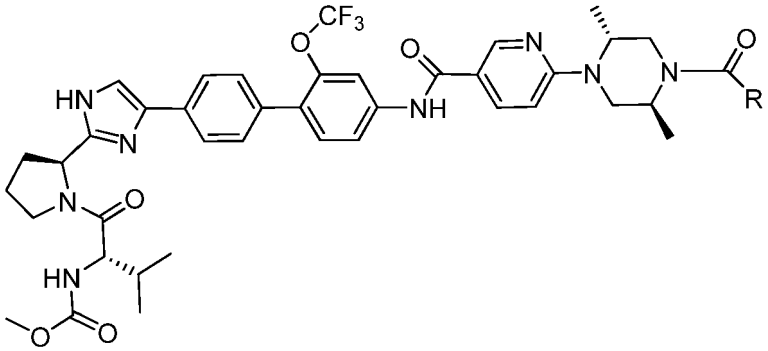
Ejemplo 29 Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-4-metilcarbamoil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

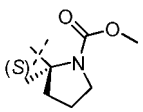


Se añadió isocianato de metilo 1,0 M en tolueno (10 ul, 0,01 mmol) a una solución de éster metílico tri- TFA de ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (11,4 mg, 0,011 mmol; Preparación 28) y *N,N*-diisopropiletilamina (18 ul, 0,11 mmol) disuelta en DMA (0,4 ml, 4 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (7,1 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H4_8F_3N_9O_6$ 820,37 encontrado 820,5.

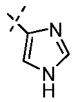
Ejemplos 30-33

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 29, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 28 (11,4 mg, 0,011 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:

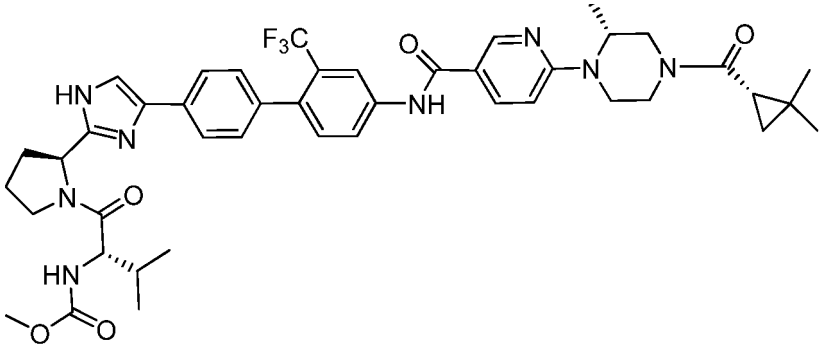


Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
30		cloruro de ciclopropanocarbonilo (0,94 ul, 0,01 mmol)	2 sal de TFA (9,7 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{49}F_3N_8O_6$ 831,37 encontrado 831,2
31		éster 1-metílico de ácido (S)-2-metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico 0,5 M en DMA (20,6 ul, 0,0103 mmol) HATU (5,9 mg, 0,0215 mmol).	2 sal de TFA (2,9 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{47}H_{56}F_3N_9O_8$ 932,42 encontrado 932,4

(Continuación)

Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
32		ácido imidazol-4-carboxílico (2,1 mg, 0,019 mmol), EDC (3 mg, 0,015 mmol), y HOAt (2,1 mg, 0,015 mmol)	3 sal de TFA (12,2 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_6$ 857,36 encontrado 857,2
33		ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (21 ul, 0,010 mmol) HATU (5,9 mg, 0,015)	2 sal de TFA (8,2 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{45}H_{53}F_3N_8O_5$ 859,40 encontrado 859,4

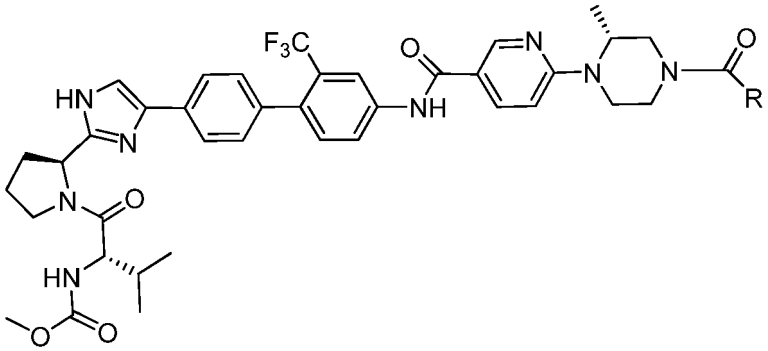
Ejemplo 34 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{5-[4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)- 2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-2'-trifluorometil-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil- propil]-carbámico

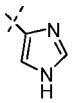
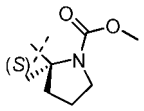


Se añadió ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (32 ul, 0,016 mmol) y HATU (9 mg, 0,024 mmol) a una solución de éster metílico tri-TFA de ácido ((S)-2-metil-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico (17 mg, 0,016 mmol; Preparación 25) y *N,N*-diisopropiletilamina (27,5 ul, 0,158 mmol) disuelta en DMA (0,5 ml, 6 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (8,3 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{44}H_{51}F_3N_8O_5$ 829,39 encontrado 829,4.

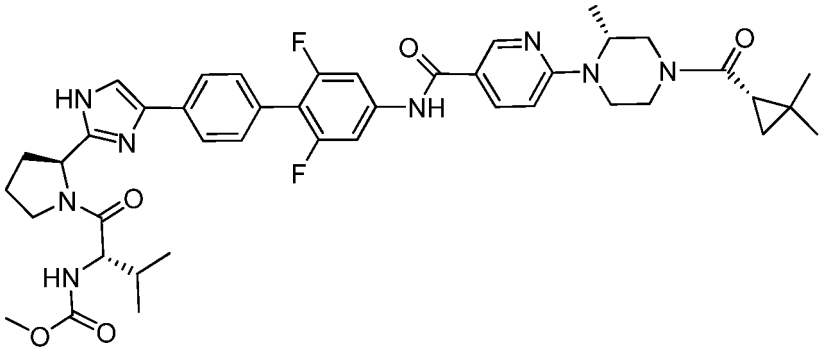
Ejemplos 35-38

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 34, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 25 (17 mg, 0,016 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
35		cloruro de ciclopropanocarbonilo (1,4 ul, 0,016 mmol)	2 sal de TFA (14,1 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{42}H_{47}F_3N_8O_5$ 801,36 encontrado 801,2
36	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1,0 M en tolueno(16 ul, 0,016 mmol)	2 sal de TFA (12,3 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{40}H_{46}F_3N_9O_5$ 790,36 encontrado 790,2
37		ácido imidazol-4-carboxílico (2 mg, 0,02 mmol), EDC (4,5 mg, 0,024 mmol), y HOAt (3,2 mg, 0,024 mmol)	3 sal de TFA (14,4 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{42}H_{45}F_3N_{10}O_5$ 827 36 encontrado 827,2
38		éster 1-metílico de ácido (S)-2-metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico 0,5 M en DMA (31,6 ul, 0,016 mmol) HATU (9 mg, 0,024 mmol).	2 sal de TFA (6,8 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{46}H_{54}F_3N_9O_7$ 902,41 encontrado 902,4

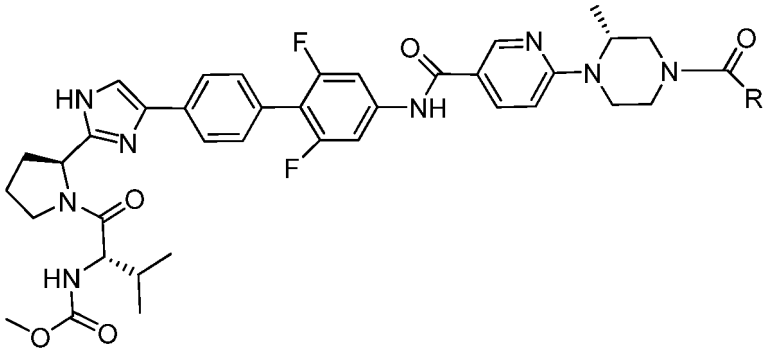
Ejemplo 41 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{5-[4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-pirimidin-3-carbonil}-amino)-2',6'-difluoro-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil]-carbámico

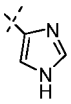


Se añadieron ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (38 ul, 0,019 mmol) y HATU (11 mg, 0,029 mmol) a una solución de éster metílico tri-TFA de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(2',6'-difluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (20 mg, 0,02 mmol; Preparación 32) y *N,N*-diisopropiletilamina (33,4 ul, 0,192 mmol) disuelta en DMA (0,6 ml, 7 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (10,1 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{50}F_2N_8O_5$ 797,39 encontrado 797,4.

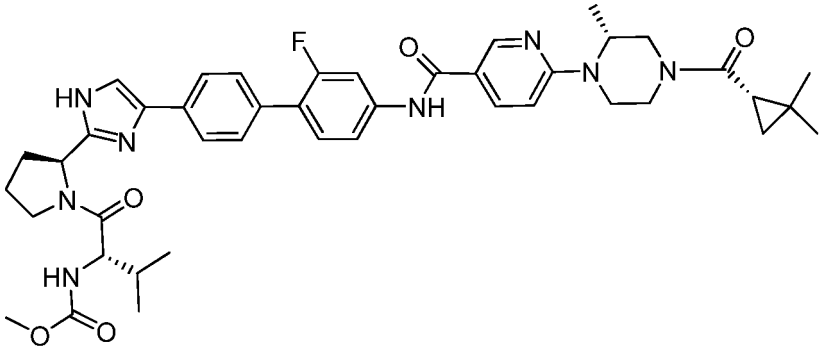
Ejemplos 42-44

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 41, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 32 (20 mg, 0,02 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
42		cloruro de ciclopropanocarbonilo (1,7 ul, 0,019 mmol)	2 sal de TFA (7,2 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H_{44}F_2N_8O_5$ 769,36 encontrado 769,2
43	$NHCH_3$	isocianato de metilo en tolueno (19 ul, 0,19 mmol)	2 sal de TFA (4,1 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{39}H_{45}F_2N_9O_5$ 758,35 encontrado 758,4
44		ácido imidazol-4-carboxílico (2,1 mg, 0,019 mmol), EDC (5,5 mg, 0,029 mmol) y HOAt (3,9 mg, 0,029 mmol)	3 sal de TFA (5,1 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H_{44}F_2N_{10}O_5$ 795,35 encontrado 795,2

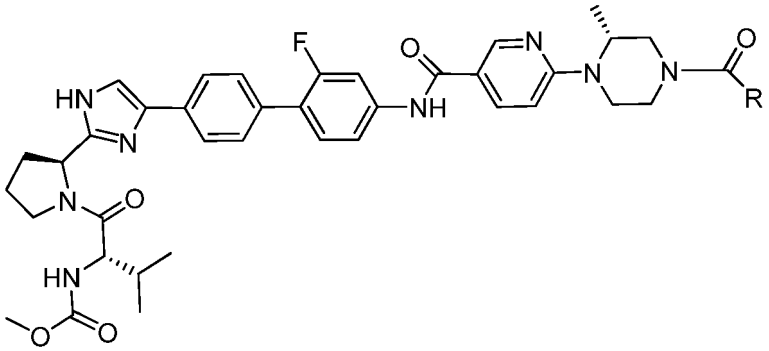
Ejemplo 45 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{5-[4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-pirimidin-3-carbonil}-amino)-2'-fluoro-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil]-carbámico

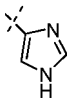


Se añadieron ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (29 ul, 0,015 mmol) y HATU (8,3 mg, 0,022 mmol) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(2'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico $3[C_2HF_3O_2]$ (15 mg, 0,015 mmol; Preparación 35) y *N,N*-diisopropiletilamina (25,5 ul, 0,146 mmol) disuelta en DMA (0,5 ml, 5 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (9,5 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{51}FN_8O_5$ 779,40 encontrado 779,4.

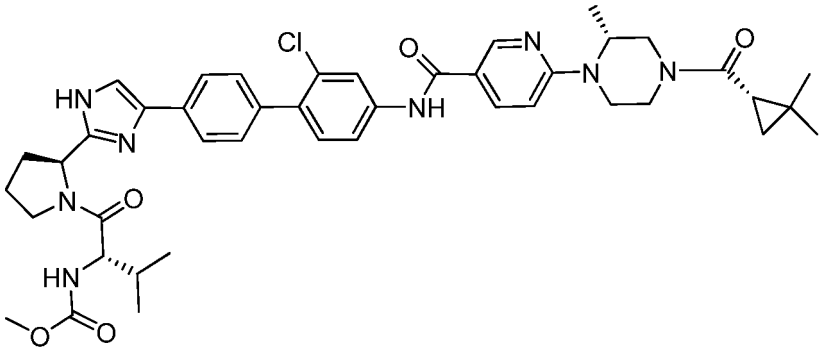
Ejemplos 46-48

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 45, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 35 (15 mg, 0,015 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



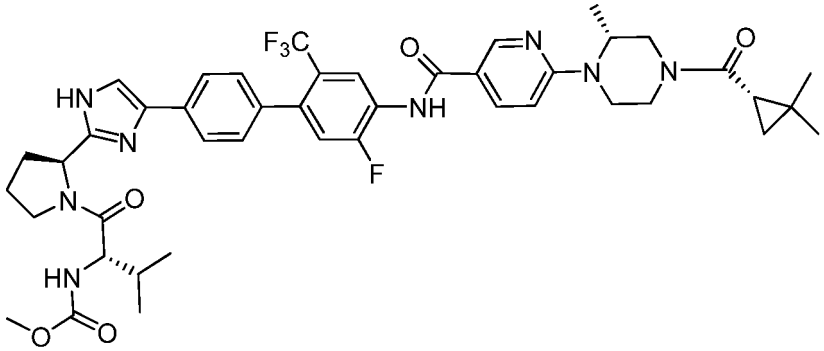
Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
46		cloruro de ciclopropanocarbonilo (1,3 ul, 0,015 mmol)	2 sal de TFA (12 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H_{47}FN_8O_5$ 751,37 encontrado 751,2
47	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1 M en tolueno (15 ul, 0,15 mmol)	2 sal de TFA (10,9 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{39}H_{46}FN_9O_5$ 740 36 encontrado 740,4
48		ácido imidazol-4-carboxílico (1,6 mg, 0,015 mmol), EDC (4,2 mg, 0,022 mmol) y HOAt (3,0 mg, 0,022 mmol)	3 sal de TFA (10,7 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H_{45}FN_{10}O_5$ 777,36 encontrado 777,2

Ejemplo 49 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{4-[2'-cloro-4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil]-carbámico



Se agitó una mezcla de ácido 6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-nicotínico (4,54 mg, 0,014 mmol; Preparación 36), HCTU (8,0 mg, 0,019 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,013 ml, 0,072 mmol), y DMA (0,2 ml, 2 mmol) durante 30 min a 50 ºC y después se añadió éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-amino-2'-clorobifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (7,1 mg, 0,014 mmol; Preparación 37). Se agitó la mezcla de reacción durante la noche y después se añadió HCTU (8 mg) y se calentó la mezcla de reacción a 55 ºC. Después de 5 h, se enfrió la mezcla de reacción a TA, se añadieron acetato de etilo y agua. Se concentró la fase orgánica a vacío y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (1,3 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{51}ClN_8O_5$ 795,37 encontrado 795,4.

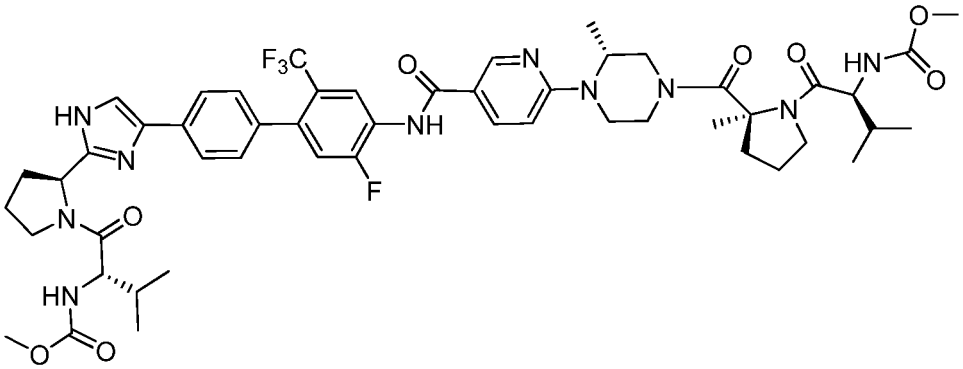
Ejemplo 51 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{4-[4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-5'-fluoro-2'-trifluorometil-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2- metil-propil]-carbámico



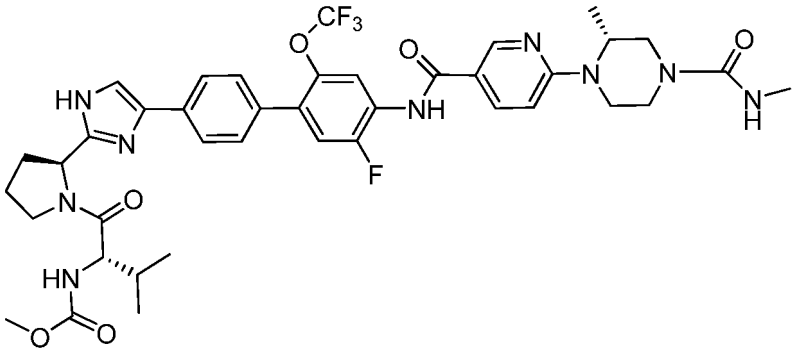
Se agitó una mezcla de ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico (2,09 mg, 0,018 mmol) y HATU (8,35 mg, 0,022 mmol) en DMA (1,0 ml, 11 mmol) durante 10 min. y después se añadieron éster metílico tri-TFA de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (20,0 mg, 0,018 mmol, Preparación 41) y *N,N*-diisopropiletil- amina (15,94 ul, 0,091 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche, se concentró por evaporación rotatoria, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml), se filtró y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (4,8 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{44}H_{50}F_4N_8O_5$ 847,38 encontrado 847,4.

Ejemplo 52

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 51, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 41 (20 mg, 0,019 mmol) con ácido (S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metilbutiril)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (5,24 mg, 0,018 mmol) para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto siguiente (2,8 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{51}H_{62}F_4N_{10}O_8$ 1019,47 encontrado 1019,4.



Ejemplo 53 Éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-4-metilcarbamoil-piperazin-1-ilo)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

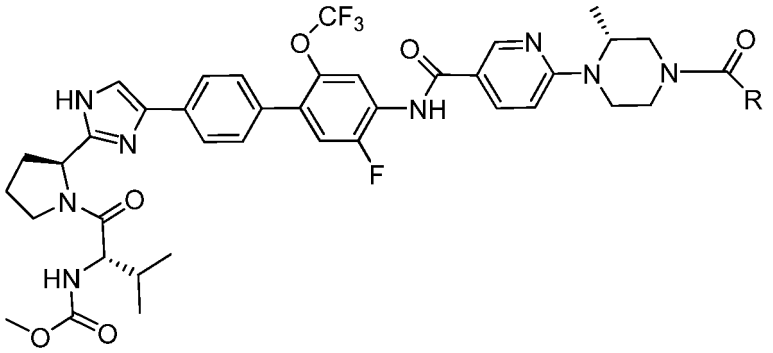


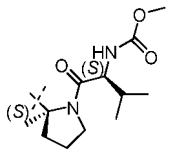
Se añadió éster metílico tri-TFA de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-fluoro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

(12,7 mg, 0,011 mmol; Preparación 44) y *N,N*-diisopropiletilamina (19,9 ul, 0,114 mmol) a una solución de isocianato de metilo 1,0 M en tolueno (11,4 ul, 0,011 mmol) disuelto en DMA (0,5 ml) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de preparación para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (7,7 mg). (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{40}H_{48}F_4N_9O_6$ 824,34 encontrado 824,4.

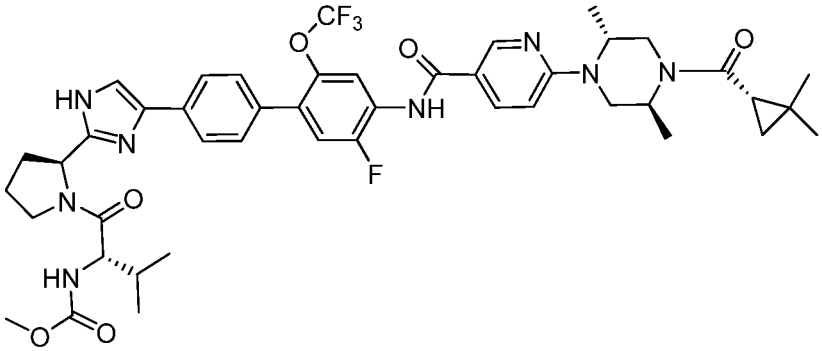
Ejemplos 54-55

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 53, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 44 (12,7 mg, 0,011 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
54		ácido (S)-(+)-2,2-dimetil-ciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (22,9 ul, 0,011 mmol) HATU (6,5 mg, 0,017)	2 sal de TFA (11,8 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{44}H_{50}F_4N_8O_6$ 863,38 encontrado 863,4
55		ácido (S)-1-((S)-2-metoxicarbonil-amino- 3-metil-butiril)-2- metil-pirrolidin-2-carboxílico (3,27 mg, 0,011 mmol) HATU (6,5 mg, 0,017)	2 sal de TFA (6,7 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{51}H_{62}F_4N_{10}O_9$ 1.035,46 encontrado 1035,4

Ejemplo 57 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{4-[4'-({6-[(2R),5S)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2,5-dimetil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-5'-fluoro-2'-trifluorometil-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1- carbonil)-2-metil-propil]-carbámico

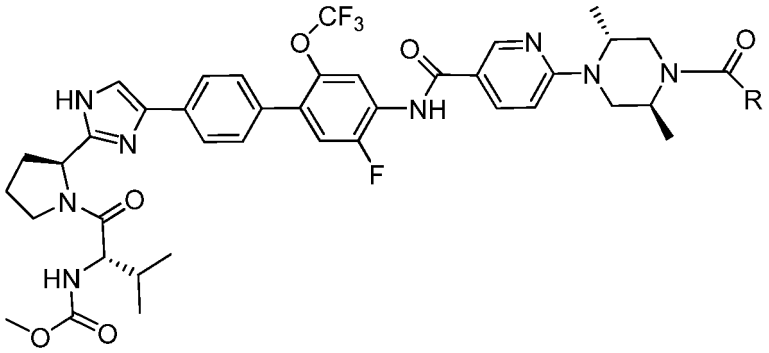


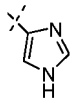
Se añadieron ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (27 µl, 0,013 mmol) y HATU (7,6 mg, 0,020 mmol) a una solución de éster metílico 3-TFA de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-5'-fluoro-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (15 mg, 0,013 mmol; Preparación 50) y N,N-diisopropiletilamina (23 ul, 0,13 mmol) disuelta en

DMA (0,5 ml, 5 mmol;). Se agitó la mezcla de reacción a 50 ºC durante 2 h, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa para proporcionar el compuesto del título (9,1 mg) en forma de sal de di-TFA. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{45}H_{52}F_4N_8O_6$ 877,39 encontrado 878,0.

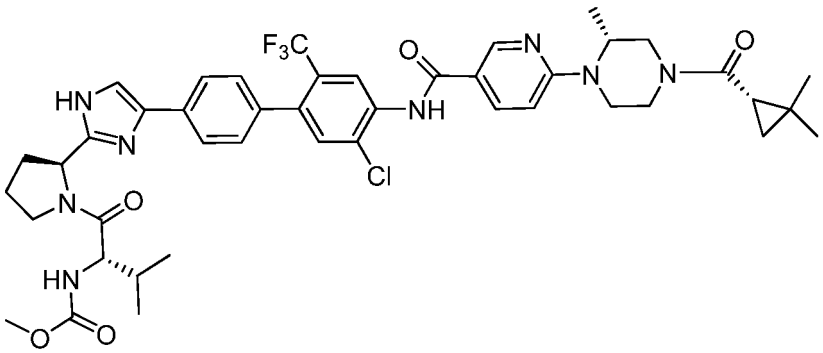
Ejemplos 58-60

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 57, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 50 (15 mg, 0,013 mmol) con los reactivos apropiados para proporcionar los siguientes compuestos:



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
58	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1 M en tolueno (13 ul, 0,013 mmol)	2 sal de TFA (4,5 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{41}H_{47}F_4N_9O_6$ 838,36 encontrado 839,0
59		ácido imidazol-4-carboxílico (1,5 mg, 0,013 mmol), HATU (7,6 mg, 0,020 mmol)	3 sal de TFA (6,6 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{46}F_4N_{10}O_6$ 875 35 encontrado 876,0
60		ácido 4-pirazolecarboxílico (1,5 mg, 0,013 mmol HATU (7,6 mg, 0,020 mmol)	3 sal de TFA (6,7 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{46}F_4N_{10}O_6$ 875 35 encontrado 876,0

Ejemplo 61 Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-{4-[5'-cloro-4'-({6-[(R)-4-((S)-2,2-dimetil-ciclopropanocarbonil)-2-metil-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-2'-trifluorometil-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2- metil-propil]-carbámico

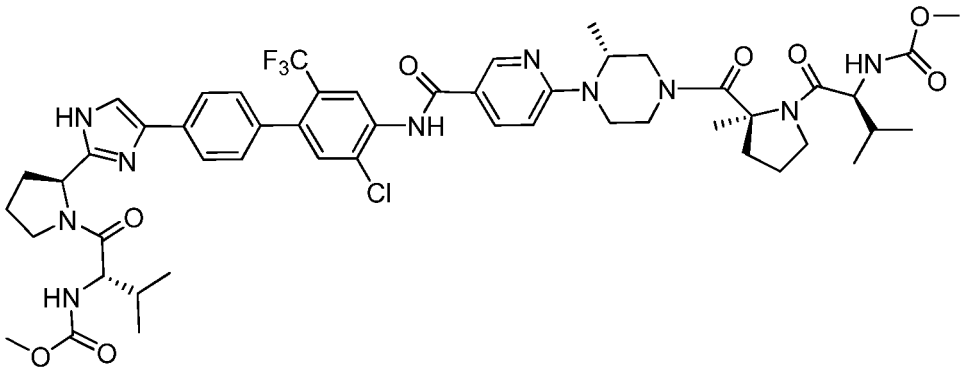


Se añadieron éster metílico 3 TFA de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-cloro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (16 mg, 0,014 mmol; Preparación 53) y *N,N*-diisopropiletilamina (25,2 ul, 0,15 mmol) a una solución de ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (28,9 µl, 0,015 mmol;) y HATU (8,25 mg, 0,022 mmol) disuelto en DMA (0,5 ml) y se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido

acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa para proporcionar el compuesto del título (8,6 mg) en forma de sal de di-TFA. (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C4_4H_{50}ClF_3N_8O_5$ 863,35 encontrado 863,4.

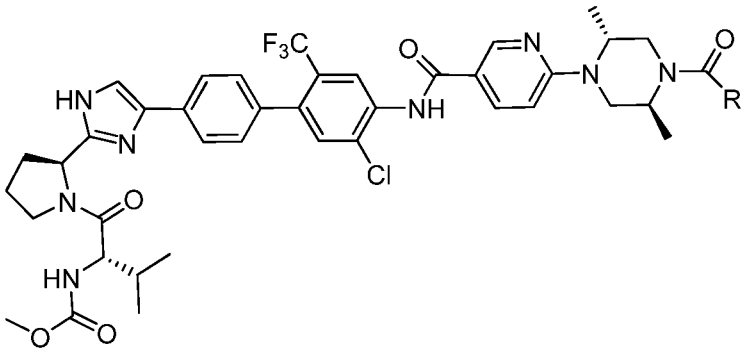
Ejemplo 62

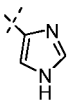
Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 61, se hizo reaccionar el intermedio de la Preparación 53 (16 mg, 0,014 mmol) con ácido (S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metilbutiril)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (4,14 mg, 0,015 mmol) para proporcionar la sal de di-TFA del siguiente compuesto (6,5 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{51}H_{62}ClF_3N_{10}O_8$ 1.035,44 encontrado 1035,4.



Ejemplo 63-65

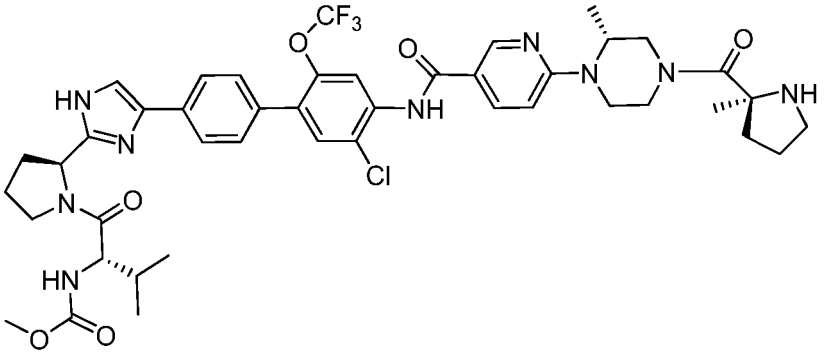
Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 57, sustituyendo el intermedio de la Preparación 50 (15 mg, 0,013 mmol) por el intermedio de la Preparación 55 (15 mg, 0,013 mmol) se prepararon los siguientes compuestos



Ej. Nº	R	Reactivo	Producto
63		ácido (S)-(+)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico 0,5 M en DMA (27 µl, 0,013 mmol) HATU (7,6 mg, 0,02)	2 sal de TFA (14,6 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{45}H_{52}ClF_3N_8O_5$ 877,37 encontrado 878,0
64	$NHCH_3$	isocianato de metilo 1 M en tolueno (13 ul, 0,013 mmol)	2 sal de TFA (15,3 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{46}ClF_3N_{10}O_5$ 875,33 encontrado 876,0
65		ácido imidazol-4-carboxílico (1,5 mg, 0,013 mmol), HATU (7,6 mg, 0,020 mmol)	3 sal de TFA (15,3 mg) (m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{43}H_{46}ClF_3N_{10}O_5$ 875,33 encontrado 876,0

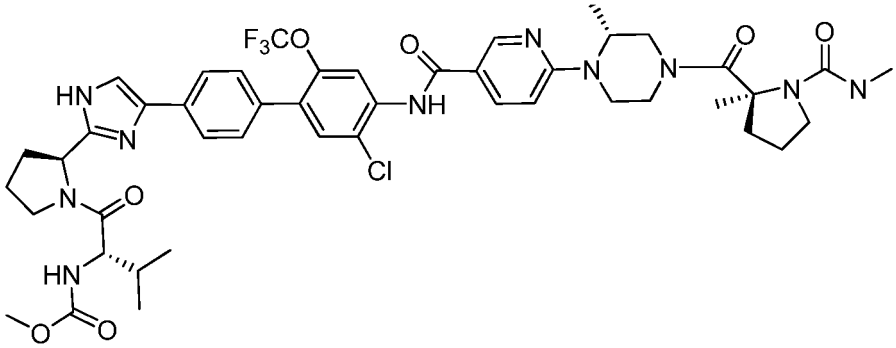
Ejemplo *77:*

(a) Éster metílico de ácido [(S)-1-((S)-2-(4-[5'-cloro-2'-trifluorometoxi-4'-((6-[(R)-2-metil-4-((S)-2-metil-pirrolidin-2-carbonil)-piperazin-1-il]-piridin-3-carbonil}-amino)-bifenil-4-il]-1H-imidazol-2-il}-pirrolidin-1-carbonil)-2-metil-propil1-carbámico



Se agitó una mezcla de éster terc-butílico de ácido (S)-2-metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico (23,2 mg, 0,10 mmol.) y HATU (38,5 mg, 0,10 mmol) en DMA (1 ml) a TA durante 20 min y después se añadió éster metílico 3TFA de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(5'-cloro-4'-{[6-((R)-2-metil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (95,0 mg, 0,084 mmol; Preparación 62) seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (0,074 ml, 0,42 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a 55 ºC durante la noche. Se diluyó la mezcla de reacción en acetato de etilo y se lavó con agua seguido de salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para producir un aceite de color amarillo.

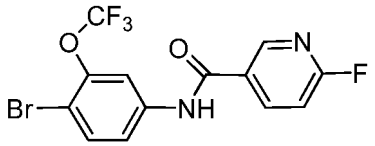
Se trató el aceite procedente de la etapa anterior con HCl 4 M en 1,4-dioxano (0,63 ml, 2,53 mmol) y HCl (0,16 ml) y se agitó la mezcla de reacción a TA durante 1 h, se concentró y se evaporó con EtOAc (2 x) para producir la sal de tri-HCl del intermedio del título en forma de un sólido de color amarillo claro (87,3 mg). (b)



Se añadió cloruro de metilaminoformilo 0,5 M en DMA (52,6 µl, 0,026 mmol) al producto de la etapa anterior (22 mg, 0,022 mmol) disuelto en DMA, seguido de N,N-diisopropiletilamina (0,016 ml, 0,089 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche, se concentró, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (1,5 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de di-TFA del compuesto del título (14,4 mg). m/z): $[M+H]^+$ calc. para $C_{46}H_{54}ClF_3N_{10}O_7$ 951,38 encontrado 951,6.

Ejemplo 78: Síntesis alternativa de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4'-{[6-((2R,5S)-2,5-dimetil-4-metilcarbamoil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil]-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2- metil-propil)-carbámico

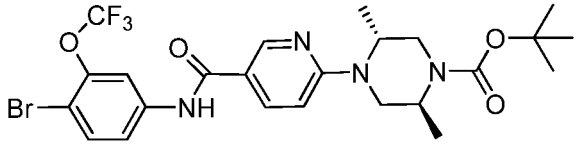
(a) N-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenil)-6-fluoro-nicotinamida



Se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-fluoropiridin-5-carbonilo (2,36 g, 14,8 mmol) en DCM (10 ml) a una solución de 4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilamina (3,15 g, 12,3 mmol) y trietilamina (3,43 ml, 24,6mmol) en DCM (25 ml). Después de 2 h a TA, se añadió MTBE (90 ml) y se lavó la mezcla de reacción con agua, salmuera y carbonato de sodio saturado, se secó y se evaporó para dar un sólido (5,4 g). Se añadió etanol (43 ml) al sólido y

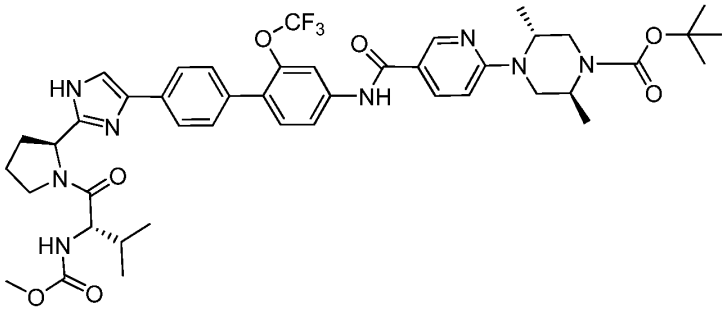
después se añadió lentamente agua (43 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 1,1 h, se filtró, y se lavó con etanol:agua 1:4 (2 x 25 ml) para dar el intermedio del título en forma de un sólido de color blanco (3,87 g). Procedimiento C HPLC: Tiempo de retención = 21,3 min.

(b) Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4-bromo-3-trifluorometoxi-fenilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico



Se disolvió el producto de la etapa anterior (3,86 g, 10,2 mmol) éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico (2,62 g, 12,2 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (5,32 ml, 30,5) en DMSO (12 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 120 ºC durante 3 h, se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con agua, NH_4Cl saturado, agua, y salmuera. Se evaporó la mezcla de reacción evaporó a aproximadamente 40 % de volumen y se añadió lentamente HCl 3 M en éter ciclopentil metílico (4,24 ml, 12,7 mmol). Se añadieron semillas procedentes de una ensayo a escala pequeñas y se agitó la mezcla de reacción durante 2 días y se filtró para proporcionar la sal de HCl del intermedio del título (5,15 g, rendimiento del 83 %). Procedimiento C HPLC: Tiempo de retención = 21,1 min.

(c) Éster terc-butílico de ácido (2S,5R)-4-[5-(4'-{2-[(S)-1-((S)-2-metoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-4-il}-2-trifluorometoxi-bifenil-4-ilcarbamoil)-piridin-2-il]-2,5-dimetil-piperazin-1-carboxílico

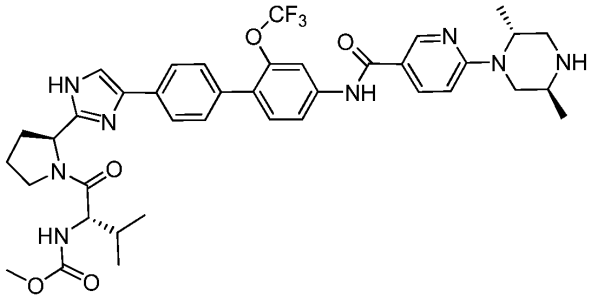


Se añadió tolueno purgado con nitrógeno (15 ml) a una solución de éster metílico de ácido ((S)-1-{(S)-2-[4-(4-bromo-fenilo)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico (3,05 g, 6,8 mmol;), bis(pinacolato)diboro (1,81 g, 7,1 mmol) y acetato potásico (1,00 g, 10,2 mmol). Se purgó la mezcla resultante con nitrógeno y se añadió 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio (II) en diclorometano (catalizador de Pd) (0,17 g, 0,204 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 90 ºC durante la noche.

Se enfrió la mezcla de reacción a TA y se añadió agua purgada con nitrógeno (7,6 ml), carbonato potásico (5,16 g, 37,3 mmol) a esta mezcla. Se agitó la mezcla de reacción a 95 ºC durante la noche.

Se añadió otra parte del catalizador de Pd anterior (0,08 g, 0,10 mmol) a la mezcla de reacción. Después de 5 h, se enfrió la mezcla de reacción a TA, se diluyó con EtOAc (150 ml), se lavó con agua (150 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó para dar un residuo negro (6,7 g), que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con 50-100 % EtOAc/hexano) para proporcionar el intermedio del título (5,3 g, rendimiento del 90 %). Procedimiento C HPLC: Tiempo de retención = 14,7 min.

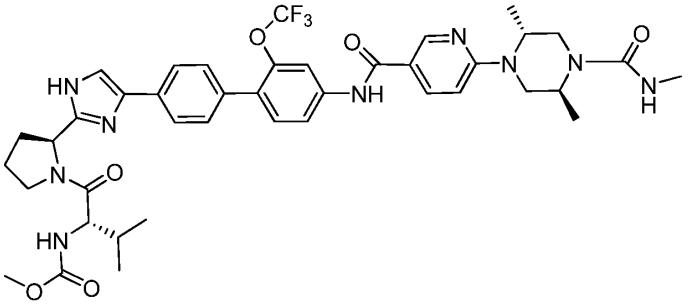
(d) Éster metílico de ácido ((S)-1-((S)-2-[4-(4'-([6-((2R.5S)-2,5-dimetil-piperazin-1-il)-piridin-3-carbonil1-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico



Se añadió cloruro de acetilo (2,57 ml, 36,2 mmol) a etanol (18 ml) y se agitó a TA durante 1 h. Se añadió una solución del producto de la etapa anterior (3,90 g, 4,5 mmol) en etanol (18 ml) a la solución de HCl resultante. Se

calentó la mezcla de reacción a 35 ºC y se agitó durante la noche. Se añadió cloruro de acetilo (1,28 ml, 18,1 mmol) a etanol (7,8 ml) y se agitó durante 30 min. Se añadió la solución de HCl resultante a la mezcla de reacción a 35 ºC. Se elevó la temperatura hasta 40 ºC. Se concentró la mezcla a sequedad recuperada por medio de diclorometano para proporcionar la sal tri-TFA bruta del intermedio del título (5,4 g) que se usó directamente en la siguiente etapa. Procedimiento HPLC C: Tiempo de retención = 10,1 min.

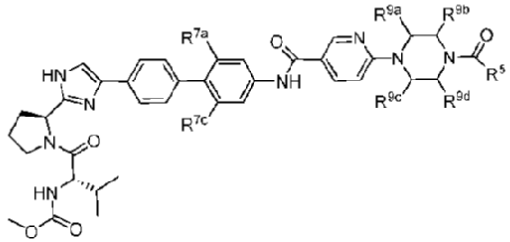
(e) Éster metílico de ácido ((S)-1-1(S)-2-[4-(4'-([6-((2R.5S)-2,5-dimetil-4-metilcarbamoil-piperazin-1-il-piridin-3-carbonil1-amino}-2'-trifluorometoxi-bifenil-4-il)-1H-imidazol-2-il]-pirrolidin-1-carbonil}-2-metil-propil)-carbámico

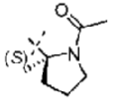
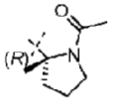


Se añadió lentamente cloruro de metilaminoformilo 1 M en DMA (4,3 ml) a una solución del producto de la etapa anterior (5,4 g brutos. aproximadamente 3,96 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (6,89 ml, 39,6 mmol) en DCM (52 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. y después se añadió agua (50 ml). Se lavó la fase orgánica NH_4Cl saturado y después salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó para dar 5,2 g de producto bruto, que se purificó por medio de cromatografía de gel de sílice (133 g sílice de 2 a 8 % metanol/DCM durante 15 min posteriormente 8 % metanol/DCM durante 40 min) para proporcionar el compuesto del título (2,4 g, rendimiento del 74 %). Procedimiento C HPLC: Tiempo de retención 11,2 min.

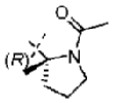
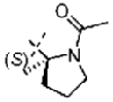
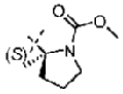
Usando procedimientos similares, se prepararon los compuestos de las Tablas 21 y 24-28 en los que un blanco en cualquier columna indica hidrógeno y además cuando se lista más de una variable en una columna individual, cualquier variable no especificada es hidrógeno:

Tabla 21

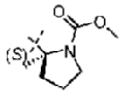
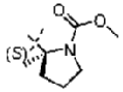


Ej No.	R^{7a} R^{7c}	R^{9a}, R^{9b}, R^{9c}, R^{9d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
21-1	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$	OtBu	$C_{43}H_{54}N_8O_6$	779,42	779,4
21-2	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$		$C_{44}H_{54}N_8O_5$	775,42	775,4
21-3	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$		$C_{42}H_{50}N_8O_5$	747,39	747,4
21-4	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$	$NHCH_3$	$C_{40}H_{49}N_9O_5$	736,39	736,4
21-5	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$		$C_{42}H_{48}N_{10}O_5$	773,38	773,4
21-6	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$		$C_{46}H_{57}N_9O_6$	832,44	832,4
21-7	$R^{7a}=CH_3$	$R^{9a}=(R)CH_3$		$C_{46}H_{57}N_9O_6$	832,44	832,4

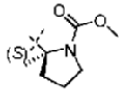
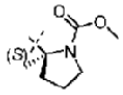
(continuación)

Ej No.	R^{7a} R^{7c}	R^{9a}, R^{9b}, R^{9c}, R^{9d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
21-8		R^{9b}=(S)CH_3, R^{9c}= (R)CH_3		$C_{46}H_{57}N_9O_6$	832,44	832,4
21-9		R^{9b}=(S)CH_3, R^{9c}= (R)CH_3		$C_{46}H_{57}N_9O$	832,44	832,4
21-10	R^{7a}=CH_3,R^{7c}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{51}N_9O_5$	750,40	750,4
21-11	R^{7a}=CH_3,R^{7c}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{45}H_{56}N_8O_5$	789,44	789,4
21-12	R^{7a}=CH_3,R^{7c}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{43}H_{50}N_{10}O_5$	787,40	787,4
21-13	R^{7a}=CH_3,R^{7c}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{43}H_{52}N_8O_5$	761,41	761,4
21-14	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{46}H_{57}N_9O_7$	848,44	848,4
21-15	R^{7a}=CH_3	R^{9b}=(S)CH_3, R^{9d}=(R)CH_3		$C_{43}H_{50}N_{10}O_5$	787,40	787,2
21-16	R^{7a}=CH_3	R^{9b}=(S)CH_3, R^{9d}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{51}N_9O_5$	750,40	750,4
21-17	R^{7a}=CH_3	R^{9b}=(S)CH_3, R^{9d}=(R)CH_3		$C_{45}H_{56}N_8O_5$	789,44	789,4

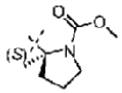
(continuación)

Ej No.	R^{7a} R^{7c}	R^{9a}, R^{9b}, R^{9c}, R^{9d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
21-18	R^{7a}=CH_3	R^{9b}=(S)CH_3, R^{9d}=(R)CH_3		$C_{43}H_{52}N_8O_5$	761,41	761,4
21-19	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{47}H_{59}N_9O_7$	862,45	862,4
21-20	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{45}H_{56}N_8O_5$	789,44	789,4
21-21	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{43}H_{52}N_8O_5$	761,41	761,4
21-22	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{51}N_9O_5$	750,40	750,4
21-23	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{43}H_{50}N_{10}O_5$	787,40	787,4
21-24	R^{7a}=CF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{42}H_{47}F_3N_8O_5$	801,36	801,2
21-25	R^{7a}=CF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{44}H_{51}F_3N_8O_5$	829,39	829,4
21-26	R^{7a}=CF_3	R^{9a}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{40}H_{46}F_3N_9O_5$	790,36	790,2
21-27	R^{7a}=CF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{42}H_{45}F_3N_{10}O_5$	827,35	827,4
21-28	R^{7a}=CF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{46}H_{54}F_3N_9O_7$	902,41	902,4

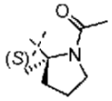
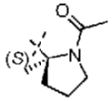
(continuación)

Ej No.	R^{7a} R^{7c}	R^{9a} , R^{9b}, R^{9c},R^{9d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
21-33	R^{7a}=CH_3	R^{9a}=(R)$CH_2S0_2CH_3$		$C_{45}H_{56}N_8O_7S$	853,40	853,4
21-34	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{44}H_{51}F_3N_8O_6$	845,39	845,4
21-35	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{40}H_{46}F_3N_9O_6$	806,35	806,4
21-36	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{42}H_{45}F_3N_{10}O_6$	843,35	843,2
21-37	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{42}H_{47}F_3N_8O_6$	817,36	817,2
21-38	R^{7a}=OCH_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{46}H_{57}N_9O_8$	864,43	864,4
21-39	R^{7a}=OCH_3	R^{9a}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{40}H_{49}N_9O_6$	752,38	752,4
21-40	R^{7a}=OCH_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{44}H_{54}N_8O_6$	791,42	791,4
21-41	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{46}H_{54}F_3N_9O_8$	918,41	918,4
21-42	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{43}H_{48}F_3N_9O_7$	860,36	860,4
21-43	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{43}H_{49}F_3N_8O_6$	831,37	831,2

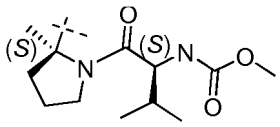
(continuación)

Ej No.	R^{7a} R^{7c}	R^{9a}, R^{9b}, R^{9c}, R^{9d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
21-44	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{47}H_{56}F_3N_9O_8$	932,42	932,4
21-45	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_6$	857,36	857,2
21-46	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{45}H_{53}F_3N_8O_6$	859,40	859,4
21-47	R^{7a}=OCF_3	R^{9a}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{48}F_3N_9O_6$	820,37	820,5
21-48	R^{7a}=OCF_3	R^{9b}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{43}H_{49}F_3N_8O_6$	831,37	831,4
21-49	R^{7a}=OCF_3	R^{9b}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{48}F_3N_9O_6$	820,37	820,4
21-50	R^{7a}=OCF_3	R^{9b}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_6$	857,36	857,4
21-51	R^{7a}=OCF_3	R^{9b}=(R)CH_3, R^{9d}=(S)CH_3		$C_{45}H_{53}F_3N_8O_6$	859,40	860,2
21-52	R^{7a}=F	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{41}H_{47}FN_8O_5$	751,37	751,2
21-53	R^{7a}=F	R^{9a}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{39}H_{46}FN_9O_5$	740,36	740,4
21-54	R^{7a}=F	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{41}H_{45}FN_{10}O_5$	777,36	777,2

(continuación)

Ej No.	R^{7a} R^{7c}	R^{9a} , R^{9b}, R^{9c},R^{9d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
21-55	R^{7a}=F	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{43}H_{51}FN_8O_5$	779,40	779,4
21-56	R^{7a}=F,R^{7c}=F	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{41}H_{46}F_2N_8O_5$	769,36	769,2
21-57	R^{7a}=F,R^{7c}=F	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{43}H_{50}F_2N_8O_5$	797,39	797,4
21-58	R^{7a}=F,R^{7c}=F	R^{9a}=(R)CH_3	$NHCH_3$	$C_{39}H_{45}F_2N_9O_5$	758,35	758,4
21-59	R^{7a}=F,R^{7c}=F	R^{9a}=(R)CH_3		$C_{41}H_{44}F_2N_{10}O_5$	795,35	795,2
21-66		R^{9a}=(S)CH_3		$C_{45}H_{55}N_9O_6$	818,43	818,4
21-70		R^{9a}=(R)CH_3		$C_{45}H_{55}N_9O_6$	818,43	818,4
21-77	R^{7a}=OCH_3	R^{9a}=(R)CH_3	(a)	$C_{51}H_{66}N_{10}O_9$	963,50	963,4

(a)



(b)

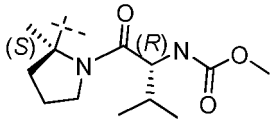
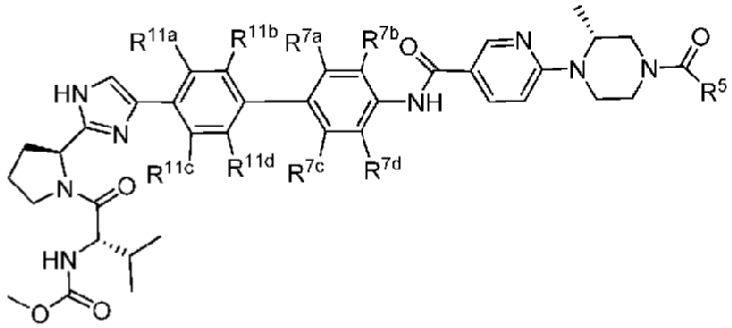
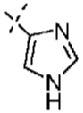
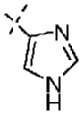


Tabla 24



Ej No.	R^{11a} R^{11b} R^{11c} R^{11d}	R^{7a} R^{7b} R^{7c} R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
24-15		R^{7a}=OiPr	$NHCH_3$	$C_{42}H_{53}N_9O_6$	780,41	780,4
24-22		R^{7a}=OCHF2	$NHCH_3$	$C_{40}H_{47}F_2N_9O_6$	788,36	788,4
24-24		R^{7a}=CH_3 R^{7d}=F	$NHCH_3$	$C_{40}H_{48}FN_9O_5$	754,38	754,8
24-25		R^{7a}=OCH_3 R^{7d}=Cl		$C_{42}H_{49}ClN_8O_6$	797,35	798,0
24-27		R^{7b}=CH_2CH_3		$C_{43}H_{50}N_{10}O_5$	787,4	787,8
24-28		R^{7b}=CH_2CH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{51}N_9O_5$	750,4	750,8
24-29		R^{7a}=Cl R^{7b}=F		$C_{41}H_{44}ClFN_{10}O_5$	811,32	811,6

(continuación)

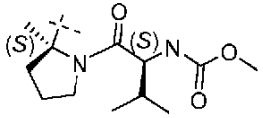
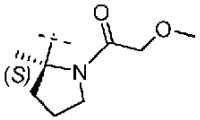
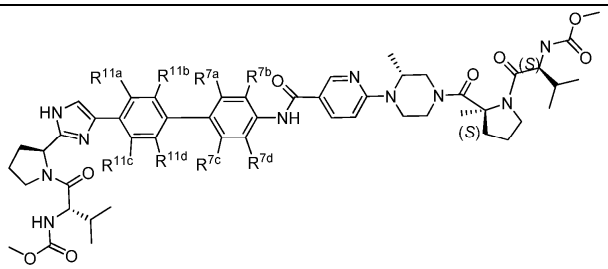
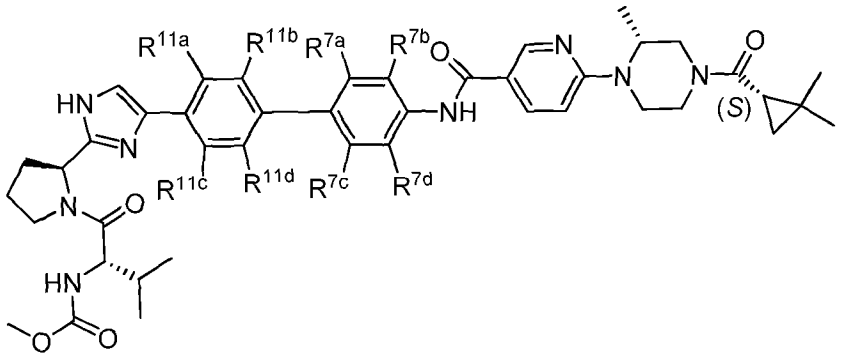
Ej No.	R^{11a} R^{11b} R^{11c} R^{11d}	R^{7a} R^{7b} R^{7c} R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
24-30		R^{7a}=Cl R^{7b}=F	$NHCH_3$	$C_{39}H_{45}ClFN_9O_5$	774,32	774,8
24-31		R^{7a}=Cl R^{7b}=F		$C_{43}H_{50}ClFN_8O_5$	813,36	813,6
24-32		R^{7a}=Cl R^{7b}=F		$C_{50}H_{62}ClFN_{10}O_8$	985,44	985,6
24-33		R^{7a}=OCH_3 R^{7c}=OCH_3		$C_{48}H_{61}N_9O_9$	908,46	907,8

Tabla 25



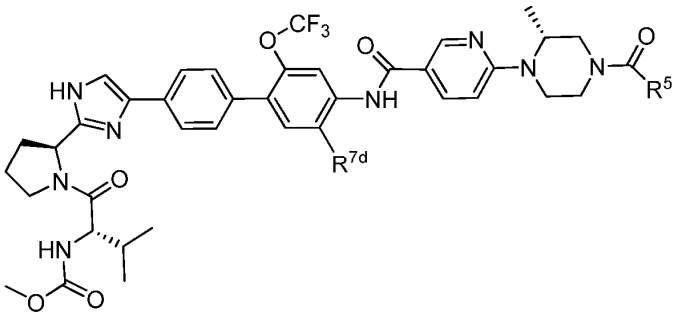
Ej No.	R^{11a} R^{11b} R^{11c} R^{11d}	R^{7a} R^{7b} R^{7c} R^{7d}	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
25-1		R^{7a}=CF_3	$C_{51}H_{63}F_3N_{10}O_8$	1.001,48	1001,4
25-4		R^{7a}=CH_3	$C_{51}H_{66}N_{10}O_8$	947,51	947,4
25-6		R^{7a}=OiPr	$C_{53}H_{70}N_{10}O_9$	991,53	991,6
25-9		R^{7b}=F R^{7d}=F	$C_{50}H_{62}F_2N_{10}O_8$	969,47	969,4
25-12		R^{7a}=CH_3 R^{7c}=CH_3	$C_{52}H_{68}N_{10}O_8$	961,52	961,6
25-13		R^{7a}=Cl	$C_{50}H_{63}ClN_{10}O_8$	967,45	967,4
25-14		R^{7a}=F R^{7c}=F	$C_{50}H_{62}F_2N_{10}O_8$	969,47	969,4
25-18		R^{7b}=OCH_3	$C_{51}H_{66}N_{10}O_9$	963,5	963,4
25-19		R^{7b}=CF_3	$C_{51}H_{63}F_3N_{10}O_8$	1.001,48	1001,4
25-21		R^{7b}=F	$C_{50}H_{63}FN_{10}O_8$	951,48	951,4
25-22		R^{7b}=Cl	$C_{50}H_{63}ClN_{10}O_8$	967,45	967,6
25-24		R^{7a}=CF_3 R^{7b}=F	$C_{51}H_{62}F_4N_{10}O_8$	1.019,47	1019,4
25-25		R^{7a}=OCF_3 R^{7b}=F	$C_{51}H_{62}F_4N_{10}O_9$	1.035,46	1035,4
25-31		R^{7a}=Cl R^{7d}=OCH_3	$C_{51}H_{65}ClN_{10}O_9$	997,46	997,6
25-33		R^{7a}=F R^{7d}=F	$C_{50}H_{62}F_2N_{10}O_8$	969,47	969,6
25-34		R^{7a}=Cl R^{7d}=F	$C_{50}H_{62}ClFN_{10}O_8$	985,44	985,4
25-35		R^{7a}=CH_3 R^{7d}=F	$C_{51}H_{65}FN_{10}O_8$	965,5	965,6
25-36		R^{7a}=OCH_3 R^{7d}=Cl	$C_{51}H_{65}ClN_{10}O_9$	997,46	998,2
25-38		R^{7a}=OCH_3 R^{7c}=OCH_3	$C_{52}H_{68}N_{10}O_{10}$	993,51	994,2
25-39		R^{7a}=F R^{7b}=F	$C_{50}H_{62}F_2N_{10}O_8$	969,47	969,4
25-40		R^{7a}=F R^{7d}=Cl	$C_{50}H_{62}ClFN_{10}O_8$	985,44	985,4
25-41		R^{7b}=CH_2CH_3	$C_{52}H_{68}N_{10}O_8$	961,52	961,6

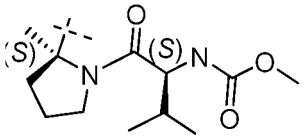
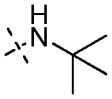
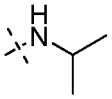
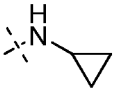
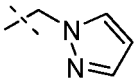
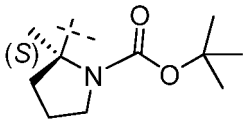
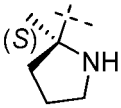
Tabla 26



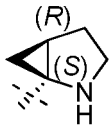
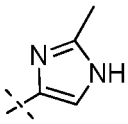
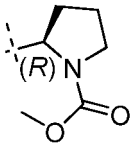
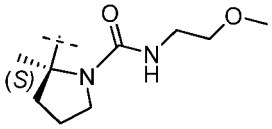
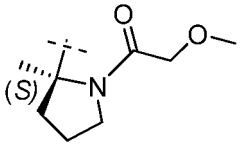
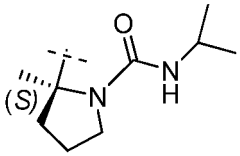
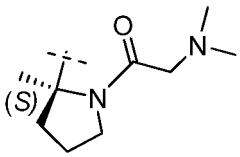
Ej No.	R^{11a} R^{11b} R^{11c} R^{11d}	R^{7a} R^{7b} R^{7c} R^{7d}	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
26-3		R^{7a}=OiPr	$C_{46}H_{58}N_8O_6$	819,45	819,4
26-5		R^{7b}=F R^{7d}=F	$C_{43}H_{50}F_2N_8O_5$	797,39	797,4
26-11		R^{7b}=OCH_3	$C_{44}H_{54}N_8O_6$	791,42	791,4
26-12		R^{7b}=CF_3	$C_{44}H_{51}F_3N_8O_5$	829,39	829,4
26-14		R^{7b}=F	$C_{43}H_{51}FN_8O_5$	779,4	779,4
26-15		R^{7b}=Cl	$C_{43}H_{51}ClN_8O_5$	795,37	795,4
26-16		R^{7ab}=$OCHF_2$	$C_{44}H_{52}F_2N_8O_6$	827,4	827,4
26-20		R^{7a}=CF_3 R^{7b}=F	$C_{44}H_{50}F_4N_8O_5$	847,38	847,4
26-21		R^{7a}=OCF_3 R^{7b}=F	$C_{44}H_{50}F_4N_8O_6$	863,38	863,4
26-23		R^{7a}=Cl R^{7d}=OCH_3	$C_{44}H_{53}ClN_8O_6$	825,38	825,4
26-26		R^{7a}=F R^{7d}=F	$C_{43}H_{50}F_2N_8O_5$	797,39	797,4
26-27		R^{7a}=Cl R^{7d}=F	$C_{43}H_{50}ClFN_8O_5$	813,36	813,4
26-28		R^{7a}=F R^{7b}=F	$C_{43}H_{50}F_2N_8O_5$	797,39	797,4
26-29		R^{7a}=F R^{7d}=Cl	$C_{43}H_{50}ClFN_8O_5$	813,36	813,4
26-30		R^{7a}=CH_3 R^{7d}=F	$C_{44}H_{53}FN_8O_5$	793,41	793,8
26-31		R^{7a}=OCH_3 R^{7d}=Cl	$C_{44}H_{53}ClN_8O_6$	825,38	826,0
26-33		R^{7a}=OCH_3 R^{7c}=OCH_3	$C_{45}H_{56}N_8O_7$	821,43	822,0
26-34		R^{7b}=CH_2CH_3	$C_{45}H_{56}N_8O_5$	789,44	789,8

Tabla 27

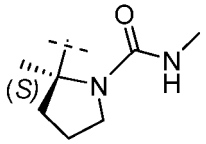
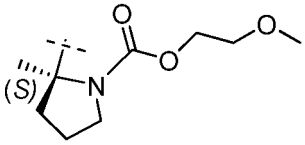
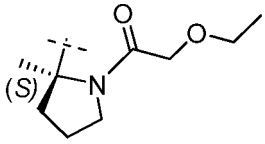
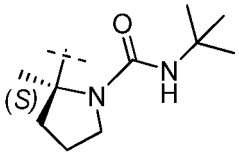
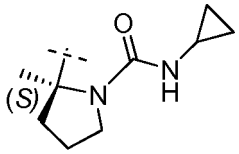
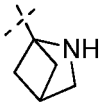
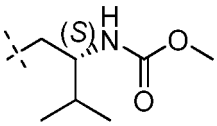
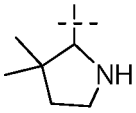
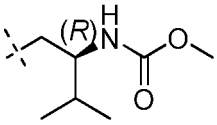


Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-1			$C_{51}H_{63}F_3N_{10}O_9$	1.017,47	1017,4
27-2		$NH(CH_2)_2OCH_3$	$C_{42}H_{50}F_3N_9O_7$	850,38	850,4
27-3			$C_{43}H_{52}F_3N_9O_6$	848,40	848,4
27-4			$C_{42}H_{50}F_3N_9O_6$	834,38	834,4
27-5		t-Bu	$C_{43}H_{51}F_3N_8O_6$	833,39	833,4
27-6			$C_{42}H_{48}F_3N_9O_6$	832,37	832,4
27-7			$C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_6$	857,36	857,4
27-8	F		$C_{49}H_{59}F_4N_9O_8$	978,44	977,6
27-9	F		$C_{44}H_{51}F_4N_9O_6$	878,39	877,8

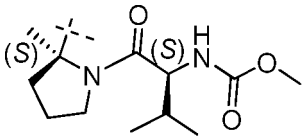
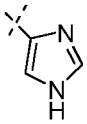
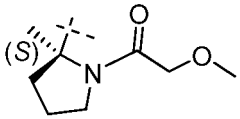
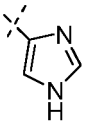
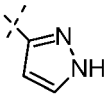
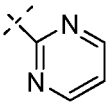
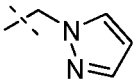
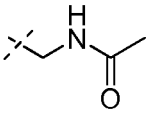
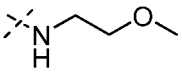
(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-10			$C_{44}H_{50}F_3N_9O_6$	858,38	857,6
27-11			$C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_6$	857,36	856,6
27-12			$C_{45}H_{52}F_3N_9O_8$	904,39	903,6
27-13		$O(CH_2)_2OCH_3$	$C_{42}H_{49}F_3N_8O_8$	851,36	850,6
27-14			$C_{43}H_{49}F_3N_8O_6$	831,37	830,6
27-15			$C_{48}H_{59}F_3N_{10}O_8$	961,45	961,6
27-16			$C_{47}H_{56}F_3N_9O_8$	932,42	932,6
27-17			$C_{48}H_{59}F_3N_{10}O_7$	945,45	945,6
27-18			$C_{48}H_{59}F_3N_{10}O_7$	945,45	945,6

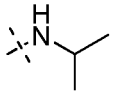
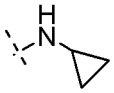
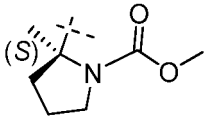
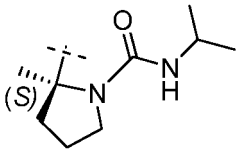
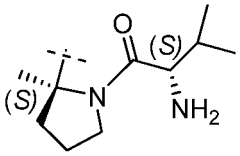
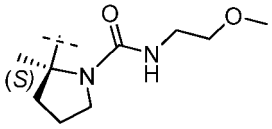
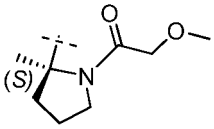
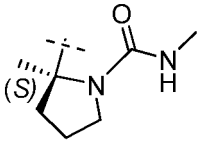
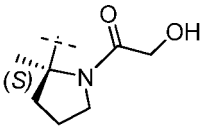
(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-19			$C_{46}H_{55}F_3N_{10}O_7$	917,42	917,6
27-20			$C_{48}H_{58}F_3N_9O_9$	962,43	962,6
27-21			$C_{48}H_{58}F_3N_9O_8$	946,44	946,6
27-22			$C_{49}H_{61}F_3N_{10}O_7$	959,47	959,6
27-23			$C_{48}H_{57}F_3N_{10}O_7$	943,44	943,6
27-24			$C_{44}H_{50}F_3N_9O_6$	858,38	858,6
27-25			$C_{46}H_{56}F_3N_9O_8$	920,42	920,6
27-26			$C_{45}H_{54}F_3N_9O_6$	874,42	874,6
27-27			$C_{46}H_{56}F_3N_9O_8$	920,42	920,6

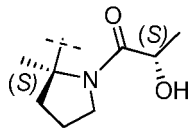
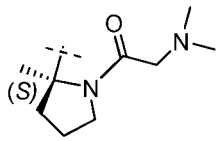
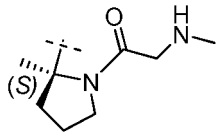
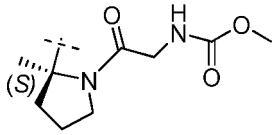
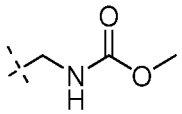
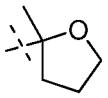
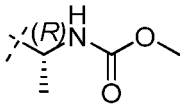
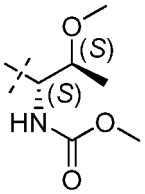
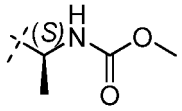
(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-28	OCH_3		$C_{52}H_{65}F_3N_{10}O_{10}$	1.047,48	1046,6
27-29	OCH_3		$C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_7$	873,36	872,6
27-30	OCH_3		$C_{45}H_{53}F_3N_8O_7$	875,4	874,6
27-31	OCH_3		$C_{48}H_{58}F_3N_9O_9$	962,43	961,6
27-32	OCH_3	$NHCH_3$	$C_{41}H_{48}F_3N_9O_7$	836,36	835,8
27-33	F		$C_{42}H_{44}F_4N_{10}O_6$	861,34	862,0
27-34	F		$C_{42}H_{44}F_4N_{10}O_6$	861,34	862,0
27-35	F		$C_{43}H_{44}F_4N_{10}O_6$	873,34	874,0
27-36	F		$C_{43}H_{46}F_4N_{10}O_6$	875,35	876,0
27-37	F		$C_{42}H_{47}F_4N_9O_7$	866,35	867,0
27-38	F		$C_{42}H_{49}F_4N_9O_7$	868,37	869,0

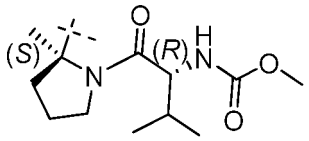
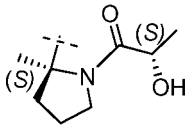
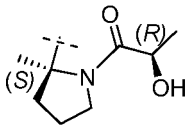
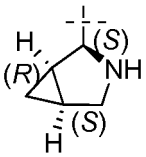
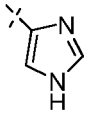
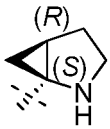
(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-39	F		$C_{42}H_{49}F_4N_9O_6$	852,37	853,0
27-40	F		$C_{42}H_{47}F_4N_9O_6$	850,36	851,0
27-41	F	$O(CH_2)_2OCH_3$	$C_{42}H_{48}F_4N_8O_8$	869,35	870,0
27-42	F		$C_{46}H_{53}F_4N_9O_8$	936,40	937,0
27-43	F		$C_{48}H_{58}F_4N_{10}O_7$	963,44	964,2
27-44	F		$C_{49}H_{60}F_4N_{10}O_7$	977,46	978,2
27-45	F		$C_{48}H_{58}F_4N_{10}O_8$	979,44	980,0
27-46	F		$C_{47}H_{55}F_4N_9O_8$	950,41	951,0
27-47	F		$C_{46}H_{54}F_4N_{10}O_7$	935,41	937,0
27-48	F		$C_{46}H_{53}F_4N_9O_8$	936,4	936,0

(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-49	F		$C_{47}H_{55}F_4N_9O_8$	950,41	951,0
27-50	F		$C_{48}H_{58}F_4N_{10}O_7$	963,44	964,0
27-51			$C_{47}H_{57}F_3N_{10}O_7$	931,44	932,0
27-52			$C_{48}H_{57}F_3N_{10}O_9$	975,43	976,0
27-53			$C_{42}H_{48}F_3N_9O_8$	864,36	865,0
27-54			$C_{44}H_{51}F_3N_8O_7$	861,38	862,0
27-55			$C_{43}H_{50}F_3N_9O_8$	878,37	879,0
27-56			$C_{45}H_{54}F_3N_9O_9$	922,4	923,0
27-57			$C_{43}H_{50}F_3N_9O_8$	878,37	879,0

(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-58			$C_{51}H_{63}F_3N_{10}O_9$	1.017,47	1018,2
27-59			$C_{47}H_{56}F_3N_9O_8$	932,42	933,0
27-60			$C_{47}H_{56}F_3N_9O_8$	932,42	933,0
27-61		$CH_2N(CH_3)_2$	$C_{42}H_{50}F_3N_9O_6$	834,38	834,8
27-62			$C_{44}H_{50}F_3N_9O_6$	858,38	858,8
27-63		$CH_2Oi\text{-}Pr$	$C_{43}H_{51}F_3N_8O_7$	849,38	849,8
27-64		$CH(CH_3)OCH_3$	$C_{42}H_{49}F_3N_8O_7$	835,37	835,8
27-65		$NH(CH_2)_3OCH_3$	$C_{43}H_{52}F_3N_9O_7$	864,39	864,8
27-66	Cl		$C_{42}H_{44}ClF_3N_{10}O_6$	877,31	877,6
27-67	Cl	$NH(CH_2)_3OCH_3$	$C_{42}H_{49}ClF_3N_9O_7$	884,34	884,6
27-68	Cl	$NHCH_3$	$C_{40}H_{45}ClF_3N_9O_6$	840,31	840,6
27-69	Cl		$C_{44}H_{50}ClF_3N_8O_6$	879,35	879,6
27-70	Cl		$C_{44}H_{49}ClF_3N_9O_6$	892,35	892,6

(continuación)

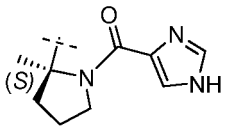
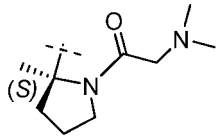
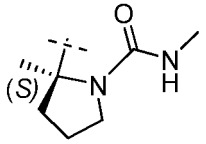
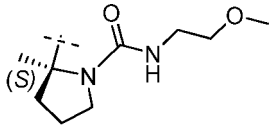
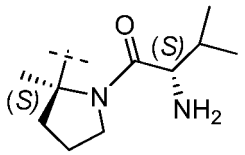
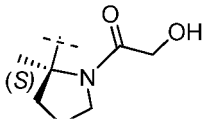
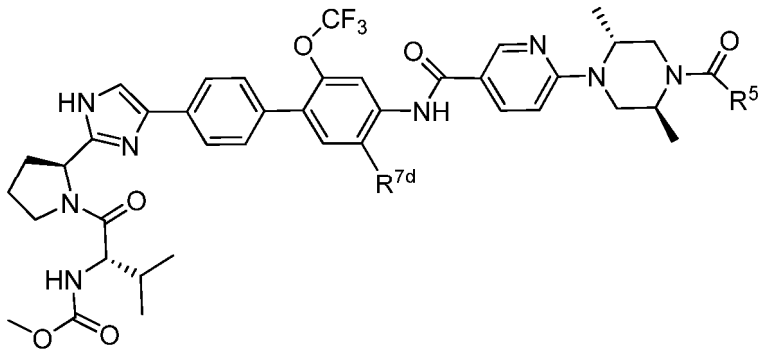
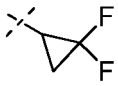
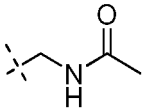
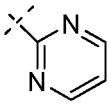
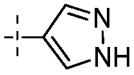
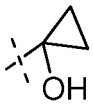
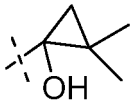
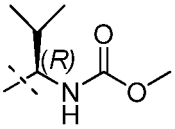
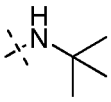
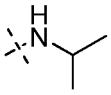
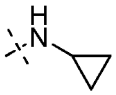
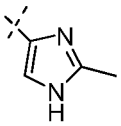
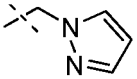
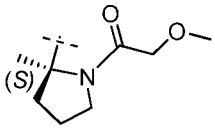
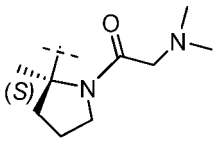
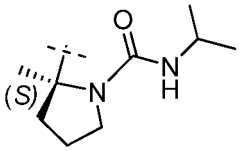
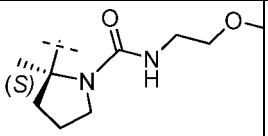
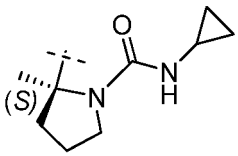
Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	$[M+H]^+$ calc.	$[M+H]^+$ encontrado
27-71	Cl		$C_{48}H_{53}ClF_3N_{11}O_7$	988,38	989,6
27-72	Cl		$C_{48}H_{58}ClF_3N_{10}O_7$	979,41	979,6
27-73	Cl		$C_{46}H_{54}ClF_3N_{10}O_7$	951,38	951,6
27-74	Cl		$C_{48}H_{58}ClF_3N_{10}O_8$	995,41	995,6
27-75	Cl		$C_{49}H_{60}ClF_3N_{10}O_7$	993,43	993,5
27-76	Cl		$C_{46}H_{53}ClF_3N_9O_8$	952,37	952,9

Tabla 28

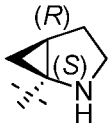
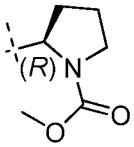
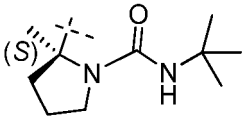
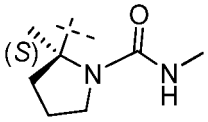
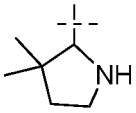
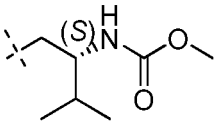
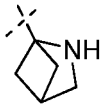
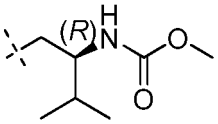
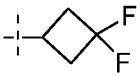


Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	Calc [M+H]+	Encontrado [M+H]+
28-1			$C_{43}H_{47}F_5N_8O_6$	867,35	867,4
28-2			$C_{43}H_{50}F_3N_9O_7$	862,38	862,4
28-3			$C_{44}H_{47}F_3N_{10}O_6$	869,36	869,4
28-4			$C_{43}H_{47}F_3N_{10}O_6$	857,36	857,4
28-5		$C(CH_3)_2OH$	$C_{43}H_{51}F_3N_8O_7$	849,38	849,4
28-6			$C_{43}H_{49}F_3N_8O_7$	847,37	847,4
28-7			$C_{45}H_{53}F_3N_8O_7$	875,4	875,4
28-8			$C_{46}H_{56}F_3N_9O_8$	920,42	920,4
28-9			$C_{44}H_{54}F_3N_9O_6$	862,42	862,4
28-10			$C_{43}H_{52}F_3N_9O_6$	848,4	848,4

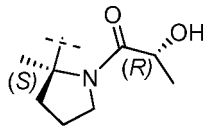
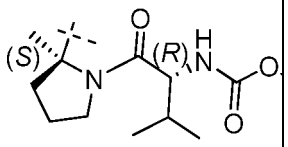
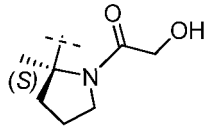
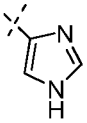
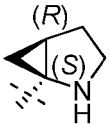
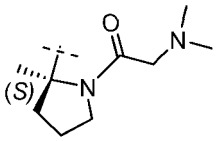
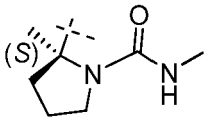
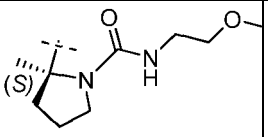
(continuación)

Ej No.	R'^{d}	R^{5}	Fórmula	Calc [M+H]+	Encontrado [M+H]+
28-11		$NH(CH_2)_2OCH_3$	$C_{43}H_{52}F_3N_9O_7$	864,39	864,4
28-12			$C_{43}H_{50}F_3N_9O_6$	846,38	846,4
28-13			$C_{44}H_{49}F_3N_{10}O_6$	871,38	871,4
28-14			$C_{44}H_{51}F_3N_8O_6$	845,39	845,4
28-15			$C_{44}H_{49}F_3N_{10}O_6$	871,38	871,4
28-16			$C_{48}H_{58}F_3N_9O_8$	946,44	946,4
28-17			$C_{49}H_{61}F_3N_{10}O_7$	959,47	959,4
28-18			$C_{49}H_{61}F_3N_{10}O_7$	959,47	959,4
28-19			$C_{49}H_{61}F_3N_{10}O_8$	975,46	975,4
28-20			$C_{49}H_{59}F_3N_{10}O_7$	957,45	957,4
28-21		$O(CH_2)_2OCH_3$	$C_{43}H_{51}F_3N_8O_8$	865,38	865,4

(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	Calc [M+H]+	Encontrado [M+H]+
28-22			$C_{45}H_{52}F_3N_9O_6$	872,40	872,4
28-23		tBu	$C_{44}H_{53}F_3N_8O_6$	847,40	848,4
28-24			$C_{46}H_{54}F_3N_9O_8$	918,41	918,6
28-25			$C_{50}H_{63}F_3N_{10}O_7$	973,48	973,6
28-26			$C_{47}H_{57}F_3N_{10}O_7$	931,44	931,6
28-27			$C_{46}H_{56}F_3N_9O_6$	888,43	888,6
28-28			$C_{47}H_{58}F_3N_9O_8$	934,44	934,6
28-29			$C_{45}H_{52}F_3N_9O_6$	872,40	872,6
28-30			$C_{47}H_{58}F_3N_9O_8$	934,44	934,6
28-31			$C_{44}H_{49}F_5N_8O_6$	881,37	882,0

(continuación)

Ej No.	R^{7d}	R^5	Fórmula	Calc [M+H]+	Encontrado [M+H]+
28-32			$C_{48}H_{58}F_3N_9O_8$	946,44	947,0
28-33			$C_{52}H_{65}F_3N_{10}O_9$	1.031,49	1032,2
28-34			$C_{47}H_{56}F_3N_9O_8$	932,42	933,0
28-35		$CH_2N(CH_3)_2$	$C_{43}H_{52}F_3N_9O_6$	848,4	848,8
28-36	Cl	$NHCH_3$	$C_{41}H_{47}ClF_3N_9O_6$	854,33	854,6
28-37	Cl	$NH(CH_2)_2OCH_3$	$C_{43}H_{51}ClF_3N_9O_7$	898,36	898,6
28-38	Cl		$C_{45}H_{52}ClF_3N_8O_6$	893,37	893,6
28-39	Cl		$C_{43}H_{46}ClF_3N_{10}O_6$	891,32	891,6
28-40	Cl		$C_{45}H_{51}ClF_3N_9O_6$	906,36	906,6
28-41	Cl		$C_{49}H_{60}ClF_3N_{10}O_7$	993,43	993,4
28-42	Cl		$C_{47}H_{56}ClF_3N_{10}O_7$	965,4	965,4
28-43	Cl		$C_{49}H_{60}ClF_3N_{10}O_8$	1.009,42	1009,5

Ensayos Biológicos

El virus de la hepatitis C se ha clasificado en seis genotipos principales diferentes sobre la base de la secuencia de nucleótidos, y dividido adicionalmente en subtipos dentro de los genotipos. Los compuestos de la invención demostraron la inhibición de la replicación del VHC en una o más de los siguientes ensayos de replicón de VHC.

Ensayo 1: Ensayo del replicón del genotipo 1b del VHC

La línea celular del replicón del genotipo 1b del VHC se obtuvo de Apath LLC (Brooklyn, NY) (APC144; base celular Huh7). Este replicón subgenómico contiene el N-terminal de la proteína del núcleo del VHC fusionado con el marcador seleccionable de resistencia a neomicina. El IRES de EMCV se encuentra aguas abajo y dirige la expresión de la luciferasa de Renilla humanizada fusionada a las proteínas no estructurales NS3-NS5B. Esta línea celular se utilizó para determinar la potencia del compuesto usando la lectura de la actividad de luciferasa como una medida de la inhibición del compuesto de los niveles de replicón.

Las células se cultivaron a 37 °C en un incubador humidificado de 5 % de CO_2 en DMEM (Invitrogen) con 10 % de FBS (Hyclone), 1x NEAA (Invitrogen), 1x Pen-Strep (Invitrogen), y 500 mg / ml de G418 (Invitrogen). El día 1 del ensayo, las células se sembraron en placas a 10.000 células / pocillo en placas blancas de cultivo tisular de 96 pocillos (Costar) en 200 µl de medios que carecen de G418. Cuatro horas más tarde, una vez que las células se han adherido, se retiró el medio y se reemplazó con medio (sin G418) que contiene dosis-respuesta de los compuestos de ensayo. Los compuestos se diluyeron inicialmente en DMSO y después se diluyeron otros 200 x en los medios para bajar la concentración final de DMSO a 0,5 %. Las células se incubaron con compuestos de ensayo durante 48 horas. Al final del periodo de incubación, los medios y el compuesto se retiraron de las placas y se determinó la actividad luciferasa utilizando reactivos de Promega Renilla-Glo.

Para analizar los datos, la actividad luciferasa se representó frente a la concentración del compuesto, y se determinaron los valores de la CE_{50} a partir de un sólido modelo de ajuste de 4 parámetros con el paquete de software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los resultados se expresan como el logaritmo decimal negativo del valor CE_{50}, pCE_{50}.

Los compuestos de ensayo que tienen un valor de pCE_{50} más alto en este ensayo muestran una mayor inhibición de la replicación del genotipo 1b del VHC. Los compuestos de la invención analizados en este ensayo típicamente exhibieron valores de pCE_{50} entre aproximadamente 7 y aproximadamente 12.

Ensayo 2: Ensayo del replicón del genotipo 1a del VHC

La línea celular del replicón del genotipo 1a del VHC se obtuvo de Apath LLC (Brooklyn, NY) (APC89; base celular Huh7.5). Este replicón subgenómico contiene el N-terminal de la proteína del núcleo del VHC fusionado con el marcador seleccionable de resistencia a neomicina. El IRES de EMCV se encuentra aguas abajo y dirige la expresión de las proteínas no estructurales NS3-NS5B. Las potencias de los compuestos se determinaron utilizando la actividad de la proteasa específica de NS3 en los lisados como una medida de la inhibición de los niveles de replicón del compuesto.

Las células se cultivaron a 37 °C en un incubador humidificado de 5 % de CO_2 en DMEM (Invitrogen) con 10 % de FBS (Hyclone), 1x NEAA (Invitrogen), 1x Pen-Strep (Invitrogen), y 850 µg/ml de G418 (Invitrogen). El día 1 del ensayo, las células se sembraron en placas a 15.000 células / pocillo en placas negras de cultivo tisular de 96 pocillos (Costar) en 200 µl de medios que carecen de G418. Cuatro horas más tarde, una vez que las células se habían adherido, se retiró el medio y se reemplazó con medio (sin G418) que contiene dosis-respuesta de los compuestos de ensayo. Los compuestos se diluyeron inicialmente en DMSO y después se diluyeron otros 200 x en los medios para bajar la concentración final de DMSO a 0,5 %. Las células se incubaron con compuestos de ensayo durante 48 o 72 horas. Al final del periodo de incubación, los medios y el compuesto se retiraron de las placas.

Para determinar la actividad de la proteasa específica NS3 en los lisados, las células se lisaron a temperatura ambiente en 50 µl/ pocillo de Hepes 50 mM a pH 7,5, NaCl 150 mM, 15 % de glicerol, 0,15 % de Triton X-100, DTT 10 mM durante 20 minutos con agitación. Después, se añadieron a los pocillos 50 µl de un sustrato FRET específico de la proteasa NS3/4a (Anaspec RET S1 nº cat. 22991) a una concentración final de 15 µM. Las placas se incubaron a 37 °C durante 20 minutos, que corresponde a un punto de tiempo en el que la actividad de la proteasa se encuentra todavía en la fase lineal. La actividad de proteasa se determinó midiendo la fluorescencia (excitación: 340 nm, emisión: 509 nm).

Para analizar los datos, la fluorescencia se representó gráficamente frente a la concentración del compuesto, y los valores de CE_{50} se determinaron a partir de un robusto modelo de ajuste de 4 parámetros usando el software GraphPad Prism. Los compuestos de la invención analizados en este ensayo típicamente exhibieron valores de pCE_{50} entre aproximadamente 7 y aproximadamente 11,5.

Ensayo 3: Ensayos de replicón contra mutantes resistentes

Para crear las células de replicón con mutaciones resistentes de interés, la mutación se introdujo primero en el plásmido parental por mutagénesis dirigida al sitio. Las mutaciones en el genotipo 1b incluyen L31V, Y93H y el doble mutante L31V / Y93H. Las mutaciones en el genotipo 1a incluyeron Q30R y L31V. El plásmido del replicón se linealizó después y se transcribió *in vitro* a ARN. El ARN se utilizó para transfectar de forma estable las células Huh7 mediante electroporación y se escogieron nuevas líneas de células con 500 µg/ml de G418. Las potencias de los compuestos de ensayo frente a estas líneas celulares mutantes se determinaron como se ha descrito previamente para los ensayos de replicón del genotipo 1b y 1a.

Las potencias de los compuestos de ensayo contra mutaciones adicionales de interés se determinaron mediante ensayos de transfección transitoria. Estos mutantes incluidos y el genotipo 1a Y93C, Y93H, M28T, Q30E, Q30K. La mutación se introdujo primero en el plásmido parental mediante mutagénesis dirigida al sitio El plásmido del replicón se linealizó después y se transcribió *in vitro* a ARN. El ARN se usó para transfectar transitoriamente las células Huh-Lunet (obtenidas de ReBLikon GmbH, Schriesheim, Alemania) mediante electroporación, y se determinaron las potencias de los compuestos de ensayo contra los mutantes como se ha descrito previamente.

Ensayo 4: Ensayo de formación de colonias

Se utilizaron ensayos de formación de colonias para evaluar la barrera genética global de la resistencia de los compuestos de ensayo. Las células del replicón se sembraron en matraces de cultivo tisular y se trataron con diversas concentraciones del o los compuesto de ensayo (o el control DMSO) en presencia de G418 (500 a 850 µg/ml) durante 3 - 4 semanas. El medio se reemplazó con medio fresco que contiene el compuesto y G418 dos veces a la semana. Las células se dividieron según lo necesario. Durante este tiempo, muchas células murieron y surgieron colonias resistentes. Después, las colonias se fijaron y tiñeron con cristal violeta / metanol. La combinación de un compuesto de la invención y danoprevir (un inhibidor de la proteasa NS3) fue capaz de suprimir significativamente la aparición de mutantes resistentes a un mayor grado que cada compuesto por separado.

Ensayo 5: Ensayos de replicón de combinaciones de agentes

Las combinaciones de un compuesto de la invención y otro agente terapéutico se analizaron como se ha descrito para los ensayos de replicón de los genotipos 1b y 1a del VHC. Las células se incubaron con varias combinaciones (en una matriz de tablero de ajedrez) de los compuestos de ensayo durante 48 horas. Las potencias de cualquier compuesto individual solo se determinaron como se ha descrito anteriormente y se usó el software Mac-Synergy II se utilizó para determinar si la combinación de los compuestos de ensayo exhibía sinergia frente a aditividad frente a antagonismo. La combinación de un compuesto de la invención y danoprevir (un inhibidor de la proteasa NS3) mostró un efecto antiviral aditivo. Del mismo modo, la combinación de un compuesto de la invención y, por tanto, el interferón alfa 2b, mostró un efecto antiviral aditivo.

Resultados del ensayo

Todos los compuestos de los Ejemplos 15 - 38, 41 - 49, 51 - 55, 57 - 65, y 77 y en las Tablas 21 y 24 - 28 se analizaron en uno o más de los ensayos descritos anteriormente. Por ejemplo, se obtuvieron los siguientes resultados en los ensayos del replicón de los genotipos 1b y 1a del VHC, en los que A representa un valor pCE_{50} entre 7 y 8 (CE_{50} entre 100 nM y 10 nM), B representa pCE_{50} entre 8 y 9 (CE_{50} entre 1 y 10 nM), C representa pCE_{50} y entre 9 y aproximadamente 10, (CE_{50} entre 1 nM y 0,1 nM), y D representa pCE_{50}> 10 (CE_{50} <0,1 nM).

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
15	D	D
16	D	D
17	D	C
18	D	C
19	D	C
20		B
21	D	D
22	D	D

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
23		C
24		C
25	D	D
26	D	D
27	D	D
28	D	C
29	D	D
30	D	D

(continuación)

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
31	D	D
32	D	D
33	D	D
34	D	D
35	D	C
36	D	C
37	D	C
38	D	D
41	D	D
42	D	C
43	D	C
44	D	C
45	D	D
46	D	C
47	D	C
48	D	C
49	D	D
51	D	D
52	D	D
53	D	D
54	D	D
55	D	D
57	D	D
58	D	D
59	D	D
60	D	D
61	D	D
62	D	D
63	D	D
64	D	D
65	D	D
77	D	D

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
27–]		D
27 – 2		C
27 – 3		C
27 – 4		C
27 – 5	D	D
27 – 6		C
27 – 7	D	D
27 – 8		D
27 – 9		B
27 – 10	D	D
27 – 11		C
27 – 12	D	D
27 – 13		C
27 – 14		D
27 – 15	D	D
27 – 16	D	D
27 – 17	D	D
27 – 18	D	D
27 – 19		D
27 – 20	D	D
27 – 21	D	D
27 – 22	D	D
27 – 23	D	D
27 – 24		C
27 – 25		B
27 – 26		C
27 – 27		B
27 – 28	D	D
27 – 29		C
27 – 30		D
27 – 31	D	D
27 – 32		C
27 – 33	D	D
27 – 34	D	D

(continuación)

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
27 – 35		C
27 – 36	D	D
27 – 37	D	D
27 – 38	D	D
27 – 39		C
27 – 40		C
27 – 41		C
27 – 42	D	D
27 – 43	D	D
27 – 44	D	D
27 – 45	D	D
27 – 46	D	D
27 – 47	D	D
27 – 48	D	D
27 – 49		D
27 – 50	D	D
27 – 51		C
27 – 52	D	D
27 – 53		C
27 – 54		C
27 – 55		D
27 – 56		C
27 – 57		B
27 – 58		D
27 – 59		D
27 – 60		D
27 – 61		C
27 – 62		C
27 – 63		C
27 – 64		D
27 – 65		C
27 – 66		D
27 – 67	D	C

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
27 – 68	D	D
27 – 69	D	D
27 – 70		C
27 – 71		D
27 – 72	D	D
27 – 73	D	D
27 – 74		D
27 – 75		D
27 – 76		D
28 – 1	D	D
28 – 2	D	D
28 – 3		C
28 – 4		D
28 – 5	D	D
28 – 6		C
28 – 7		D
28 – 8	D	D
28 – 9		C
28 – 10		C
28 – 11		C
28 – 12		C
28 – 13		D
28 – 14	D	D
28 – 15	D	D
28 – 16	D	D
28 – 17	D	D
28 – 18	D	D
28 – 19	D	D
28 – 20	D	D
28 – 21		C
28 – 22	D	D
28 – 23	D	D
28 – 24	D	D
28 – 25	D	D

(continuación)

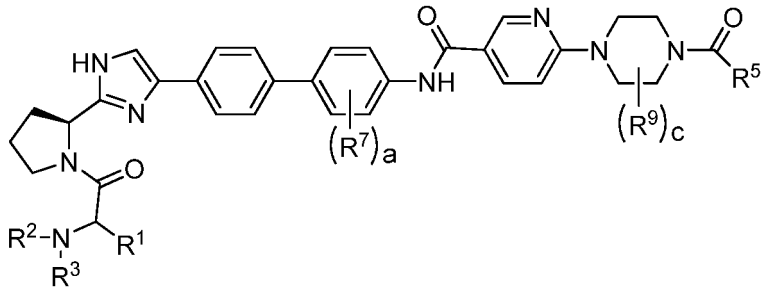
Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
28 – 26	D	D
27 – 27		B
28 – 28		B
28 – 29	D	D
28 – 30		B
28 – 31		C
28 – 32		D
28 – 32		D
28 – 34		D

Nº de ejemplo	Genotipo 1b	Genotipo 1a
28 – 35		C
28 – 36	D	D
28 – 37		D
28 – 38	D	D
28 – 39	D	D
28 – 40	D	D
28 – 41		D
28 – 42		D
28 – 43		D

Todos los resultados del genotipo 1a para una incubación de 72 horas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

en la que

R^1 es seleccionado entre alquilo C_{1-6}, fenilo y cicloalquilo C_{3-6}, en la que alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con $-OR^q$, en la que R^q es hidrógeno o alquilo C_{1-3};
R^2 es seleccionado entre hidrógeno y alquilo C_{1-6};
R^3 es seleccionado entre hidrógeno, alquilo C_{1-6}, -C(O)Oalquilo C_{1-6}, $-C(O)NR^aR^b$, -C(O)cicloalquilo C_{3-6} y $-S(O)_2$alquilo C_{1-3};
en la que
R^a y R^b son de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-6};
R^5 es seleccionado entre alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-6}, alcoxi C_{1-6}, $-C(R^kR^d)NR^eR^f$, $-NR^gR^h$, heteroarilo, heterociclo y $-CH_2$-heteroarilo;
en la que:

cualquier heteroarilo o heterociclo tiene 5 o 6 átomos de anillo;
alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de forma independiente entre $-OR^c$, -NHC(O)alquilo C_{1-3}, y -NHC(O)Oalquilo C_{1-3};
alcoxi C_{1-6} está opcionalmente sustituido con $-OR^d$;
cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alquilo C_{1-3} y halo;
cualquier heterociclo está opcionalmente sustituido con uno, dos, o tres sustituyentes seleccionados de forma independiente entre alquilo C_{1-3}, halo, -C(O)Oalquilo C_{1-3}, -C(O)alquilo C_{1-6}, -C(O)cicloalquilo C_{3-6}, -C(O)NHalquilo C_{1-6} y -C(O)NHcicloalquilo C_{3-6};
en la que cualquier -C(O)alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con -NHC(O)O alquilo C_{1-3}, $-OR^n$, $-NR^dR^e$, o heterociclo, cualquier -C(O)cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3}, y cualquier -C(O)NHalquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con $-OR^n$ o cicloalquilo C_{3-6};
cualquier heteroarilo está opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-3};
R^c es seleccionado de forma independiente entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} y fenilo;
R^k, R^d, R^e, R^g y R^h son cada uno de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-3};
R^f es seleccionado entre hidrógeno y -C(O)alquilo C_{1-3};
R^n es de forma independiente hidrógeno o alquilo C_{1-3};

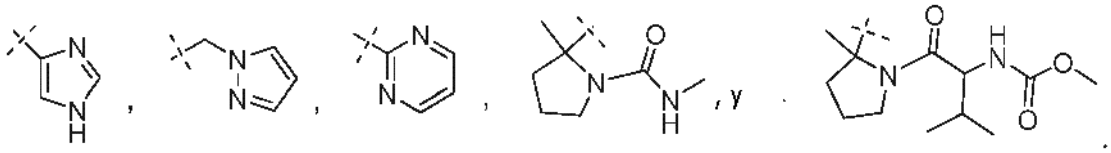
R^7 es seleccionado entre halo, alquilo C_{1-6}, y alcoxi C_{1-6} en la que alquilo C_{1-6} y alcoxi C_{1-6} están opcionalmente sustituidos con uno, dos, o tres halo; y
R^9 es alquilo C_{1-3};
a es 1 o 2; y
c es 1 o 2;

o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^5 es seleccionado entre cicloalquilo C_{3-4}, $-CH_2NR^eR^f$, $-NR^gR^h$, imidazolilo, pirazolilo, pirimidinilo y pirrolidinilo;
en el que:

cicloalquilo C_{3-4} está opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-3};
pirrolidinilo está sustituido con metilo y un sustituyente es seleccionado entre -C(O)Oalquilo C_{1-3}, -C(O)alquilo C_{1-6} y -C(O)NHalquilo C_{1-6}, en el que
-C(O)alquilo C_{1-6} está sustituido con -NHC(O)Oalquilo C_{1-3}, $-OR^n$, $-NR^dR^e$ o heterociclo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^5 es seleccionado entre $-NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo,

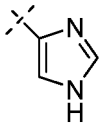


4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^1 es alquilo C_{1-6}, R^2 es hidrógeno; y R^3 es -C(O)Oalquilo C_{1-6}.

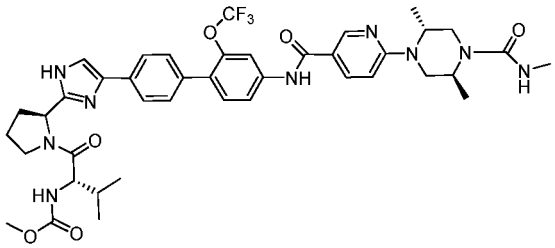
5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^7 es seleccionado entre fluoro, cloro, $-CF_3$ y $–OCF_3$; y R^9 es metilo.

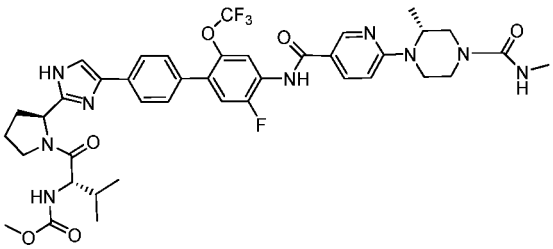
6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que:

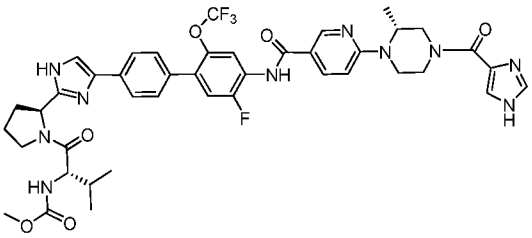
R^1 es isopropilo, R^2 es hidrógeno; y R^3 es $-C(O)OCH_3$;
R^7 es seleccionado entre fluoro, cloro, $-CF_3$ y $-OCF_3$; y R^9 es metilo; y
R^5 es seleccionado entre $-NHCH_3$, 2,2-dimetilciclopropilo, y

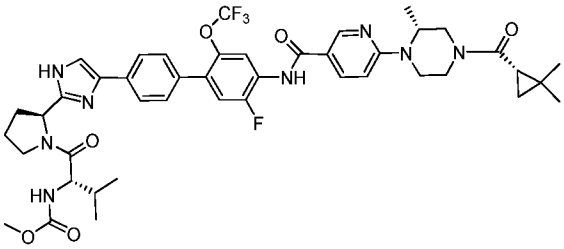


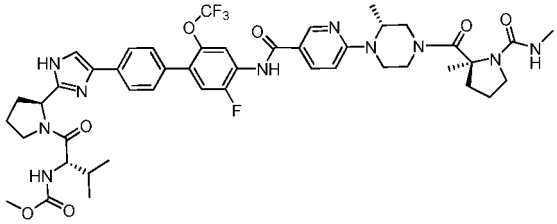
7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es seleccionado entre:

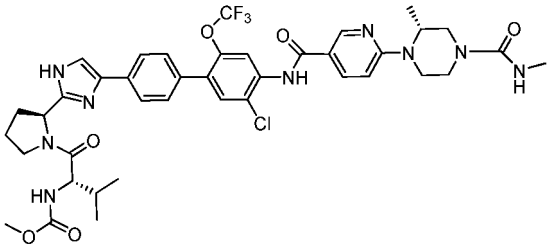


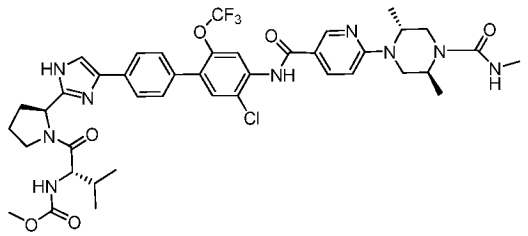


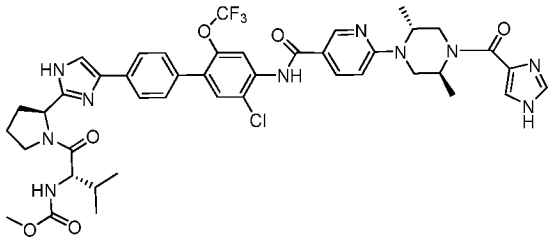


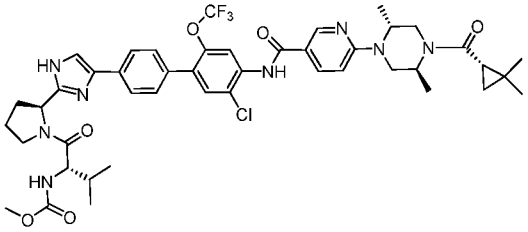


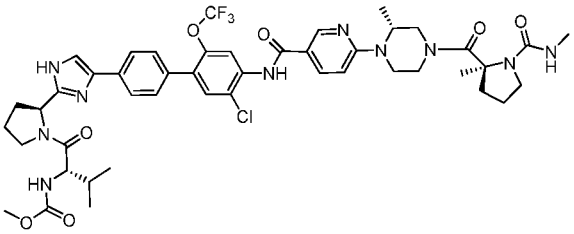


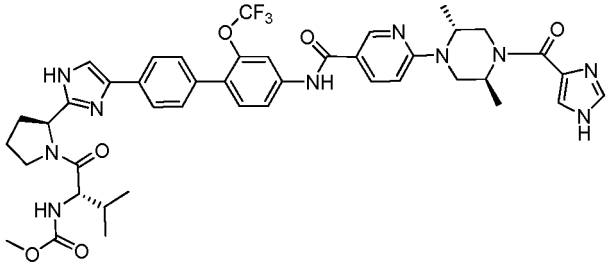


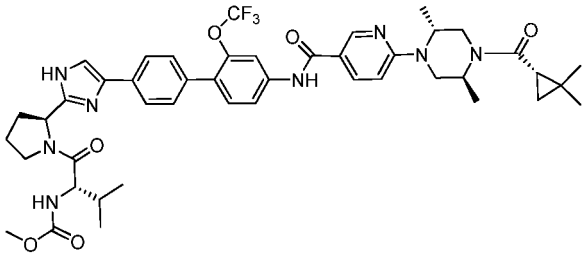


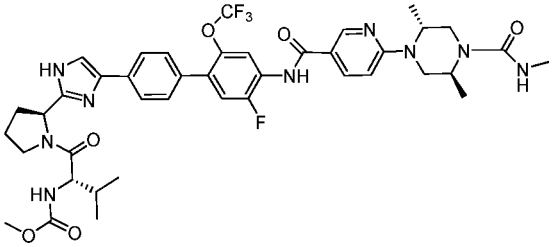


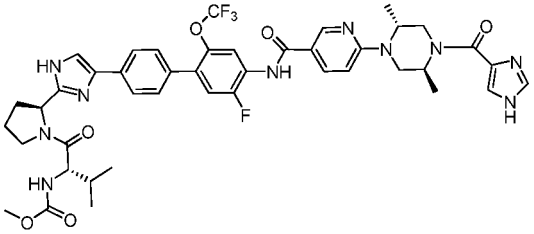


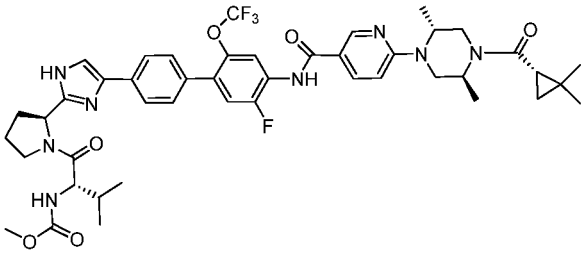


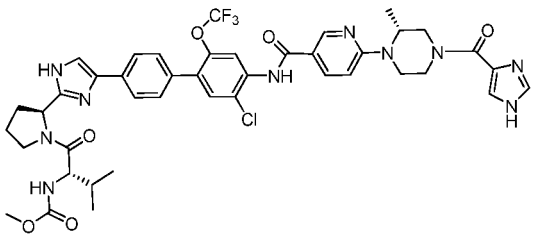


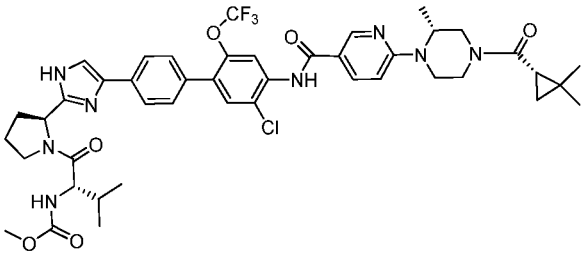


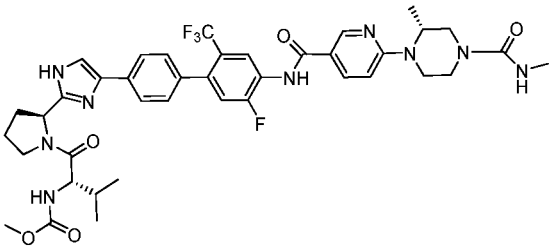


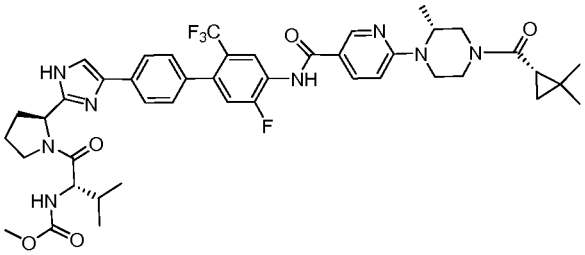


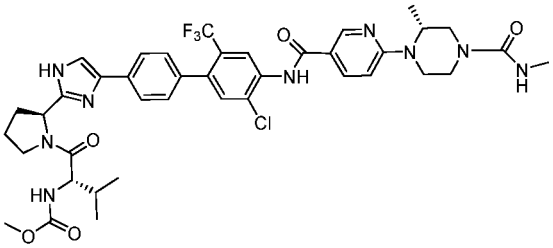


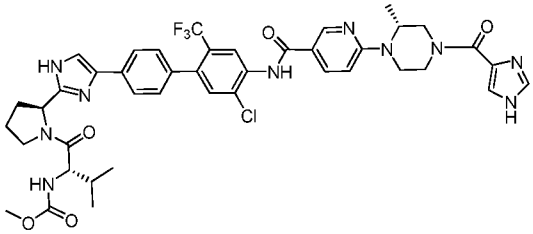


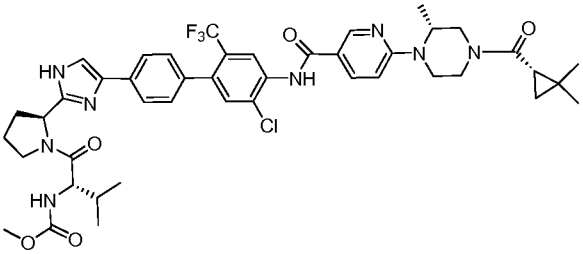


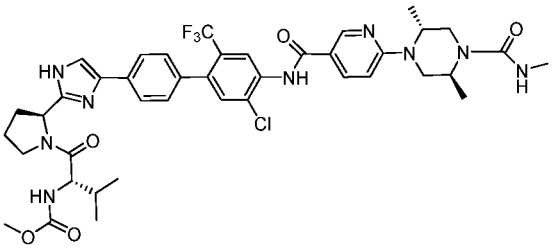


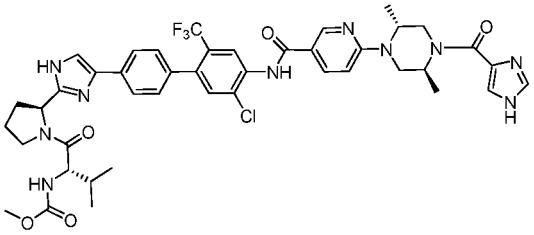


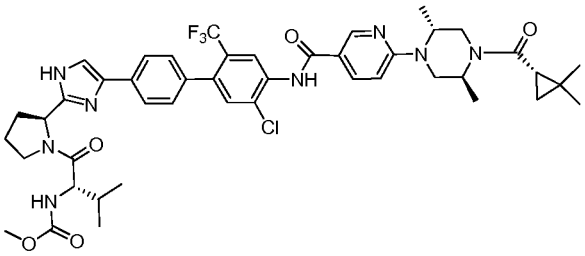


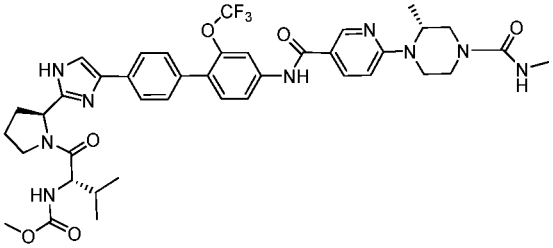






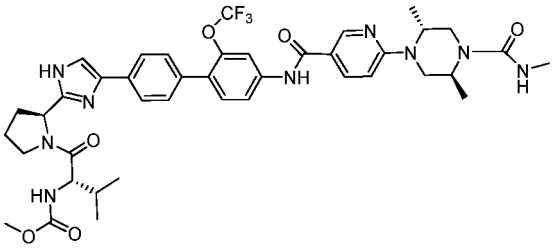


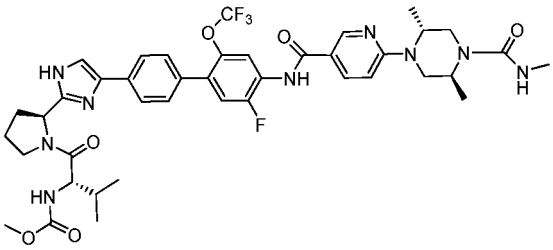


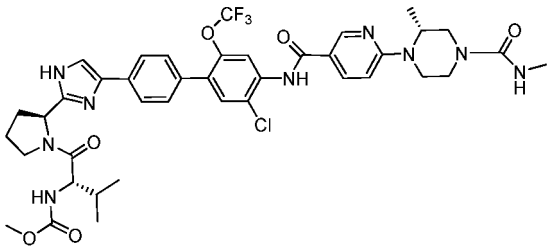


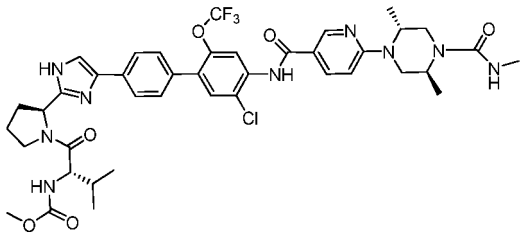
y sus sales farmacéuticamente aceptables.

8. El compuesto de la reivindicación 1 en el que el compuesto es seleccionado entre:









y sus sales farmacéuticamente aceptables.

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable, que comprende opcionalmente además uno o más de otros agentes terapéuticos útiles para tratar las infecciones por el virus de la hepatitis C.

10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que el uno o más de otros agentes terapéuticos es/son seleccionado/s entre inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, inhibidores nucleosídicos y no nucleosídicos de la polimerasa NS5B del VHC, interferones e interferones pegilados y ribavirina y análogos de nucleósidos relacionados.

11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en terapia.

12. Un compuesto de la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento de una infección por el virus de la hepatitis C en un mamífero, opcionalmente junto con uno o más de otros agentes terapéuticos.

13. El compuesto para su uso de la reivindicación 12, en el que el uno o más de otros agentes terapéuticos es/son seleccionado/s entre inhibidores de la proteasa NS3 del VHC, inhibidores nucleosídicos y no nucleosídicos de la polimerasa NS5B del VHC, interferones e interferones pegilados y ribavirina y análogos de nucleósidos relacionados.