

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 608**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/14** (2006.01)

**C07D 403/14** (2006.01)

**C07D 491/10** (2006.01)

**A61K 31/4412** (2006.01)

**A61K 31/506** (2006.01)

**A61K 31/513** (2006.01)

**A61K 31/527** (2006.01)

**A61P 31/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.12.2012 E 12810310 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 2797911**

54 Título: **Derivados hetero-bicíclicos como inhibidores del VHC**

30 Prioridad:

**28.12.2011 EP 11195840**

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

**05.02.2016**

73 Titular/es:

**JANSSEN SCIENCES IRELAND UC (100.0%)  
Eastgate Village, Eastgate  
Little Island, County Cork, IE**

72 Inventor/es:

**VANDYCK, KOEN;  
VERSCHUEREN, WIM, GASTON y  
RABOISSON, PIERRE, JEAN-MARIE, BERNARD**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 558 608 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

Derivados hetero-bicíclicos como inhibidores del VHC

Campo técnico

5 Esta invención se refiere a derivados hetero-bicíclicos, en particular, pero no limitada a derivados de quinolinona y quinazolinona, que son inhibidores del virus de la hepatitis C (VHC), a su síntesis y a su uso, solos o en combinación con otros inhibidores del VHC, en el tratamiento o la profilaxis del VHC.

Técnica de Antecedentes

10 El VHC es un virus de ARN de cadena sencilla, de sentido positivo, perteneciente a la familia de virus *Flaviviridae* en el género hepacivirus. El genoma viral se traduce en un marco de lectura abierto sencillo que codifica múltiples proteínas estructurales y no estructurales.

15 Después de la infección aguda inicial, una mayoría de individuos infestados desarrollan hepatitis crónica debido a que el VHC se replica preferiblemente en los hepatocitos, pero no es directamente citopático. En particular, la falta de una respuesta de linfocitos T vigorosa y la alta propensión del virus a mutar parecen fomentar una tasa elevada de infección crónica. La hepatitis crónica puede progresar a una fibrosis hepática, que conduce a la cirrosis, la enfermedad hepática en fase terminal y CHC (carcinoma hepatocelular), haciéndola la causa principal de trasplantes de hígado.

20 Existen seis genotipos del VHC principales y más de 50 subtipos, que se distribuyen de manera diferente geográficamente. El VHC genotipo 1 es el genotipo predominante en Europa y en los EE.UU. La extensa heterogeneidad genética del VHC tiene importantes implicaciones diagnósticas y clínicas, explicando quizás las dificultades en el desarrollo de vacunas y la falta de respuesta a la terapia actual.

25 La transmisión del VHC puede producirse a través del contacto con sangre o productos de la sangre contaminados, por ejemplo después de una transfusión de sangre o el uso de fármacos por vía intravenosa. La introducción de ensayos de diagnóstico utilizados en los análisis de sangre ha conducido a una tendencia a la baja en la incidencia del VHC post-transfusión. Sin embargo, dado el lento progreso de la enfermedad hepática en fase terminal, las infecciones existentes continuarán constituyendo una carga médica y económica seria durante décadas.

30 Terapias para el VHC actuales se basan en interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ) (pegilado) en combinación con ribavirina. Esta terapia de combinación proporciona una respuesta virológica sostenida en el 40% de los pacientes infestados por el VHC genotipo 1 y aproximadamente el 80% de los infestados por los genotipos 2 y 3. Además de la eficacia limitada en el VHC genotipo 1, esta terapia de combinación tiene efectos secundarios significativos, incluyendo síntomas similares a la gripe, alteraciones hematológicas y síntomas neuropsiquiátricos. Por lo tanto, existe una necesidad de tratamientos más eficaces, más convenientes y mejor tolerados.

35 La experiencia con los fármacos contra el VIH, en particular con los inhibidores de la proteasa del VIH, ha enseñado que la farmacocinética sub-óptima y regímenes de dosificación complejos resultan rápidamente en incumplimientos involuntarios. Esto, a su vez, significa que la concentración valle (concentración plasmática mínima) de 24 horas para los respectivos fármacos en un régimen de VIH cae con frecuencia por debajo del umbral de  $CI_{90}$  o  $DE_{90}$  durante largos periodos del día. Se considera que un nivel valle de 24 horas de al menos la  $CI_{50}$ , y más realísticamente de la  $CI_{90}$  o  $DE_{90}$ , es esencial para ralentizar el desarrollo de mutantes resistentes a fármacos. El logro de la farmacocinética y la tasa de metabolismo de los fármacos, necesarias para permitir niveles valle de este tipo, proporciona un desafío exigente para el diseño de fármacos.

40 La proteína NS5A del VHC está situada aguas abajo de la proteína NS4B y aguas arriba de la proteína NS5B. Tras la escisión post-traducción por parte de la serina proteasa NS3/4A del virus, la NS5A madura en una fosfoproteína de tres dominios, con contenido en zinc, que existe en forma de una especie hipofosforilada (56-kDa, p56) o hiperfosforilada (58-kDa, p58). La NS5A del VHC está implicada en múltiples aspectos del ciclo de vida viral, incluyendo la replicación viral y el ensamblaje de partículas infecciosas, así como la modulación del entorno de su célula huésped. Aunque no se ha atribuido función enzimática alguna a la proteína, se reseña que interactúa con  
45 numerosos factores virales y celulares.

Un cierto número de patentes y solicitudes de patente describen compuestos con actividad inhibidora del VHC, en particular la fijación como objetivo de NS5A. El documento WO2006/133326 describe derivados de estilbena, mientras que los documentos WO 2008/021927 y WO 2008/021928 describen derivados de bifenilo que tienen actividad inhibidora de la NS5A del VHC. El documento WO 2008/048589 describe derivados de 4-(feniletinil)-1H-pirazol y su uso antiviral. El documento WO 2008/070447 describe una amplia gama de compuestos inhibidores del VHC, incluido un resto bencimidazol. Los documentos WO-2010/017401 y WO-2010/065681 describen ambos inhibidores de bis-imidazol de NS5A del VHC. El documento WO2011/119860 describe derivados de 3H-imidazo[4,5-b]piridina para el tratamiento del VHC.

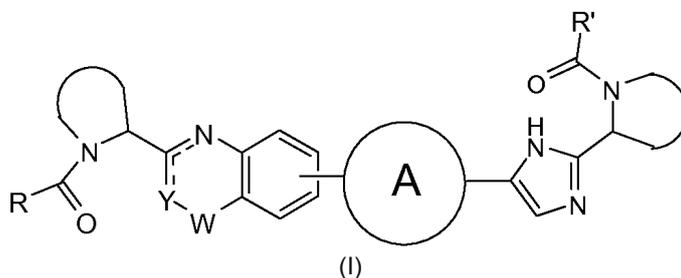
Existe una necesidad de inhibidores del VHC que puedan superar las desventajas de la actual terapia del VHC tales como efectos secundarios, eficacia limitada, el surgimiento de la resistencia y fracasos en el cumplimiento, así como mejorar la respuesta de carga viral sostenida.

La presente invención concierne a un grupo de derivados hetero-bicíclicos inhibidores del VHC, en particular, pero no limitada a derivados de quinolinona y quinazolinona, con propiedades útiles en relación con uno o más de los siguientes parámetros: eficacia antiviral, perfil favorable del desarrollo a la resistencia, toxicidad y genotoxicidad reducida o ausente, farmacocinética y farmacodinámica favorables, facilidad de formulación y administración, e interacciones fármaco-fármaco, limitadas o ausentes, con otras sustancias medicamentosas, en particular otros agentes anti-VHC.

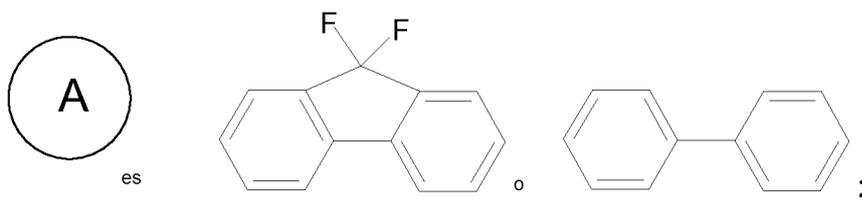
Los compuestos de la invención también pueden ser atractivos, debido al hecho de que carecen de actividad contra otros virus, en particular contra el VIH. Pacientes infestados por el VIH sufren a menudo co-infecciones tales como el VHC. El tratamiento de tales pacientes con un inhibidor del VHC, que también inhibe el VIH, puede conducir a la aparición de cepas resistentes del VIH.

Descripción de la Invención

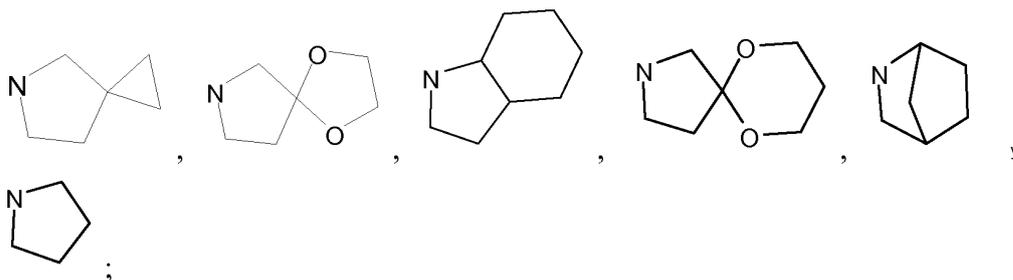
En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula I



o un estereoisómero del mismo, en donde:  
 Y es CH o N, CR<sub>4</sub>;  
 W es carbonilo, sulfonilo o CR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;



independientemente se selecciona de un grupo que comprende



R y R' se seleccionan, independientemente, de -CR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>, arilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de halo y metilo, o heterocicloalquilo, en donde

5 R<sub>1</sub> se selecciona de alquilo C<sub>1-4</sub>, alquilo C<sub>2-4</sub> sustituido con metoxi o hidroxilo, y fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre halo y metilo;

R<sub>2</sub> es hidroxilo, amino, mono- o di-alquil C<sub>1-4</sub>-amino, alquil C<sub>1-4</sub>-carbonilamino, alquiloxi C<sub>1-4</sub>-carbonilamino;

R<sub>3</sub> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;

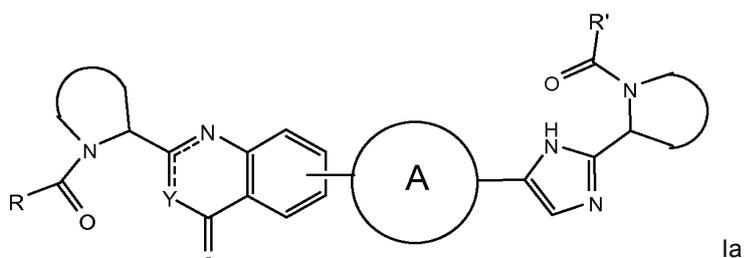
10 R<sub>4</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> o fluoro;

R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub>, cada uno independientemente, son alquilo C<sub>1-4</sub>; o CR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> juntos forman cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, oxetano, tetrahidrofurano; o sales farmacéuticamente aceptables o un solvato del mismo.

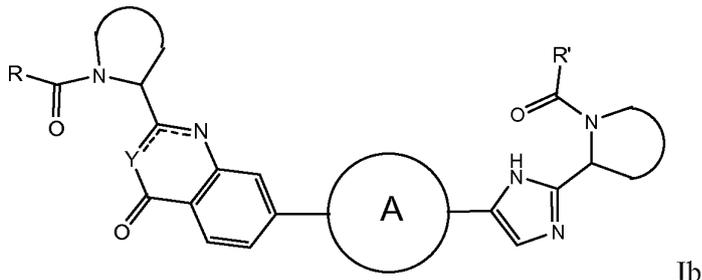
Adicionalmente, la invención se refiere a un producto que contiene (a) un compuesto de acuerdo con la presente invención, y (b) otro inhibidor de HCV, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de infecciones por el VHC.

En un aspecto adicional, la invención concierne al uso de compuestos de fórmula Ia-c, o subgrupos de los mismos, tal como se especifica en esta memoria, para la inhibición del VHC. Alternativamente, se proporciona el uso de dichos compuestos para la fabricación de un medicamento para inhibir el VHC.

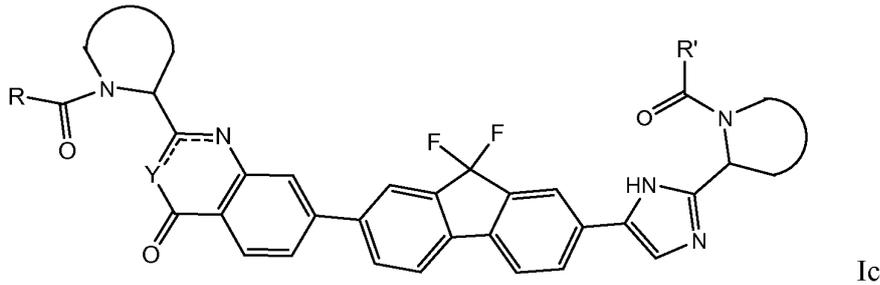
En una primera realización, la presente invención proporciona un subgrupo de compuestos de fórmula I, que se pueden representar por la fórmula (Ia);



De particular interés son compuestos de fórmula I o subgrupos de los mismos tal como se define en esta memoria, que son de acuerdo con las fórmulas Ib y Ic.

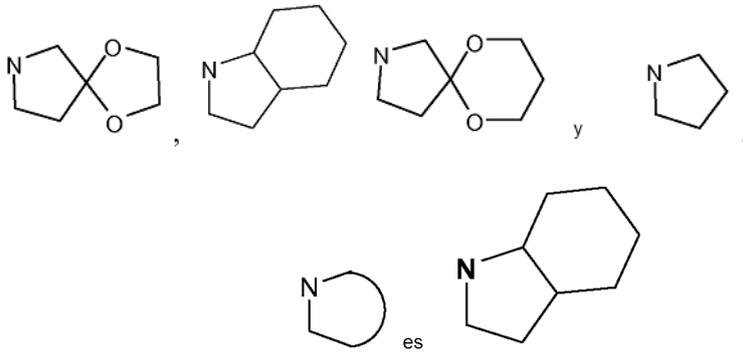


Ib



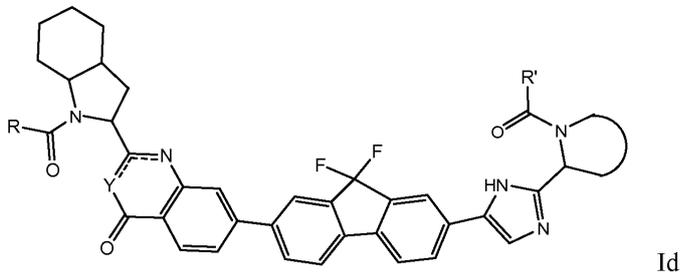
Ic

En una realización preferida,  se selecciona independientemente entre un grupo que comprende



Preferiblemente, al menos un

5 Más preferiblemente, compuestos de la invención proporciona compuestos que pueden representarse por la fórmula Id



Id

10 En una realización adicional de la invención, R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que comprende alquil C<sub>1-4</sub>-carbonilamino o alquiloxi C<sub>1-4</sub>-carbonilamino.

En aún otra realización de la invención, R<sub>1</sub> se selecciona entre alquilo C<sub>3-4</sub> ramificado; alquilo C<sub>2-3</sub> sustituido con metoxi; y fenilo opcionalmente sustituido con 1 sustituyente seleccionado de halo y metilo.

En aún otra realización de la invención, R<sub>3</sub> es hidrógeno.

En una realización adicional, R y R' son idénticos.

- 5 En aún otra realización, R<sub>2</sub> es alquil C<sub>1-4</sub>-carbonilamino o alquiloxi C<sub>1-4</sub>-carbonilamino, y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

10 En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula I o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o profilaxis (o la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis) de la infección por el VHC. Genotipos del VHC representativos en el contexto de tratamiento o profilaxis de acuerdo con la invención incluyen, pero no se limitan a determinar el genotipo 1b (prevalente en Europa) y 1a (prevalente en América del Norte). La invención también proporciona un método para el tratamiento o la profilaxis de la infección por VHC, en particular, del genotipo 1a o 1b, que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según se define antes en esta memoria.

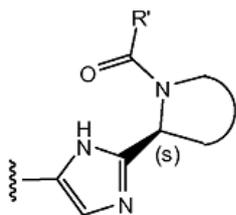
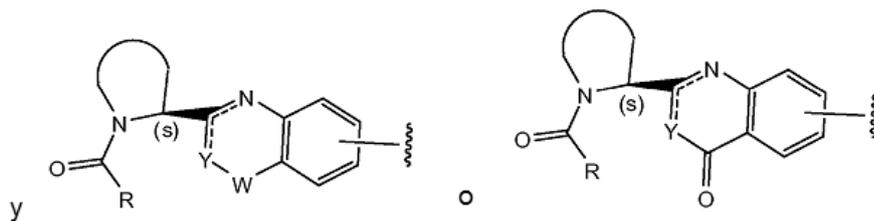
15 Las formas estereoisoméricas puras de los compuestos y compuestos intermedios tal como se menciona en esta memoria se definen como isómeros sustancialmente libres de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o compuestos intermedios. En particular, la expresión "estereoisoméricamente puros" se refiere a compuestos o compuestos intermedios que tienen un exceso estereoisomérico de al menos 80% (es decir, mínimo 90% de un isómero y máximo 10% de los otros isómeros posibles) hasta un exceso estereoisomérico de 100% (es decir, 100% de un isómero y nada del otro), más en particular, compuestos o compuestos intermedios que tienen un exceso estereoisomérico de 90% hasta 100%, incluso más en particular que tienen un exceso estereoisomérico de 94% hasta 100%, y lo más en particular que tienen un exceso estereoisomérico de 97% hasta 100%. Las expresiones "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" deben entenderse de una manera similar, pero a continuación, teniendo en cuenta el exceso enantiomérico y el exceso diastereomérico, respectivamente, de la mezcla en cuestión.

25 Formas o estereoisómeros de los compuestos y compuestos intermedios de esta invención estereoisoméricamente puros se pueden obtener mediante la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los enantiómeros pueden separarse unos de otros mediante cristalización selectiva de sus sales diastereoméricas con ácidos o bases ópticamente activos. Ejemplos de los mismos son ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido ditoluoltartárico y ácido canfosulfónico.

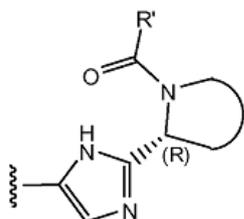
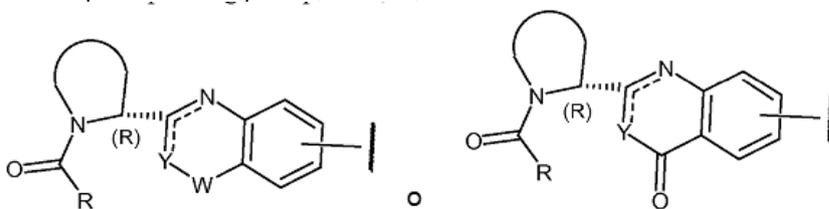
30 Alternativamente, los enantiómeros pueden separarse por técnicas cromatográficas utilizando fases estacionarias quirales. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también se pueden derivar de las correspondientes formas estereoisoméricas puras de los materiales de partida apropiados, siempre que la reacción se produzca estereoespecíficamente. Preferiblemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizará por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los racematos diastereoméricos de los compuestos de fórmula I pueden obtenerse por separado por métodos convencionales. Métodos de separación física apropiados que pueden emplearse ventajosamente son, por ejemplo, cristalización selectiva y cromatografía, p. ej., cromatografía en columna o cromatografía de fluidos supercríticos.

40 Los compuestos de fórmula I y subgrupos de compuestos de fórmula I según se definen antes en esta memoria tienen varios centros de quiralidad. De interés son los centros estereogénicos del anillo de pirrolidina en el átomo de carbono 2. La configuración en esta posición puede ser la correspondiente a L-prolina, es decir,



o la correspondiente a D-prolina, es decir,



5 También de interés es la configuración del grupo  $-CR_1R_2R_3$ , en la que  $R_3$  es H: cuando  $R_1$  se selecciona entre alquilo  $C_{3-4}$  ramificado; alquilo  $C_{2-3}$  sustituido con metoxi, entonces se prefiere la configuración S; cuando  $R_1$  se selecciona de fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre halo y metilo; después se prefiere la configuración R.

10 Las sales por adición farmacéuticamente aceptables comprenden las formas de sales por adición de ácidos y bases no tóxicas y terapéuticamente activas de los compuestos de fórmula (I) o subgrupos de los mismos. De interés son las formas libres, es decir, formas no salinas de los compuestos de fórmula I, o de cualquier subgrupo de compuestos de fórmula I especificado en esta memoria.

15 Las sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables se pueden obtener convenientemente tratando la forma de base con un ácido apropiado de este tipo. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos halogenados, p. ej., ácido clorhídrico o bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acético, propiónico, hidroxiaacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico (es decir, ácido hidroxil-butanodioico), tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, *p*-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y ácidos similares. Inversamente, dichas formas de sal pueden convertirse por tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

20 Los compuestos de fórmula (I) que contienen un protón de carácter ácido también se pueden convertir en sus sales por adición de bases, en particular, formas de sales por adición de metales o de aminas, mediante tratamiento con

bases orgánicas e inorgánicas apropiadas. Formas de sales de carácter básico apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, p. ej., las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, p. ej., las sales de benzatina, N-metil- D-glucamina, hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

- 5 El término "solvatos" abarca cualesquiera solvatos farmacéuticamente aceptables que los compuestos de fórmula I, así como las sales de los mismos, son capaces de formar. Tales solvatos son, por ejemplo, hidratos, alcoholatos, p. ej., etanolatos, propanolatos, y similares.

- 10 Algunos de los compuestos de fórmula I también pueden existir en formas tautoméricas. Por ejemplo, formas tautoméricas de grupos amida (-C(=O)-NH-) son iminoalcoholes (-C(OH)=N-). Las formas tautoméricas, aunque no se indica explícitamente en las fórmulas estructurales representadas en esta memoria, pretenden estar incluidas dentro del alcance de la presente invención.

- 15 Tal como se utiliza en esta memoria, "alquilo C<sub>1-4</sub>" como un grupo o parte de un grupo define grupos hidrocarburo saturados, de cadena lineal o ramificada, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo. Para el fin de la presente invención, de interés entre alquilo C<sub>1-4</sub> es alquilo C<sub>3-4</sub>, es decir, grupos hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que tienen 3 ó 4 átomos de carbono tales como 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo. De particular interés puede ser alquilo C<sub>3-4</sub> ramificado tal como 2-propilo, 2-butilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo.

- 20 El término "cicloalquilo C<sub>3-6</sub>" como un grupo o parte del mismo, define grupos hidrocarbonados cíclicos saturados que tienen de 3 a 6 átomos de carbono que juntos forman una estructura cíclica. Ejemplos de cicloalquilo C<sub>3-6</sub> incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

"Alcoxi C<sub>1-4</sub>" tal como un grupo o parte de un grupo significa un grupo de fórmula -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, en donde alquilo C<sub>1-4</sub> es como se define arriba. Ejemplos de alcoxi C<sub>1-4</sub> son metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi.

El término "halo" es genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo.

- 25 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "(=O)" u "oxo" forma un resto carbonilo cuando está fijado a un átomo de carbono. Cabe señalar que un átomo sólo puede estar sustituido con un grupo oxo cuando la valencia del átomo así lo permita.

Tal como se utiliza en esta memoria para el fin de definir "arilo" como un grupo o parte del mismo significa una estructura de anillo aromático que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S, en particular de N y O. Dicha estructura de anillo aromático puede tener 5 ó 6 átomos en el anillo.

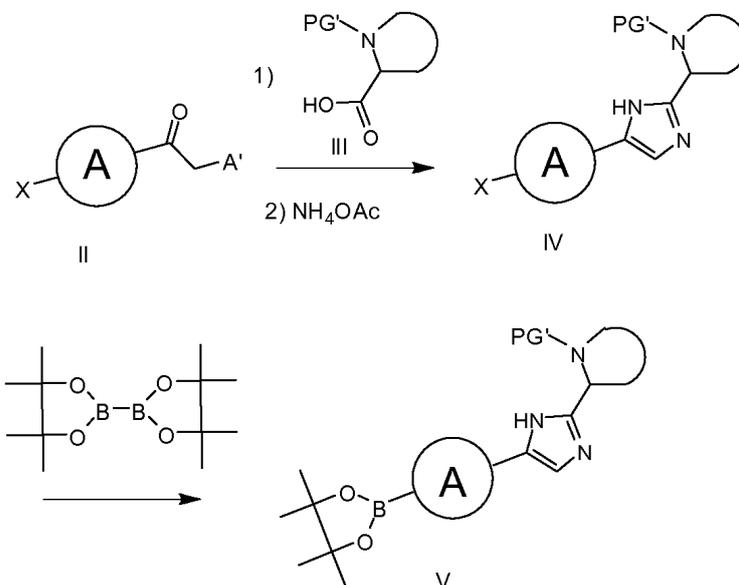
- 30 Tal como se utiliza en esta memoria, el prefijo "hetero" en la definición de un grupo significa que el grupo comprende al menos 1 heteroátomo seleccionado entre N, O y S, en particular N y O. Por ejemplo, el término "heteroarilo" significa una estructura de anillo aromático tal como se define para el término "arilo" que comprende al menos 1 heteroátomo seleccionado entre N, O y S, en particular de N y O, por ejemplo furanilo, oxazolilo, piridinilo. Alternativamente, el término "heterocicloalquilo C<sub>3-6</sub>" significa grupo hidrocarbonado cíclico saturado tal como se define para "cicloalquilo C<sub>3-6</sub>" comprende, además, al menos 1 heteroátomo seleccionado entre N, O y S, en particular de N y O, por ejemplo tetrahidrofuranilo, tetrahidropirranilo, piperidinilo.

- 40 En los casos en los que no se especifique la posición de un grupo en un resto de la molécula (por ejemplo, un sustituyente en el fenilo) o esté representada por un enlace flotante, este grupo puede estar situado en cualquier átomo de un resto de este tipo, siempre y cuando la estructura resultante sea químicamente estable. Cuando cualquier variable está presente más de una vez en la molécula, cada una de las definiciones es independiente.

Siempre que se utilice en esta memoria, la expresión "compuestos de fórmula I", o "los presentes compuestos" o expresiones similares, pretende incluir los compuestos de fórmula I, incluyendo las posibles formas estereoisoméricas y las sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos.

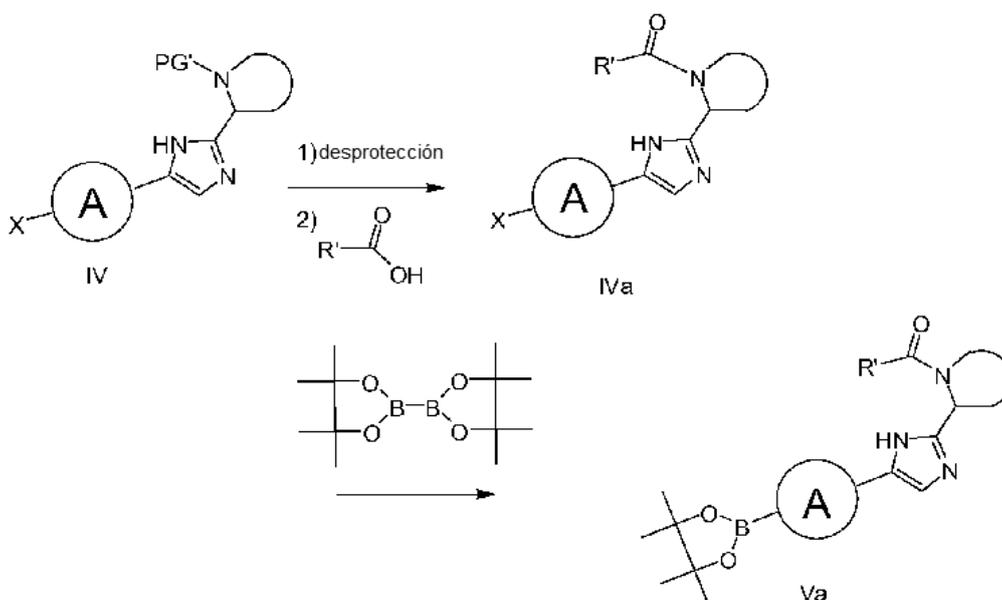
#### Métodos de síntesis generales

## Esquema Ia



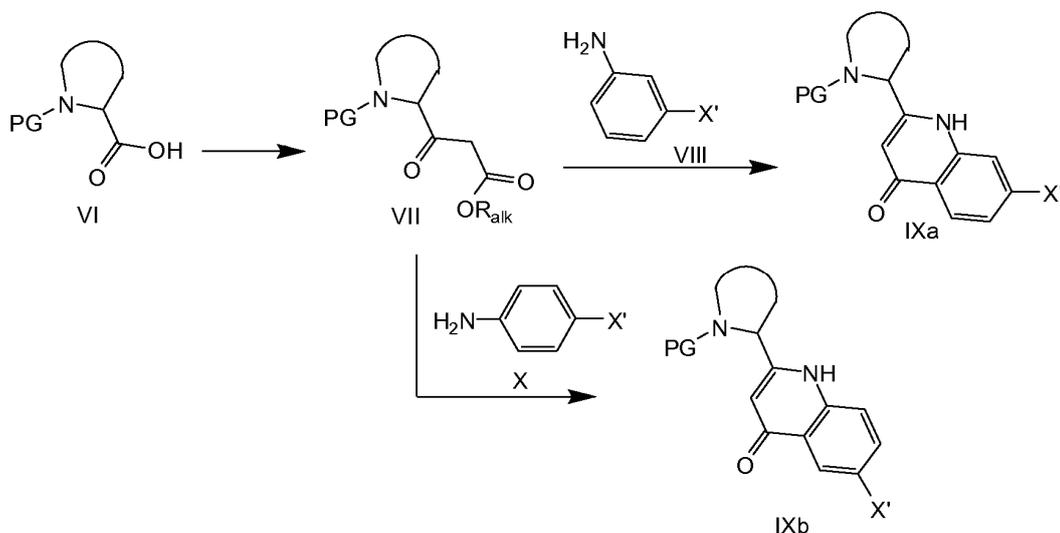
- En el esquema 1 se describen bloques de construcción utilizados en la síntesis de compuestos de fórmula I. α-amino-cetona **IIa** (Esquema 1, A' = NH<sub>2</sub>), con X un halógeno, en particular bromo o yodo, se acopla con un derivado **III** adecuadamente protegido, en donde PG' es un grupo protector en el nitrógeno, preferiblemente *tert*-butoxicarbonilo, en presencia de un reactivo de acoplamiento para la acilación del grupo amino, preferiblemente HATU, en presencia de una base tal como DIPEA. El compuesto intermedio, así formado, se cicla a un compuesto de imidazol de fórmula general **IV** mediante tratamiento con acetato de amonio, preferiblemente a una temperatura comprendida entre 0°C y 150°C.
- 10 Alternativamente, el imidazol intermedio **IV** puede obtenerse mediante el acoplamiento de una α-halo-cetona **IIb**, en donde X y A' representan cada uno independientemente un átomo de halógeno, X se selecciona preferiblemente de yodo o bromo y A' se selecciona preferiblemente entre cloro, bromo o yodo, con un compuesto **III** adecuadamente protegido, en donde PG' es un grupo protector en el nitrógeno, preferiblemente *tert*-butoxicarbonilo, en presencia de una base adecuada, por ejemplo DIPEA, seguido de ciclación para el compuesto intermedio imidazol **IV** tal como se describe arriba. Este compuesto intermedio **IV** se puede transformar en un éster borónico de fórmula **V** bajo condiciones catalizadas por Pd, por ejemplo en presencia de Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, *bis*(pinacolato)diboro y una base, por ejemplo acetato de potasio. De manera similar, los compuestos de fórmula **IVa** se pueden transformar en compuestos de fórmula **Va** según se representa en el Esquema Ib. **IVa** se puede obtener por separación del grupo protector PG' (p. ej., utilizando HCl en dioxano o TMSOTf/lutidina en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en el caso de que PG' sea igual a *tert*-butiloxicarbonilo), seguido del acoplamiento de la amina resultante con un ácido de fórmula R'(CO)OH en condiciones de formación de enlace amida típicas (p. ej., mediante tratamiento con HATU o HBTU y una base tal como DIPEA o el uso de EDCI/HOBt/DIPEA).
- 15
- 20

## Esquema Ib



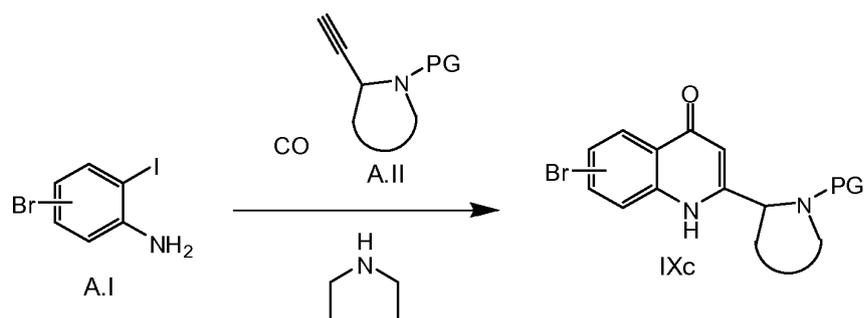
Otros bloques de construcción se describen en los esquemas 2a, 2b, 2c y 3a, 3b, 3c, 3d, 3e.

#### Esquema 2a



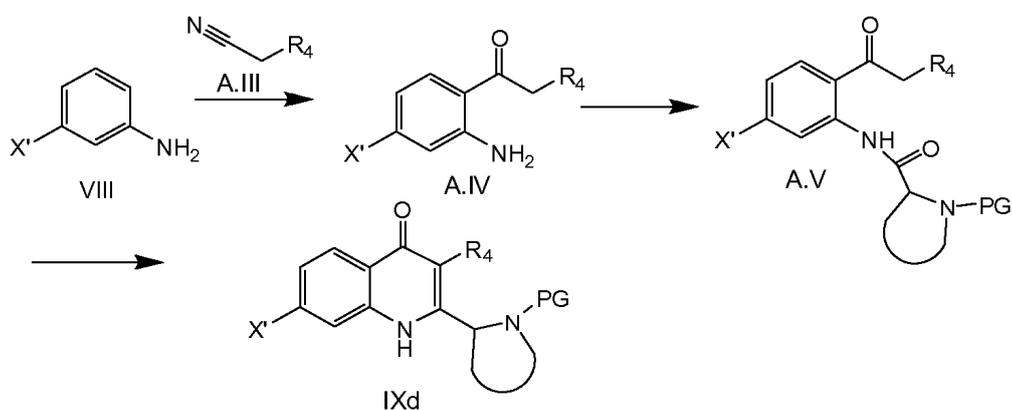
- 5 En el esquema 2a, el derivado de ácido **VI** se convierte en un  $\beta$ -cetoéster **VII** por métodos conocidos en la bibliografía, por ejemplo mediante activación del ácido carboxílico con DCC o CDI, seguido, por ejemplo, de la reacción con ácido de Meldrum y subsiguiente descarboxilación en presencia de un alcohol, o como una alternativa mediante condensación con una sal de magnesio de malonato de monoalquilo seguido de descarboxilación. El  $\beta$ -cetoéster **VII** ( $R_{alk}$  se refiere a alquilo  $C_{1-4}$ ) se condensa luego con **VIII** o **X**, seguido por ciclación a **IXa** y **IXb**, respectivamente ( $X'$  es un halógeno seleccionado entre yodo o bromo, preferiblemente bromo). Esta condensación puede llevarse a cabo en tolueno en presencia de ácido acético. La ciclación a los compuestos de fórmulas **IXa** y **IXb** se puede realizar térmicamente por calentamiento a reflujo en Dowtherm™ A (mezcla de óxido de difenilo y bifenilo). Un ejemplo preferido del grupo protector PG es benciloxicarbonilo (CBz).
- 10

#### Esquema 2b



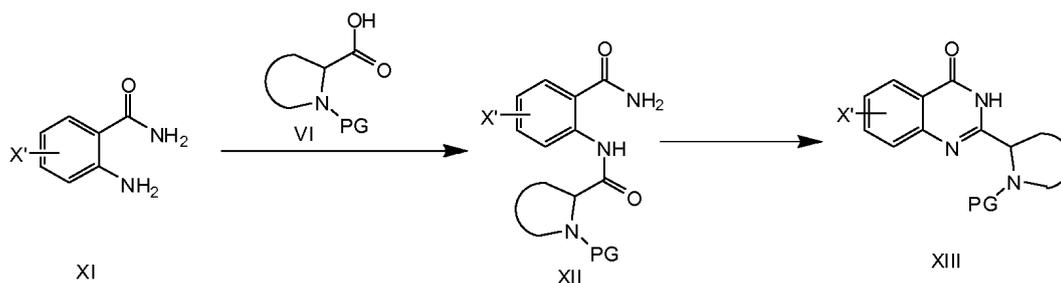
Alternativamente, compuestos de la fórmula general **IXc** se pueden obtener mediante una secuencia de Sonogashira/ciclación carbonilativa catalizada por Pd tal como se describe en el Esquema 2b. Partiendo del compuesto de yodo-anilina **A.I.**, bajo procesos similares a los descritos en *Applied Catalysis, A: General* **2009**, 369, 1-2, 125-132 y referencias citadas en el mismo.

#### Esquema 2c



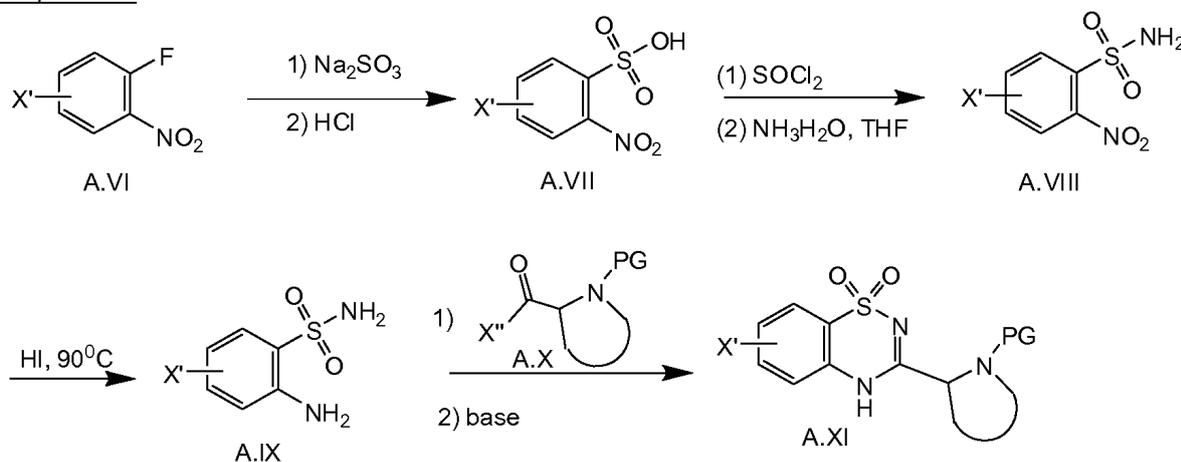
Compuestos de la fórmula general **IXd**, en donde  $R_4$  es igual a H o alquilo  $C_{1-4}$ , se pueden obtener tal como se muestra en el Esquema 2c. El compuesto **VIII** ( $X'$  es halógeno seleccionado entre yodo o bromo, preferiblemente bromo) se puede convertir en el compuesto **A.IV**, por ejemplo mediante tratamiento de **VIII** con  $BCl_3$  en un disolvente tal como benceno, a una temperatura más baja que la temperatura ambiente, por ejemplo mediante enfriamiento con hielo, seguido de tratamiento con  $AlCl_3$  y nitrilo **A.III** ( $R_4$  es igual a H o alquilo  $C_{1-4}$ ), por ejemplo a reflujo en benceno. Después de la hidrólisis, se puede obtener el compuesto **A.IV**. La formación del enlace amida a partir de **A.IV** y **VI** resulta en la formación de compuesto **A.V**. Esta reacción puede efectuarse convirtiendo el compuesto **VI** a un haluro de ácido, por ejemplo un fluoruro de ácido o cloruro de ácido, seguido de reacción con **A.IV** en presencia de una base. Otro ejemplo es la formación de **A.V** de **VI** y **A.IV** mediante el uso del reactivo de acoplamiento cloruro de 4-(4,6-dimetoxi[1.3.5]triazin-2-il)-4-metilmorfolinio o sal de  $BF_4$  (DMTMM). La ciclación de **A.V**, en condiciones básicas, por ejemplo KOH en EtOH, o NaOH en dioxano, da como resultado compuesto **IXd**.

#### Esquema 3a



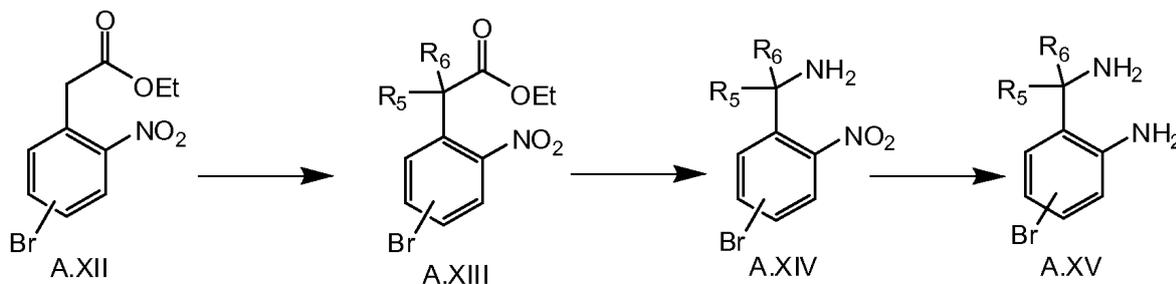
5 La síntesis de compuestos de la fórmula **XIII** se describe en el Esquema 3a. La formación del enlace amida a partir de **XI** ( $X'$  es un halógeno seleccionado entre yodo o bromo, preferiblemente bromo) y **VI** resulta en la formación de compuesto **XII**. Esta reacción puede llevarse a cabo mediante la conversión de compuesto **VI** a un haluro de ácido, por ejemplo un fluoruro de ácido o cloruro de ácido, seguido de reacción con **XI** en presencia de una base. Otro ejemplo es la formación de **XII** a partir de **VI** y **XI** mediante el uso del reactivo de acoplamiento cloruro de 4-(4,6-dimetoxi[1.3.5]triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM). Compuestos **XII** se convierten luego en compuestos de la fórmula general **XIII** en condiciones básicas, por ejemplo KOH o  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en etanol.

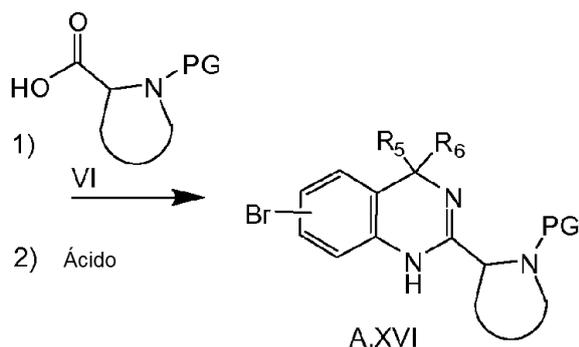
10 Esquema 3b



15 Compuesto de fórmula general **A.XI** ( $X'$  es un halógeno seleccionado entre yodo o bromo, preferiblemente bromo) se puede obtener tal como se muestra en el Esquema 3b. Utilizando métodos descritos en la bibliografía (documento WO2007039578; *Tet. Lett.* **2001**, 42, 33, 5601-5603), el fluoruro **A.VI** se puede convertir en **A.IX**. Este último se acopla con haluro de ácido **A.X** (en que  $X''$  es igual a cloro o fluoro) en presencia de una base, por ejemplo trietilamina, seguido de ciclación en el compuesto **A.XI** en condiciones básicas tales como, por ejemplo,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  2N acuoso a reflujo.

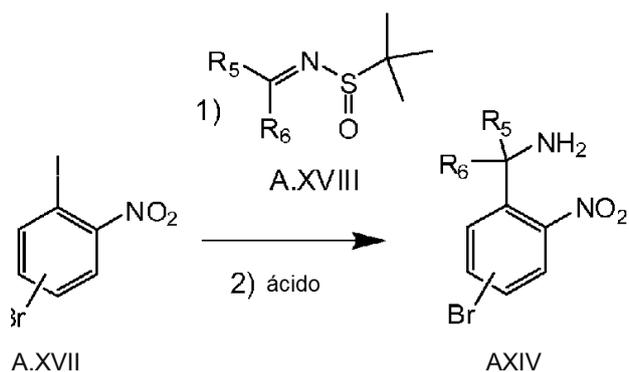
Esquema 3c





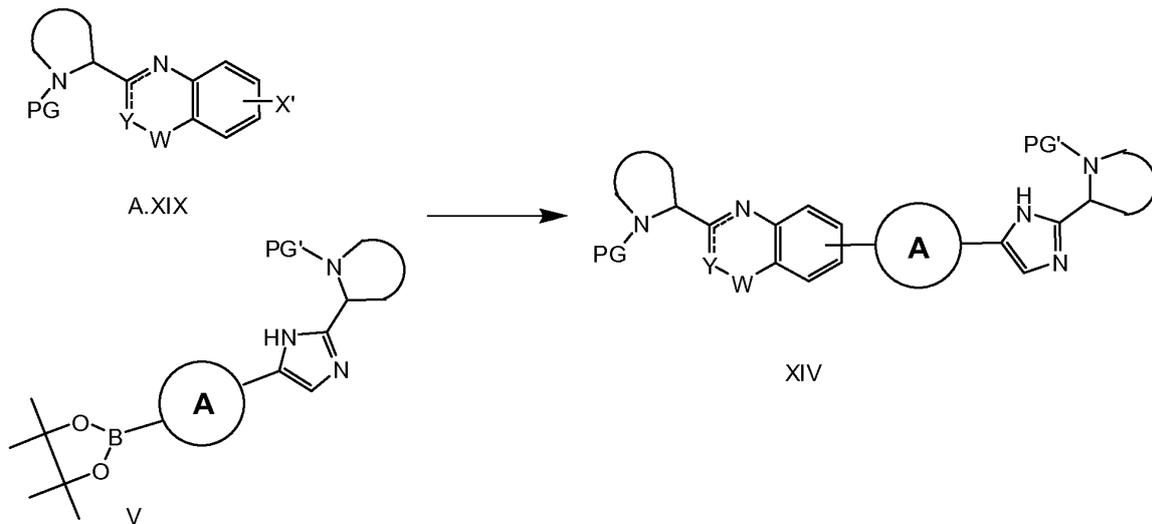
5 El compuesto de fórmula general **A.XVI** se puede obtener tal como se muestra en el Esquema 3c. La dialquilación de éster **A.XII** con el haluro de alquilo apropiado, por ejemplo MeI en el caso de  $R_5 = R_6 =$  metilo, en presencia de una base, por ejemplo NaH, resulta en el compuesto **A.XIII**. Este éster se puede convertir en el compuesto **A.XIV** mediante subsiguiente hidrólisis, formación de azida de acilo (por ejemplo mediante tratamiento del ácido correspondiente de **A.XIII** con difenilfosforil azida) y reacción de Curtius. Después de la reducción del compuesto **A.XIV** a **A.XV**, este último compuesto se convierte en el compuesto **A.XVI** mediante acoplamiento con ácido **VI**, por ejemplo mediante tratamiento con HATU y una base tal como trietilamina, y la subsiguiente ciclación en el compuesto **A.XVI** bajo condiciones ácidas, por ejemplo en ácido acético a 50°C.

10 Esquema 3d



15 Un procedimiento alternativo para la síntesis de compuesto **A.XIV** (por ejemplo en el caso de que  $R_5$  y  $R_6$ , junto con el carbono que los conecta, formen un oxetano) se representa en el esquema 3d. El anión, generado mediante una reacción de transmetalación, por ejemplo butil-litio y compuesto **A.XVII** a baja temperatura, por ejemplo -78°C, se puede hacer reaccionar con una sulfonamida **A.XVIII**. Después de la desprotección de la sulfonamida formada, en condiciones ácidas, se obtiene el compuesto **A.XIV**, que se puede transformar adicionalmente en **A.XVI** tal como se describe en el Esquema 3c.

Esquema 4

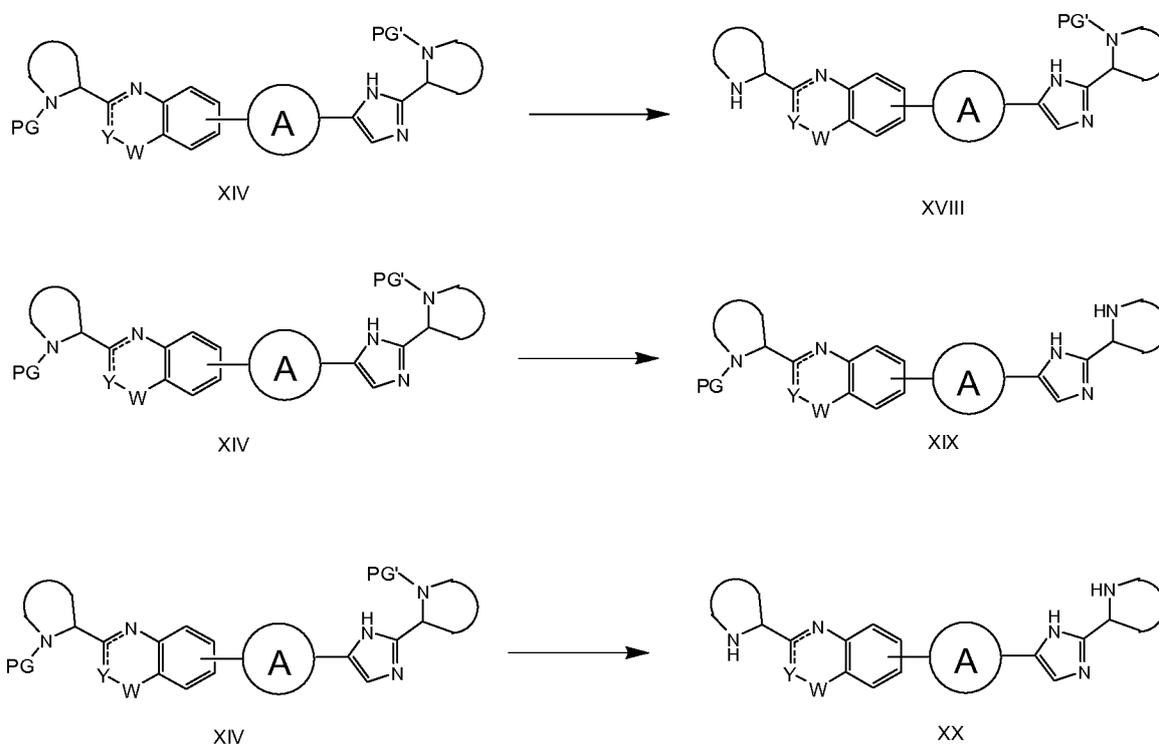


Los bloques de construcción **A.XIX**, obtenidos por métodos similares a los descritos en los esquemas 2 (a, b, c) y los esquemas 3 (a, b, c y d) y **V** (Esquema 1) se pueden convertir en la estructura **XIV**, utilizando las condiciones de Suzuki-Miyaura (esquema 4). Una reacción de Suzuki-Miyaura similar se puede realizar cuando **V** está sustituido con **Va** y/o **A.XIX** con **A.XIXa**, dando como resultado compuestos con la fórmula general **XXI**, **XXIII** o **I**. **A.XIXa** puede obtenerse a partir de **A.XIX** mediante la separación selectiva del grupo protector PG (p. ej., mediante el uso de HCl en dioxano, TMSOTf/lutidina en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, o TFA en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en caso de que PG sea igual a *tert*-butiloxicarbonilo o HBr en HOAc/H<sub>2</sub>O en caso de que PG sea igual a benciloxicarbonilo), seguido del acoplamiento de la amina resultante con un ácido de fórmula R(CO)OH en condiciones de formación de enlace amida típicas (p. ej., mediante tratamiento con HATU o HBTU y una base tal como DIPEA o el uso de EDCI/HOBt/DIPEA) (esquema 3e).

Esquema 3e

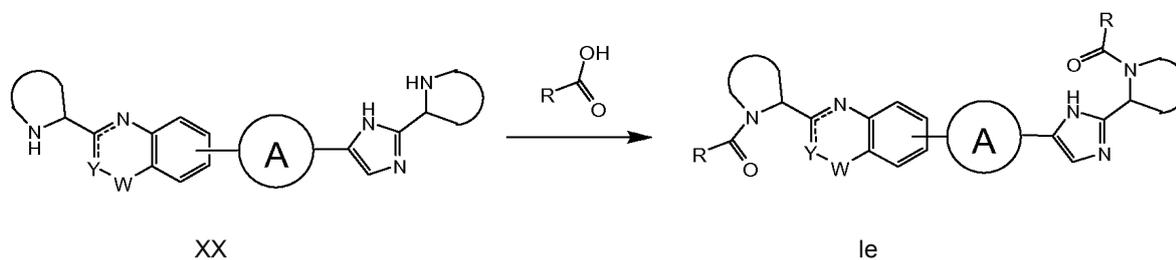


## Esquema 5



Cuando PG' y PG en los esquemas 1 a 4 representan R'(C=O)- y R(C=O)-, respectivamente, los compuestos de estructura general **XIV** caen bajo la definición de los compuestos de fórmula **I**. En ese caso, el esquema 4 describe la síntesis de compuestos de fórmula **I**. Alternativamente, **XIV** se puede desproteger según se describe en el esquema 5. Por ejemplo, mediante tratamiento con un ácido (por ejemplo HCl en iPrOH) cuando PG o PG' representan *tert*-butiloxicarbonilo (Boc). El compuesto **XX** puede transformarse en un compuesto de fórmula **le**, en donde R y R' son idénticos, mediante la formación de amidas clásica entre un ácido R-(C=O)OH y bisamina **XX** según se describe en el esquema 6. Métodos preferidos son el uso de HATU en presencia de una base tal como DIPEA, o HOBT en presencia de EDCI y NEt<sub>3</sub>.

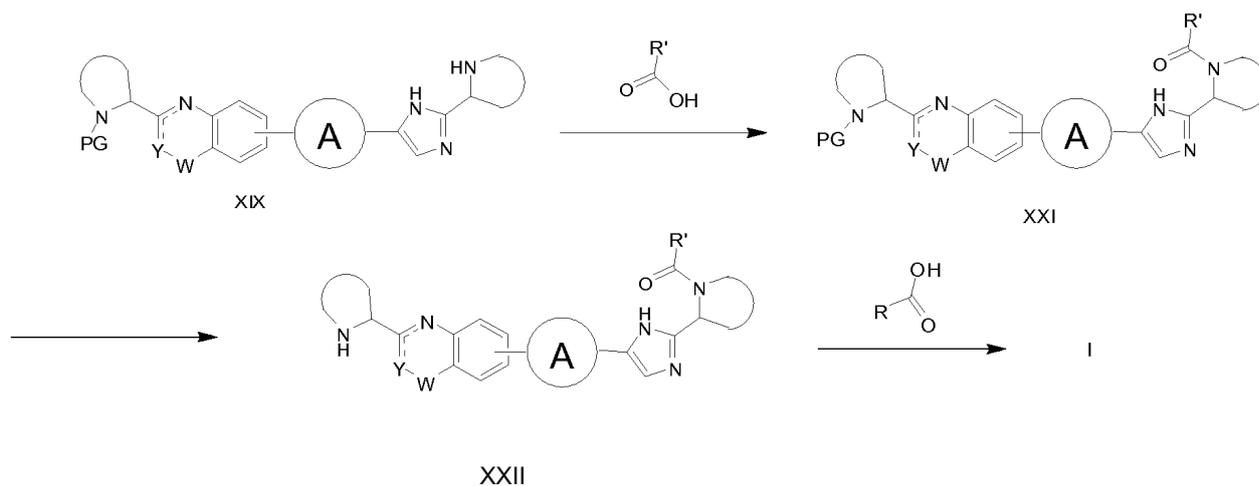
## Esquema 6



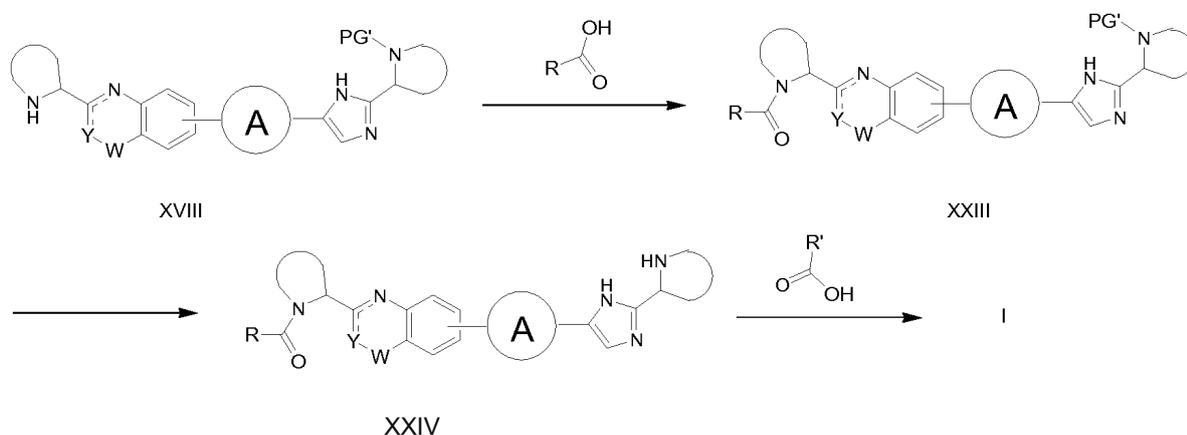
En los casos en los que PG' difiere de PG, es posible una desprotección selectiva, tal como se describe en el Esquema 5, resultando en los compuestos **XVIII** o **XIX** partiendo de **XIV**. Por ejemplo, en el caso de que PG' sea igual a *tert*-butiloxicarbonilo (Boc) y PG sea igual a benciloxicarbonilo (Cbz), la desprotección selectiva puede llevarse a cabo por separación del grupo protector de Boc en condiciones ácidas tal como HCl en iPrOH a temperatura ambiente, o mediante la separación del grupo protector de Cbz en condiciones reductoras tales como hidrógeno en presencia de un catalizador, p. ej. Pd(OH)<sub>2</sub>.

5 Cuando PG' representa R'(C=O)- o PG representa R(C=O)-, la síntesis de compuestos **XIV** tal como se describe en los esquemas 1 a 4 resulta en compuestos de fórmula **XXI** (Esquema 7) o **XXIII** (Esquema 8), respectivamente. Los compuestos **XXI** y **XXIII** se pueden obtener a partir del compuesto **XIX** y R'(C=O)OH o **XVIII** y R(C=O)OH, respectivamente, bajo condiciones típicas de formación de amidas. Estos compuestos pueden entonces ser transformados en compuestos de fórmula I. La desprotección selectiva de **XXI** a **XXII**, seguido de la formación del enlace amida entre **XXII** y R(C=O)-OH resulta en compuestos de la fórmula I. Una secuencia de reacción análoga se puede aplicar entonces para transformar **XXIII** en **XXIV** y en adelante a compuestos de fórmula I.

#### Esquema 7



#### Esquema 8



15 En un aspecto adicional, la presente invención concierne a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I tal como se especifica en esta memoria, y un soporte farmacéuticamente aceptable. Una cantidad terapéuticamente eficaz en este contexto es una cantidad suficiente para estabilizar o para reducir la infección por el VHC en sujetos infectados, o una cantidad suficiente para prevenir la infección por VHC en sujetos en riesgo de ser infectados. Todavía en un aspecto adicional, esta

20 invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica tal como se especifica en esta memoria, que comprende mezclar íntimamente un soporte farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, tal como se especifica en esta memoria.

25 Por lo tanto, los compuestos de la presente invención o cualquier subgrupo de los mismos pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para fines de administración. Como composiciones apropiadas se pueden citar todas las composiciones empleadas habitualmente para administrar fármacos sistémicamente. Para preparar las

composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal por adición o complejo metálico, como el ingrediente activo, se combina en mezcla íntima con un soporte farmacéuticamente aceptable, soporte que puede adoptar una amplia diversidad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas son deseables en forma de dosificación unitaria adecuada, particularmente, para la administración por vía oral, rectal, percutánea, o por inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares, en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y disoluciones; o soportes sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas unitarias de dosificación oral más ventajosas, en cuyo caso se emplean obviamente soportes farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el soporte comprenderá habitualmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para ayudar a la solubilidad. Por ejemplo, se pueden preparar disoluciones inyectables, en las que el soporte comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear soportes líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados. También se incluyen preparados en forma sólida destinados a convertirse, poco antes de su uso, en preparados en forma líquida. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el soporte comprende opcionalmente un agente que mejora la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinado opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones secundarias, aditivos que no introducen un efecto deletéreo significativo en la piel. Los compuestos de la presente invención se pueden administrar también a través de inhalación oral o insuflación en forma de una disolución, una suspensión o un polvo seco utilizando cualquier sistema de administración conocido en la técnica.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas arriba mencionadas en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de dosificación unitaria, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada una de las unidades una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el soporte farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de dosificación unitaria son comprimidos (incluyendo comprimidos con muesca o recubiertos), cápsulas, píldoras, supositorios, paquetes de polvos, pastillas, disoluciones o suspensiones inyectables y similares, y múltiplos segregados de los mismos.

Los compuestos de fórmula I muestran actividad contra el VHC y pueden ser utilizados en el tratamiento y la profilaxis de la infección por VHC o enfermedades asociadas con el VHC. Estas últimas incluyen fibrosis progresiva del hígado, inflamación y necrosis que conduce a cirrosis, enfermedad hepática de fase terminal y carcinoma hepatocelular. Además de ello, se sabe que un cierto número de los compuestos de esta invención activos contra cepas mutadas del VHC. Adicionalmente, los compuestos de esta invención pueden tener propiedades atractivas en términos de biodisponibilidad, mostrar un perfil farmacocinético favorable, incluyendo una semivida aceptable, AUC (área bajo la curva), valores pico y de valle, y carecen de fenómenos desfavorables tales como comienzo insuficientemente rápido o retención de tejido.

La actividad antiviral *in vitro* contra el VHC de los compuestos de fórmula I se puede someter a ensayo en un sistema de replicación del VHC celular basado en Lohmann et al. (1999) *Science* 285: 110-113, con modificaciones adicionales descritas por Krieger et al. (2001) *Journal of Virology* 75: 4614-4624 y Lohmann et al. (2003) *Journal of Virology* 77: 3007-3019 para el genotipo 1b y por Yi et al (2004) *Journal of Virology* 78: 7904-7915 para el genotipo 1a (incorporado aquí como referencia), que se ejemplifica adicionalmente en la sección de ejemplos. Este modelo, aunque no es un modelo de infección completa para el VHC, es ampliamente aceptado como el modelo más robusto y eficiente actualmente disponible de la replicación autónoma del ARN del VHC. Se apreciará que es importante distinguir entre compuestos que interfieren específicamente con las funciones del VHC y los que ejercen efectos citotóxicos o citostáticos en el modelo de replicación del VHC y, como consecuencia, provocan una disminución en el ARN del VHC o una concentración de la enzima informadora ligada. Los ensayos son conocidos en el campo para la evaluación de la citotoxicidad celular basada, por ejemplo, en la actividad de enzimas mitocondriales utilizando colorantes fluorogénicos redox tal como resazurina. Además, existen tamicos de recuento celular para la evaluación de la inhibición no selectiva de la actividad del gen informador ligado, tales como la luciferasa de la luciérnaga. Tipos de células apropiados pueden equiparse mediante transfección estable con un gen informador de luciferasa, cuya expresión depende de un promotor del gen constitutivamente activo, y tales células pueden utilizarse como un contador de pantalla para eliminar inhibidores no selectivos.

Debido a sus propiedades anti-VHC, los compuestos de fórmula I o subgrupos de los mismos, según se especifica en esta memoria, son útiles en la inhibición de la replicación del VHC, en particular en el tratamiento de animales homeotermos, en particular seres humanos, infestados con el VHC, y para la profilaxis de infecciones por el VHC en animales homeotermos, en particular seres humanos. La presente invención se refiere, además, a un método de tratamiento de un animal homeotermo, en particular un ser humano, infestado por el VHC, o que está en riesgo de infección por el VHC, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, según se define antes en esta memoria.

Por lo tanto, los compuestos de fórmula I tal como se especifica en esta memoria, pueden ser utilizados como una medicina, en particular como una medicina anti-VHC. Dicho uso como una medicina o método de tratamiento comprende la administración sistémica a sujetos infestados por el VHC o a sujetos susceptibles a la infección por el VHC de una cantidad eficaz para aliviar o prevenir los síntomas y estados asociados con la infección por el VHC.

La presente invención también se refiere al uso de los presentes compuestos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección por el VHC.

En general, se contempla que una cantidad diaria antiviral eficaz sería de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg, o de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida en forma de dos, tres, cuatro o más sub-dosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas sub-dosis se pueden formular como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg, o aproximadamente 1 a aproximadamente 300 mg, o aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg, o aproximadamente 2 a aproximadamente 50 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

#### Terapia de combinación

La invención también se refiere a una combinación de un compuesto de fórmula I, a una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, y a otro compuesto antiviral, en particular, otro compuesto anti-VHC. El término "combinación" se refiere a un producto que contiene (a) un compuesto de fórmula I, según se define antes en esta memoria, y (b) otro inhibidor anti-VHC, en forma de un preparado combinado para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de infecciones por el VHC.

Las combinaciones de la presente invención pueden utilizarse como medicamentos. Por consiguiente, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o cualquier subgrupo del mismo según se define anteriormente para la fabricación de un medicamento útil para inhibir la actividad del VHC en un mamífero infestado con virus VHC, en donde dicho medicamento se utiliza en una terapia de combinación, comprendiendo dicha terapia de combinación, en particular, un compuesto de fórmula (I) y al menos otro agente anti-VHC, p. ej., IFN- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  pegilado, ribavirina, albuferón, taribavirina, nitazoxanida Debio025 o una combinación de los mismos.

Otros agentes que se pueden combinar con los compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo, inhibidores nucleósidos y no nucleósidos de la polimerasa del VHC, inhibidores de proteasa, inhibidores de helicasa, inhibidores de NS4B y agentes que inhiben funcionalmente el sitio interno de entrada en el ribosoma (IRES) y otros agentes que inhiben la unión del VHC celular o la entrada del virus, la traducción del ARN del VHC, la transcripción del ARN del VHC, la replicación o la maduración del VHC, reunión o liberación del virus. Compuestos específicos de estas clases incluyen inhibidores de la proteasa del VHC tales como telaprevir (VX-950), boceprevir (SCH-503034), narlaprevir (SCH-900518), ITMN-191 (R-7227), TMC-435350 (TMC-435), MK-7009, BI-201335, BI-2061 (ciluprevir), BMS-650032, ACH-1625, ACH-1095, GS 9256, VX-985, IDX-375, VX-500, VX-813, PHX-1766, PHX2054, IDX-136, IDX-316, ABT-450, EP-013420 (y congéneres) y VBY-376; los inhibidores de la polimerasa del VHC nucleósidos útiles en la invención incluyen TMC649128, R7128, PSI-7851, PSI 7977, IDX-189, IDX-184, IDX-102, R1479, UNX-08189, PSI-6130, PSI-938 y PSI-879 y diversos otros análogos de nucleósidos y nucleótidos, e inhibidores del VHC que incluyen los derivados como nucleósidos modificados 2'-C-metilo, nucleósidos modificados 4'aza y nucleósidos modificados 7'-desaza. Inhibidores de la polimerasa del VHC no nucleósidos útiles en la invención incluyen HCV-796, HCV-371, VCH-759, VCH-916, VCH-222, ANA-598, MK-3281, ABT-333, ABT-072, PF-00868554, BI-207127, GS-9190, A-837093, JKT-109, GL-59728, GL-60667, ABT-072, AZD-2795 y TMC647055.

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar la invención y no deben interpretarse como una limitación de su alcance.

#### **Parte experimental:**

Métodos LCMS

**Método A:** Información general: fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%; B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 2 min, tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0,01 [90/10] a 0,9 [20/80] a 1,5 [20/80] a 1,51 [90/10]; caudal: 1,2 mL/min; temp. de la columna: 50°C

5 Método A1: Shimadzu LCMS 2010, Shim-pack XR-ODS, 3 \* 30 mm

Método A2: Xtimate C18 2,1 \* 30 mm, 3 um

Método A3: SHIMADZU Shim pack 2 \* 30

10 **Método B:** Agilent 1100, YMC-Pack ODS-AQ, 50x2,0 mm 5 µm fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%; B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 10 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0 [100/0] a 1 [100/0] a 5 [40/60] a 7,5 [40/60] a 8 [100/0]; caudal: 0,8 mL/min; temp. de la columna: 50°C

**Método C:** Agilent 1100, YMC-Pack ODS-AQ, 50x2,0 mm 5 µm fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%; B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 10 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0 [90/10] a 0,8 [90/10] a 4,5 [20/80] a 7,5 [20/80] a 8 [90/10]; caudal: 0,8 mL/min; temp. de la columna: 50°C

15 **Método D:** Shimadzu LCMS 2010, Shim-pack XR-ODS, 3 \* 30 mm, fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%; B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 2 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0,01 [100/0] a 0,9 [70/30] a 1,5 [70/30] a 1.51 [100/0]; caudal: 1,2 mL/min; temp. de la columna: 50°C

20 **Método E:** Cromatografía líquida: Waters Alliance 2695, detector de UV: Waters 996 PDA, intervalo 210 - 400 nm; detector de masas: Waters ZQ, fuente de iones: ES +, ES- Columna utilizada: SunFire C18 3,5 µ 4,6x100 mm fase móvil A: NH<sub>4</sub>OOCH 10 mM + HCOOH al 0,1% en H<sub>2</sub>O; fase móvil B: CH<sub>3</sub>OH; temp. de la columna: 50°C; caudal: 1,5 mL/min. tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0 [65/35] a 7 [5/95] a 9,6 [5/95] a 9,8 [65/35] a 12 [65/35].

**Método F:** Xtimate C18 2,1 \* 30 mm, 3 um, fase móvil A: H<sub>2</sub>O (1,5 mL de TFA/4 L); B: CH<sub>3</sub>CN (0,75 mL de TFA/4 L) Tiempo de parada: 3 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0,0 [90/10] a 1,35 [20/80] a 2,25 [20/80] a 2,26 [90/10]; 3,0 [90/10] caudal: 0,8 mL/min; temp. de la columna.: 50°C

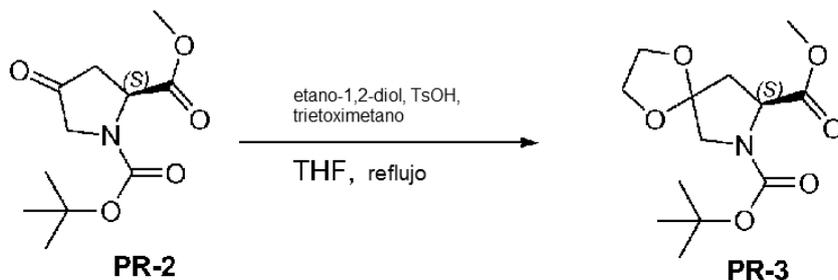
25 **Método G:** Condiciones generales: fase móvil A: H<sub>2</sub>O (1,5 mL de TFA/4 L); B: CH<sub>3</sub>CN (0,75 mL de TFA/4 L) Tiempo de parada: 2 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0,0 [100/0] a 0,9 [40/60] a 1,5 [40/60] a 1,51 [100/0]; 2,0 [100/0] caudal: 1,2 mL/min; temp. de la columna: 50°C Método G1: Xtimate C18, 2,1 \* 30 mm, 3um

30 **Método H:** Condiciones generales: fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%); B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 10 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0,0 [90/10] a 0,8 [90/10] a 4,5 [20/80] a 7,5 [20/80]; 9,5 [90/10] caudal: 0,8 mL/min; temp de la columna: 50°C

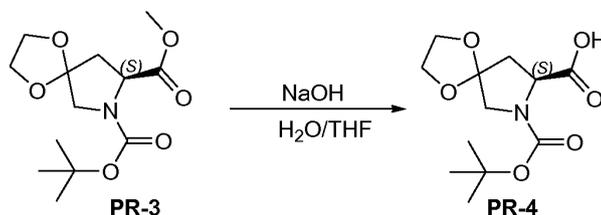
Método H1: Agilent TC-C 18,2.1 \* 50 mm, 5um

**Método I:** Shimadzu LCMS 2010, Shim-pack XR-ODS, 3 \* 30 mm, fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%; B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 7 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0,01 [90/10] a 6,0 [20/80] a 6,5 [20/80] a 6,51 [90/10]; caudal: 0,8 mL/min; temp de la columna: 50°C

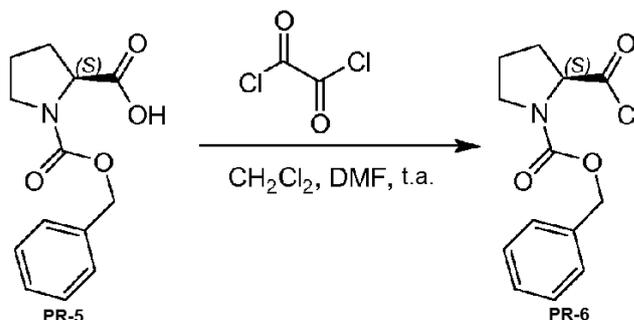
35 **Método J:** Agilent TC-C18, 50x2,1mm, 5 µm, fase móvil A: H<sub>2</sub>O (TFA al 0,1%; B: CH<sub>3</sub>CN (TFA al 0,05%) Tiempo de parada: 10 min; Tiempo de parada: 0,5 min; tiempo de gradiente (min) [% A/% B] 0 [100/0] a 1 [100/0] a 5 [40/60] a 7,5 [15/85] a 9,5 [100/0]; caudal: 0,8 mL/min; temp de la columna: 50°C



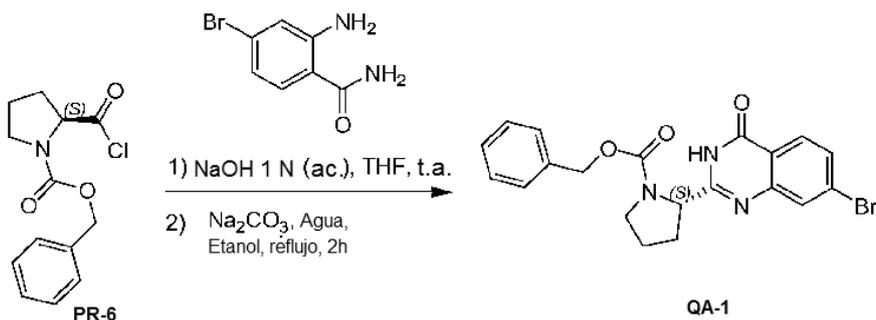
5 Compuesto **PR-2** (30 g, 123 mmol) en THF (120 mL), etano-1,2-diol (53,6 g, 864 mmol), trietoximetano (54,6 g, 369 mmol) y TsOH (3 g, 3,69 mmol) se añadieron a 25°C. La mezcla se agitó a reflujo durante 5 horas. La mezcla se vertió en NH<sub>4</sub>Cl acuoso (400 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La fase orgánica se concentró en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano: acetato de éter = 10:1), dando como resultado el compuesto **PR-3** (8,4 g).



10 A una disolución agitada de compuesto **PR-3** (8,4 g, 29,3 mmol) en THF/H<sub>2</sub>O (100 mL, 1:1) se añadió NaOH (5,85 g, 146 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 1 hora y se trató con acetato de etilo (20 mL). La capa inorgánica se separó, se ajustó a pH = 4 con HCl 2N y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL). La capa orgánica reunida se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío, resultando el compuesto **PR-4** (5,9 g).

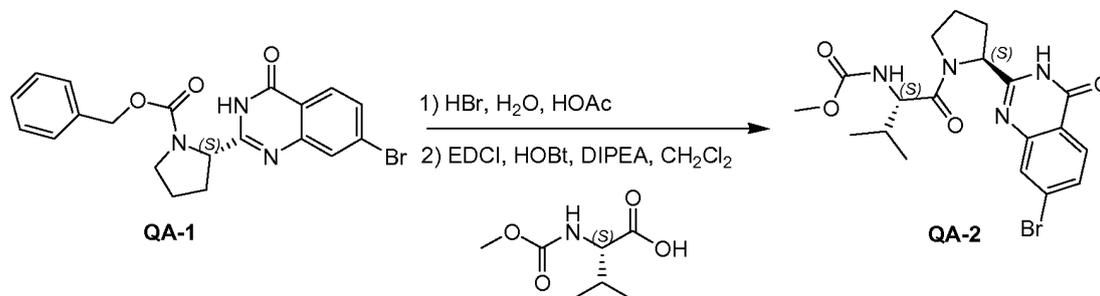


15 Se disolvió Compuesto **PR-5** (15,7 g, 63,1 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (250 mL) y se añadió DMF (1,5 mL) a la disolución. Cloruro de oxalilo (13,5 mL, 157,5 mmol) se añadió gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 0,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el residuo (**PR-6**, 22 g) se utilizó directamente sin purificación adicional.

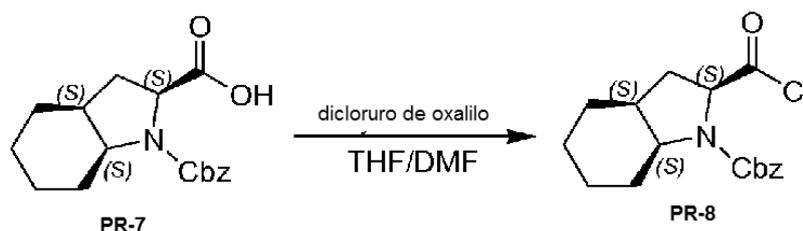


20 A la disolución de compuesto **PR-6** (bruto 22 g) en THF seco (250 mL) se añadió 2-amino-4-bromobenzamida (7,6 g, 35,3 mmol) y NaOH 1 N (ac. 85 mL, 85 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con NaOH 1 N en agua (15 mL), salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron en vacío, dando como resultado un residuo bruto (17 g). El residuo bruto, obtenido de manera similar a la descrita arriba (25 g), y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (17,8 g, 168 mmol) en etanol (250 mL) y H<sub>2</sub>O (250 mL) se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente orgánico se separó en vacío. La mezcla se extrajo con diclorometano (2 x 200 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera,

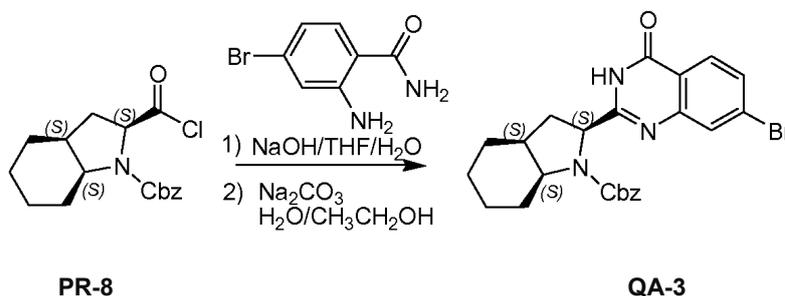
se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se purificaron mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo). Las fracciones deseadas se evaporaron hasta sequedad. El residuo obtenido se agitó en acetato de etilo (50 mL), el precipitado se separó mediante filtración y se lavó con acetato de etilo, resultando el compuesto **QA-1** (17 g).



- 5 Se disolvió compuesto **QA-1** (8 g, 18,6 mmol) en HOAc (80 mL) y se añadió HBr al 40% (40 mL). La mezcla se agitó a 80°C durante la noche. La mayor parte del disolvente se separó en vacío. El precipitado se separó mediante filtración y se lavó con metil-*t*-butil-éter. El sólido se co-evaporó con tolueno (2 x 20 mL), dando como resultado un residuo bruto (6,5 g). Parte de este residuo (6,4 g), ácido (*S*)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metil-butanoico (4,5 g, 25,6 mmol), EDCI (4,9 g, 25,6 mmol) y HOBT (1,15 g, 8,5 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (120 mL) se enfriaron luego a 0°C. Se añadió DIPEA (14,8 mL, 85,0 mmol). La mezcla se agitó durante 1,5 horas a 20°C. La capa orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (100 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente en gradiente: éter de petróleo:acetato de etilo: de 100:0 a 0:100), resultando el compuesto **QA-2** (3,3 g).

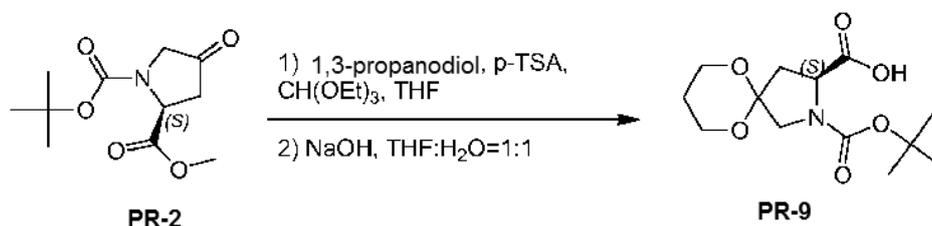


- 15 Compuesto **PR-7** (7,0 g, 23,21 mmol) en THF (70 mL) se agitó a 0°C. Se añadieron gota a gota dicloruro de oxalilo (7 mL, 46,2 mmol) y DMF (2 gotas) y la mezcla se agitó durante 10 min a 0°C. La mezcla se agitó y se sometió a reflujo durante 1 hora. La mezcla se enfrió y se evaporó en vacío, resultando el compuesto **PR-8** (7 g)

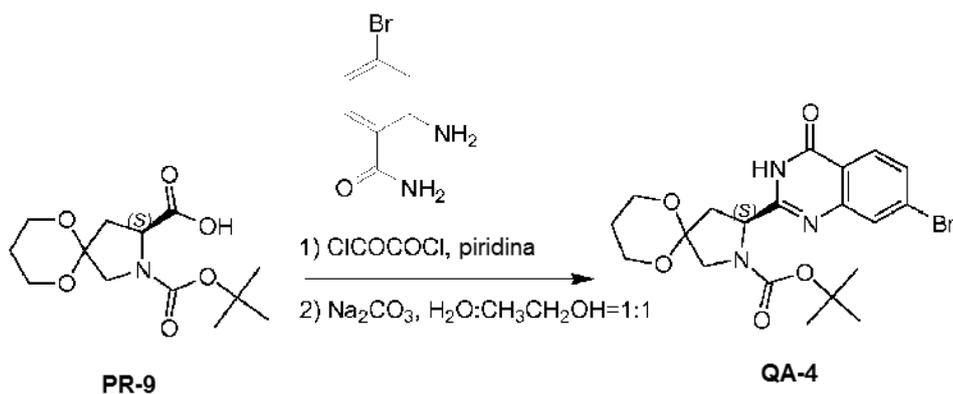


- 20 A la disolución del compuesto **PR-8** (7 g, 21 mmol) en THF (70 mL) se añadió 2-amino-4-bromobenzamida (4,5 g, 21 mmol) e NaOH 1 N (42 mL, 42 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora a 25°C. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Se recogieron las capas orgánicas, se lavó con NaOH 0,5 N, salmuera, se secó y se concentró en vacío, dando como resultado un residuo bruto (9 g). Este residuo (9 g) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5,7 g, 54 mmol) en H<sub>2</sub>O (200 mL) y THF (200 mL) se agitó y se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla se concentró en vacío y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 veces), se lavó con salmuera, se secó y se evaporó en vacío. El residuo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con HCl 1 N

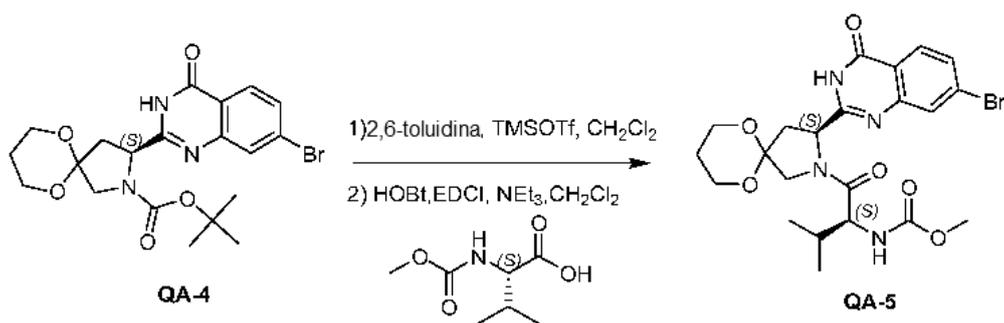
(3 veces), salmuera, se secó y se evaporó en vacío, resultando **QA-3** (4,4 g). Método A2; Rt: 1,27 min. m/z =: 484,0 (M + H)<sup>+</sup> Masa exacta: 483,1



5 Al compuesto **PR-2** (10 g, 41,2 mmol) en THF (100 mL), se añadieron a 25°C 1,3-propanodiol (22 g, 288-mmol), ortoformiato de trietilo (18,3 g, 123,6 mmol) y ácido tolueno-4-sulfónico (1 g, 0,2 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 2 horas. La mezcla se vertió en NH<sub>4</sub>Cl acuosa (400 mL), se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL) y se separó. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La fase orgánica se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano: acetato de éter = 5:1) y el compuesto obtenido (3,8 g) se disolvió en THF/H<sub>2</sub>O (40 mL, 1:1). Se añadió NaOH (2,52 g, 63 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se trató con acetato de etilo (20 mL). La capa inorgánica reunida se separó, el pH se ajustó a 4 con HCl 2N y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 20 mL). La capa orgánica reunida se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío resultando el compuesto **PR-9** (5,9 g).

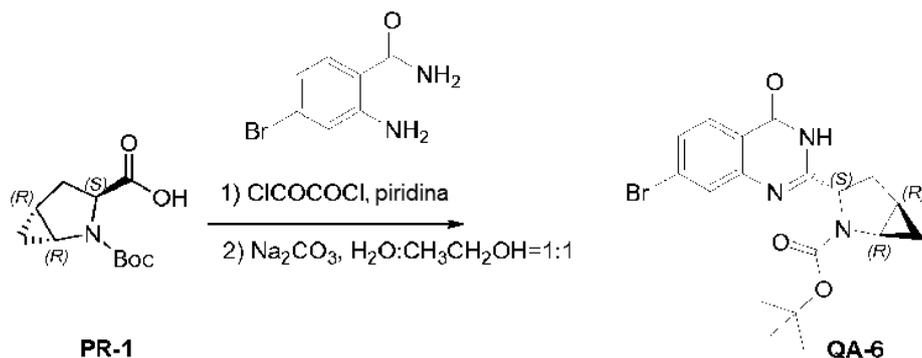


15 Dicloruro de oxalilo (2,5 mL, 13,11 mmol) se añadió gota a gota a una mezcla del compuesto **PR-9** (2,5 g, 8,74 mmol), 2-amino-4-bromobenzamida (2,5 g, 10,49 mmol) en diclorometano (20 mL) y piridina (20 mL) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo:acetato de éter = 1:1). El compuesto intermedio amida obtenido (0,98 g), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,08 g, 10,15 mmol), H<sub>2</sub>O (5 mL) y CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (5 mL) se agitó durante 2 horas a reflujo. La mayor parte del CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH se separó en vacío y el residuo obtenido se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío. El residuo se lavó con t-butil-metil-éter, resultando el compuesto **QA-4** (0,89 g).



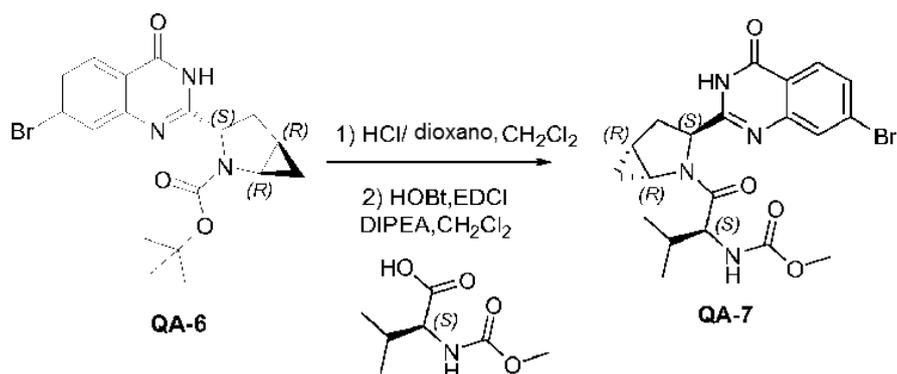
5 A una disolución agitada de compuesto **QA-4** (0,89 g, 1,92 mmol) y lutidina (0,41 g, 3,84 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10 mL) a 0°C se añadió gota a gota TMSOTf (1,7 g, 7,68 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 minutos, se enfrió bruscamente con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo; las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron en vacío. El residuo obtenido se utilizó como tal en la siguiente reacción (0,3 g). Método A2; Rt: 0,68 min. m/z =: 368,0 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 367,0.

10 NEt<sub>3</sub> (0,5 mL, 2,46 mmol) se añadió a la disolución del residuo obtenido anteriormente (0,3 g), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,22 g, 1,23 mmol), HOBt (0,17 g, 1,23 mmol) y EDCI (0,24 g, 1,23 mmol) en diclorometano (15 mL) en un baño de agua helada. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla se diluyó con diclorometano (20 mL) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado, salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (hexano:acetato de éter = 1:1), resultando el compuesto **QA-5** (0,2 g). Método A2; Rt: 1,14 min. m/z =: 547,1 (M+Na)<sup>+</sup> Masa exacta: 524,1

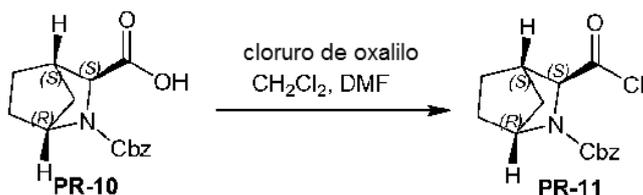


15 Cloruro de oxalilo (2,9 mL, 33 mmol) se añadió gota a gota a la mezcla de compuesto **PR-1** (5 g, 22 mmol), 2-amino-4-bromobenzamida (4,7 g, 22 mmol) y piridina (50 mL). La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía (éter de petróleo: acetato de éter = 5:1), resultando un compuesto intermedio (3,6 g). Método A2; Rt: 1,15 min. m/z =: 447,7 (M+Na)<sup>+</sup> Masa exacta: 425,1 El compuesto intermedio anterior obtenido (3,6 g.), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,7 g 25,4 mmol), H<sub>2</sub>O (20 mL) y CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (20 mL) se agitó durante 2 horas a reflujo. La mayor parte de CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH se separó en vacío. El residuo se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío. El residuo se lavó con t-butil-metil-éter, resultando el compuesto **QA-6** (3,4 g)

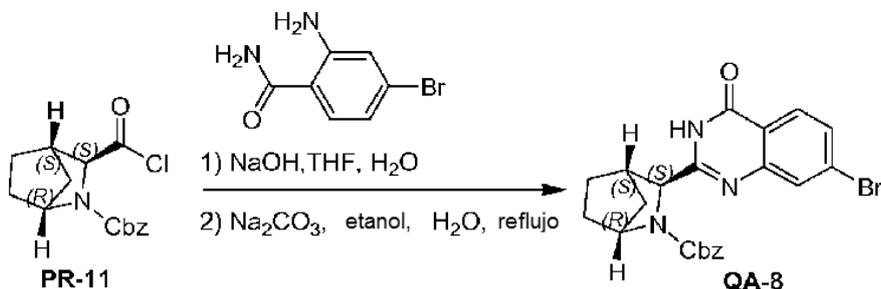
20



Compuesto **QA-6** (3,4 g, 8,4 mmol) se disolvió en diclorometano (30 mL) y se añadió gota a gota HCl/dioxano (3 mL) a la mezcla a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 5 horas a temperatura ambiente. El disolvente se separó en vacío. El residuo se lavó con t-butil-metil-éter y el residuo bruto obtenido se utilizó como tal (2,7 g). A una disolución de este producto bruto (2,7 g), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (2,75 g, 15,76 mmol), HOBt (2,42 g, 17,33 mmol) y EDCI (3,32 g, 17,33 mmol) en diclorometano (20 mL) enfriado en un baño de agua helada, se añadió DIPEA (14 mL, 78,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con diclorometano (20 mL), se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado, salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano: acetato de éter = 1:1), resultando el compuesto **QA-7** (2,5 g). SFC: Columna: AD-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 9,99 min



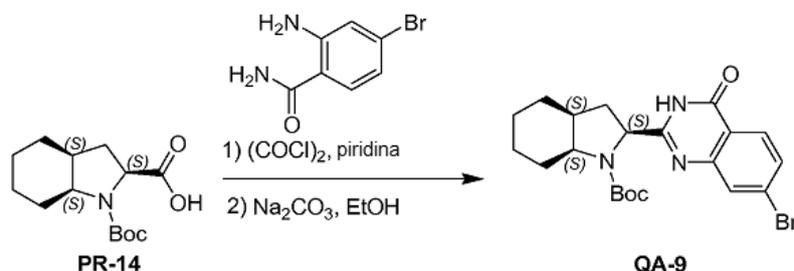
Compuesto **PR-10** (2,0 g, 7,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) se agitó a 0°C. Dicloruro de oxalilo (2,3 g, 18,2 mmol) y DMF (2 gotas) se añadieron gota a gota y la mezcla se agitó durante 10 minutos a 0°C. La mezcla se agitó durante 1 hora a 20°C. La mezcla se enfrió y se evaporó en vacío. El residuo se diluyó dos veces con tolueno (2 x 10 mL) y se evaporó, resultando un residuo (**PR-11**, 2,5 g).



A la disolución de compuesto **PR-11** (2,5 g) en THF (30 mL) se añadió 2-amino-4-bromobenzamida (1,57 g, 7,3 mmol) y NaOH 1 N (14,6 mL, 14,6 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora a 25°C. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 veces). Las capas orgánicas se reunieron, se lavaron con NaOH 0,5 N, salmuera, se secó y se concentró en vacío, resultando un residuo (3,5 g) que se agitó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,32 g, 21,9 mmol) en H<sub>2</sub>O (50 mL) y

THF (50 mL) y se sometió a reflujo durante 2 horas. Los componentes volátiles se separaron en vacío. La mezcla se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 veces), se lavó con salmuera, se secó y los componentes volátiles se separaron en vacío. El residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lavó con HCl 1 N (3 veces), salmuera, se secó y los componentes volátiles se separaron en vacío, resultando el compuesto **QA-8** (1,5 g). Método A2; Rt: 1,15 min.  $m/z = 453,9$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 453,1

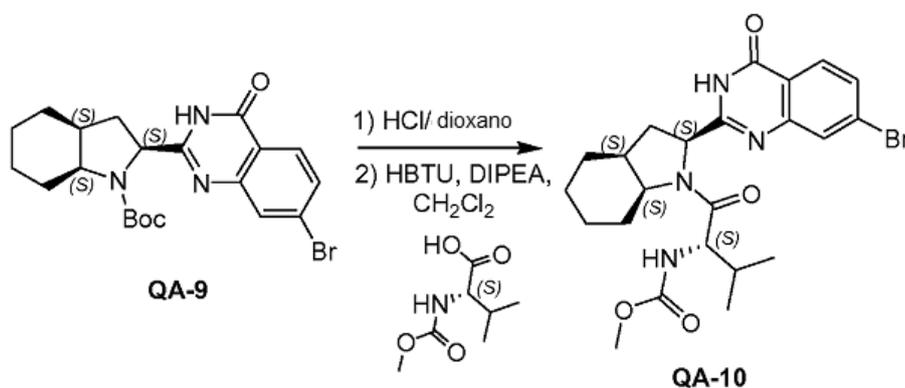
5



CICOCOCl (44,4 mL, 510,2 mmol) se añadió gota a gota a la mezcla de **PR-13** (100,6 g, 374 mmol), 2-amino-4-bromobenzamida (73,2 g, 340 mmol) y piridina (760 mL) bajo nitrógeno a 0°C. La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se separó en vacío.  $\text{NaHCO}_3$  saturado se añadió al residuo y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo tres veces. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con  $\text{NaHCO}_3$  saturado, salmuera y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 50:1$ ), resultando un compuesto intermedio de amida (50,6 g). Método A2; Rt: 1,15 min.  $m/z = 490,1$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 467,1 Una disolución del compuesto intermedio arriba obtenido (50,61g),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (34,51 g, 325,6 mmol),  $\text{H}_2\text{O}$  (300 mL) y  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (300 mL) se agitaron durante 3 horas a reflujo. EtOH se separó en vacío y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 mL). Las capas orgánicas reunidas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron en vacío. El residuo obtenido se lavó con t-butil-metil-éter resultante en el compuesto **QA-9** (39,2 g). Método A2; Rt: 1,37 min.  $m/z = 448,1$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 447,1

10

15

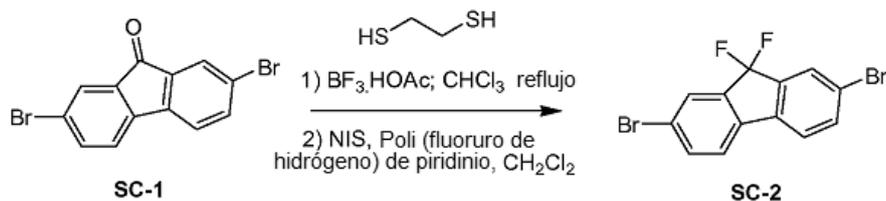


Se disolvió **QA-9** (39,2 g, 87,5 mmol) en diclorometano (400 mL). HCl/dioxano (470 mL) se añadió gota a gota a la mezcla a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 3,5 horas a temperatura ambiente. El disolvente se separó cuidadosamente en vacío. El residuo obtenido se lavó con metil-t-butil-éter, resultando un residuo (30,8 g) Método A2; Rt: 0,92 min.  $m/z = 348,1$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 347,1

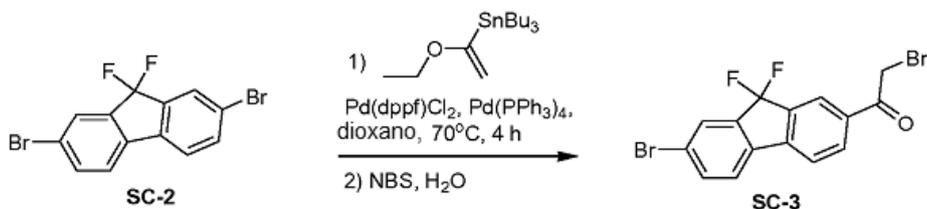
20

DIPEA (54,2 mL, 308 mmol) se añadió, a 0°C, a una disolución del residuo anterior (30,84 g, 61,6 mmol), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (11,9 g, 67,8 mmol) y HBTU (35,0 g, 92,4 mmol) en diclorometano (265 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado, salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1), resultando un compuesto **QA-10** (31,1 g). Método A2; Rt: 1,28 min.  $m/z = 507,2$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 506,1

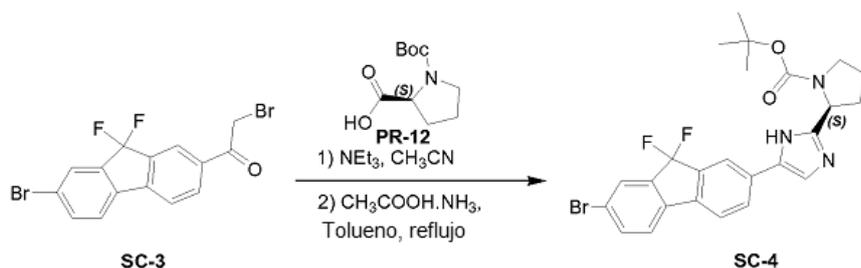
25



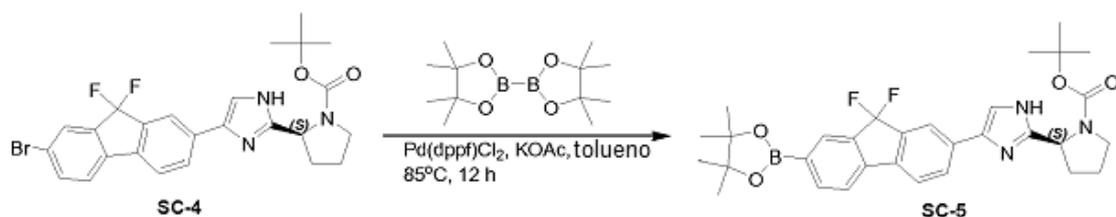
Compuesto **SC-1** (100 g, 296 mmol) se disolvió en CHCl<sub>3</sub> (3720 mL). 1,2-etano-ditiol (53 mL, 592 mmol) y complejo de trifluoruro de boro-ácido acético (44 mL, 296 mmol) se añadieron bajo protección de N<sub>2</sub>. La mezcla se sometió a reflujo durante 16 horas. El sólido se filtró y se secó en alto vacío, resultando tiocetal intermedio (98 g). En un recipiente de fluoropolímero, NIS (183 g, 811 mmol, 4,8 eq) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (1600 mL). Fluoruro de hidrógeno-piridina se añadió a -75°C. La mezcla se agitó a -75°C durante 10 minutos. Parte del tiocetal arriba obtenido (70 g, 169 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1000 mL) seco se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a -75°C durante 15 minutos. La mezcla se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (800 mL) y se hizo pasar a través de una almohadilla de gel de alúmina básica. El disolvente se concentró a 600 mL y se lavó con disolución saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (500 mL) y disolución saturada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (500 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó a vacío dando como resultado el compuesto **SC-2** (48 g).



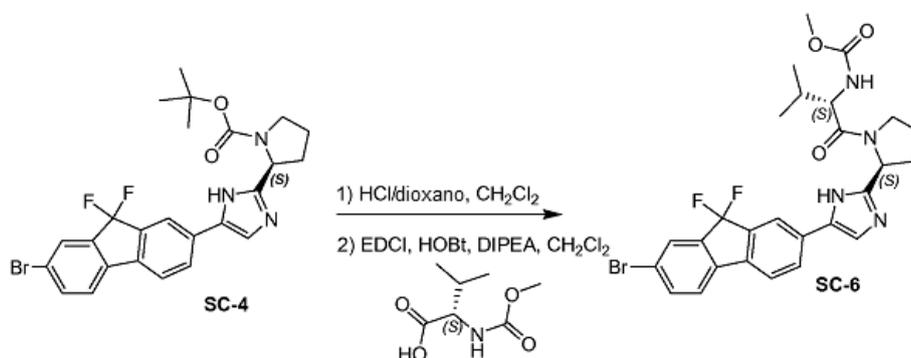
Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (6,5 g, 5,6 mmol, 0,2 eq) y Pd(dppf)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 g, 5,6 mmol, 0,2 eq) se añadieron a la mezcla de compuesto **SC-2** (10 g, 28 mmol, 1 eq), tributil(1-etoxi vinil)estaño (10 g, 28 mmol, 1 eq) y dioxano seco (200 mL). La mezcla se agitó a 70°C bajo N<sub>2</sub> durante 4 horas. La mezcla se enfrió a 20°C. Se añadieron H<sub>2</sub>O (50 mL) y NBS (20 g, 112 mmol) y la mezcla se agitó a 20°C bajo N<sub>2</sub> durante 12 horas. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) y H<sub>2</sub>O (100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo: acetato de etilo = 3:1) dando como resultado el compuesto **SC-3** (2 g).



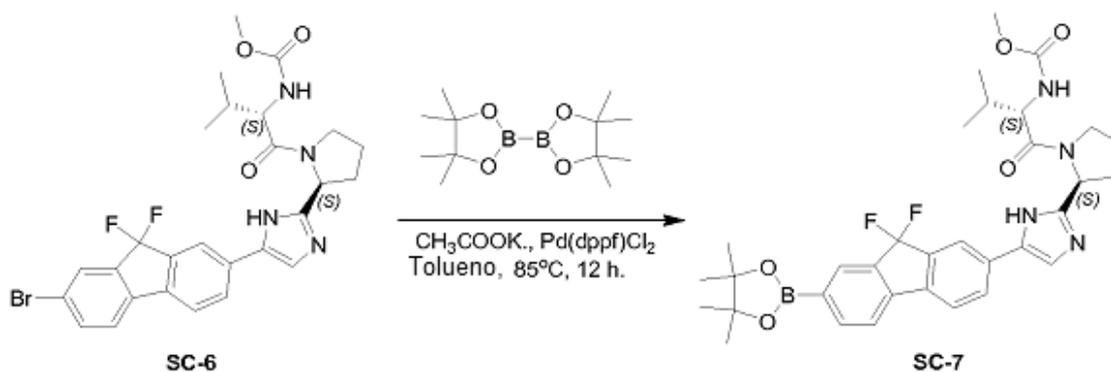
Se disolvió compuesto **SC-3** (2 g, 5 mmol) en CH<sub>3</sub>CN (20 mL). Se añadieron Boc-L-prolina (4,3 g, 20 mmol) y trietilamina (2,4 mL, 17,5 mmol). La mezcla se agitó a 25°C durante 3 horas. El disolvente se separó en vacío, resultando un residuo bruto (4 g). Este residuo (4 g) se disolvió en tolueno (40 mL). CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> se añadió (7,7 g, 100 mmol). La mezcla se agitó a 100°C durante 2 horas. La disolución se diluyó con acetato de etilo (20 mL) y se lavó con H<sub>2</sub>O (2 x 10 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo:acetato de etilo = 6: 4), resultando el compuesto **SC-4** (2,6 g).



- 5 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,54 g, 0,74 mmol) se añadió a la mezcla de compuesto **SC-4** (4,8 g, 7,4 mmol), KOAc (1,45 g, 14,8 mmol), 4,4,4',4',5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (3,76 g, 14,8 mmol) y tolueno (48 mL). La mezcla se agitó a 85°C durante 12 horas. Después de enfriar, el disolvente se evaporó en vacío, se añadió CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y la mezcla se lavó con H<sub>2</sub>O (200 mL) y disolución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (200 mL). Las capas orgánicas reunidas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acetato de etilo = 1:3), resultando el compuesto **SC-5** (2,8 g).

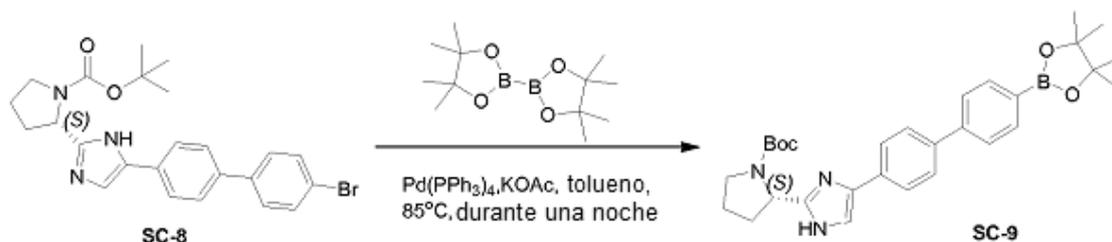


- 10 El compuesto **SC-4** (2,6 g, 5 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (26 mL) y HCl 4N/dioxano (2 mL, 8 mmol) se añadió a 0°C. La mezcla se agitó a 25°C durante 20 minutos. El disolvente se separó en vacío, resultando un residuo (2,5 g). Método A2; Rt: 0,95 min. m/z: 415,9 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 415,1. Este residuo (2,5 g), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (1,9 g, 11 mmol), EDCI (2,1 g, 11 mmol) y HOBT (1,5 g, 11 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 mL) se enfrió a 0°C y se añadió DIPEA (8,7 mL, 50 mmol). La mezcla se agitó a 20°C durante 12 horas. La mezcla se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y H<sub>2</sub>O (5 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (5 mL), salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 1:8), resultando el compuesto **SC-6** (2,2 g). Método A2; Rt: 0,97 min. m/z: 575,0 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 574,1

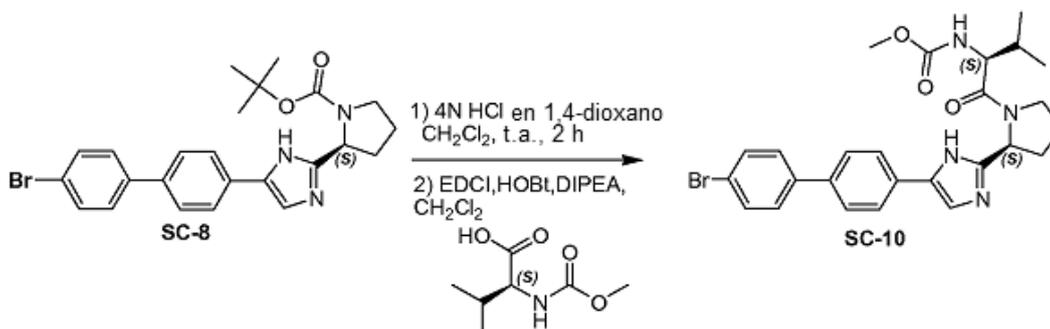


- 20 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,14 g, 0,19 mmol) se añadió a la mezcla de compuesto **SC-6** (2,2 g, 3,8 mmol), 4,4,4',4',5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,95 g, 7,6 mmol), CH<sub>3</sub>COOK (0,75 g, 7,6 mmol) y tolueno seco (45 mL). La mezcla se agitó a 85°C durante 12 horas. Después de enfriar, el disolvente se evaporó en vacío, se añadió CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y la mezcla se lavó con H<sub>2</sub>O (200 mL) y se disolución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (200 mL). Las capas orgánicas reunidas se

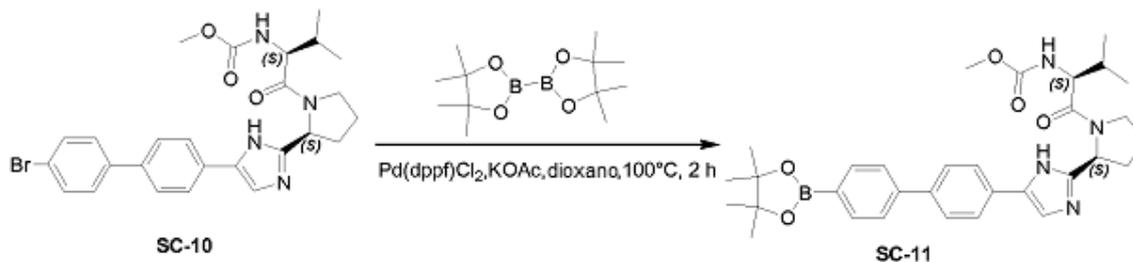
secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo = 1:3), resultando el compuesto **SC-7** (2,05 g). Método A2; Rt: 0,98 min. m/z: 621,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 620,3



- 5 Pd( $\text{PPh}_3$ )<sub>4</sub> (0,4 g, 0,35 mmol) se añadió a la mezcla de compuesto **SC-8** (3,3 g, 7 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (3,6 g, 14 mmol), KOAc (1,4 g, 14 mmol) y tolueno (75 mL). La mezcla se agitó a 85°C durante 12 horas. Después de enfriar, se añadió  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y la mezcla se lavó con disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (200 mL) y salmuera (200 mL). El agua se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 200 mL). Las capas orgánicas reunidas se
- 10 secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /metanol = 10:1). El disolvente se eliminó en vacío, resultando el compuesto **SC-9** (1,6 g). Método A2; Rt: 1,11 min. m/z: 516,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 515,3

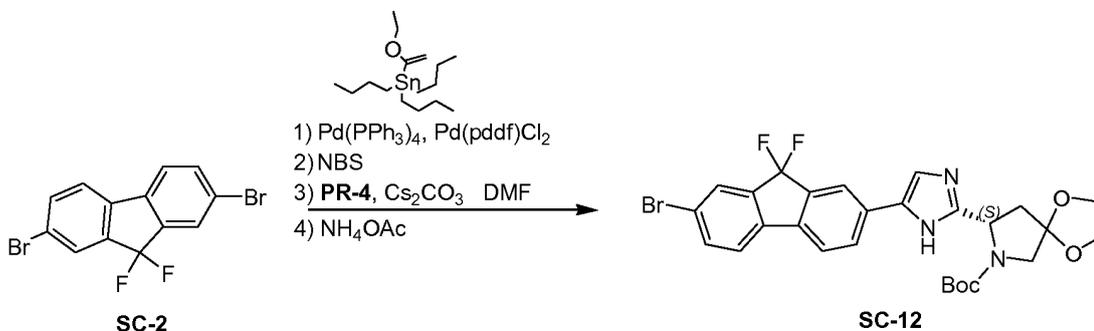


- Compuesto **SC-8** (10 g, 21 mmol) se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL) y se añadió gota a gota HCl 4N/dioxano (50 mL). La mezcla se agitó durante 30 minutos a 25°C. El disolvente se separó en vacío y el residuo obtenido se co-evaporó con tolueno (2 x 20 mL) y se utilizó para la siguiente etapa sin purificación adicional. Método A2; Rt: 0,96 min. m/z: 368,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 367,1
- 15 El residuo arriba obtenido ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (5,6 g, 32 mmol), EDCI (6,1 g, 32 mmol) y HOBT (1,4 g, 10 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (180 mL) se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota DIPEA (18,6 g, 106 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora a 25°C. La capa orgánica se lavó con capa acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en
- 20 columna de gel de sílice (gradiente de eluyente: acetato de etilo:metanol: de 100:0 a 20:1), resultando el compuesto **SC-10** (9,9 g) en forma de un polvo blanco. Método A2; Rt: 1,02 min. m/z: 527,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 526,1



- Una mezcla del compuesto **SC-10** (2 g, 3,80 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,9 g, 7,6 mmol), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, (0,28 g, 0,38 mmol), KOAc (0,75 g, 7,6 mmol) en dioxano seco (20 mL) se agitó durante 2
- 25

horas a 100°C bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>. El sólido se filtró y el filtrado se evaporó a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de eluyente: éter de petróleo: acetato de etilo: de 100:0 a 0:100), resultando el compuesto **SC-11** (1,88 g) en forma de un polvo blanco. Método A2; Rt: 1,08 min. m/z: 573,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 572,3

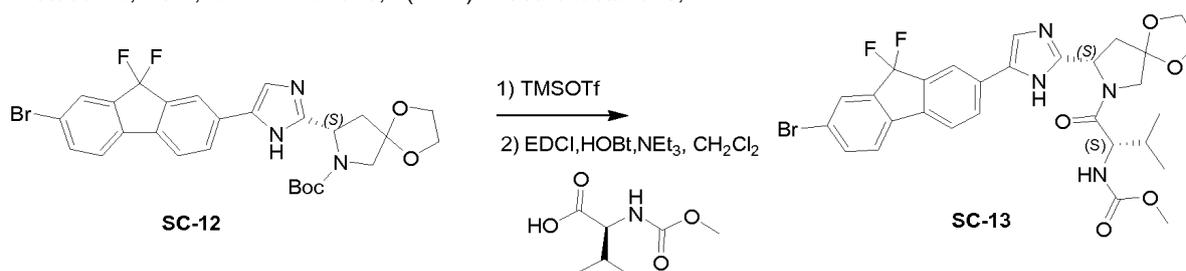


5

**SC-2** (20 g, 55,5 mmol), tributyl(1-etoxyvinil)estaño (20 g, 55,5 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (13 g, 12 mmol) y Pd(ddd)Cl<sub>2</sub> (8 g, 12 mmol) se suspendieron en 1,4-dioxano (100 mL) a 20°C. La mezcla se agitó a reflujo durante 4 horas. La mezcla se vertió en H<sub>2</sub>O (30 mL) a 20°C. Se añadió NBS (40 g, 110,0 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 20°C durante 12 horas. La mezcla se vertió en H<sub>2</sub>O (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La fase orgánica se concentró en vacío, resultando **SC-3** bruto (21 g). El residuo obtenido se utilizó para la siguiente reacción sin purificación. Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20,0 g, 61,38 mmol) se añadió a una disolución agitada de **PR-4** (7,6 g, 27,81 mmol) en DMF (40 mL). La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 0,5 horas. Se añadió **SC-3** bruto (21,0 g, 52,23 mmol) a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 2 horas. La mezcla se lavó con agua (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano: acetato de éter = 5:1), resultando 1,4-dioxa-7-aza-espiro[4.4]nonano-7,8-dicarboxilato de (S)-8-(2-(7-bromo-9,9-difluoro-9H-fluoren-2-il)-2-oxoetil)-7-terc.-butilo (8 g).

A una disolución agitada de 1,4-dioxa-7-aza-espiro[4.4]nonano-7,8-dicarboxilato de (S)-8-(2-(7-bromo-9,9-difluoro-9H-fluoren-2-il)-2-oxoetil)-7-terc.-butilo (8 g) en xileno (80 mL) en un autoclave, se añadió NH<sub>4</sub>OAc (20 g, 260 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 140°C durante 1 hora. La mezcla se lavó con agua (90 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL); la capa orgánica reunida se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía líquida de alto rendimiento preparativa sobre RP-18 (eluyente: CH<sub>3</sub>CN en H<sub>2</sub>O (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> al 0,5%) de 40% a 80%, v/v). Las fracciones puras se recogieron y los componentes volátiles se separaron en vacío. La capa acuosa se liofilizó hasta sequedad, resultando **SC-12** (4,12 g). Método A2; Rt: 1,12 min. m/z: 576,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 575,1

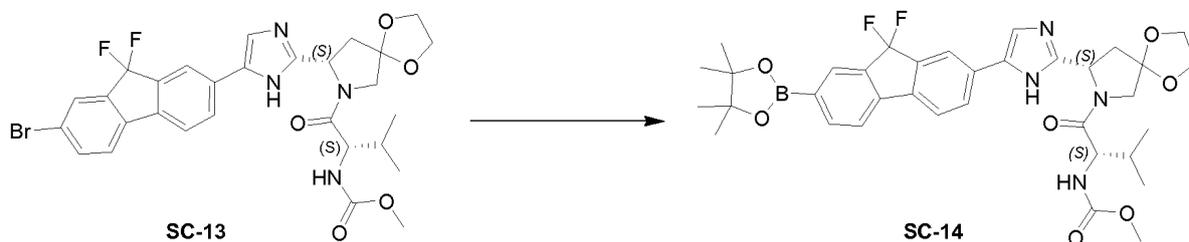
25



A una disolución agitada de compuesto **SC-12** (4,5 g, 7,85 mmol) y 2,6-lutidina (1,68 g, 15,7 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (50 mL) a 0°C, se añadió gota a gota TMSOTf (7 g, 31,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 minutos, se enfrió bruscamente con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron en vacío, resultando (S)-8-(5-(7-bromo-9,9-difluoro-9H-fluoren-2-il)-1H-imidazol-2-il)-1,4-dioxa-7-azaespiro[4.4]nonano (2 g). NEt<sub>3</sub> (0,5 g, 45 mmol) se añadió a una disolución agitada de (S)-8-(5-(7-bromo-9,9-difluoro-9H-fluoren-2-il)-1H-imidazol-2-il)-1,4-dioxa-7-azaespiro[4.4]nonano (2 g, 4,2 mmol), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,89 g, 5 mmol), EDCI (0,96 g, 5 mmol) y HOBt (0,67 g, 5 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (50 mL). La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 2 horas, se enfrió bruscamente con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso saturado, y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). La capa orgánica reunida se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío. El residuo obtenido se

35

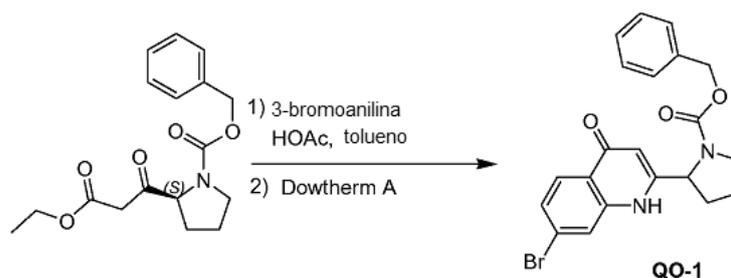
purificó mediante cromatografía líquida de alto rendimiento preparativa sobre RP-18 (eluyente: CH<sub>3</sub>CN en H<sub>2</sub>O (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> al 0,5%) de 30% a 70%), v/v). Las fracciones puras se recogieron y los componentes volátiles orgánicos se separaron en vacío. La capa acuosa se liofilizó a sequedad resultando **SC-13** (1,2 g) en forma de un sólido blanco. Método A2; Rt: 1,09 min. m/z: 633,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 632,1



5

A una disolución agitada de compuesto **SC-13** (1,2 g, 1,9 mmol) y Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,1 g, 0,137 mmol) en dioxano seco (25 mL), se añadieron 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (0,72 g, 2,8 mmol) y KOAc (0,37 g, 3,76 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 30 minutos, se enfrió bruscamente con agua, y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). La capa orgánica reunida se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano: acetato de éter = 1:1), resultando el compuesto **SC-14** (0,756 g) en forma de un sólido amarillo.

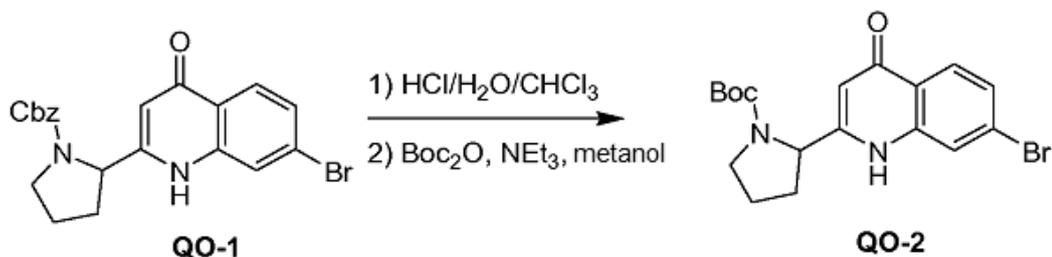
10



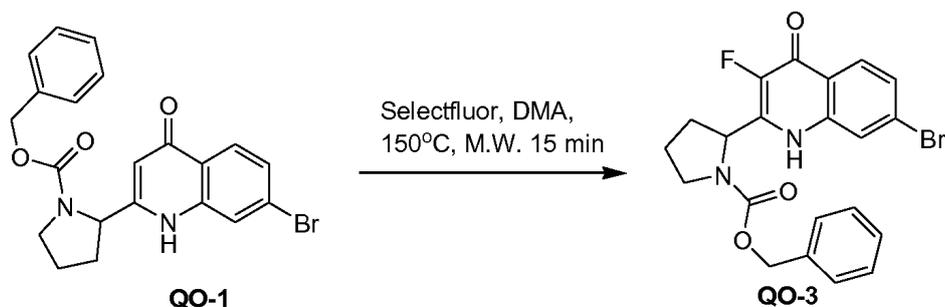
15

3-bromoanilina (186 g, 1080 mmol) se añadió a una mezcla de 2-(3-etoxi-3-oxopropanoil)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-bencilo (460 g, 1440 mmol) en tolueno que contiene ácido acético (86,4 g, 1440 mmol) y se sometió a reflujo durante 8 horas utilizando un aparato Dean Stark para separar el agua de reacción. La mezcla se concentró a presión reducida y se secó en vacío. El producto bruto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional (662 g). Un matraz equipado con un agitador, cabeza de destilación y embudo de goteo se purgó con nitrógeno. Se añadió Dowtherm™ A (90 mL) y luego se calentó a 240°C. Una disolución del residuo obtenido anteriormente (662 g) en Dowtherm™ A (900 mL) se añadió durante 10 min, al tiempo que la temperatura se mantuvo en el intervalo 230-245°C. La mezcla se calentó durante otra 1 hora a 240°C y después se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron éter de petróleo (2000 mL) y heptano (2400 mL). Se formó un residuo oleoso y el disolvente se decantó. El residuo oleoso recogido se purificó mediante cromatografía en columna de resolución instantánea (eluyente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc = 10:1 a 1:3), resultando el compuesto **4** (38 g). Método B; Rt: 5,20 min. m/z: 429,0 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 428.1 Columnas: AD-H de 50 mm \* 4,6 mm, 3 um Caudal: 4 mL/min; Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: EtOH (dietilamina al 0,05%), 5% a 40% de B en A; Temperatura: 40°C, isómero **4a**: Rt: 1,53 min; **4b** Rt: 1,73 min.

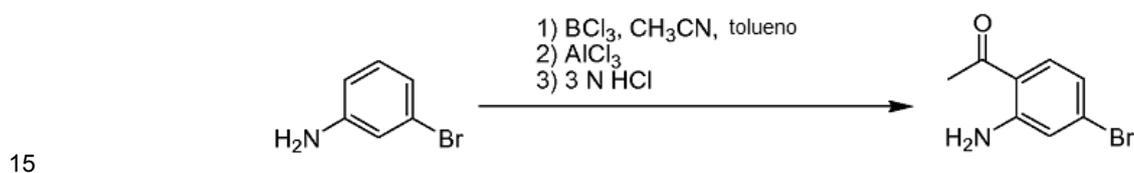
25



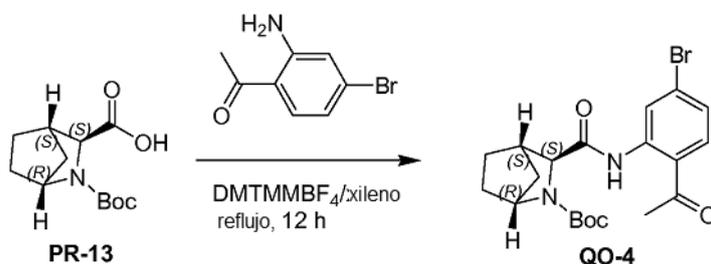
- 5 Se disolvió compuesto **QO-1** (1,85 g, 4,3 mmol) en  $\text{CHCl}_3$  (10 mL). Se añadió HCl conc. (10 mL) y la mezcla se agitó en un tubo sellado a  $60^\circ\text{C}$  durante 1 hora. El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido (1,6 g) se disolvió en metanol (30 mL) y se añadió  $\text{NEt}_3$  (1,8 mL, 13,0 mmol). A continuación, se añadió gota a gota a  $0^\circ\text{C}$   $\text{Boc}_2\text{O}$  (1,1 g, 5,2 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó durante 0,5 h a  $20^\circ\text{C}$ . El disolvente se separó en vacío y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de eluyente: éter de petróleo: acetato de etilo: de 100:0 a 0:100), resultando el compuesto **QO-2** (1,08 g). Método A2; Rt: 0,97 min.  $m/z = 392,9$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 392,1



- 10 Compuesto **QO-1** (1 g, 2,3 mmol) y Selectfluor (0,81 g, 2,3 mmol) en DMA (10 mL) se agitaron a  $150^\circ\text{C}$  durante 15 min. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en  $\text{NaHCO}_3$  pre-enfriado saturado (100 mL). El precipitado se filtró, se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice. (Eluyente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ , 1/1). Las fracciones recogidas se reunieron y se concentraron en vacío. El residuo obtenido se solidificó mediante THF (3 mL), resultando el compuesto **QO-3** (0,13 g). Método A2; Rt: 1,55 min.  $m/z = 447,0$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 446,1

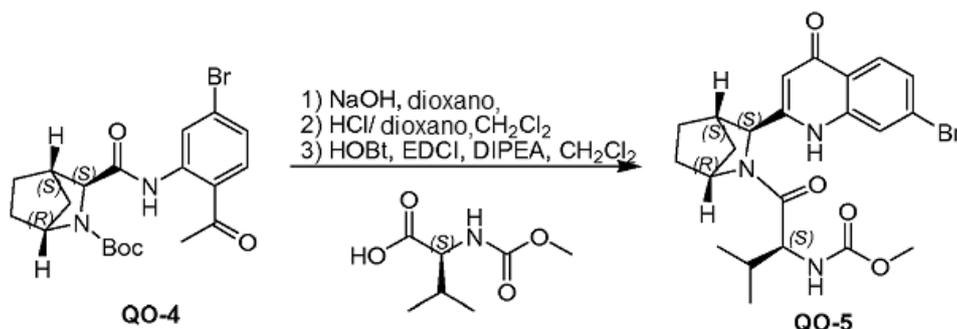


- 15 Acetonitrilo (23,7 g, 580 mmol) se añadió a 3-bromoanilina (10 g, 58 mmol) en tolueno (70 mL). La mezcla se enfrió a  $0^\circ\text{C}$  y se añadió gota a gota  $\text{BCl}_3$  (1 M en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 64 mL, 64 mmol) al tiempo que se mantenía la temperatura por debajo de  $10^\circ\text{C}$ . A continuación, se añadió  $\text{AlCl}_3$  (11,6 g, 87 mmol) en pequeñas porciones a  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción se calentó a  $90^\circ\text{C}$  durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se enfrió bruscamente con HCl acuoso (2 N, 100 mL). La mezcla se calentó a  $50^\circ\text{C}$  durante 1 hora, se enfrió a temperatura ambiente y se separó. La capa orgánica se separó y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se recogió, se secó y se concentró, resultando 1-(2-amino-4-bromofenil) etanona (4 g). Método A2; Rt: 0,98 min.  $m/z = 215,7$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 215,0

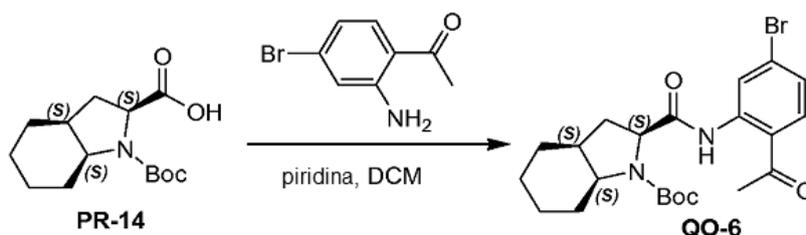


- 25 Se agitaron compuesto **PR-13** (10,6 g, 43,9 mmol), tamiz molecular de 4 A (1,0 g) y 1-(2-amino-4-bromofenil)etanona (9,4 g, 43,9 mmol) en xileno (100 mL) y se sometió a reflujo durante 1 hora. Se añadió 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio  $\text{BF}_4$  ( $\text{DMTMM}.\text{BF}_4$ , 15,8 g, 48,3 mmol) y la mezcla se agitó y se sometió a

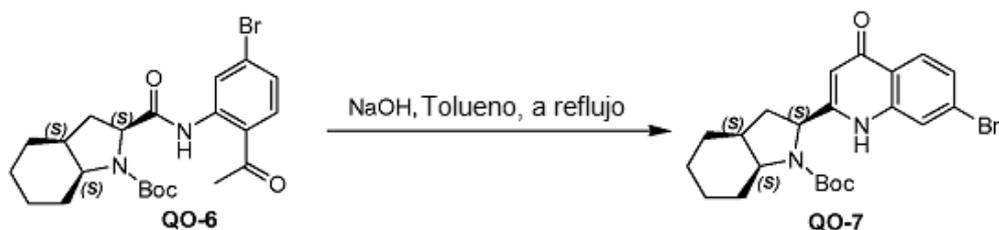
reflujo durante 12 horas. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en gel de sílice en columna (eluyente: éter de petróleo/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 5:1 y después con éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1 v/v), resultando el compuesto **QO-4** (10,9 g).



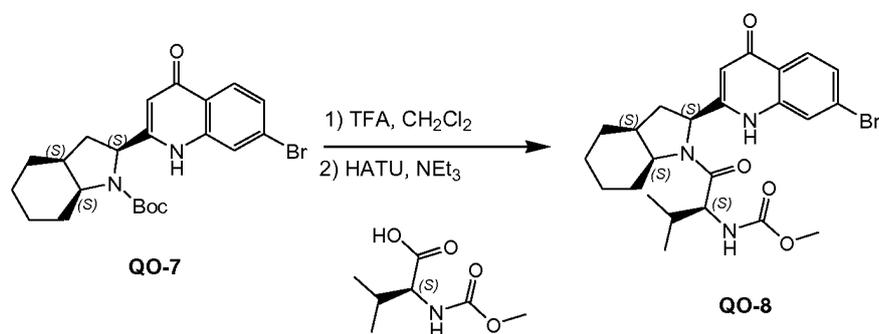
- 5 Compuesto **QO-4** (10,0 g, 22,9 mmol) y NaOH (co-evaporado con tolueno, 3,2 g, 80 mmol) en dioxano (100 mL) se agitó durante 1 hora a 100°C bajo N<sub>2</sub>. La mezcla se vertió en NH<sub>4</sub>Cl al 10% (200 mL). La mezcla se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> después acetato de etilo). Las fracciones puras se recogieron y el disolvente se separó en vacío. A la quinolinona obtenida
- 10 (3,0 g) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL), se añadió gota a gota HCl 4 N/dioxano (30 mL). La mezcla se agitó durante 2 horas a 20°C y después los componentes volátiles se separaron en vacío. El residuo obtenido (3,0 g), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (1,9 g, 10,8 mmol), EDCI (2,1 g, 10,8 mmol) y HOBt (0,49 g, 3,6 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL) se agitaron a 0°C. Se añadió DIPEA (4,7 g, 36 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a 20°C. Se añadió H<sub>2</sub>O (30 mL) y la mezcla se separó mediante filtración. El sólido se recogió y se secó, resultando el
- 15 compuesto **QO-5**. El filtrado se separó y la capa orgánica se lavó con H<sub>2</sub>O (2x30 mL) y salmuera, se secó y se evaporó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo, después acetato de etilo:CH<sub>3</sub>OH = 10:1). Las fracciones puras se recogieron y el disolvente se concentró en vacío, resultando más compuesto **QO-5** (3 g en total).



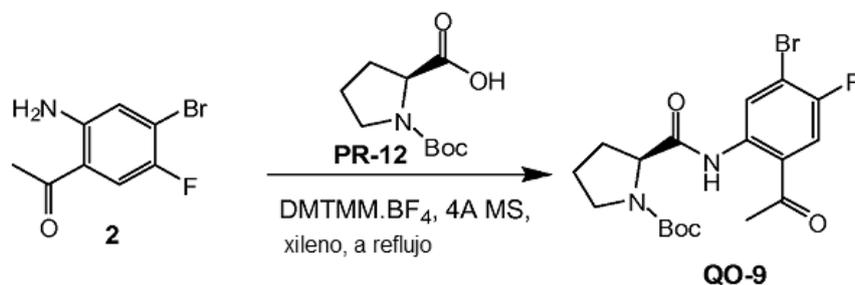
- 20 A una disolución agitada del compuesto **PR-14** (6 g, 22,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/piridina (100 mL, 1/1) a 0°C, se añadió gota a gota (COCl)<sub>2</sub> (5,6 g, 44,6 mmol). La mezcla se agitó a 25°C durante 0,5 horas. A continuación, la mezcla se añadió a una disolución de 1-(2-amino-4-bromofenil)etanona (4,7 g, 22,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL). La mezcla se agitó a 25°C durante 1 hora. La mezcla se vertió en H<sub>2</sub>O (100 mL), se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL) y se separó. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La fase orgánica se concentró
- 25 en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (hexano: acetato de éter = 5:1), resultando el compuesto **QO-6** (9 g) en forma de un sólido.



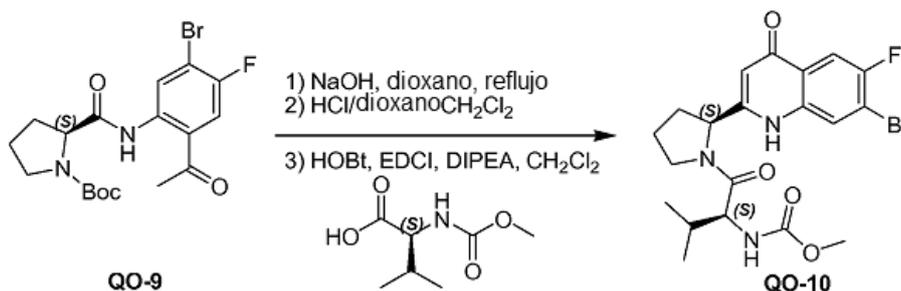
Al compuesto **QO-6** (9 g, 19,3 mmol), en tolueno (100 mL), se añadió NaOH (3 g, 77,2 mmol) a 25°C. La mezcla se agitó a reflujo durante 1 hora. La mezcla se vertió en NH<sub>4</sub>Cl acuoso (50 mL), se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL) y se separó. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La fase orgánica se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (hexano: acetato de éter = 10:1), resultando el compuesto **QO-7** (3,5 g). Método A2; Rt: 1,25 min. m/z =: 449,1 (M + H)<sup>+</sup> Masa exacta: 448,1



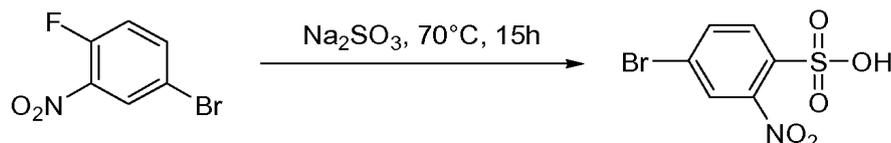
A una disolución del compuesto **QO-7** (3,5 g, 7,83 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) se añadió gota a gota TFA (10 mL) a 25°C. La mezcla se agitó a 25°C durante 0,5 horas. El disolvente se separó en vacío. El residuo se lavó con t-butilmetil-éter y se secó en vacío, el sólido resultante (2,4 g) se agitó en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) con ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (1,45 g, 8,3 mmol), HATU (3,15 g, 8,3 mmol) y NEt<sub>3</sub> (0,84 g, 8,3 mmol) a 25°C. La mezcla se agitó a 25°C durante 1 hora. La mezcla se vertió en H<sub>2</sub>O (50 mL), se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL) y se separó. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La fase orgánica se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (hexano: acetato de éter = 5:1), resultando el compuesto **QO-8** (1,5 g) en forma de un sólido. Método A2; Rt: 1,11 min. m/z =: 506,2 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 505,1; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,85 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,90 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,15 - 1,37 (m, 2 H), 1,37 - 1,56 (m, 2 H), 1,56 - 1,79 (m, 3 H), 1,82 - 2,11 (m, 3 H), 2,23 - 2,43 (m, 2 H), 3,55 (s, 3 H), 3,93 (t, J = 8,7 Hz, 1 H), 4,45 (dt, J = 11,7, 5,9 Hz, 1 H), 4,73 (dd, J = 10,3, 7,4 Hz, 1 H), 5,89 (s ancho, 1 H), 7,44 (dd, J = 8,6, 1,9 Hz, 1 H), 7,54 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,73 (d, J = 0,9 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 11,63 (s ancho, 1H).



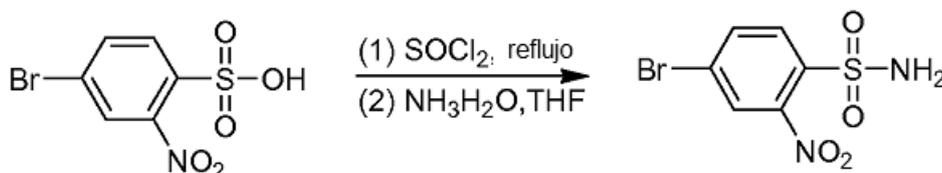
1-(2-amino-4-bromo-5-fluorofenil)etanona (0,36 g, 1,57 mmol) y el compuesto **PR-12** (0,34 g, 1,57 mmol) en xileno (8 mL) se sometieron a reflujo durante 1 hora. Se añadió DMTMM.BF<sub>4</sub> (0,57 g, 1,73 mmol) y la mezcla se agitó y se calentó a reflujo durante 8 horas. El disolvente se separó en vacío y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. (Gradiente de eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo de 1 a 1/2), resultando el compuesto **QO-9** (0,5 g).



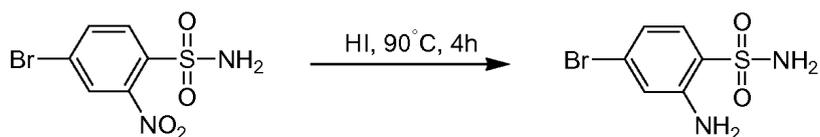
Compuesto **QO-9** (0,5 g, 1,16 mmol) y NaOH (0,16 g, 4,0 mmol) en dioxano seco (5 mL) se agitaron a 100°C durante 1 hora bajo N<sub>2</sub>. La mezcla se vertió en disolución de NH<sub>4</sub>Cl al 10% (20 mL). El residuo se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x10 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó en vacío. El residuo obtenido (0,5 g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL). HCl 4 N/dioxano (2 mL) se añadió a 0°C y la mezcla se agitó a continuación a 25°C durante 20 min. El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido (0,5 g), ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,45 g, 2,55 mmol), EDCI (0,49 g, 2,55 mmol) y HOBT (0,34 g, 2,55 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se enfrió hasta 0°C y se añadió DIPEA (2,3 mL, 11,6 mmol). La mezcla se agitó a 20°C durante 12 horas. La mezcla se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y H<sub>2</sub>O (5 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (5 mL), salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: metanol/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 15%), resultando el compuesto **QO-10** (150 mg) en forma de un polvo blanco. Método A2; Rt: 0,92 min. m/z = 470,1 (M + H)<sup>+</sup> Masa exacta: 469,0



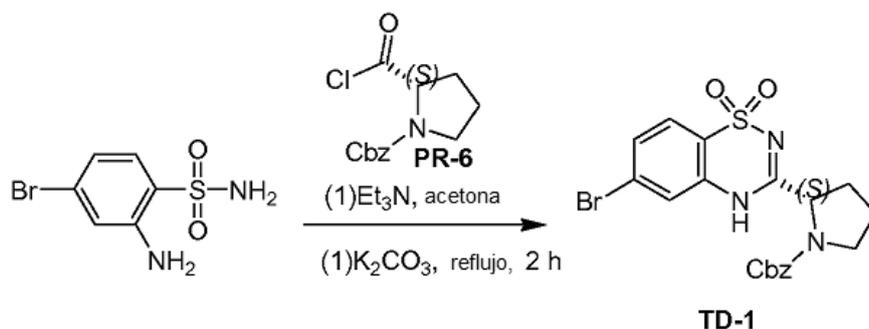
Se disolvió 4-bromo-1-fluoro-2-nitrobenzene (50 g, 227 mmol) en etanol (600 mL). Subsiguientemente, se añadió una suspensión de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (71,6 g, 568 mmol) en etanol (1000 mL) y agua (1250 mL). La suspensión se agitó a 70°C durante 15 horas. Luego, a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (2 N) a pH = 2 y se concentró en vacío. El residuo restante se disolvió bajo reflujo en salmuera (1000 mL). Subsiguientemente, se añadió agua (100 mL) y la disolución se enfrió en un baño de hielo. El precipitado se recogió mediante filtración, resultando ácido 4-bromo-2-nitrobenzenosulfónico (57,3 g, 89%).



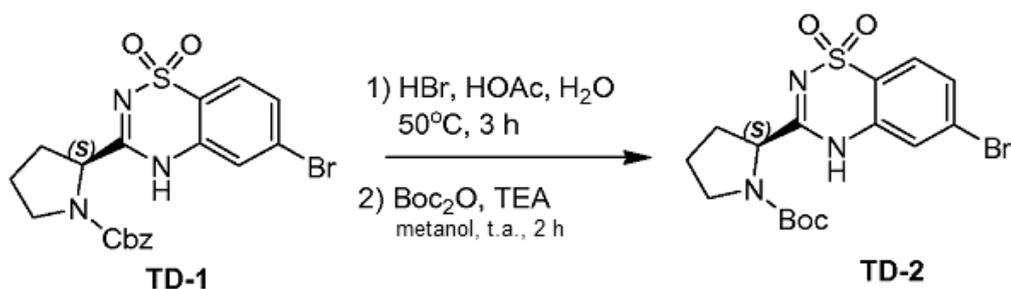
A una disolución de cloruro de tionilo (50 mL) se añadió ácido 4-bromo-2-nitrobenzenosulfónico (30 g, 106 mmol) y DMF (1 gota) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 horas. Tras el enfriamiento, la mezcla de reacción se sometió a destilación azeotrópica con tolueno tres veces. El residuo se disolvió en una cantidad mínima de tolueno y después la mezcla resultante se añadió a una mezcla de disolución acuosa concentrada de hidróxido de amonio (1 mL) y THF (10 mL) a -10°C. Después de agitar durante 2 horas, la reacción se inactivó mediante la adición de ácido clorhídrico 6 M acuoso hasta pH = 4. La capa orgánica se separó y después se secó y se concentró en vacío. El éter de petróleo se añadió a la suspensión resultante y el producto se recogió mediante filtración en vacío, dando como resultado 4-bromo-2-nitrobenzenosulfonamida.



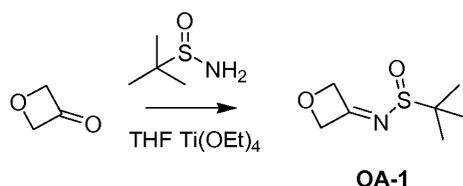
- 5 Una suspensión de 4-bromo-2-nitrobenzenosulfonamida (21,2 g, 75 mmol) en HI al 57% (250 mL) se calentó a 90°C durante 4 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de color púrpura oscuro se diluyó con acetato de etilo (500 mL) y se lavó sucesivamente siguiente mediante Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ac. saturado, NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado y salmuera. La capa orgánica incolora se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró hasta sequedad. El producto bruto se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (eluyente: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O de 22/78 a 52/48 con NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O al 0,01% como tampón), resultando 2-amino-4-bromo-benzenosulfonamida (18,6 g). Método B; Rt: 3,36 min. m/z = 250,9 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 249,9



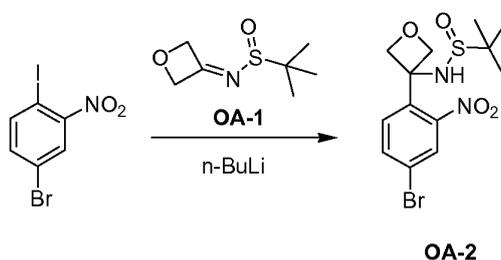
- 10 Trietilamina (40,5 mL, 296 mmol) se añadió a una disolución de 2-amino-4-bromobenzenosulfonamida (18,6 g, 74 mmol) en acetona (200 mL). Compuesto **PR-6** (12,8 g, 48 mmol) se añadió a la mezcla de reacción bajo enfriamiento. Después de agitar durante 5 horas, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se acidificó por HCl 2 N a pH 4. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y después se transfirió a otro matraz. Una disolución de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15 g) se añadió en agua (100 mL) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2 horas hasta que la reacción se volvió homogénea. La mezcla de reacción se acidificó mediante HCl 2 N hasta pH = 4. El precipitado se separó mediante filtración y se lavó con agua. El producto bruto se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (eluyente: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O de 35/65 a 65/35 con CF<sub>3</sub>COOH al 0,75% como tampón), resultando compuesto **TD-1** (8,3 g, 45%). Método A2; Rt: 1,05 min. m/z = 487,8 (M+Na)<sup>+</sup> Masa exacta: 465,0



- 20 Compuesto **TD-1** (2 g, 4,3 mmol) se disolvió en CH<sub>3</sub>COOH (20 mL). Se añadió HBr al 40% (30 mL) y la mezcla se agitó a 50°C durante 3 horas. El disolvente se evaporó en vacío. El residuo obtenido se lavó con terc-butil-metil-éter. El sólido se filtró y se secó en alto vacío. Una disolución del polvo amarillo resultante (1,7 g) y Boc<sub>2</sub>O (1,8 g, 8,2 mmol) en metanol (15 mL) se enfrió a 0°C. Se añadió trietilamina (2,3 mL, 16,4 mmol). La mezcla se agitó a 20°C durante 2 horas y el disolvente se separó en vacío. Se añadió CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) y la mezcla se lavó con H<sub>2</sub>O (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío y el residuo obtenido se solidificó mediante éter de petróleo (5 mL) y se filtró. Después se secó bajo alto vacío, se obtuvo el compuesto **TD-2** (1,7 g) Método G; Rt: 1,26 min. m/z = 453,9 (M+Na)<sup>+</sup> Masa exacta: 431,0

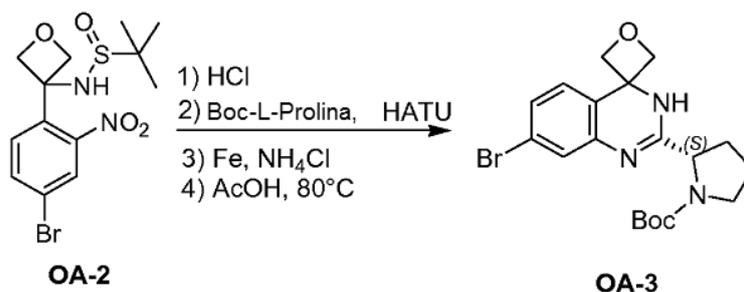


5 A oxetan-3-ona (5 g, 69 mmol) en THF (50 mL) se añadieron secuencialmente 2-metilpropano-2-sulfonamida (8,34 g, 69 mmol) y  $\text{Ti}(\text{OEt})_4$  (20 mL). La reacción se calentó hasta  $50^\circ\text{C}$  durante 5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se enfrió bruscamente con agua (200 mL). El precipitado se filtró y el filtrado se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 50 mL). La capa orgánica reunida se separó y se lavó con agua (50 mL) y salmuera (50 mL). La capa orgánica se secó y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) resultando el compuesto **OA-1** (5,5 g, rendimiento 46%).



10 4-bromo-1-yodo-2-nitrobenzene (3 g, 9,18 mmol) se disolvió en THF anhidro (20 mL) bajo atmósfera de  $\text{N}_2$ , y el matraz se enfrió a  $-78^\circ\text{C}$ . La mezcla se agitó durante 5 minutos y se añadió lentamente n-BuLi (4,4 mL, 2,5 mol/L). La mezcla de reacción se volvió oscura y se continuó agitando a  $-78^\circ\text{C}$  durante 15 minutos. Después, se añadió lentamente compuesto **OA-1** (1,92 g, 11 mmol) a la mezcla. La reacción se agitó durante 30 minutos a  $-78^\circ\text{C}$  y después se calentó a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en agua (50 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 mL). Las fases orgánicas se separaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a sequedad. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo / acetato de etilo = 3/1), resultando el compuesto **OA-2** (1,3 g, 38% de rendimiento). Método A2; Rt: 1,04 min.  $m/z = 378,7$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 378,0

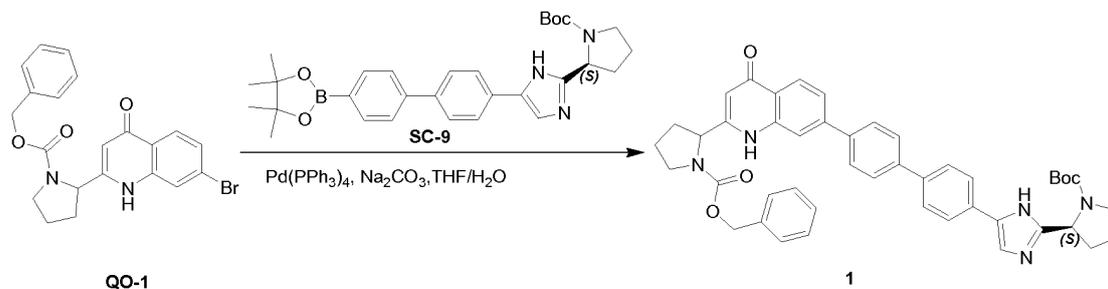
15



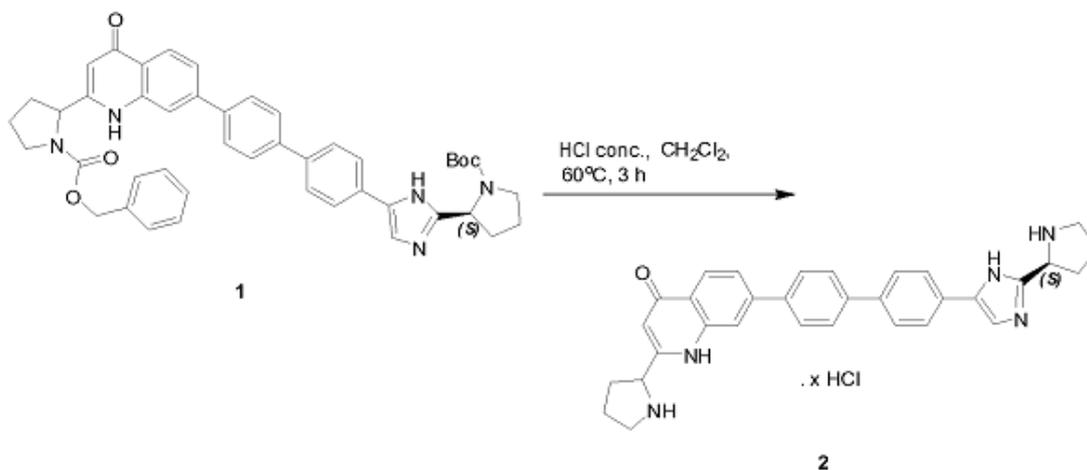
20 Compuesto **OA-2** (1,3 g, 3,45 mmol) se disolvió en MeOH (10 mL) y se añadió lentamente HCl/dioxano (4N, 10 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y la mezcla se concentró, dando lugar a un residuo (0,89 g). Método A2; Rt: 0,60 min.  $m/z = 272,7$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>. Al residuo obtenido (0,89 g) en un matraz de 50 mL, se añadieron HATU (1,49 g, 3,94 mmol), trietilamina (0,66 g, 6,56 mmol) y ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidina-2-carboxílico (0,84 g, 3,94 mmol). El residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos. La mezcla se enfrió bruscamente con agua (20 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y luego se concentró. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo = 2/1) resultando un compuesto intermedio nitro (1,27 g). Este compuesto intermedio nitro (1 g, 2,1 mmol) se disolvió en MeOH/agua (20 mL 1:1), se añadieron polvo de Fe (0,35 g, 6,3 mmol) y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0,55 g, 10,5 mmol) y la mezcla se agitó a reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió a

25

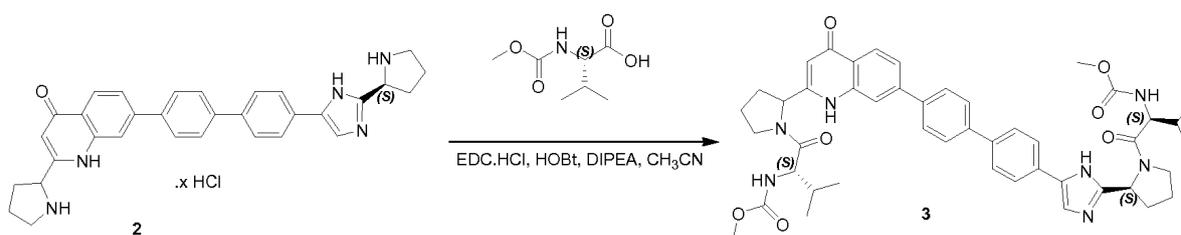
- temperatura ambiente y después se concentró a sequedad. El residuo obtenido se lavó con agua (10 mL), y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 10 mL). La capa orgánica se separó y se concentró en vacío, dando como resultado un compuesto intermedio (0,77 g). Método A2; Rt: 1,07 min. m/z =: 464,0 (M+Na)<sup>+</sup> Masa exacta: 441,1. Este compuesto intermedio (0,77 g, 1,75 mmol) se disolvió en AcOH (20 mL). La disolución resultante se agitó a 80°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo: acetato de etilo = 1:1) resultando el compuesto **OA-3** (0,49 g, 66%). Método B; Rt: 4,06 min. m/z = 422,0 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 421,1



- 10 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,14 g, 0,12 mmol) se añadió a una mezcla de compuesto **SC-9** (0,5 g, 1,2 mmol), compuesto **QO-1** (0,41 g, 1,2 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,51 g, 4,8 mmol), THF (20 mL) y H<sub>2</sub>O (10 mL) bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó bajo irradiación de microondas a 80°C durante 15 minutos. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y H<sub>2</sub>O (15 mL) se añadieron a la mezcla de reacción. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo: éter de petróleo 3:1), resultando el compuesto **1** (0,43 g). Método A2; Rt: 0,89 min. m/z =: 736,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 735,3

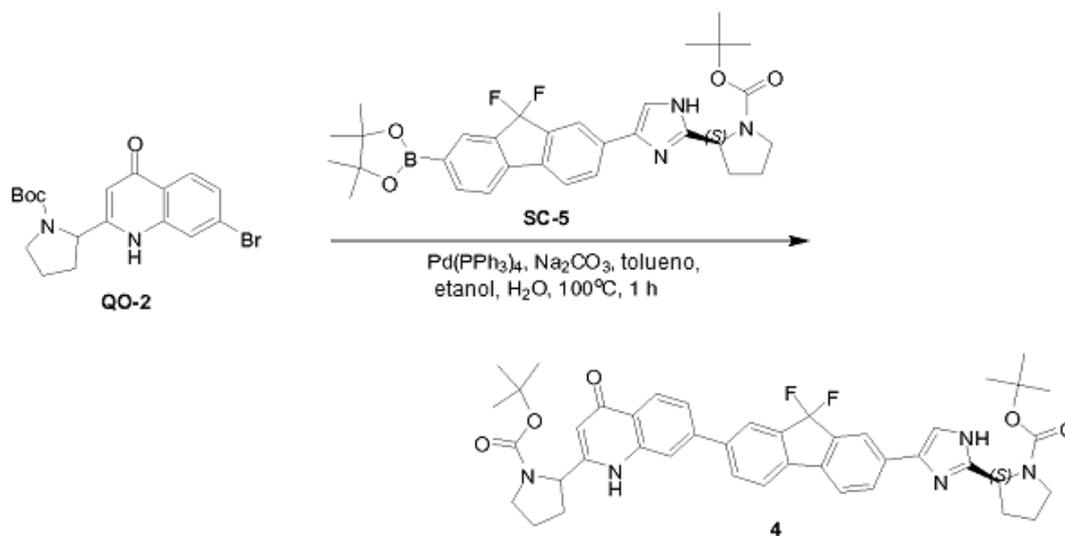


Compuesto **1** (0,43 g, 0,58 mmol) se disolvió en CHCl<sub>3</sub> (4,3 mL). Se añadió HCl concentrado (4,3 mL). La mezcla se agitó a 60°C en un tubo sellado durante 1 hora. El disolvente se evaporó en vacío, dando como resultado el compuesto **2** (0,6 g). Método A2; Rt: 0,92 min. m/z = 502,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 501,3



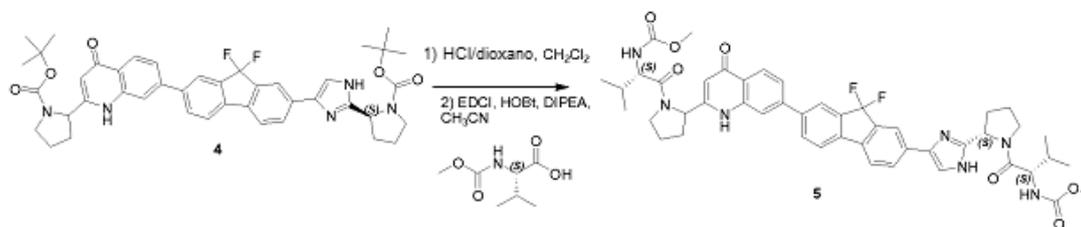
5 A una solución de ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,49 g, 2,78 mmol) en acetonitrilo (20 mL), se añadieron EDCI (0,53 g, 2,78 mmol) y HOBt (0,38 g, 2,78 mmol). Después de agitar durante 1 hora a 10°C, se añadió compuesto **2** (0,6 g). Después, la mezcla se enfrió a 0°C y se añadió DIPEA (1,5 g, 11,6 mmol). La mezcla se agitó a 10°C durante 12 horas. El sólido se filtró, el filtrado obtenido se concentró y se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y HCl 1 N (5 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (5 mL) y salmuera y después se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El compuesto **3** obtenido, una mezcla de dos diastereoisómeros **3a** y **3b**, se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (columna: Grace Vydac 250 \* 20 mm \* 5um, Fase móvil A: agua (que contiene TFA al 0,075%, %V/V Fase móvil B: acetonitrilo (que contiene TFA al 0,025%, %V/V Caudal: 30 mL/min; Gradiente: 35-50% B (v/v) de 0 a 11 min). Las dos fracciones puras se recogieron y se basificaron con NaHCO<sub>3</sub> a pH = 8. Los componentes volátiles se separaron en vacío. El residuo se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 10 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido se lavó con acetonitrilo (1 mL) y t-butil-metil-éter (1 mL). El sólido se secó bajo alto vacío, resultando los dos diastereoisómeros separados compuesto **3a** (14 mg) y compuesto **3b** (26 mg).

**3a**: Método B; Rt: 4,71 min. m/z: 816,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 815,4  
SFC: Columna: OJ-H 250 mm x 4,6 mm; 5um. Caudal: 2,35 mL/min, fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 8,39 min  
SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 7,67 min  
**3b**: Método B; Rt: 4,79 min. m/z: 816,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 815,4  
SFC: Columna: OJ-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 7,41 min  
SFC: Columna: OD-H 150 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 9,60 min



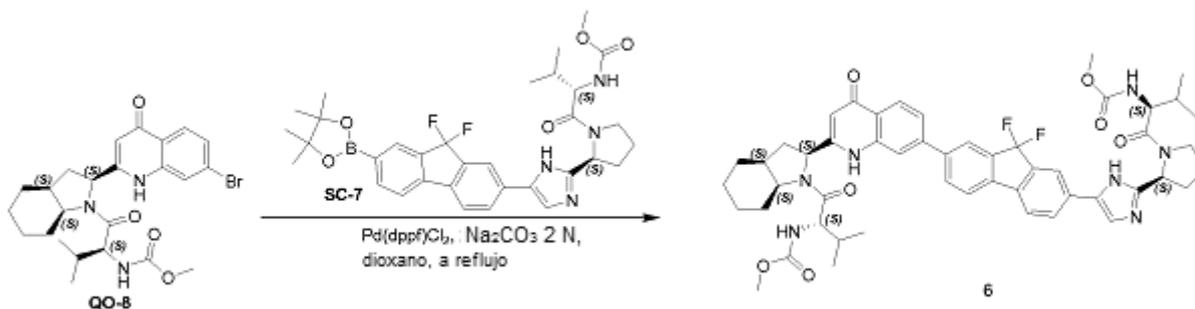
30 Una mezcla de compuesto **QO-2** (1,0 g, 2,5 mmol), compuesto **SC-5** (1,4 g, 2,5 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,1 g, 20 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,29 g, 0,25 mmol) en H<sub>2</sub>O (10 mL), etanol (10 mL) y tolueno (10 mL) se agitó durante 1 hora a 100°C bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. Se añadió agua (10 mL) y la mezcla se extrajo con diclorometano (2 x 30 mL). Las capas orgánicas reunidas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la filtración, el disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente gradiente: primero, acetato de etilo:

metanol: de 100:0 a 10:1, y luego diclorometano: metanol: de 10:1 a 1:1), resultando el compuesto **4** (1,04 g) Método A2; Rt: 0,99 min m/z: 750,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 749,3;



El compuesto **4** (1 g, 1,3 mmol) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL). Se añadió HCl 4 N/dioxano (10 mL). La mezcla se agitó durante 20 minutos a 25°C. El disolvente se separó en vacío. El residuo se co-evaporó con tolueno (10 mL), resultando 0,85 g de residuo. Método A2; Rt: 0,84 min. m/z: 550,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 549,2. A este residuo (0,85 g, 1,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se añadieron ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,51 g, 2,9 mmol), EDCI (0,59 g, 2,9 mmol) y HOBt (0,09 g, 0,67 mmol) y la mezcla se enfrió a 0°C. A continuación, se añadió DIPEA (2,3 mL, 13,3 mmol) y la mezcla se agitó durante 1,5 horas a 25°C. Se añadieron agua (20 mL) y diclorometano (20 mL) y la capa orgánica se separó y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la filtración, el disolvente se separó en vacío. Compuesto **5** (mezcla de diastereoisómeros **5a** y **5b**) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de eluyente: acetato de etilo: metanol: de 100:0 a 6:1), dando como resultado un sólido de color amarillo claro. El sólido obtenido se lavó con acetonitrilo y se purificó adicionalmente mediante cromatografía de fluido supercrítico (Columna: OJ 250 mm \* 30 mm, 5 um; Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> supercrítico, B: isopropanol; dietilamina al 0,05%), A:B = 65:35 a 55 mL/min, Temp. de la Columna: 38°C, Presión de la Boquilla: 100 bares, Temp. de la Boquilla: 60°C, Temp. del Evaporador: 20°C, Temp: del Cortador 25°C, Longitud de onda: 220 nm). La fracción obtenida de compuesto **5a** y **5b** se lavó con acetonitrilo y se purificó adicionalmente mediante cromatografía de fluido supercrítico (Columna: OJ 250 mm \* 30 mm, 5 um; Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> supercrítico, B: isopropanol (dietilamina al 0,05%), A:B = 65:35 a 55 mL/min, Temp. de la Columna 38°C, Presión de la Boquilla: 100 bares, Temp. de la Boquilla: 60°C, Temp. del Evaporador: 20°C, Temp: del Cortador 25°C, Longitud de onda: 220 nm). Esto dio como resultado el compuesto **5a** (148 mg) y **5b** (200 mg).

**5a**: Método C; Rt: 3,66 min. m/z: 864,4 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 863,4;  
SFC: Columna: OJ-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: iPrOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 8,18 min  
**5b**: Método C; Rt: 3,72 min. m/z: 864,4 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 863,4;  
SFC: Columna: OJ-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: iPrOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 8,77 min



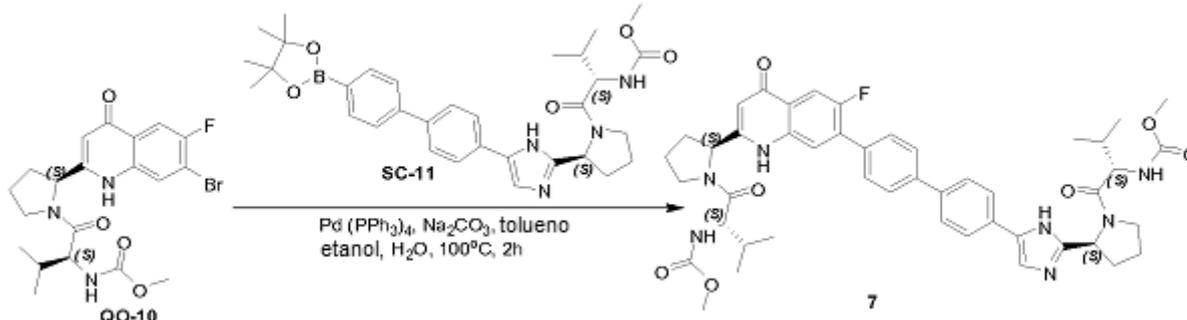
A una disolución agitada del compuesto **QO-8** (900 mg, 1,78 mmol), compuesto **SC-7** (922 mg, 1,49 mmol) y Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (100 mg, 1,9 mmol) en THF seco (20 mL) se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10 mL, 2 N). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 20 minutos, se enfrió bruscamente con agua (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La capa orgánica reunida se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y después de la filtración, el filtrado obtenido se concentró en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (Columna: Phenomenex Synergi C18 150 \* 20 mm \* 5 um A: H<sub>2</sub>O + TFA al 0,1%. B: MeCN Caudal (mL/min): 40). Las fracciones puras se recogieron y se neutralizaron mediante NaHCO<sub>3</sub> saturado. El disolvente orgánico se

concentró en vacío. El precipitado se filtró, se lavó con H<sub>2</sub>O (10 mL) y se secó en alto vacío, resultando el compuesto **6** (450 mg).

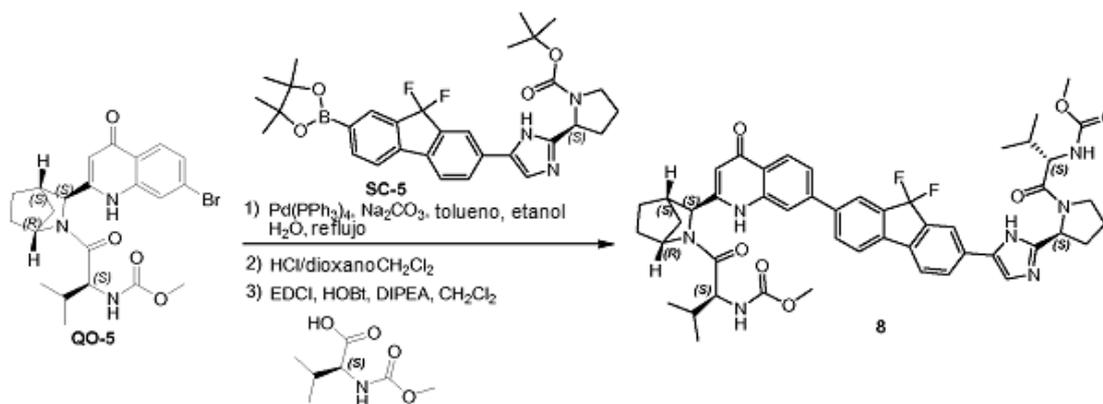
Método H; Rt: 3,68 min. m/z: 818,5 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 817,4;

SFC: Columna: OJ-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 8,24 min

<sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,88 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,88 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,92 (d, J = 6,6 Hz, 3 H), 0,95 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,19 - 1,36 (m, 3 H), 1,45 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 1,54 (q, J = 12,0 Hz, 1 H), 1,60 - 1,69 (m, 1 H), 1,70 - 1,80 (m, 2 H), 1,89 - 2,09 (m, 5 H), 2,10 - 2,21 (m, 2 H), 2,31 - 2,44 (m, 2 H), 3,54 (s, 3 H), 3,56 (s, 3 H), 3,83 (t, J = 6,2 Hz, 2 H), 3,95 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 4,08 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 4,48 (dt, J = 11,0, 6,3 Hz, 1 H), 4,79 (t, J = 8,9 Hz, 1 H), 5,09 (dd, J = 7,0, 3,4 Hz, 1 H), 5,88 (s, 1 H), 7,34 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 7,57 (d, J = 7,9 Hz, 1 H), 7,71 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,72 (s, 1 H), 7,84 (s ancho, 1 H), 7,86 (d, J = 7,9 Hz, 1 H), 7,93 - 8,00 (m, 3 H), 8,05 (s, 1 H), 8,08 (s, 1 H), 8,12 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 11,76 (s ancho, 1 H), 11,96 (s ancho, 1 H)

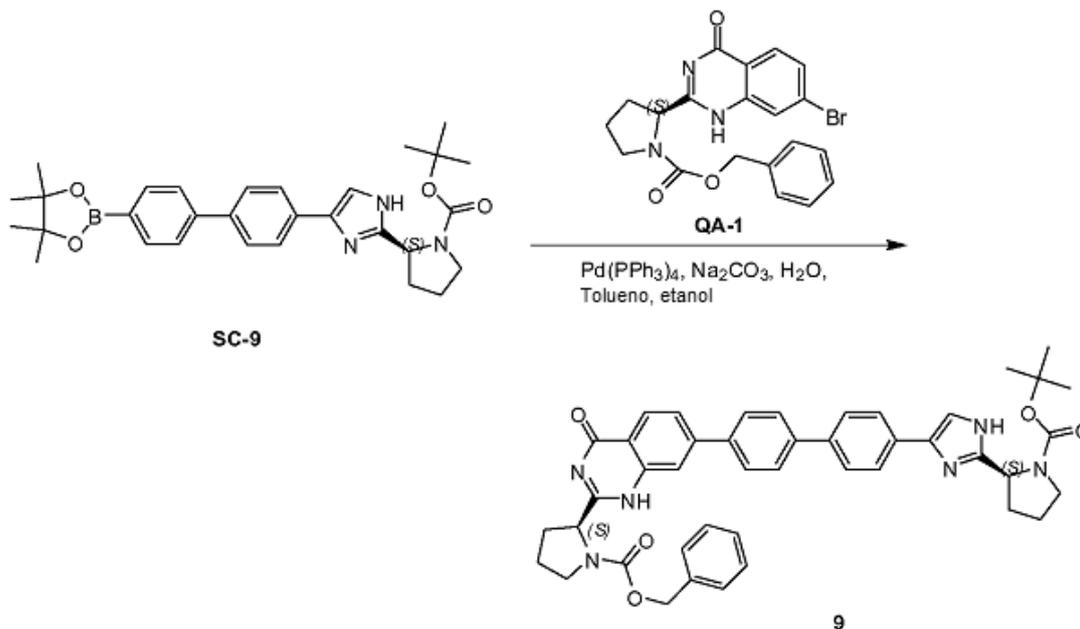


Una mezcla de compuesto **QO-10** (0,12 g, 0,26 mmol), compuesto **SC-11** (0,15 g, 0,26 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,030 g, 0,026 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,22 g, 2,05 mmol) en una mezcla de tolueno, etanol y H<sub>2</sub>O (1:1:1, 4,5 mL) se agitó durante 2 horas a 100°C bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>. Los componentes volátiles se separaron en vacío. Se añadieron diclorometano (15 mL) y agua (10 mL). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente gradiente: primero: éter de petróleo: EtOAc: de 100:0 a 0:100, luego EtOAc: metanol: de 100:0 a 10:1). El sólido obtenido se lavó con acetonitrilo y se co-evaporó con metanol. El sólido obtenido se purificó adicionalmente mediante cromatografía de fluidos supercríticos (Columnas: OD-3 150x4,6mm D.I., 3 um, Caudal: 2,5 mL/min, Fase móvil: 40% de metanol (dietilamina al 0,05%) en CO<sub>2</sub>), resultando el compuesto **7** (0,1 g) en forma de un polvo blanco. Método H; Rt: 3,39 min. m/z: 834,5 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 833,4 SFC: Columna: OD-H 150 mm x 4,6 mm; 3um. Caudal: 2,5 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 6,56 min

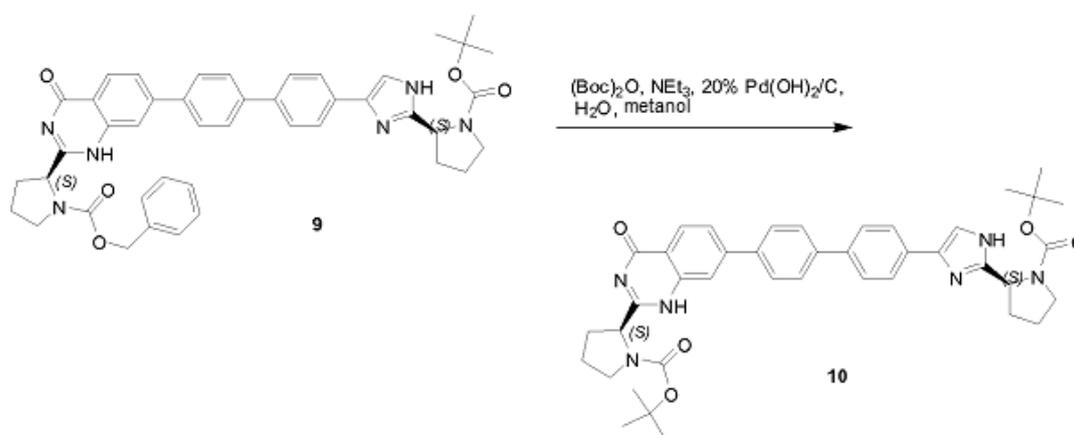


Compuesto **QO-15** (0,30 g, 0,63 mmol), compuesto **SC-5** (0,35 g, 0,63 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,22 g, 0,19 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,27 g, 2,5 mmol) en tolueno (3 mL), etanol (3 mL) y H<sub>2</sub>O (3 mL) se sometieron a reflujo bajo N<sub>2</sub> durante 12 horas. Los componentes volátiles se separaron en vacío. La mezcla se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x10 mL). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron en vacío, resultando un residuo (0,5 g). Este residuo (0,50 g) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se agitó a 0°C. Se añadió HCl 4 N/dioxano (5 mL). La mezcla se agitó durante 1 hora a 20°C y se separaron los componentes volátiles en vacío, resultando un residuo (0,50 g). Este residuo (0,5 g) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadieron ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,13 g, 0,76 mmol), EDCI (0,22 g,

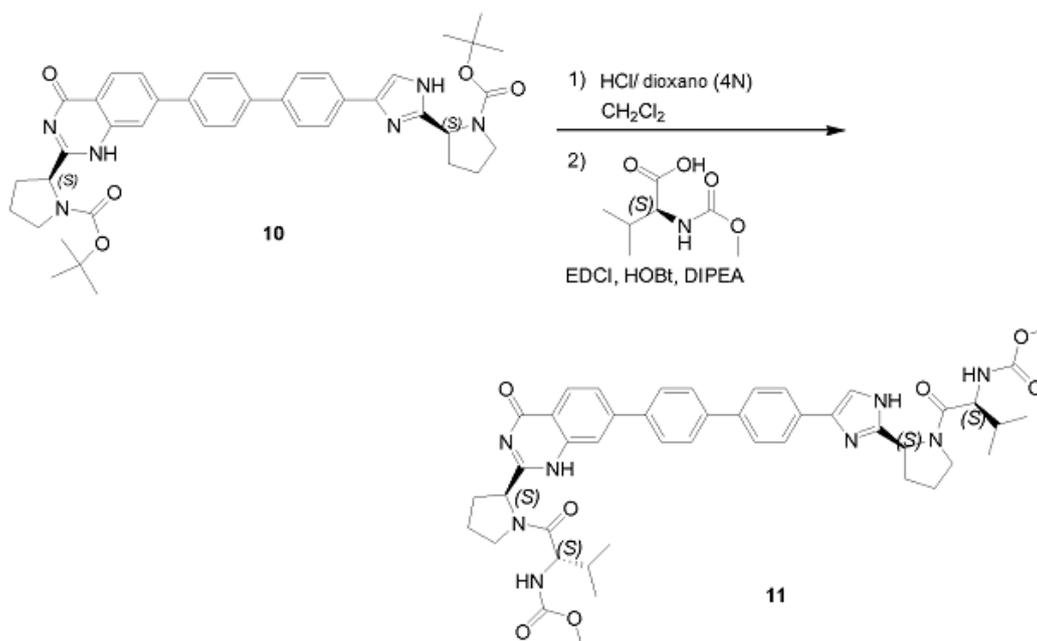
1,14 mmol) y HOBt (0,043 g, 0,32 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C. A continuación, se añadió DIPEA (0,4 g, 3,2 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a 20°C y subsiguientemente se lavó con H<sub>2</sub>O (2 veces), y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se separó en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (C18, eluyente: CH<sub>3</sub>CN / H<sub>2</sub>O de 15/85 a 35/65, con CF<sub>3</sub>COOH al 0,1% como tampón). Las fracciones puras se recogieron y la mezcla se basificó con NaHCO<sub>3</sub> a pH = 9. El disolvente orgánico se evaporó y la mezcla se separó mediante filtración. El sólido se secó y se evaporó en vacío, resultando el compuesto **8** (140 mg). Método H; Rt: 3,52 min. m/z: 890,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 889,4; SFC: Columna: AS-H 250 mm x 4,6 mm; 3 um. Caudal: 2,5 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 2,9 min; SFC: Columna: OD-3 150 mm x 4,6 mm; 3 um. Caudal: 2,5 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A : Rt: 5,2 min



Una disolución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,24 g, 2,3 mmol) en H<sub>2</sub>O (6 mL) se añadió a una mezcla de compuesto **SC-9** (0,6 g, 1,16 mmol), compuesto **QA-1** (0,5 g, 1,16 mmol), etanol (6 mL) y tolueno (12 mL). se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (55 mg, 0,058 mmol) a la mezcla en una porción bajo nitrógeno. La mezcla se agitó durante 10 horas a 90°C. A continuación, la disolución se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró en vacío. El residuo obtenido se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y se lavó con agua (3 x 10 mL). La disolución se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de eluyente: EtOAc: diclorometano = 1:3 a 2:1 y EtOAc: MeOH = 100:1 a 100:5). Se recogió la fracción deseada, el disolvente se separó en vacío y el residuo obtenido se secó en vacío, resultando el compuesto **9** (0,52 g). Método A2; Rt: 1,03 min. m/z: 737,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 736,3

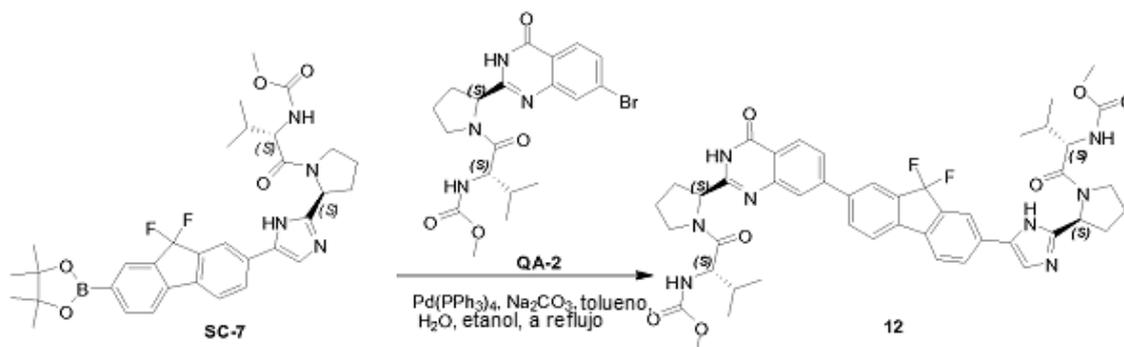


5 Una mezcla de compuesto **9** (0,52 g, 0,71 mmol),  $(\text{Boc})_2\text{O}$  (0,307 g, 1,41 mmol),  $\text{NEt}_3$  (0,212 g, 2,1 mmol) y  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  al 20%/C (0,5 g) en metanol (5 mL) se hidrogenó (1 atm) a  $10^\circ\text{C}$  durante 1,5 horas. La mezcla se filtró y los componentes volátiles se separaron en vacío. El residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) y se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó en vacío. El residuo se lavó con terc. butil-metil-éter (3 mL). El sólido se filtró y se secó en alto vacío, resultando el compuesto **10** (0,47 g). Método A2; Rt: 1,03 min. m/z: 703,3  $(\text{M}+\text{H})^+$  Masa exacta: 702,4



10 Compuesto **10** (0,47 g, 0,67 mmol) se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) y  $\text{HCl}$ /dioxano (4N) (0,5 mL, 2 mmol) se añadió gota a gota a  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla se agitó a  $10^\circ\text{C}$  durante 1 hora. El disolvente se separó en vacío y el residuo obtenido se solidificó con t-butil-metil-éter (2 mL). El sólido se filtró y se secó en alto vacío, resultando un polvo de color amarillo. Método A2; Rt: 0,79 min. m/z: 503,1  $(\text{M}+\text{H})^+$  Masa exacta: 502,3. Este polvo se añadió a una disolución que se obtuvo mediante el tratamiento de ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,28 g, 1,61 mmol) en acetonitrilo (5 mL) con  $\text{EDCI}$  (0,31 g, 1,61 mmol) y  $\text{HOBT}$  (0,217 g, 1,61 mmol) a  $20^\circ\text{C}$  durante 1 hora. La suspensión se enfrió a  $0^\circ\text{C}$  y se añadió  $\text{DIPEA}$  (0,35 g, 2,7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se concentró y se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) y disolución acuosa 1 N de  $\text{HCl}$  (5 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y salmuera, y se concentró en vacío para obtener el compuesto bruto. La mezcla bruta se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución preparativa (eluyente:  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  = 30/70 a 60/40,  $\text{CF}_3\text{COOH}$  al 0,1%). La fracción deseada se recogió y el valor pH de la solución se ajustó a

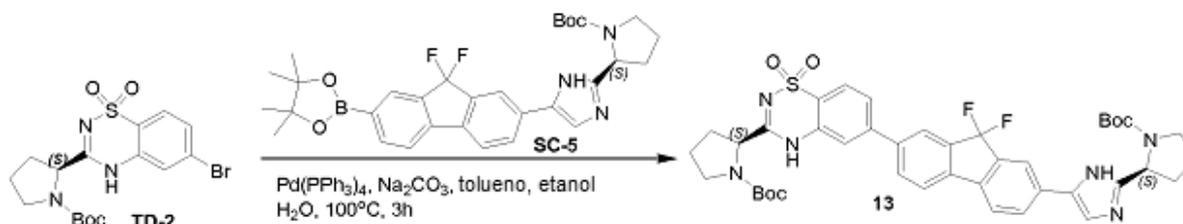
aproximadamente 8 mediante la adición de  $\text{NaHCO}_3$  sólido. El exceso de acetonitrilo se separó a presión reducida. La capa acuosa se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 50 mL), las capas orgánicas se reunieron y secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La disolución obtenida se concentró y el residuo se secó adicionalmente en vacío, resultando el compuesto **11** (0,1 g). Método B; Rt: 5,06 min. m/z: 817,3 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 816,4, SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 7,5 min; SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 5,25 min



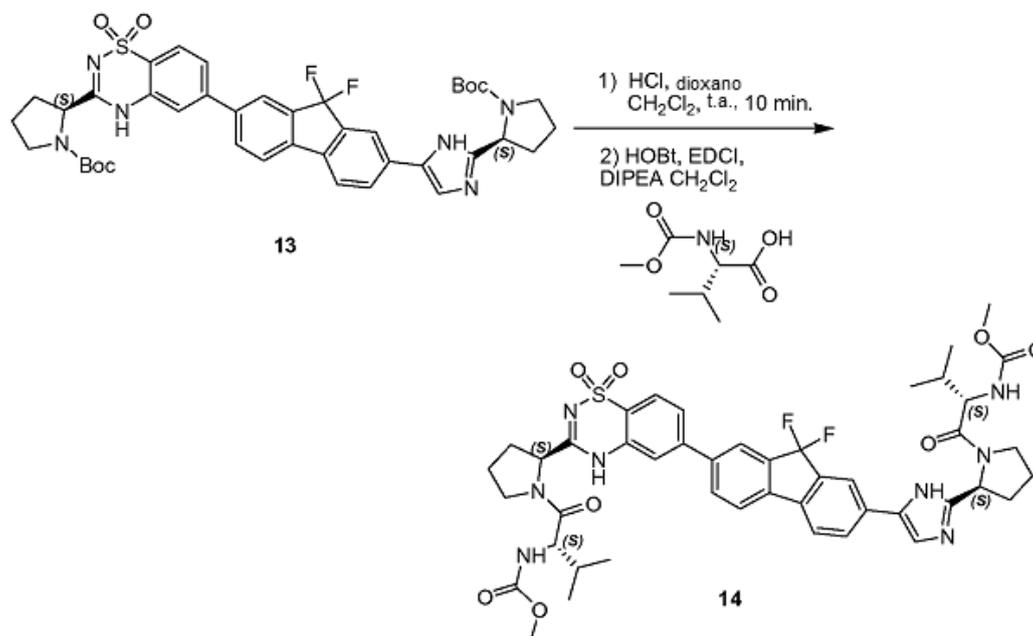
10  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1,7 g, 16 mmol, 10 eq) en  $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL) se añadió a la mezcla de compuesto **SC-7** (1 g, 1,6 mmol, 1 eq), compuesto **QA-2** (0,73 g, 1,6 mmol, 1 eq), tolueno (10 mL) y etanol (10 mL). Se añadió  $\text{Pd(PPh}_3)_4$  (0,18 g, 0,16 mmol, 0,1 eq). La mezcla se agitó a  $100^\circ\text{C}$  durante 3 horas bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$ . Se añadieron  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) y  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó, resultando un residuo bruto (3 g). Una parte de este material bruto (0,9 g) se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (columna: Grace Vydac 250 \* 20mm \* 5  $\mu\text{m}$  Fase móvil A: agua, Fase móvil B: acetonitrilo; Caudal: 30 mL/min; Gradiente: 35 - 50% de B (v/v) de 0 a 11 min). La fracción pura se recogió y se evaporó en vacío, resultando el compuesto **12** (0,1 g)

15 Método H; Rt: 3,56 min. m/z: 865,4 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 864,4; SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 4,80 min; SFC: Columna: AS-H 250 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 9,0 min

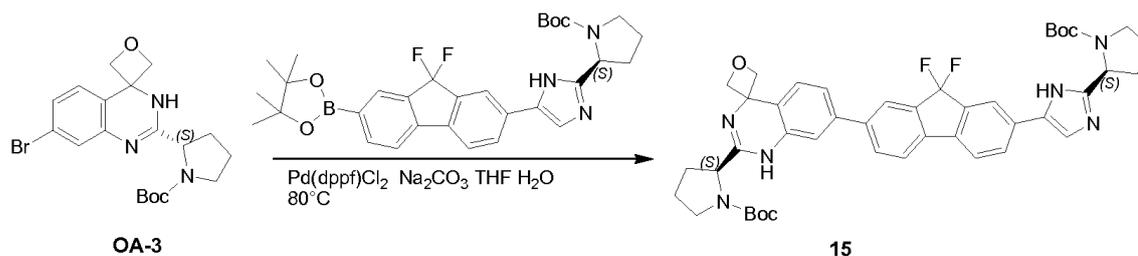
20



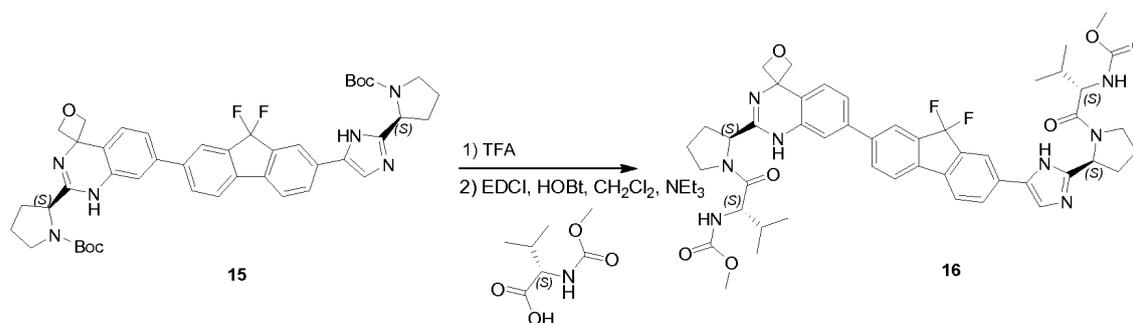
25  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,94 g, 8,9 mmol) en  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) se añadió a una mezcla de compuesto **SC-5** (0,5 g, 0,89 mmol) y compuesto **TD-2** (0,38 g, 0,89 mmol) en tolueno (5 mL) y etanol (5 mL).  $\text{N}_2$  se burbujeó a través de la disolución y, a continuación, se añadió  $\text{Pd(PPh}_3)_4$  (0,1 g, 0,089 mmol). La mezcla se agitó a  $100^\circ\text{C}$  durante 3 horas bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$ . Se añadieron  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) y  $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL) y, después de la separación, la capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y el disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo: petróleo de 75% a 100%), resultando el compuesto **13** (0,5 g). Método A2; Rt: 1,05 min. m/z: 787,4 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 786,3;



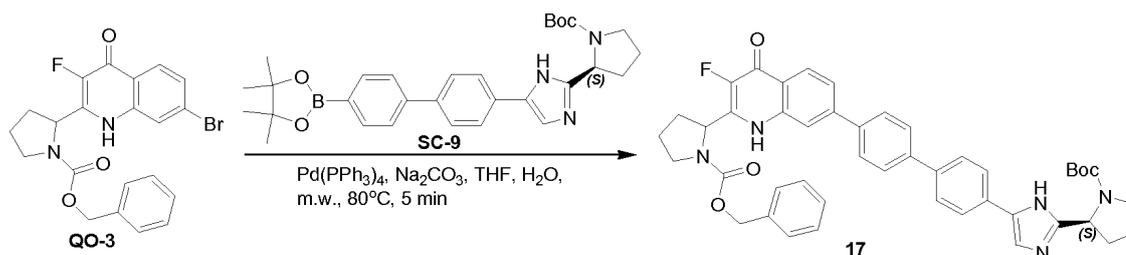
HCl/dioxano (2 mL) se añadió a la mezcla de compuesto **13** (0,5 g, 0,64 mmol, 1 eq) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) a 0°C. La mezcla se agitó a 20°C durante 10 min. El disolvente se separó en vacío. Método A2; Rt: 0,84 min. m/z: 587,1 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 586,2. Al residuo obtenido en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL), se añadieron ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,24 g), EDCI (0,27 g, 1,4 mmol) y HOBt (0,19 g, 1,4 mmol), la mezcla se enfrió a 0°C y se añadió DIPEA (1,1 mL, 6,4 mmol, 10 eq). La mezcla se agitó a continuación a 20°C durante 12 horas. La mezcla se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y H<sub>2</sub>O (5 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (5 mL), salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (columna: Grace Vydac 250 \* 20 mm \* 5 u; Fase móvil A: agua (que contiene TFA al 0,075%, %V/V) Fase móvil B: acetonitrilo (conteniendo TFA al 0,025%, %V/V; Caudal: 30 mL/min; Gradiente: 35-50% de B (v/v) de 0 a 11 min) La fracción relevante se recogió y se basificó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> a pH = 8. Los componentes volátiles se separaron en vacío. El residuo se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 10 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se separó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (Columna: AS 250 mm x 30 mm, 5 um; Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> supercrítico, B: MeOH (dietilamina al 0,05%, A: B = 60: 40 a 50 mL/min; Temp. de la columna: 38°C; Presión de la Boquilla: 100 bares; Temp. de la Boquilla 60°C; Temp. del Evaporador: 20°C; Temp. del Cortador: 25°C; Longitud de onda: 220 nm). La fracción relevante se recogió y el disolvente se separó en vacío El residuo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) y se lavó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2 x 5 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. El residuo se lavó con t-butil-metil-éter (2 mL) y se filtró. El sólido se secó bajo alto vacío, resultando el compuesto **14** (0,153 g). Método C; Rt: 3,98 min. m/z: 901,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 900,3; SFC: Columna: OJ-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 7,44 min SFC: Columna: AS-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: EtOH (diertilamina al 0,05%); 5 a 40% de B en A: Rt: 8,90 min



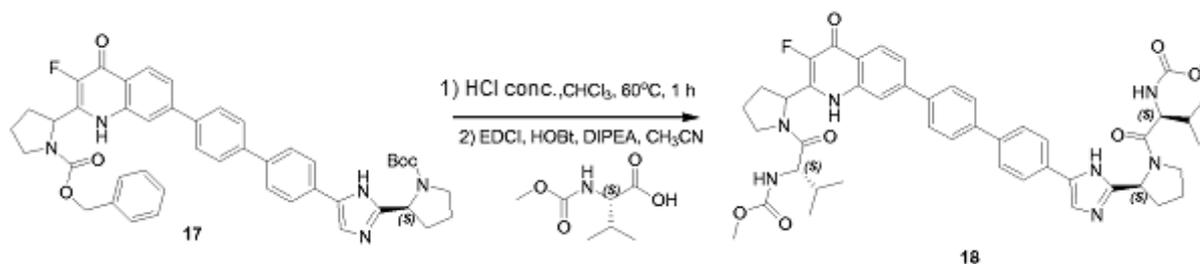
- 5 A compuesto **OA-3** (0,49 g, 1,16 mmol), se añadieron 2-(5-(9,9-difluoro-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-9H-fluoren-2-il)-1H-imidazol-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (0,78 g, 1,4 mmol), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (45 mg, 0,058 mmol), THF (10 mL) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso (2 mL, 2N). La mezcla se lavó abundantemente con gas nitrógeno (3 veces). La mezcla de reacción se agitó a 80 grados durante 15 minutos, se enfrió bruscamente con agua (10 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 5 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la separación de los componentes volátiles, el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol = 10/1), resultando el compuesto **15** (0,49 g). Método A; Rt: 0,99 min. m/z: 779,4 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 778,4;



- 10 Compuesto **15** (0,2 g, 0,28 mmol) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) y se añadió lentamente TFA (5 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se separaron los componentes volátiles, resultando un residuo (0,19 g). A una disolución de parte del residuo obtenido (45 mg) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadieron ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (26 mg, 0,15 mmol), EDCI (29 mg, 0,15 mmol), HOBt (8 mg, 0,058 mmol) y NEt<sub>3</sub> (23 mg, 0,23 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se lavó con agua (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 10 mL). La capa orgánica reunida se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y después de la filtración, el filtrado se concentró, resultando un residuo. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (Columna: Phenomenex Synergi C18 150 \* 30 mm \* 4 um. Método: de 30 a 50% de B en A en 12 minutos A: H<sub>2</sub>O + TFA al 0,1% B: MeCN. Caudal (mL/min): 25), a las fracciones que contenían producto, se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hasta que el valor del pH era 9. El disolvente orgánico se separó en vacío y la capa acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y después de la filtración, se separó el disolvente, resultando el compuesto **16** (11 mg). Método B; Rt: 4,58 min. m/z: 892,4 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 893,3; SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A; Rt: 6,17 min

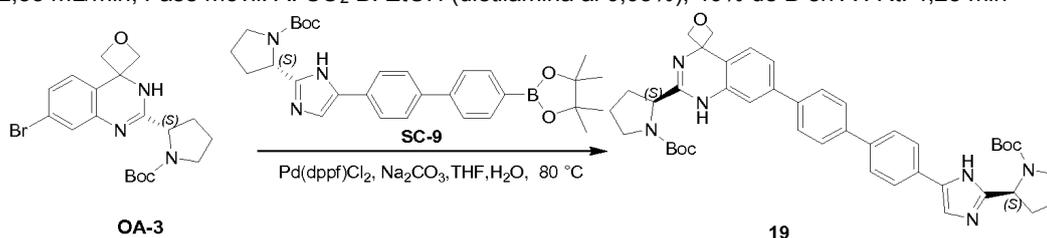


- 25 Compuesto **QO-3** (0,2 g, 0,44 mmol), compuesto **SC-9** (0,25 g, 0,49 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,10 g, 0,088 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,21 g, 1,98 mmol) en THF (8 mL) y H<sub>2</sub>O (2,4 mL) se agitaron a 80°C bajo irradiación de microondas durante 5 minutos. El disolvente se separó en vacío, el residuo obtenido se disolvió en CHCl<sub>3</sub> y se filtró. El filtrado se concentró y se purificó mediante TLC preparativa. (Eluyente: acetato de etilo/metanol, 10:1), resultando el compuesto **17** (0,25 g).

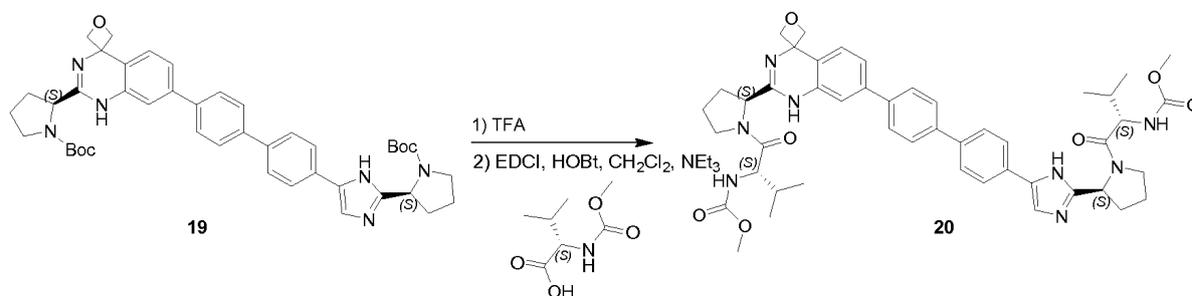


Compuesto **17** (0,24 g, 0,32 mmol) en  $\text{CHCl}_3$  (10 mL) y HCl concentrado (10 mL) se agitó a  $60^\circ\text{C}$  en un tubo sellado durante 2 horas. La capa acuosa se separó y se concentró en vacío. El residuo (0,2 g) se co-evaporó con tolueno y THF y se añadió a una disolución que se formó mediante la adición de EDCI (0,25 g, 1,32 mmol) y HOBT (0,18 g, 1,32 mmol) a una disolución de ácido (*S*)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metil-butanoico (0,23 g, 1,32 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5 mL) y agitación a  $10^\circ\text{C}$  durante 1 hora. Después, la mezcla se enfrió a  $0^\circ\text{C}$  y se añadió DIPEA (1 mL, 5,6 mmol). La mezcla se agitó a  $10^\circ\text{C}$  durante la noche. El disolvente se separó en vacío y el compuesto **18** obtenido (mezcla de diastereoisómeros **18a** y **18b**) se purificó mediante HPLC preparativa. (C18, eluyente:  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , TFA, 40:60:0,05). Se obtuvieron dos fracciones. Las fracciones se neutralizaron con  $\text{NaHCO}_3$  saturado. El disolvente orgánico se separó en vacío. El precipitado resultante se filtró y se secó en alto vacío, resultando **18a** (33 mg; 99% ee) de **18b** (33 mg; 90% ee). Compuesto **18b** se purificó mediante SFC. Columna: OD 250 mm \* 30 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  supercrítico B: EtOH; dietilamina al 0,05%; A: B = 60: 40 a 50 mL/min; Temp. de la columna:  $38^\circ\text{C}$ ; Presión de la Boquilla: 100 bares; Temp. de la Boquilla  $60^\circ\text{C}$ ; Temp. del Evaporador:  $20^\circ\text{C}$ ; Temp. del Cortador:  $25^\circ\text{C}$ ; Longitud de onda: 220 nm). Las fracciones recogidas se reunieron y se concentraron en vacío. El residuo se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado y se secó en alto vacío. Resultó el compuesto 18b. (26 mg, 99% ee).

**18a**; Método B; Rt: 4,75 min. m/z: 833,4 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) Masa exacta: 834,6; SFC: Columna: OD-3 150 mm x 4,6 mm; 3  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,5 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 6,08 min  
**18b**; Método B; Rt: 4,87 min. m/z: 833,4 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) Masa exacta: 834,5; SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: EtOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A : Rt: 4,25 min

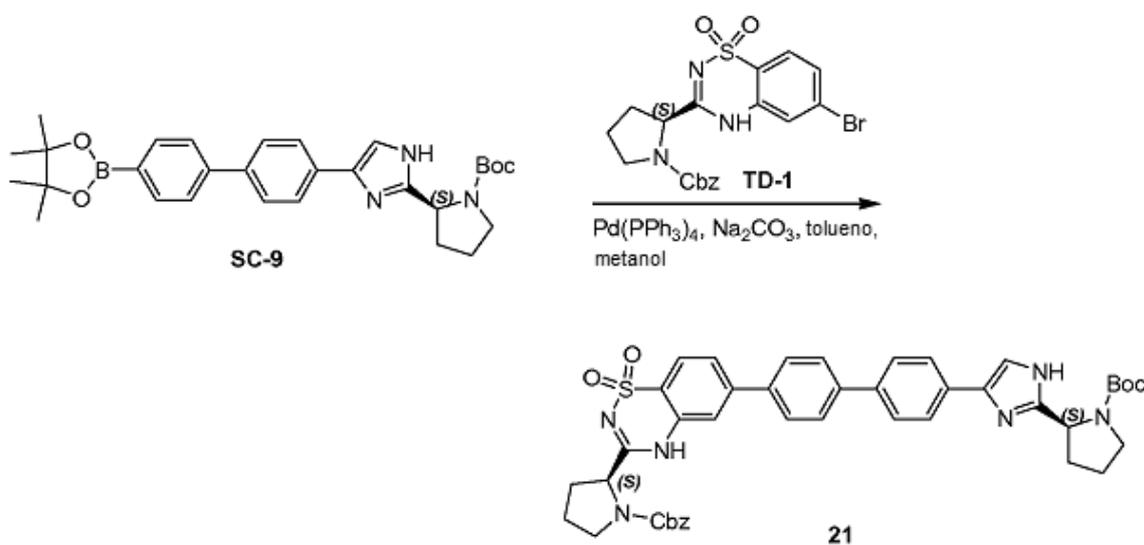


Una mezcla de compuesto **OA-3** (0,46 g, 1,09 mmol), **SC-9** (0,67 g, 1,3 mmol),  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$  (45 mg, 0,058 mmol), THF (10 mL) y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  acuoso (2 mL, 2N) se lavó abundantemente con gas nitrógeno durante tres veces. La mezcla de reacción se agitó a 80 grados durante 15 minutos. La mezcla se enfrió bruscamente con agua (10 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 5 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Después de la separación de los componentes volátiles, el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /metanol = 10/1), resultando el compuesto **19** (0,42 g).

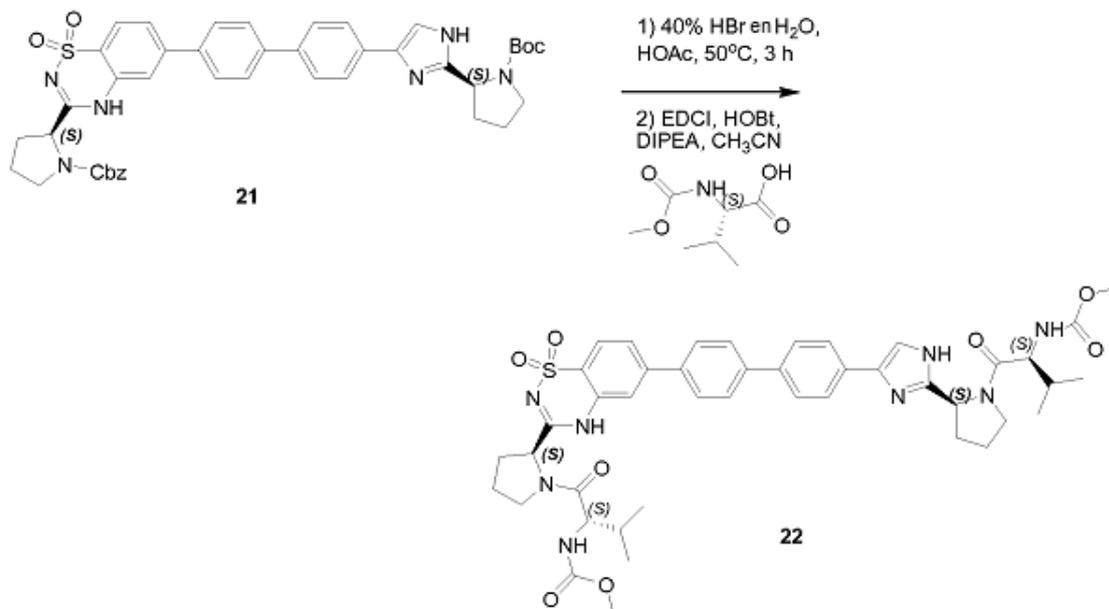


Compuesto **19** (0,2 g, 0,28 mmol) se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) y se añadió lentamente TFA (5 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y la mezcla se concentró, resultando un residuo (0,19 g). A parte

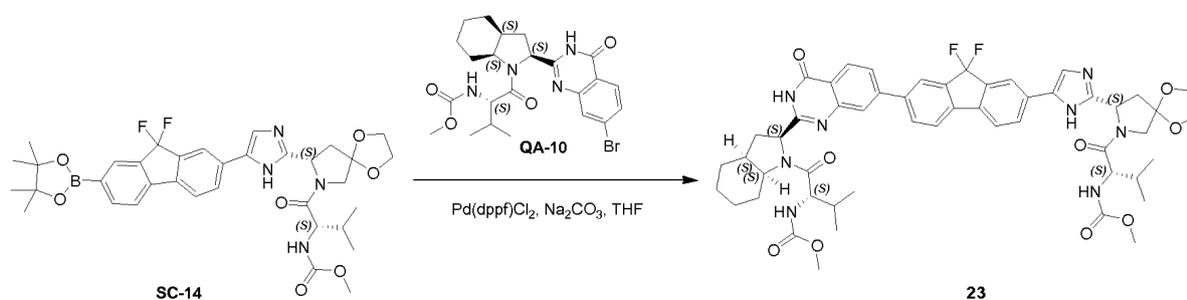
de este residuo (110 mg) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) se añadieron ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (105 mg, 0,60 mmol), EDCI (114 mg, 0,60 mmol), HOBt (13,5 mg, 0,1 mmol) y  $\text{NEt}_3$  (60 mg, 0,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se lavó con agua (10 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 mL). La capa orgánica reunida se secó y se concentró, resultando un residuo que se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$  (Columna: Diamonsil C 18 150 \* 20 mm \* 5  $\mu\text{m}$ . Método: de 20 a 40% de B en A en 14 min. A:  $\text{H}_2\text{O}$  + TFA al 0,1% B: MeCN Caudal (mL/min): 40)). A las fracciones que contenían producto se añadió  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hasta que el valor del pH era 9, se separó el disolvente orgánico y la capa de agua se lavó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 mL). La capa orgánica se separó y se concentró a sequedad, resultando el compuesto **20** (40 mg). Método C; Rt: 3,48 min. m/z: 845,5 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> Masa exacta: 844,4; SFC: Columna: OD-H 250 mm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Caudal: 2,35 mL/min, Fase móvil: A:  $\text{CO}_2$  B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 8,48 min



$\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,4 g, 3,8 mmol, 2 eq) en  $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL) se añadió a la mezcla de compuesto **SC-9** (1 g, 1,9 mmol), compuesto **TD-1** (0,9 g, 1,9 mmol), etanol (10 mL) y tolueno (20 mL). Se añadió  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (0,11 g, 0,095 mmol). La mezcla se agitó a 90°C durante 10 horas en protección de  $\text{N}_2$ . El disolvente orgánico se separó en vacío. El residuo se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (5 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante columna de resolución instantánea (eluyente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /metanol = 10:1). El disolvente se evaporó, resultando el compuesto **21** (1,7 g).



Compuesto **21** (1,7 g, 1,1 mmol) se disolvió en CH<sub>3</sub>COOH (20 mL). Se añadió HBr al 40% en H<sub>2</sub>O (10 mL). La mezcla se agitó a 50°C durante 3 horas. El disolvente se evaporó en vacío. El residuo se lavó con la mezcla de terc-butil-metil-éter y metanol (1:1). El sólido se filtró y se secó en alto vacío, resultando un residuo (1,7 g). Parte de este residuo (0,7 g) se añadió a una disolución preformada formada por la adición de EDCI (0,46 g, 2,4 mmol) y HOBT (0,32 g, 2,4 mmol) a ácido (S)-2-(metoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (14 mL) y se agitó a 10°C durante 1 hora. La suspensión se enfrió hasta 0°C y se añadió DIPEA (1 g, 8 mmol). La mezcla se agitó a 10°C durante 12 horas. El sólido se filtró. El filtrado se concentró y se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y HCl 1 N (5 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (5 mL), salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución; Columna: Grace Vydac 250 \* 20mm \* 5 um Fase móvil A: agua; que contiene TFA al 0,075%, %V/V Fase móvil B: acetonitrilo (que contiene TFA al 0,025%, %V/V Caudal: 30 mL/min; Gradiente: 35-50% de B (v/v) de 0 a 11 min). Las fracciones puras se recogieron y se basificaron con NaHCO<sub>3</sub> a pH = 8. Los componentes volátiles se separaron en vacío. El residuo se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 15 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío. El residuo se separó mediante cromatografía de fluido supercrítico (Columna: AS 250 mm \* 30 mm, 5 um; Fase móvil: A. CO<sub>2</sub> supercrítico, B: MeOH (dietilamina al 0,05%), A:B = 60:40 en 50 mL/min; Temp. de la columna: 38°C; Presión de la Boquilla: 100 bares; Temp. de la Boquilla 60°C; Temp. del Evaporador: 20°C; Temp. del Cortador: 25°C; Longitud de onda: 220 nm). Las fracciones se recogieron y el disolvente se separó en vacío. El residuo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) y se lavó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (5 mL) y salmuera (5 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó, resultando el compuesto **22** (98 mg); Método B; Rt: 4,94 min. m/z: 853,3 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 852,4; SFC: Columna: AS-H 250 mm x 4,6 mm; 5 um. Caudal: 2,5 mL/min, Fase móvil: A: CO<sub>2</sub> B: MeOH (dietilamina al 0,05%); 40% de B en A: Rt: 4,53 min.



A una disolución agitada de **SC-14** (800 mg, 1,18 mmol), **QA-10** (713 mg, 1,42 mmol) y Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (100 mg) en THF seco (10 mL), se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 mL, ac. 2 N). La mezcla de reacción se agitó a reflujo mediante

calentamiento en un baño de aceite precalentado a 90°C, durante 20 minutos. La mezcla se enfrió bruscamente a continuación con agua (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron en vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía líquida de alta resolución (Columna: Phenomenex Synergi C18 150 \* 20 mm \* 5 µm. Método: 34 a 64% de B en A: H<sub>2</sub>O + TFA al 0,1% B: MeCN. Caudal (mL/min): 25). Las fracciones puras se recogieron y se neutralizaron mediante NaHCO<sub>3</sub> saturado. La mezcla se concentró en vacío. El producto obtenido se purificó adicionalmente mediante cromatografía de fluidos supercríticos (columna: Chiralpak OD-3 50 \* 4,6 mm D.I., 3 µm Fase móvil: A: metanol (dietilamina al 0,05%), B: CO<sub>2</sub>, A/B = 40/60, Caudal: 2,5 mL/min, longitud de onda: 220 nm). Las fracciones puras se recogieron y se separaron los componentes volátiles en vacío. El residuo obtenido se disolvió en diclorometano (20 mL). La capa orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El disolvente se separó en vacío, resultando el compuesto **23** (247 mg).  
 Método B; Rt: 5,84 min. m/z: 977,7 (M+H)<sup>+</sup> Masa exacta: 976,4; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 12,29 - 12,54 (1 H, m), 12,03 (1 H, s ancho), 8,12 - 8,21 (1 H, m), 8,01 - 8,11 (2 H, m), 7,91 - 8,01 (3 H, m), 7,79 - 7,91 (2 H, m), 7,62 - 7,76 (2 H, m), 7,54 (1 H, d, *J* = 7,3 Hz), 7,32 (1 H, d, *J* = 8,3 Hz), 5,01 - 5,15 (1 H, m), 4,67 - 4,81 (1 H, m), 4,37 - 4,52 (1 H, m), 3,81 - 4,13 (7 H, m), 3,70 - 3,80 (1 H, m), 3,54 (6 H, s ancho), 2,31 - 2,46 (3 H, m), 2,16 - 2,29 (1 H, m), 1,82 - 2,16 (5 H, m), 1,56 - 1,82 (3 H, m), 1,37 - 1,51 (1 H, m), 1,16 - 1,36 (2 H, m), 0,71 - 0,99 (12 H, m).

### Ejemplos biológicos - actividad anti-VHC de compuestos de fórmula I

#### Ensayo del Replicón

Los compuestos de fórmula (I) se examinaron en cuanto a la actividad inhibidora en el replicón del VHC. Este ensayo celular se basa en una construcción de expresión bicistrónica, según se describe por Lohmann et al. (Science (1999) 285: 110-113; Journal of Virology (2003) 77: 3007-3019) con modificaciones descritas por Krieger et al. Journal of Virology (2001) 75: 4614-4624, y Lohmann et al. (Journal of Virology (2003) 77: 3007-3019) para el genotipo 1b y por Yi et al. (Journal of Virology (2004) 78: 7904-7915) para el genotipo 1a en una estrategia de rastreo multi-objetivo.

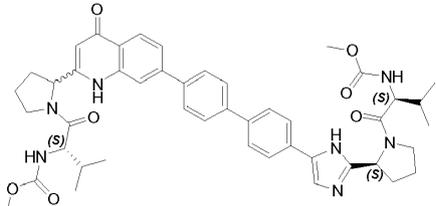
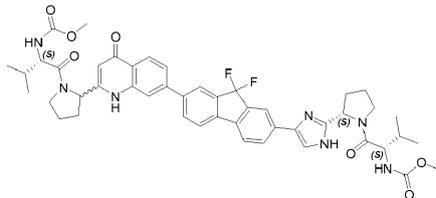
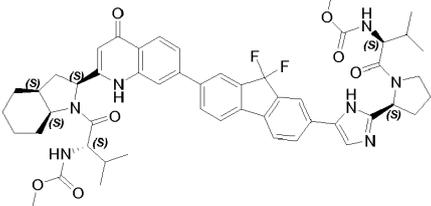
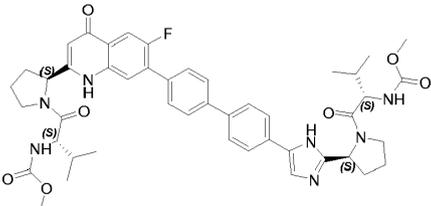
#### Transfección estable

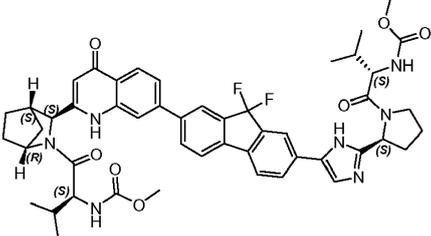
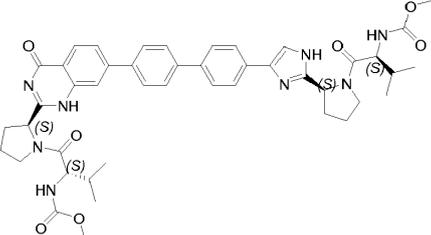
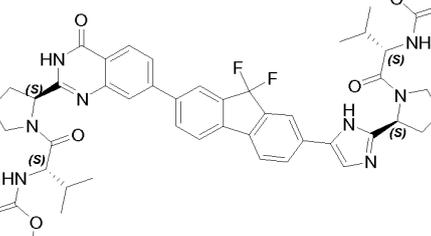
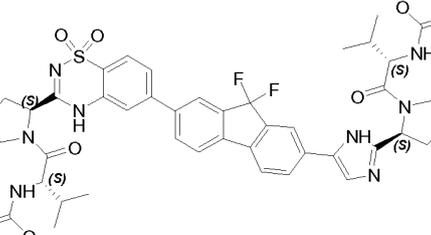
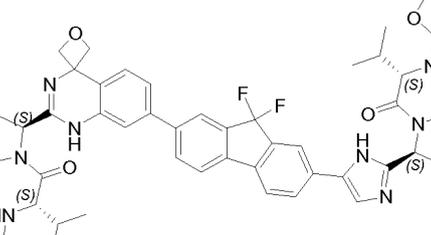
El método era como sigue. El ensayo utilizó la línea celular transfectada establemente Huh-7 luc/neo (a la que se alude de aquí en adelante como Huh-Luc). Esta línea celular alberga un ARN que codifica una construcción de expresión bicistrónica que comprende las regiones NS3-NS5B tipo salvaje del VHC tipo 1b, traducida a partir de un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) del virus de la encefalomiocarditis (EMCV), precedida por una porción de informador (luciferasa de luciérnaga (FfL)), y una porción de marcador seleccionable (neo<sup>R</sup>, neomicina fosfotransferasa). La construcción está flanqueada por NTRs (siglas inglesas de regiones no transducidas) 5' y 3' del VHC tipo 1b. El cultivo continuado de las células del replicón en presencia de G418 (neo<sup>R</sup>) depende de la replicación del ARN del VHC. Las células del replicón transfectadas establemente que replican ARN del VHC autónomamente y a niveles altos, codificando, entre otros, luciferasa, se utilizaron para el rastreo de los compuestos antivirales.

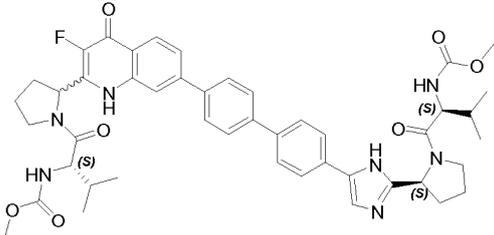
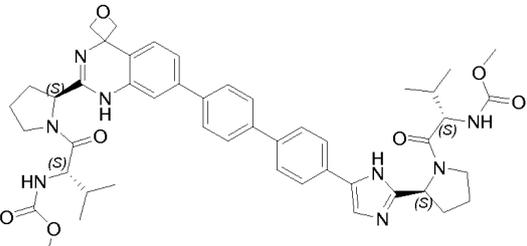
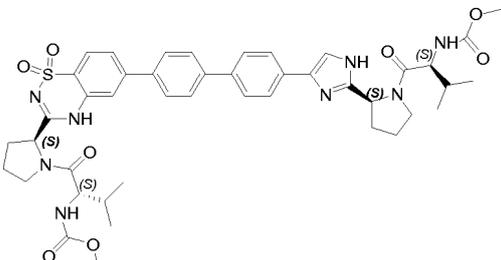
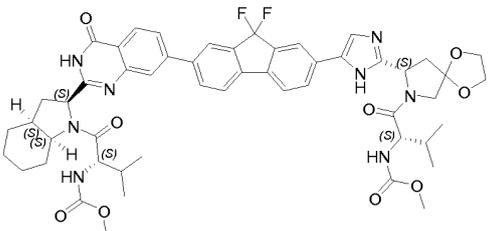
Las células de replicón se sembraron en placas de 384 pocillos en presencia de los compuestos de ensayo y control que se añadieron en diversas concentraciones. Después de una incubación durante tres días, la replicación del VHC se midió sometiendo a ensayo la actividad de luciferasa (utilizando sustratos estándar de ensayo de luciferasa y los reactivos y un dispositivo de representación en imágenes de microplacas Perkin Elmer Viewlux™ ultraHTS). Células de replicón en los cultivos control tienen una elevada expresión de luciferasa en ausencia de cualquier inhibidor. La actividad inhibidora del compuesto se monitorizó en las células Huh-Luc, lo que permite una curva de dosis-respuesta para cada uno de los compuestos de ensayo. Se calcularon después los valores de CE<sub>50</sub>, que representan la cantidad de compuesto requerida para reducir el nivel de actividad de luciferasa detectado en un 50% o, más específicamente, para reducir la capacidad de replicarse del ARN del replicón del VHC genéticamente ligado.

#### Resultados

En los casos en los que un compuesto de fórmula (I) se sometió a ensayo más de una vez en el ensayo de replicón, el promedio de todos los resultados del ensayo se da en esta Tabla 1.

ESTRUCTURA	Compuesto n°.	HCV-REP-HUH7LUC_CE <sub>50</sub> (nM)
	<b>3</b>	
	<b>3a</b>	0,021
	<b>3b</b>	1,13
	<b>5</b>	
	<b>5a</b>	0,014
	<b>5b</b>	0,228
	<b>6</b>	0,012
	<b>7</b>	0,008
	<b>8</b>	0,004

ESTRUCTURA	Compuesto n°.	HCV-REP-HUH7LUC_CE <sub>50</sub> (nM)
 <p>Chemical structure of compound 10, featuring a central biphenyl core with two fluorine atoms. It is substituted with a pyridine ring on one side and a pyrrolidine ring on the other. The pyridine ring is further substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. The pyrrolidine ring is substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. Stereochemistry is indicated with (S) and (R) labels.</p>		
 <p>Chemical structure of compound 11, featuring a central biphenyl core with two fluorine atoms. It is substituted with a pyridine ring on one side and a pyrrolidine ring on the other. The pyridine ring is further substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. The pyrrolidine ring is substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. Stereochemistry is indicated with (S) labels.</p>	11	0,149
 <p>Chemical structure of compound 12, featuring a central biphenyl core with two fluorine atoms. It is substituted with a pyridine ring on one side and a pyrrolidine ring on the other. The pyridine ring is further substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. The pyrrolidine ring is substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. Stereochemistry is indicated with (S) labels.</p>	12	0,007
 <p>Chemical structure of compound 14, featuring a central biphenyl core with two fluorine atoms. It is substituted with a pyridine ring on one side and a pyrrolidine ring on the other. The pyridine ring is further substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. The pyrrolidine ring is substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. Stereochemistry is indicated with (S) labels.</p>	14	0,008
 <p>Chemical structure of compound 16, featuring a central biphenyl core with two fluorine atoms. It is substituted with a pyridine ring on one side and a pyrrolidine ring on the other. The pyridine ring is further substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. The pyrrolidine ring is substituted with a methyl group and a methoxycarbonyl group. Stereochemistry is indicated with (S) labels.</p>	16	0,011

ESTRUCTURA	Compuesto n°.	HCV-REP-HUH7LUC_CE <sub>50</sub> (nM)
	<b>18</b>	
	<b>18a</b>	0,030
	<b>18b</b>	4,4
	<b>20</b>	0,023
	<b>22</b>	0,012
	<b>23</b>	0,006

Transfección transitoria

5

En un ajuste transitorio, una línea celular de hepatoma Huh-7 lunet fue transfectada transitoriamente con un ARN de replicación autónoma que codifica una construcción de expresión bicistrónica. Esta construcción comprende un gen informador de luciferasa de luciérnaga que precede a la región NS3-NS5B subgenómica de VHC (genotipo 1a H77 o 1b Con1). La traducción de la región subgenómica del VHC está mediada por un sitio de entrada de ribosoma interno del virus de la encefalomiocarditis. La construcción está además flanqueada por regiones 5' y 3' no traducidas de VHC (genotipo 1a H77 o 1b Con 1, respectivamente), que permiten la replicación del ARN.

5 Las células se sembraron en placas de 384 pocillos en presencia de compuestos de ensayo y de control, que se añadieron en diversas concentraciones. Después de una incubación de dos días, la replicación del ARN del replicón subgenómico del VHC se midió mediante ensayo de la actividad de luciferasa (utilizando sustratos y reactivos estándares de ensayo de luciferasa y un dispositivo de representación en imágenes de microplacas Perkin Elmer ViewLux™ ultraHTS). Células que contienen replicón subgenómico de HCV en los cultivos de control tienen una alta expresión de luciferasa en ausencia de cualquier inhibidor. Se monitorizó la actividad inhibidora del compuesto, lo que permite una curva de dosis-respuesta para cada uno de los compuestos de ensayo. Después se calcularon los valores de  $CE_{50}$ , que representan la cantidad de compuesto requerida para disminuir el nivel de actividad de luciferasa detectada en un 50% o, más específicamente, para reducir la capacidad de replicación del ARN subgenómico del VHC genéticamente ligado.

#### Cribados inversos

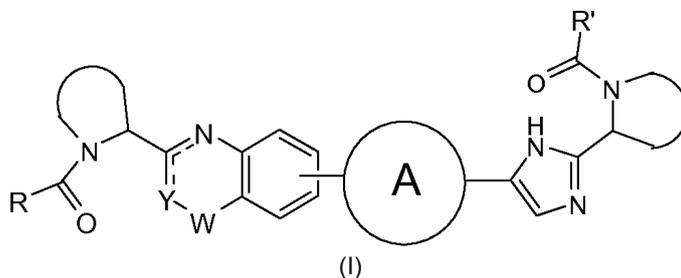
Líneas de células de cribado inverso incluyen una línea de células de hepatoma Huh-7 contiene una construcción de promotor-Luc inmediata-temprano principal de citomegalovirus humano (Huh7-CMV-Luc) y una línea de células T MT4 que contiene un informador Luc de repetición terminal largo (MT4-LTR Luc).

Compuesto número	$CE_{50}$ 1b (Transitoria) nM	$CE_{50}$ 1a (Transitoria) nM	$CC_{50}$ MT4-LTR-luc ( $\mu$ M)	$CC_{50}$ Huh7-CMV-luc ( $\mu$ M)
<b>3a</b>	0,025	0,008	> 0,984	> 0,984
<b>3b</b>	1,36	0,941	> 0,984	> 0,984
<b>5a</b>	0,013	0,007	> 0,984	> 0,984
<b>5b</b>	0,63	0,210	> 0,984	> 0,984
<b>6</b>	0,013	0,005	> 0,984	> 0,984
<b>7</b>	0,021	0,042	> 0,984	> 0,984
<b>8</b>	0,005	0,003	0,77	> 0,984
<b>11</b>	0,025	1,47	> 0,984	> 0,984
<b>12</b>	0,005	0,047		> 0,984
<b>14</b>	0,017	0,005	> 0,984	> 0,984
<b>16</b>	0,033	0,040	> 0,984	> 0,984
<b>18a</b>	0,037	0,011	> 0,984	> 0,984
<b>18b</b>	6,7	65,6	> 0,984	> 0,984
<b>20</b>	< 0,019	0,46	> 0,984	> 0,984
<b>22</b>	0,012	0,054	> 0,984	> 0,984
<b>23</b>	0,005	0,005	> 0,984	> 0,984

15

REIVINDICACIONES

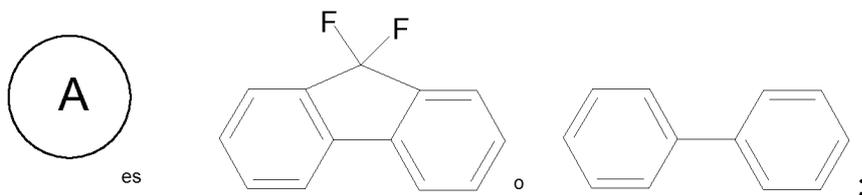
1. Un compuesto de Fórmula I



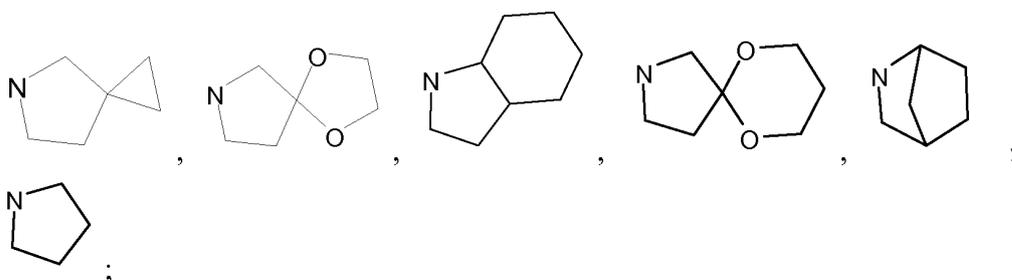
5 o un estereoisómero del mismo, en donde:

Y es CH, N o CR<sub>4</sub>;

W es carbonilo, sulfonilo o CR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;



independientemente se selecciona de un grupo que comprende



10

R y R' se seleccionan, independientemente, de -CR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>, arilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de halo y metilo, o heterocicloalquilo, en donde

R<sub>1</sub> se selecciona de alquilo C<sub>1-4</sub>, alquilo C<sub>2-4</sub> sustituido con metoxi o hidroxilo, y fenilo opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente entre halo y metilo;

15 R<sub>2</sub> es hidroxilo, amino, mono- o di-alquil C<sub>1-4</sub>-amino, alquil C<sub>1-4</sub>-carbonilamino, alquilo C<sub>1-4</sub>-carbonilamino;

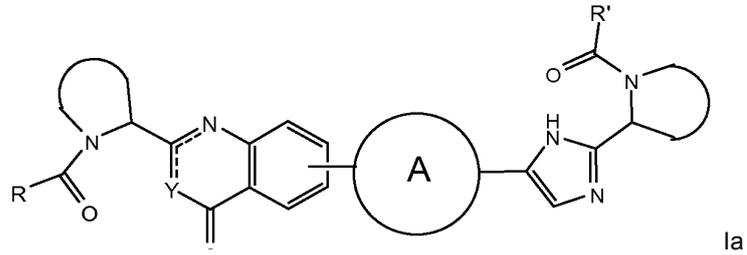
R<sub>3</sub> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sub>4</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> o fluoro;

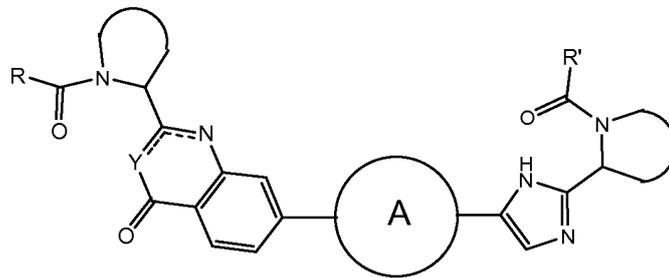
R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub>, cada uno independientemente, son alquilo C<sub>1-4</sub>; o

20 CR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> juntos forman cicloalquilo C<sub>3-7</sub>, oxetano, tetrahidrofurano; o sales farmacéuticamente aceptables o un solvato del mismo.

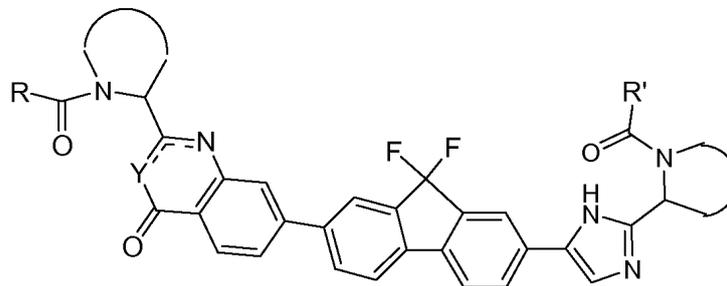
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es de fórmula Ia



3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, que es de fórmula Ib

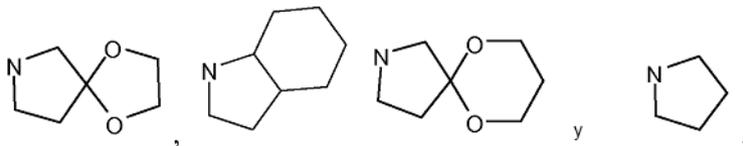


5 4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es de fórmula Ic

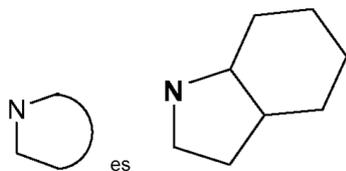


5. El compuesto de fórmula I, Ia, Ib o Ic de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde cada

uno de  se selecciona independientemente entre un grupo que comprende



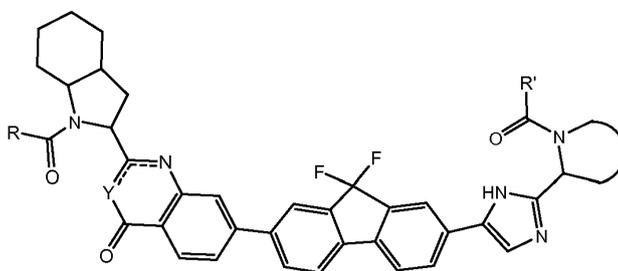
6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde al menos un



7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde  $R_2$  es alquil  $C_{1-4}$ -carbonilamino o alquiloxi  $C_{1-4}$ -carbonilamino, y  $R_3$  es hidrógeno.

5 8. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde  $R_1$  se selecciona entre alquilo  $C_{3-4}$  ramificado; alquilo  $C_{2-3}$  sustituido con metoxi; y fenilo opcionalmente sustituido con 1 sustituyente seleccionado de halo y metilo.

9. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, que es de fórmula Id



10 10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y un soporte farmacéuticamente aceptable.

11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, para uso como un medicamento.

15 12. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, para uso en la prevención o el tratamiento de una infección por VHC en un mamífero.

13. Un producto, que contiene (a) un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y (b) otro inhibidor del VHC, en forma de un preparado combinado para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de infecciones por el VHC.

20