

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 690**

51 Int. Cl.:

C07K 5/08 (2006.01)
C07D 217/24 (2006.01)
C07D 237/32 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
C07K 5/083 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.06.2012 PCT/US2012/042038**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.12.2012 WO12173983**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2012 E 12729291 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016 EP 2721053**

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

30 Prioridad:

15.06.2011 US 201161497141 P

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

08.03.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**RAJAMANI, RAMKUMAR;
RENDUCHINTALA, KISHORE V.;
SARKUNAM, KANDHASAMY;
NAGALAKSHMI, PULICHARLA;
MEANWELL, NICHOLAS A. y
SCOLA, PAUL MICHAEL**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 604 690 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores del virus de la hepatitis C

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE.UU. con Número de Serie 61/497, presentada el 15 de junio de 2011.

10 La presente divulgación se dirige generalmente a compuestos antivíricos y más específicamente se dirige a compuestos que inhiben la función de la proteasa NS3 (también denominada en el presente documento "serina proteasa") codificada por el virus de la Hepatitis C (VHC), a composiciones que comprenden tales compuestos y a procedimientos para inhibir la función de la proteasa NS3.

15 El VHC es un patógeno humano importante, que infecta un estimado de 170 millones de personas en todo el mundo - aproximadamente cinco veces el número infectado por el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1. Una fracción sustancial de estos individuos infectados por el VHC desarrolla una enfermedad hepática progresiva grave, incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular.

20 Actualmente, la terapia para el VHC más eficaz emplea una combinación de alfa-interferón y ribavirina, dando lugar a una eficiencia sostenida en el 40 % de los pacientes. Los resultados clínicos recientes demuestran que el alfa-interferón pegilado es superior al alfa-interferón sin modificar como monoterapia. Sin embargo, incluso con regímenes terapéuticos experimentales que implican combinaciones de alfa-interferón pegilado y ribavirina, una fracción sustancial de pacientes no tiene una reducción sostenida en la carga vírica. De esta manera, hay una
25 necesidad clara y sin cumplir de desarrollar productos terapéuticos eficaces para el tratamiento de la infección por VHC.

30 El VHC es un virus de ARN de hebra positiva. Basándose en una comparación de la secuencia deducida de aminoácidos y la similitud extensiva en la región 5' sin traducir, el VHC se ha clasificado como un género separado en la familia Flaviviridae. Todos los miembros de la familia Flaviviridae tienen viriones envueltos que contienen un genoma de ARN de hebra positiva que codifica todas las proteínas específicas de virus conocidas a través de la traducción de un único marco de lectura abierto ininterrumpido.

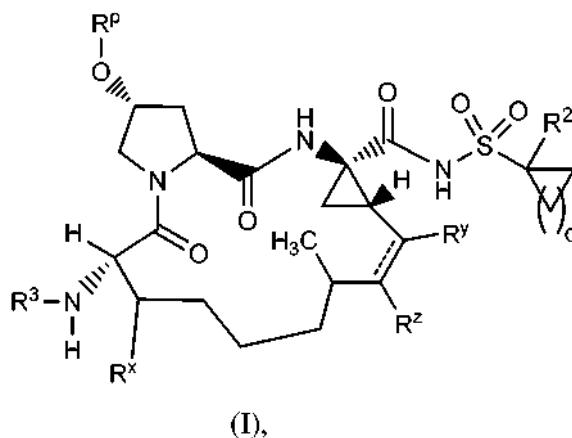
35 Se encuentra heterogeneidad considerable dentro del nucleótido y la secuencia de aminoácidos codificada a través de todo el genoma del VHC. Se han caracterizado seis genotipos principales y se han descrito más de 50 subtipos. Los genotipos principales del VHC difieren en su distribución en todo el mundo y el significado clínico de la heterogeneidad genética del VHC se mantiene difícil a pesar de numerosos estudios del posible efecto de los genotipos en la patogénesis y en la terapia.

40 El genoma de ARN del VHC de hebra única tiene aproximadamente 9500 nucleótidos de longitud y tiene un marco de lectura abierto (ORF, por sus siglas en inglés) que codifica una única poliproteína grande de aproximadamente 3000 aminoácidos. En células infectadas, esta poliproteína se escinde en múltiples sitios por proteasas celulares y víricas para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS, por sus siglas en inglés). En el caso del VHC, la generación de proteínas no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se efectúa por dos
45 proteasas víricas. La primera escinde en la unión NS2-NS3; la segunda es una serina proteasa contenida dentro de la región N-terminal de NS3 y media todas las escisiones posteriores corriente debajo de NS3, tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para el resto de sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B. La proteína NS4A parece servir para múltiples funciones, actuando como un co-factor para la proteasa NS3 y posiblemente asistiendo en la localización en la membrana de NS3 y otros componentes de la replicasa vírica. La formación del complejo de la
50 proteína NS3 con NS4A es esencial para el procesamiento eficaz de poliproteínas, potenciando la escisión proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también exhibe actividades nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. La NS5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN que está implicada en la replicación del VHC.

55 La presente divulgación proporciona compuestos peptídicos que pueden inhibir el funcionamiento de la NS3 proteasa, por ejemplo, en combinación con la NS4A proteasa. Además, la presente divulgación describe la administración de terapia de combinación a un paciente al que puede administrarse un compuesto de acuerdo con la presente divulgación, que es eficaz inhibiendo la proteasa NS3 del VHC, con compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC.

60

En su primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I):

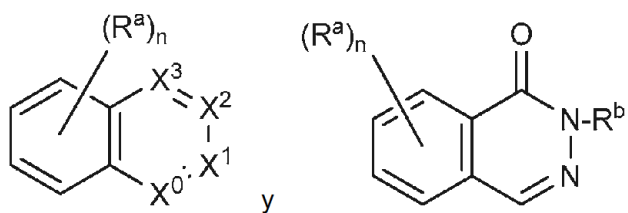


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

5 q es 1 o 2;

— es un enlace simple o doble;

R^p se selecciona entre



10

en las que R^p está unido al resto molecular precursor a través de cualquier átomo de carbono sustituible en el grupo;

n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

X⁰ se selecciona entre CH y N;

15 X¹ se selecciona entre CH y N;

X² y X³ se seleccionan independientemente entre CH, C(R^a) y N; con la condición de que al menos uno de X¹, X² y X³ sea distinto de N;

20 cada R^a se selecciona independientemente entre alqueniloxi, alcoxi, alcoxialcoxi, alquilo, benzodioxanilo, carboxamido, carboxi, carboxialcoxi, ciano, cicloalquilalcoxi, cicloalquilo, deuterioalcoxi, dialquilamino, halo, haloalquilo, haloalcoxi, haloalcoxycarbonilo, hidroxi, morfolinilo, fenilo, piperazinilo, pirazolilo, piridinilo y pirrolidinilo, en los que el morfolinilo, el fenilo, el piperazinilo, el piridinilo y el pirrolidinilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, alquilsulfonilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y morfolinilo; y en los que dos grupos R^a adyacentes, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, pueden formar opcionalmente un anillo seleccionado entre dioxanilo, dioxolanilo, morfolinilo, piranilo y fenilo, en donde el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alquilo y halo;

25 R^b es alquilo;

R^x se selecciona entre metilo y etilo;

30 R^y y R^z se seleccionan independientemente entre hidrógeno e hidroxilo; con la condición de que cuando — es un enlace doble, R^y y R^z son cada uno hidrógeno;

R^z se selecciona entre hidrógeno, alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo e hidroxialquilo; y

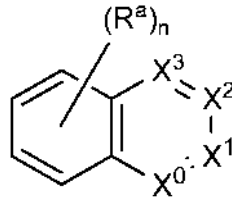
35 R³ se selecciona entre hidrógeno, alcoxialcoxycarbonilo, alcoxycarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, cicloalquilalcoxycarbonilo, cicloalquilcarbonilo, cicloalquilo, cicloalquilo, deuterioalcoxycarbonilo, deuteriohaloalcoxycarbonilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilcarbonilo, haloalcoxycarbonilo, haloalquilaminocarbonilo, haloalquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, heterocicliloxycarbonilo, fenilcarbonilo y feniloxycarbonilo, en donde la parte cicloalquilo del cicloalquilalcoxycarbonilo, el cicloalquilcarbonilo y el cicloalquilo, la parte heterociclilo del heterociclilcarbonilo y el heterocicliloxycarbonilo, y la parte fenilo del fenilcarbonilo y el feniloxycarbonilo, está opcionalmente sustituida con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente entre alquilo, alquilamino, alquilcarbonilo, cicloalquilo, dialquilamino, halo, haloalcoxi y haloalquilo.

40

En una primera realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

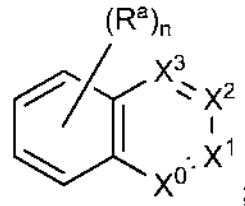
- 5 q es 1;
 ----- es un enlace doble;
 R^x es metilo; y
 R^y y R^z son cada uno hidrógeno.

- 10 En una segunda realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^p es:



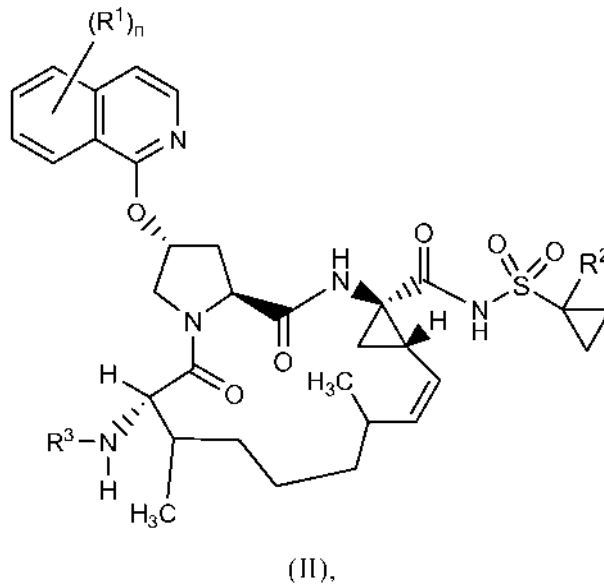
- 15 En un tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R^p es



- 20 n es 0, 1, 2 o 3;
 cada R^a se selecciona independientemente entre alcoxi y halo; y
 R³ se selecciona entre alcoxicarbonilo y haloalcoxicarbonilo.

- 25 En un segundo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (II)



- 30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que
 n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

cada R^1 se selecciona independientemente entre alcoxi, alquilo, carboxamido, carboxi, ciano, cicloalquilo, dialquilamino, halo, haloalquilo, haloalcoxi y fenilo, en los que el fenilo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo;

R^2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, halo y haloalquilo; y

- 5 R^3 se selecciona entre alcoxicarbonilo, alquilcarbonilo, haloalcoxicarbonilo, haloalquilcarbonilo y fenilcarbonilo, en los que el fenilo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alquilo y halo.

10 En un tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una primera realización del tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC y un vehículo farmacéutico. En una segunda realización al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina. En una tercera realización el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide. En una cuarta realización del tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC y un vehículo farmacéutico, en la que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de la inosín 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina. En una quinta realización del tercer aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC y un vehículo farmacéutico, en la que al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz inhibiendo la función de una diana seleccionada de metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, egreso del VHC, proteína NS5A del VHC e IMPDH para el tratamiento de una infección por VHC.

25 En un cuarto aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto como se describe anteriormente para usar en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente, comprendiendo dicho procedimiento administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del cuarto aspecto el procedimiento comprende además administrar al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una segunda realización del cuarto aspecto al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina. En una tercera realización el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide. En una cuarta realización del cuarto aspecto la presente divulgación proporciona el dicho compuesto para usar en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente, comprendiendo el procedimiento administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de la inosín 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina. En una quinta realización del cuarto aspecto la presente divulgación proporciona una composición para usar en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente, comprendiendo dicho procedimiento administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz inhibiendo la función de una diana seleccionada de metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, egreso del VHC, proteína NS5A del VHC e IMPDH para el tratamiento de una infección por VHC.

Otros aspectos de la presente divulgación pueden incluir combinaciones adecuadas de realizaciones desveladas en el presente documento.

- 55 Otros aspectos y realizaciones más pueden encontrarse en la descripción proporcionada en el presente documento.

La descripción de la presente divulgación en el presente documento debe interpretarse de modo congruente con las leyes y principios del enlace químico. En algunos casos, puede ser necesario retirar un átomo de hidrógeno para acomodar un sustituyente en cualquier localización dada.

60 Debe entenderse que los compuestos abarcados por la presente divulgación son aquellos que son adecuadamente estables para su uso como agente farmacéutico.

65 Se pretende que la definición de cualquier sustituyente o variable en una localización particular en una molécula sea independiente de sus definiciones en cualquier otra parte de dicha molécula. Por ejemplo, cuando n es 2, cada uno de los dos grupos R^1 pueden ser iguales o diferentes.

Como se usa en la presente memoria, las formas singulares "un", "uno" y "el" incluyen referencia en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

- 5 El término "alqueno", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de cadena lineal o ramificada de dos a seis átomos de carbono, que contiene al menos un enlace carbono-carbono doble.
- El término "alquenilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alqueno unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- 10 El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- El término "alcoxialcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxialquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- 15 El término "alcoxialcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxialcoxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "alcoxialquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos alcoxi.
- 20 El término "alcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 25 El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo obtenido a partir de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a diez átomos de carbono.
- El término "alquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 30 El término "alquilamino", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo $-NHR^q$, en el que R^q es alquilo.
- El término "alquilaminocarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilamino unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 35 El término "alquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "alquilsulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo sulfonilo.
- 40 El término "carbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)-$.
- El término "carboxamido", como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)NR^xR^y$, en el que R^x y R^y se seleccionan independientemente entre hidrógeno y alquilo.
- 45 El término "carboxi", como se usa en el presente documento, se refiere a $-CO_2H$.
- El término "carboxialcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo carboxialquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- 50 El término "carboxialquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos carboxi.
- 55 El término "ciano", como se usa en el presente documento, se refiere a $-CN$.
- El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo hidrocarburo saturado, monocíclico o bicíclico, que tiene de tres a siete átomos de carbono y cero heteroátomos. Los ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo y ciclopentilo.
- 60 El término "cicloalquilalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo (cicloalquil)alquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- El término "cicloalquilalcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilalcoxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 65

- El término "(cicloalquil)alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos cicloalquilo.
- 5 El término "cicloalquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "cicloalquiloxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- 10 El término "cicloalquiloxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquiloxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "deuteroalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno está reemplazado por un átomo de deuterio.
- 15 El término "deuteroalcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo deuteroalcoxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "deuterohaloalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalcoxi donde al menos uno de los átomos de hidrógeno está reemplazado por un átomo de deuterio.
- 20 El término "deuterohaloalcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo deuterohaloalcoxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 25 El término "dialquilamino", como se usa en el presente documento, se refiere a $-NR^pR^q$, en el que R^p y R^q son grupos alquilo. Los grupos alquilo pueden ser iguales o diferentes.
- El término "dialquilaminocarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo dialquilamino unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 30 El término "dialquilaminocarbonilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo dialquilaminocarbonilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 35 Los términos "halo" y "halógeno", como se usan en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br e I.
- El término "haloalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.
- 40 El término "haloalcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalcoxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos, tres o cuatro átomos de halógeno.
- 45 El término "haloalquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- El término "haloalquilamino", como se usa en el presente documento, se refiere a un $-NHR^q$, en el que R^q es un grupo haloalquilo.
- 50 El término "haloalquilaminocarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilamino unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 55 El término "haloalquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.
- 60 El término "heterociclilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo de cinco, seis o siete miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de cinco miembros tiene de cero a dos enlaces dobles y los anillos de seis y siete miembros tienen de cero a tres enlaces dobles. El término "heterociclilo" también incluye grupos bicíclicos en los que el anillo heterociclilo está condensado con un grupo fenilo, un grupo cicloalqueno monocíclico, un grupo cicloalquilo monocíclico u otro grupo heterociclilo monocíclico; y grupos tricíclicos en los que un sistema bicíclico está condensado con un grupo fenilo, un grupo cicloalqueno monocíclico, un grupo cicloalquilo monocíclico u otro grupo heterociclilo monocíclico. Los grupos heterociclilo de la presente invención pueden estar unidos al resto molecular precursor a través de un átomo de carbono o un átomo de nitrógeno en el grupo. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, pero sin limitación, benzotienilo, furilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, oxazolilo, piperazinilo, piperidinilo,
- 65

pirazolilo, piridinilo, pirrolidinilo, pirrolopiridinilo, pirrolilo, tiazolilo, tienilo y tiomorfolinilo.

El término "heterociclicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

5 El término "heterociclioxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.

10 El término "heterociclioxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclioxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

El término "hidroxi", como se usa en el presente documento, se refiere a -OH.

15 El término "hidroxialquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos hidroxilo.

El término "fenilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

20 El término "feniloxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.

El término "feniloxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo feniloxi unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

25 El término "sulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a -SO₂-.

Los compuestos de la presente divulgación pueden existir en forma de sales farmacéuticamente aceptables. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente divulgación que son solubles o dispersables en agua o aceite, que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, repuesta alérgica u otro problema o complicación coherente con una relación beneficio/riesgo razonable, y son eficaces para su uso pretendido. Las sales pueden prepararse durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos o por separado haciendo reaccionar una funcionalidad básica adecuada con un ácido adecuado. Las sales de adición de ácidos representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato; digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metanosulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, paratoluenosulfonato y undecanoato. Los ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar sales de adición farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y ácidos orgánicos, tales como oxálico, maleico, succínico y cítrico.

45 Pueden prepararse sales de adición básicas durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos haciendo reaccionar un grupo ácido con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico o con amonio o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Los cationes de sales farmacéuticamente aceptables incluyen litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, así como cationes de amina cuaternaria no tóxicos, tales como amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, dietilamina, etilamina, tributilamina, piridina, *N,N*-dimetilalanilina, *N*-metilpiperidina, *N*-metilmorfolina, dicitohexilamina, procaína, dibencilamina, *N,N*-dibencilfenetilamina y *N,N'*-dibenciletildiamina. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina y piperazina.

55 Como se usa en el presente documento, la frase "actividad anti-VHC" significa que el compuesto es eficaz tratando el virus del VHC.

La frase "compuestos de la divulgación" y las expresiones equivalentes, se entiende que abarcan compuestos de fórmula (I) y enantiómeros, diastereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Similarmente, las referencias a los intermedios, se entiende que abarcan sus sales donde el contexto lo permita de esta manera.

60 El término "paciente" incluye tanto humanos como otros mamíferos.

65 La frase "composición farmacéutica" significa una composición que comprende un compuesto de la presente divulgación en combinación con al menos un vehículo farmacéutico adicional, es decir, un adyuvante, excipiente o vehículo, tales como diluyentes, agentes conservantes, cargas, agentes reguladores del flujo, agentes desintegrantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes saborizantes,

agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes dispensadores, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y de las formas de dosificación. Pueden usarse, por ejemplo, los ingredientes listados en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a ed., Mack Publishing Company, Easton, PA (1999).

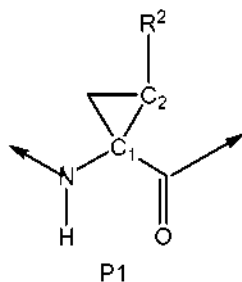
5 La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del ámbito del juicio médico sólido, adecuados para usar en contacto con los tejidos de los pacientes sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesivos u otros problemas o complicaciones acordes con una relación riesgo/beneficio razonables.

10 La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad total de cada componente activo que es suficiente para mostrar un beneficio significativo al paciente, por ejemplo, una reducción sostenida en la carga vírica. Cuando se aplica a un individuo el ingrediente activo, administrado solo, la frase se refiere a ese ingrediente solo. Cuando se aplica en una combinación, la frase se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que dan como resultado el efecto terapéutico, bien administrado en combinación, en serie o simultáneamente.

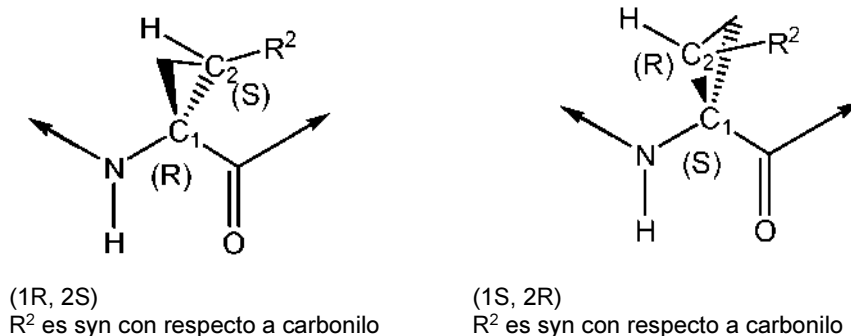
15 Los términos "tratar" y "tratando" se refieren a: (i) prevenir que ocurra una enfermedad, un trastorno o una afección en un paciente que puede estar predispuesto a la enfermedad, el trastorno y/o la afección pero que todavía no ha sido diagnosticado que la tenga; (ii) inhibir la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, evitar su desarrollo; y/o (iii) aliviar la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, provocar la regresión de la enfermedad, el trastorno y/o la afección.

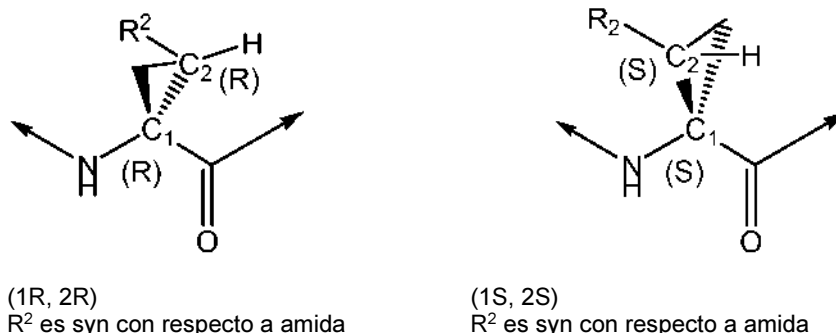
25 Donde se usan al nombrar compuestos de la presente divulgación, las designaciones P1', P1, P2, P2*, P3 y P4, como se usan en el presente documento, mapean las posiciones relativas de los restos de aminoácidos de un inhibidor de la proteasa que se une con respecto a la unión del sustrato de escisión natural del péptido. La escisión se da en el sustrato natural entre P1 y P1' donde las posiciones no primas designan aminoácidos partiendo desde el extremo C-terminal del sitio de escisión natural del péptido que se extiende hacia el N-terminal; mientras que, las posiciones primas emanan desde el extremo N-terminal de la designación del sitio de escisión y se extienden hacia el C-terminal. Por ejemplo, P1' se refiere a la primera posición lejos del extremo a mano derecha del C-terminal del sitio de escisión (es decir la primera posición N-terminal); mientras que P1 empieza la numeración desde el sitio a mano izquierda del sitio de escisión del C-terminal, P2: segunda posición desde el C-terminal, etc. (véase Berger A. & Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), B257, 249-264).

35 En los compuestos de la presente divulgación existen centros asimétricos. Por ejemplo, los compuestos pueden incluir el elemento ciclopropilo P1 de fórmula



40 en la que cada uno de C₁ y C₂ representa un átomo de carbono asimétrico en las posiciones 1 y 2 del anillo ciclopropilo.





Debe entenderse que la divulgación abarca todas las formas estereoquímicas, o mezclas de las mismas, que poseen la capacidad para inhibir la proteasa del VHC.

5 Determinados compuestos de la presente divulgación también pueden existir en formas conformacionales estables diferentes que pueden ser separables. La asimetría torsional debida a rotación restringida entorno a un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo debida a un impedimento estérico o tensión en el anillo, puede permitir la separación de conformeros diferentes. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y mezclas de los mismos.

10 Determinados compuestos de la presente divulgación pueden existir en forma en zwitteriónica y la presente divulgación incluye cada zwitteriónica de estos compuestos y mezclas de las mismas.

15 Cuando es posible que, para su uso en terapia, puedan administrarse cantidades terapéuticamente eficaces de un compuesto de fórmula (I), así como sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en forma del compuesto químico sin procesar, es posible presentar el ingrediente activo en forma de una composición farmacéutica. Por consiguiente, la divulgación también proporciona composiciones farmacéuticas, que incluyen cantidades terapéuticamente eficaces de compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son como se han descrito anteriormente. El uno o más vehículos, diluyentes o excipientes deben ser
20 aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el recipiente de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la divulgación también se proporciona un proceso para la preparación de una formulación farmacéutica, que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente
25 aceptables.

Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosificación unitarias que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por dosis unitaria. Son típicos los niveles de dosificación de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 150 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal al día, preferentemente entre
30 aproximadamente 0,05 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día de los compuestos de la divulgación en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de una enfermedad mediada por el VHC. Normalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se administrarán de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces al día o alternativamente, como una infusión continua. Tal administración puede usarse como una terapia crónica o aguda. La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales vehículo para producir una
35 única forma de dosificación variará dependiendo de la afección a tratarse, de la gravedad de la afección, del tiempo de administración, de la ruta de administración, de la velocidad de excreción del compuesto empleado, de la duración del tratamiento y de la edad, el género, el peso y la condición del paciente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis o sub-dosis diaria, como se recita anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo. Generalmente, el tratamiento se inicia con
40 pequeñas dosificaciones sustancialmente menores de la dosis óptima del compuesto. En lo sucesivo, la dosificación se aumenta por pequeños aumentos hasta que se alcanza el efecto óptimo bajo las circunstancias. En general, el compuesto se administra de forma más deseable en un nivel de concentración que producirá generalmente resultados antivíricamente eficaces sin provocar ningún efecto secundario dañino o deletéreo.

45 Cuando las composiciones de la presente divulgación comprenden una combinación de un compuesto de la presente divulgación y uno o más agentes adicionales terapéuticos y/o profilácticos, tanto el compuesto como el agente adicional pueden estar presentes en una dosis que es menor de o igual a la dosificación normalmente administrada en un régimen de monoterapia. Las composiciones de la presente divulgación pueden co-formularse con uno o más
50 agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, por ejemplo, en forma de un comprimido monolítico y/o bi/multi-capa o pueden administrarse separadamente del agente o agentes terapéuticos o profilácticos.

Las formulaciones farmacéuticas pueden adaptarse para la administración por cualquier ruta apropiada, por ejemplo por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo inyecciones o infusiones subcutáneas, intracutáneas, intramusculares, intra-articulares, intrasnoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales, intravenosas o intradérmicas). Tales formulaciones

5 pueden prepararse por cualquier procedimiento conocido en la materia de la farmacia, por ejemplo, poniendo en asociación el principio activo con el vehículo o vehículos o el excipiente o excipientes.

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

10

Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable oral no tóxico tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan moliendo el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclando con un vehículo farmacéutico similarmente molido tal como un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes un agente saborizante, conservante, dispersante y colorante.

15

Las cápsulas se fabrican preparando una mezcla en polvo, como se describe anteriormente y se rellenan láminas de gelatina formadas. Pueden añadirse deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato magnésico, estearato cálcico o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de relleno. También puede añadirse un agente desintegrante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato cálcico o carbonato sódico para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

20

Además, cuando se desee o sea necesario, pueden incorporarse también a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes desintegrantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato sódico, cloruro sódico y similar. Los desintegrantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o batiendo con fuerza, añadiendo un lubricante y un desintegrante y aplicando presión para hacer comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto, triturado adecuado, con un diluyente o una base como se describe anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, un gelificante o polivinilpirrolidona, una solución retardante tal como parafina, un acelerador de la resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse humedeciendo con un aglutinante tal como un jarabe, pasta de almidón, mucilago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándolos a través de un tamiz. Como una alternativa a granular, la mezcla en polvo puede hacerse correr a través de una máquina de comprimidos y el resultado son lingotes formados imperfectamente que se rompen en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para prevenir que se peguen a los troqueles formadores de comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime después en comprimidos. Los compuestos de la presente divulgación pueden combinarse también con un vehículo inerte libre de fluidez y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o de rotura con fuerza. Puede proporcionarse un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en una cubierta sellante de shellac, un recubrimiento de azúcar o un material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

25
30
35
40
45

Los fluidos orales tales como solución, jarabes y elixires pueden prepararse en formas de dosificación unitarias de tal manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa adecuadamente saborizada, mientras que los elixires se preparan a través del uso de un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes tales como los alcoholes de isoestearilo etoxilados y los éteres de sorbitol de polioxietileno, conservantes, aditivos de sabor tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

50

Donde sea apropiado, las formulaciones unitarias de dosificación para administración oral pueden estar microencapsuladas. La formulación también puede prepararse para prolongar o sostener la liberación como por ejemplo recubriendo o embebiendo el material particulados en polímeros, cera o similares.

55

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también pueden administrarse en forma de sistemas de transporte de liposomas, tales como pequeñas vesículas unilamelares, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de diversos fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

60

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden transportarse por el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los que se acoplan las moléculas de compuesto. Los compuestos también pueden acoplarse con polímeros solubles como vehículos farmacéuticos marcables como diana. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano,

65

5 polihidroxi propilmetacrilamidafenol, polihidroxi etilaspirtamidafenol o polietileno oxidopoliisina sustituida con restos de palmitoilo. Adicionalmente, los compuestos pueden acoplarse a una clase de polimeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxi butírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfifáticos de hidrogeles.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos destinados a mantenerse en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el principio activo puede transportarse desde el parche por iontoforesis como se describe generalmente en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizadores, aerosoles o aceites.

15 Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferentemente como un ungüento o una crema tópicos. Cuando se formula en un ungüento, el ingrediente activo puede emplearse bien con una base de ungüento parafínica o bien miscible en agua. Alternativamente, el principio activo puede formularse en una crema con una base de crema aceite en agua o una base agua en aceite.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para las administraciones tópicas al ojo incluyen gotas oculares en las que el principio activo se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica a la boca incluyen pastillas para chupar, pastillas y enjuagues bucales.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal pueden presentarse como supositorios o como enemas.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que se administra aspirando, es decir, por rápida inhalación a través del pasaje nasal desde un recipiente del polvo mantenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para la administración como un pulverizador nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleaginosas del principio activo.

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración por inhalación incluyen polvos en partículas finas o vahos, que pueden generarse por medio de diversos tipos de aerosoles, nebulizadores o insufidores presurizados de dosis medidas.

40 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en pulverizador.

45 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles no acuosas que pueden contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor destinado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitarias o multi-dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) requiriendo solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Las soluciones y las suspensiones extemporáneas pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

50 Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos adecuados para la administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

55 La Tabla 1 a continuación lista algunos ejemplos ilustrativos de compuestos que pueden administrarse con los compuestos de la presente divulgación. Los compuestos de la divulgación pueden administrarse con otros compuestos con actividad anti-VHC en terapia de combinación, bien junta o separadamente, o combinando los compuestos en una composición.

Tabla 1

Nombre de la marca	Clase fisiológica	Tipo de inhibidor o diana	Compañía de origen
NIM811		Inhibidor de ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Inmunomodulador	Sciclone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista de TLR9	Coley

ES 2 604 690 T3

Batabulin (T67)	Anticancerígeno	Inhibidor de β -tubulina	Tularik Inc., South San Francisco, CA
ISIS 14803	Antivírico	Antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., Nueva York, NY
Summetrel	Antivírico	Antivírico	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	Antivírico	Inhibidor del VHC	Achillion / Gilead
Compuestos y sales de pirazolopirimidina Del documento WO-2005047288 26 de mayo 2005	Antivírico	Inhibidores del VHC	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirina	Antivírico	Inhibidor del IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Merimepodib (VX-497)	Antivírico	Inhibidor del IMPDH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antivírico	Anticuerpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Israel
Telaprevir (VX-950, LY-570310)	Antivírico	Inhibidor de la NS3 serina proteasa	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly and Co. Inc., Indianapolis, IN
HCV-796	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Wyeth / Viropharma
NM-283	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Idenix / Novartis
GL-59728	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Gene Labs / Novartis
GL-60667	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Gene Labs / Novartis
2'C MeA	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Gilead
PSI 6130	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Roche
R1626	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Roche
2'C metil adenosina	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Merck
JTK-003	Antivírico	Inhibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokio, Japón
Levovirina	Antivírico	Ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
Ribavirina	Antivírico	Ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidina	Antivírico	Profármaco de ribavirina	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Heptazima	Antivírico	ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
SCH 503034	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
Zadazim	Inmunomodulador	Inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Ceplene	Inmunomodulador	Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
CellCept	Inmunosupresor	VHC IgG inmunosupresor	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
Civacir	Inmunosupresor	VHC IgG inmunosupresor	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL

ES 2 604 690 T3

Albuferón- α	Interferón	albúmina IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferón	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
Omega IFN	Interferón	IFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β y EMZ701	Interferón	IFN- β y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá
Rebif	Interferón	IFN- β 1a	Serono, Geneva, Suiza
Roferón A	Interferón	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
Intron A	Interferón	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Intron A y Zadaxin	Interferón	IFN- α 2b/ α 1-timosin	RegeneRx Biopharma. Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Rebetron	Interferón	IFN- α 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferón	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, CA
Interferón- β	Interferón	Interferón- β -1a	Serono
Multiferón	Interferón	IFN de larga duración	Viragen/ Valentis
Wellferón	Interferón	IFN- α n1Linfo-blastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, Reino Unido
Omniferón	Interferón	IFN- α natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferón	IFN- α 2a pegilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
Pegasys y Ceplene	Interferón	IFN- α 2a pegilado Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Pegasys y Ribavirina	Interferón	IFN- α 2a pegilado/ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
PEG-Intron	Interferón	IFN- α 2b pegilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron / Ribavirina	Interferón	IFN- α 2b pegilado /ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Protección hepática	antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Protección hepática	Inhibidor de caspase	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
ITMN-191 (R-7227)	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
GL-59728	Antivírico	Inhibidor de la NS5B replicasa	Genelabs
ANA-971	Antivírico	Agonista TLR-7	Anadys
Boceprevir	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
TMS-435	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Tibotec BVBA, Mechelen, Bélgica
BI-201335	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
MK-7009	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Merck
PF-00868554	Antivírico	Inhibidor de replicasa	Pfizer
ANA598	Antivírico	Inhibidor de NS5B polimerasa no nucleósida	Anadys Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, EE.UU.
IDX375	Antivírico	Inhibidor de replicasa no nucleósida	Idenix Pharmaceuticals, Cambridge, MA, EE.UU.
BILB 1941	Antivírico	Inhibidor de NS5B polimerasa	Boehringer Ingelheim Canadá Ltd R&D, Laval, QC, Canadá

PSI -7851	Antivirico	Inhibidor de polimerasa nucleosida	Pharmasset, Princeton, NJ, EE.UU.
PSI -7977	Antivirico	Inhibidor de NS5B polimerasa nucleotida	Pharmasset, Princeton, NJ, EE.UU.
VCH-759	Antivirico	Inhibidor de NS5B polimerasa	ViroChem Pharma
VCH-916	Antivirico	Inhibidor de NS5B polimerasa	ViroChem Pharma
GS-9190	Antivirico	Inhibidor de NS5B polimerasa	Gilead
Peg-interferon lambda	Antivirico	Interferon	ZymoGenetics/Bristol-Myers Squibb
INX-189	Antivirico	Inhibidor de NS5B polimerasa nucleotida	Inhibitex

Los compuestos de la presente divulgación también pueden usarse como reactivos de laboratorio. Los compuestos pueden ser instrumentales al proporcionar herramientas de investigación para diseñar ensayos de replicación vírica, validación de sistemas de ensayo animal y estudios estructurales de biología para potenciar adicionalmente el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad del VHC. Además, los compuestos de la presente divulgación son útiles para establecer o determinar el sitio de unión de otros compuestos antiviricos, por ejemplo, por inhibición competitiva.

Los compuestos de la presente divulgación también pueden utilizarse para tratar o prevenir la contaminación vírica de los materiales y por lo tanto reducir el riesgo de infección vírica del personal de laboratorio o médico o pacientes que entran en contacto con tales materiales, por ejemplo, sangre, tejido, instrumentos y prendas quirúrgicas, instrumentos y prendas de laboratorio y aparatos y materiales de recolección de sangre o de transfusión.

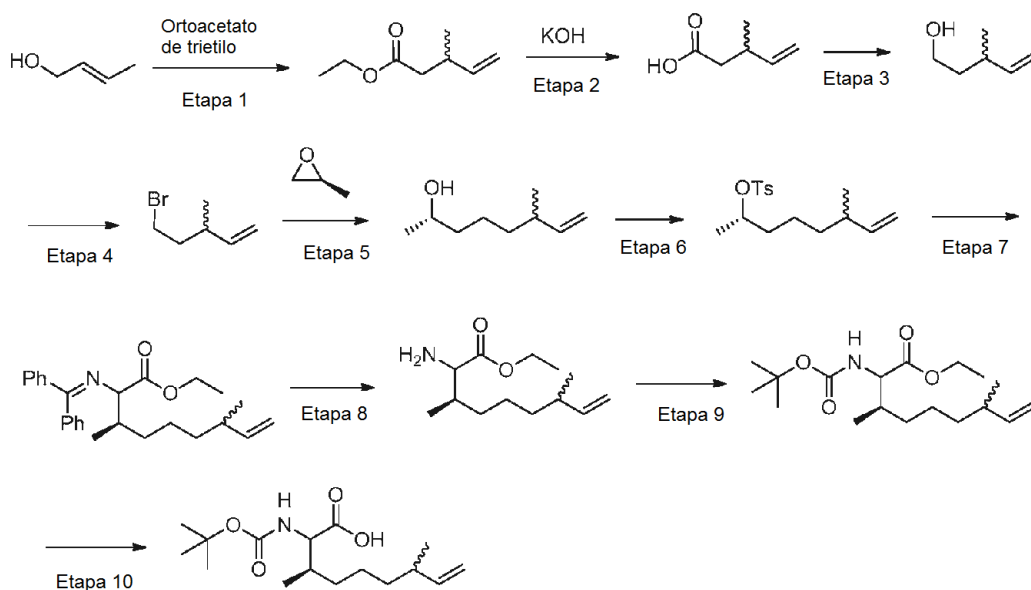
La presente divulgación se destina a abarcar compuestos que tienen la fórmula (I) cuando se preparan mediante procedimientos de síntesis o mediante procesos metabólicos que incluyen aquellos que se producen en el cuerpo humano o animal (*in vivo*) o procedimientos que se dan *in vitro*.

La presente divulgación se describirá ahora en conexión con determinadas realizaciones.

Las abreviaturas usadas en la presente solicitud, incluyendo particularmente en los esquemas ilustrativos y los ejemplos que les siguen, son bien conocidas para los expertos en la materia. Algunas de las abreviaturas usadas son como se indican a continuación: Et₂O para éter dietílico; h para horas; min para minutos; THF para tetrahidrofurano; TBME para metil *terc*-butil éter; DMAP para N,N-dimetilaminopiridina; LiHMDS para hexametildisilzida de litio; DCM para diclorometano; DIPEA para diisopropiletilamina; Boc para *terc*-butoxicarbonilo; éter de petróleo para éter de petróleo; DMSO para dimetilsulfóxido; ta o TA o Ta para temperatura ambiente o tr TR o Tr para tiempo de retención (el contexto lo dictará); IPA para alcohol isopropílico; t-BuO para *terc*-butoxi; HATU para hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; EtOAc para acetato de etilo; TMS para trimetilsililo; DPPA para difenilfosforilazida; Me para metilo; OAc para acetato; n-Bu para n-butilo; DAST para trifluoruro de (dietilamino)azufre; y TFA para ácido trifluoroacético.

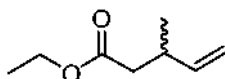
Los materiales de partida útiles para sintetizar los compuestos de la presente divulgación son conocidos para los expertos en la materia y pueden fabricarse fácilmente o están disponibles en el mercado.

Los siguientes métodos expuestos a continuación se proporcionan con propósitos ilustrativos y no están destinados a limitar el alcance de las reivindicaciones. Se reconocerá que puede ser necesario preparar un compuesto tal, en el que el grupo funcional está protegido, usando un grupo protector convencional para después retirar el grupo protector para proporcionar un compuesto de la presente divulgación. Los detalles concernientes al uso de grupos protectores de acuerdo con la presente divulgación son conocidos para los expertos en la materia.



Etapa 1: Preparación de 3-metilpent-4-enoato de etilo

5

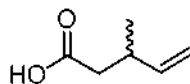


A una solución de (*E*)-but-2-en-1-ol (50 g, 693 mmol) en 1,1,1-trietoxietano (890 ml, 4854 mmol) se añadió ácido acético (5 g, 83 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se calentó a 125 °C durante 4 h. El subproducto de etanol se destiló mediante destilación normal para obtener el compuesto en bruto 3-metilpent-4-enoato de etilo (70 g, 71,0 %) en forma de un aceite incoloro. Este se recogió para la siguiente etapa sin purificación adicional; RMN ¹H (DMSO-d₆) δ ppm 5,82-5,73 (m, 1H), 5,03-4,92 (m, 2H), 4,08-4,02 (m, 2H), 2,50 (m, 1H), 2,31-2,26 (m, 2H), 1,17 (t, J = 8 Hz, 3H), 1,00 (d, J = 8 Hz, 3H).

10

Etapa 2: Preparación de ácido 3-metil pent-4-enoico

15



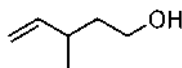
A una solución de 3-metilpent-4-enoato de etilo (70 g, 492 mmol) en metanol (500 ml) se añadió KOH (41,4 g, 738 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se calentó a reflujo durante 18 h. La masa de reacción se destiló a presión reducida. Se añadió éter (750 ml) al residuo, se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico (350 ml x 3). La capa acuosa combinada se acidificó usando HCl con. (250 ml), se extrajo con DCM (500 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto ácido 3-metilpent-4-enoico en bruto (52 g, 93 %) en forma de un aceite de color pardo; RMN ¹H (DMSO-d₆) δ ppm 12,04 (s, a, 1H), 5,84-5,75 (m, 1H), 5,03-4,92 (m, 2H), 2,56-2,50 (m, 1H), 2,28-2,22 (m, 2H), 1,00 (d, J = 8 Hz, 3H).

20

25

Etapa 3: Preparación de 3- metil pent-4-eno-1-ol

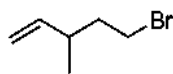
30



A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (6,03 g, 0,159 mol) en 150 ml de Et₂O seco a 0 °C se le añadió gota a gota una solución de ácido 3-metil pent-4-enoico (17,4 g, 0,122 mol) en 100 ml de Et₂O seco. Después de que se completara la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La masa de reacción se vertió en un vaso de precipitados de 1 l. Se añadieron cuidadosamente agua (6,03 ml) y NaOH al 15 % (6,03 ml) con buena agitación durante un periodo de 30 min. El sólido de color blanco separado se retiró por filtración y se lavó bien con Et₂O. Los filtrados combinados se secaron y se concentraron por destilación a presión atmosférica. El residuo se destiló para obtener el 9,04 g del compuesto deseado (74 %); RMN ¹H (CDCl₃) δ ppm 5,65 (m, 1H), 4,90 (m, 2H), 3,55 (m, 2H), 3,30 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 1,50 (c, J = 7 Hz, 2H), 1,00 (d, J = 7 Hz, 3H).

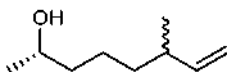
35

Etapa 4: Preparación de 5-bromo-3-metilpent-1-eno



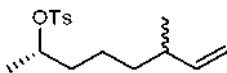
- 5 A una solución agitada de 4,504 g (44,97 mmol) del 3-metilpent-4-eno-1-ol en 100 ml de diclorometano a 0 °C se le añadieron secuencialmente 3,8 ml (49,1 mmol) de cloruro de metanosulfonilo y 6,91 ml (49,6 mmol) de trietilamina, y la mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 15 min. Después, la mezcla de reacción se vertió en 100 ml de NaHCO₃ acuoso saturado y la mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 10 min. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄) y después se concentró a presión reducida para obtener el compuesto de Mesilato en bruto. El compuesto en bruto se disolvió en 130 ml de THF seco y a la solución se le añadieron 5,87 g (67,6 mmol) de bromuro de litio anhidro. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 4 h. La masa de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con 300 ml de pentano. La fase orgánica se lavó con dos porciones de 100 ml de NaHCO₃ saturado y cinco porciones de 100 ml de agua, y después se secó (Na₂SO₄). El disolvente se retiró por destilación a través de una columna Vigreux de 30 cm a presión atmosférica. La destilación evaporativa del residuo (70 °C, 80 mmHg) dio 6,28 g (86 %) del bromuro. RMN ¹H (CDCl₃) δ ppm 1,01 (d, J = 5 Hz, 3H), 1,80 (dt, J = J = 5 Hz, 2H), 2,35 (m, J = 5 Hz, 1H), 3,36 (t, J = 5 Hz, 2H), 5,02 (m, 2H), 5,64 (m, 1H).

Etapa 5: Preparación de (2R)-6-metiloct-7-en-2-ol



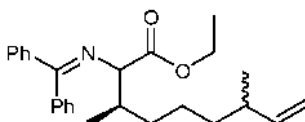
- 20 Se suspendieron limaduras de magnesio (1,3 g, 55,2 mmol) en THF seco (50 ml) y a la mezcla se le añadió una pizca de yodo (20 mg) a temperatura ambiente. A esta masa de reacción se le añadió una solución de 5-bromo-3-metilpent-1-eno (6 g, 36,8 mmol) en THF (200 ml). La masa de reacción se calentó con una pistola de aire caliente para iniciar la reacción. Cuando la reacción se consideró completa, la solución se canuló a una solución de óxido de (S)-propileno (3,21 g, 55,2 mmol) y bromuro de cobre (0,528 g, 3,68 mmol) en THF (50 ml) a -78 °C. Se dejó que la masa de reacción alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La masa de reacción se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con éter dietílico (200 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a temperatura ambiente para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna (Gel de Sílice, TBME al 10 % en éter de petróleo) para obtener (2R)-6-metiloct-7-en-2-ol (12,4 g, 92 %) en forma de un líquido oleoso. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 5,82-5,69 (m, 1H), 4,98-4,91 (m, 2H), 4,27-4,26 (m, 1H), 3,65-3,39 (m, 1H), 2,15-1,98 (m, 1H), 1,36-1,19 (m, 5H), 1,18-1,1 (m, 1H), 1,08-0,95 (m, 5H), 0,89-0,78 (m, 1H).

35 Etapa 6: Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (2R)-6-metiloct-7-en-2-ilo



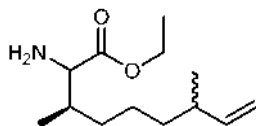
- 40 A una solución de (2R)-6-metiloct-7-en-2-ol (12 g, 84 mmol) en piridina (16 ml) se le añadió DMAP (0,51 g, 4,22 mmol) y la solución se agitó durante 10 min. Se añadió cloruro de P-toluenosulfonilo (18,5 g, 97 mmol) a la masa de reacción a 0 °C. Se dejó que la masa de reacción alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Se retiró piridina a presión reducida y el residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml). La solución orgánica se lavó con una solución acuosa 1,5 N de HCl, una solución saturada de bicarbonato y una solución de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto (14,5 g, 32 %). El compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 7: Preparación de 2-(difenilmetilenoamino)-3,7 dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo



- 50 A una solución de 4-metilbencenosulfonato de (2R)-6-metiloct-7-en-2-ilo (15 g, 50,6 mmol) y éster etílico de N-(difenilmetileno)glicinato (13,53 g, 50,6 mmol) en tolueno (120 ml) se le añadió LiHMDS (60,7 ml, 60,7 mmol, solución 1 M en THF) a 0 °C. Se dejó que la masa de reacción alcanzara temperatura ambiente calentó a 110 °C durante 2 h. La masa de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con agua y se extrajo con acetato de etilo (200 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto (14,5 g). El compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. EM: EM m/z 392,1 (M⁺+1).

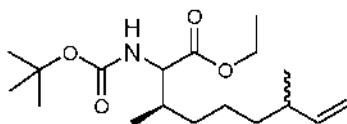
Etapa 8: Preparación de 2-amino-3,7-dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo



- 5 A una solución de 2-(difenilmetilenoamino)-3,7-dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo (14,5 g, 37 mmol) en éter dietílico (25 ml) se le añadió una solución acuosa 1,5 N de HCl (125 ml) y la masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La masa de reacción se lavó con éter dietílico (100 ml). La solución acuosa se basificó usando una solución saturada de bicarbonato sódico y se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto (2,1 g, 23 %). El
- 10 compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 5,85-5,60 (m, 1H), 4,98-4,85 (dd, J = 1,6, 2,8 Hz, 2H), 4,10-4,06 (m, 2H), 3,15-3,14 (m, 1H), 2,15-2,02 (m, 1H), 1,94-1,75 (m, 3H), 1,32-1,17 (m, 9H), 0,95-0,93 (m, 3H), 0,84-0,74(m, 3H). EM: EM *m/z* 227,7 (M⁺ + 1).

Etapa 9: Preparación de 2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo

15



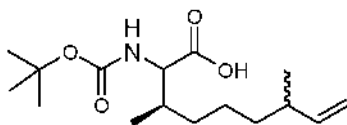
- A una solución de 2-amino-3,7-dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo (2,0 g, 8,8 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió DIPEA (1,7 g, 13,2 mmol) seguido de (Boc)₂O (2,4 g, 11,4 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La masa de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El
- 20 compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna (Gel de Sílice, acetato de etilo al 20 % en éter de petróleo) para obtener 2,7 g, (84 %) de 2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo en forma de un líquido oleoso.

25

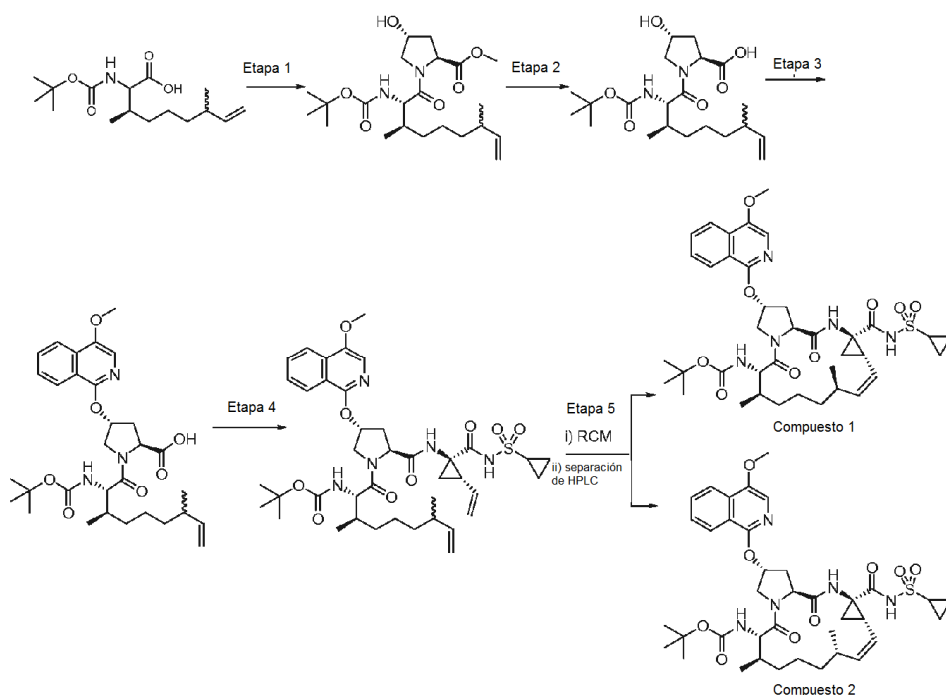
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 5,85-5,60 (m, 1H), 4,98-4,85 (dd, J = 1,6, 2,8 Hz, 2H), 4,10-4,06 (m, 2H), 2,15-2,02 (m, 1H), 1,55-1,44 (m, 8H), 1,39-1,30 (s, 9H), 1,27-1,21 (m, 4H), 0,95-0,93 (m, 3H), 0,84-0,74 (m, 3H).

Etapa 10: Preparación de ácido (3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoico

30

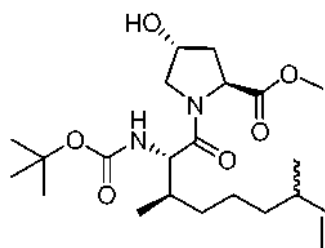


- A una solución de 2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoato de (3R)-etilo (2,7 g, 8,25 mmol) en THF/agua (40 ml, 1:1) se le añadió metanol (20 ml), seguido de LiOH (0,987 g, 41,2 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua (100 ml). La solución acuosa se acidificó con soluciones acuosas 1,5 N de HCl a pH ~3 y se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna (Gel de Sílice, metanol al 3 % en DCM) para obtener 2,1 g (85 %) del compuesto deseado en forma de un líquido gomoso.
- 35
- 40 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 12,2-12,02 (s a, 1H), 6,92-6,85 (m, 1H) 5,72-5,66 (m, 1H), 4,98-4,85 (dd, J = 1,6, 2,8 Hz, 2H), 4,03-3,95 (m, 1H), 2,58-2,56 (m, 1H) 2,15-2,02 (m, 1H), 1,45-1,36 (m, 10H), 1,27-1,21 (m, 5H), 0,95-0,93 (m, 3H), 0,84-0,74(m, 3H).



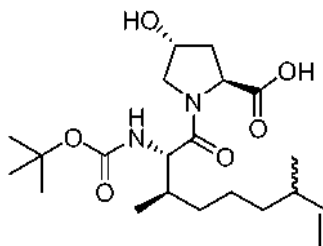
Etapa 1: Preparación de 1-((2S,3R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo

5



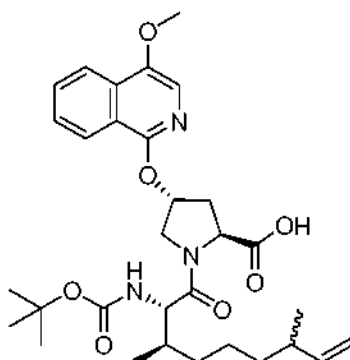
A una suspensión de ácido (3R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3,7-dimetilnon-8-enoico (6,5 g, 21,7 mmol), clorhidrato de éster metílico de L-4-hidroxiprolina (3,9 g, 21,7 mmol) y hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (8,36 g, 21,7 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C, se le añadió gota a gota N,N-diisopropiletilamina (11,5 ml, 66,6 mmol). La mezcla de color amarillo claro resultante se agitó a ta durante una noche, se lavó con HCl 1 M (35 ml) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El aceite residual (12 g) se purificó por cromatografía en columna convencional (columna de gel de sílice de 60-120 g), eluyendo con IPA al 4%~8%-Hexano para proporcionar el producto deseado 1-((2S,3R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (9a, 4,3 g, rendimiento del 46 %) en forma de una espuma de color blanco y el diastereómero indeseado 1-((2R,3R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (9b, 1,9 g, rendimiento del 20 %) en forma de un aceite viscoso. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 5,73-5,64 (m, 1H), 5,19-5,17 (m, 1H), 4,97-4,88 (m, 2H), 4,70-4,66 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,53 (s a, 1H), 4,29-4,25 (m, 1H), 3,99-3,96 (d, J = 10,8 Hz, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,70-3,66 (m, 1H), 2,34-2,11 (m, 1H), 2,10-2,00 (m, 2H), 1,85-1,81 (m, 1H), 1,49-1,41 (m, 9H), 1,39-1,14 (m, 3H), 0,98-0,86 (m, 7H) EM: EM m/z 427,2 (M⁺+1).

Etapa 2: Preparación de ácido (2S,4R)-1-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico



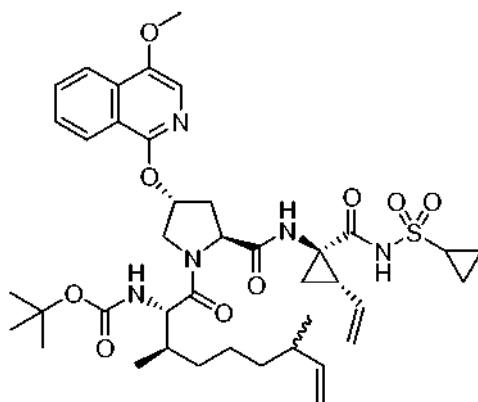
- 5 A una solución de 1-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (4,3 g, 10 mmol) en THF/agua (30 ml, 1:1) se le añadió metanol (10 ml), seguido de LiOH (1,3 g, 0,030 moles) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua (100 ml). La solución acuosa se acidificó con solución acuosa 1,5 N de HCl a pH ~3 y se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el producto deseado ácido (2S,4R)-1-((2S,3R)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico (3,2 g, rendimiento del 78 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 5,70-5,61 (m, 1H), 5,14-5,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,96-4,88 (m, 2H), 4,82-4,78 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,52 (s a, 1H), 4,27-4,23 (m, 1H), 3,57-3,53 (m, 3H), 2,48-2,42 (m, 1H), 2,33-2,28 (m, 1H), 1,88-1,82 (m, 2H), 1,45-1,42 (s, 9H), 1,29-1,21 (m, 3H), 0,98-0,93 (m, 7H) EM: EM m/z 411,2 (M⁺+1).

Etapa 3: Preparación de ácido (2S,4R)-1-((3R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-(4-metoxiisoquinolin-1-iloxi)pirrolidin-2-carboxílico



- 20 A una solución de ácido (2S,4R)-1-((3R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico (1,5 g, 3,6 mmol) en DMSO se le añadió 1-cloro-4-metoxiisoquinolina (840 mg, 4,4 mmol), seguido de t-BuOK (sol. 1 M en THF, 18 ml) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La masa de reacción se inactivó con una solución acuosa de ácido cítrico y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante Combiflash para obtener el producto deseado (800 mg, 40 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,11-8,09 (m, 2H), 7,70-7,66 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,56-7,51 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 5,78 (s a, 1H), 5,69-5,65 (m, 1H), 5,14-5,11 (m, 1H), 4,96-4,88 (m, 3H), 4,43-4,41 (m, 1H), 4,27-4,24 (m, 1H), 3,99 (s, 4H), 2,75-2,73 (m, 1H), 2,67-2,65 (m, 1H), 2,10 (s a, 1H), 1,88-1,85 (m, 2H), 1,31 (s, 9H), 1,24 (s, 2H), 0,98-0,96 (m, 4H), 0,91-0,86 (m, 4H) EM: EM m/z 568,2 (M⁺+1).

Etapa 4: Preparación de (2S,3R)-1-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(4-metoxiisoquinolin-1-iloxi)pirrolidin-1-il)-3,7-dimetil-1-oxonon-8-en-2-ilcarbamato de terc-butilo

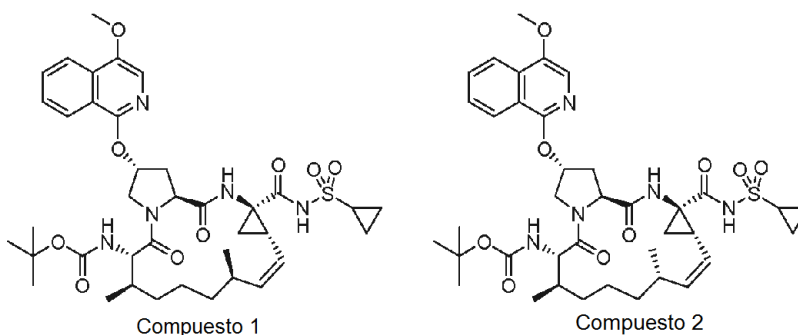


5

A una solución de ácido (2S,4R)-1-((3R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-((4-metoxiisoquinolin-1-il)oxi)pirrolidin-2-carboxílico (800 mg, 1,4 mmol) en diclorometano (30 ml) se le añadió DIPEA (0,73 ml, 4,2 mmol), HATU (530 mg, 1,4 mmol), seguido de clorhidrato de (1R,2S)-1-amino-N-(ciclopropilsulfonil)-2-vinilciclopropanocarboxamida (preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO 03/099274, Página N.º 53-59, 74-76) (600 mg, 1,5 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La masa de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante Combiflash para obtener el producto deseado (900 mg, 90 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,13-8,07 (m, 2H), 7,72-7,67 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,57-7,53 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,80 (s a, 1H), 5,84-5,79 (m, 2H), 5,73-5,64 (m, 1H), 5,39-5,38 (m, 1H), 5,28-5,23 (d, J = 17,2 Hz, 1H), 5,15-5,12 (d, J = 10,4 Hz, 1H) 4,97-4,88 (m, 2H), 4,49-4,45 (m, 2H), 4,19-4,17 (m, 2H), 4,00 (s, 3H), 2,90-2,81(m, 1H), 2,54-2,48 (m, 1H), 2,23-2,07 (m, 2H), 2,05-1,99 (m, 2H), 1,49-1,42 (m, 1H), 1,33 (s, 12H), 1,22-1,15 (m, 2H), 1,07-1,02 (m, 2H), 0,98-0,96 (d, J = 6,8 Hz, 4H), 0,86-0,81 (d, J = 6,8 Hz, 4H), EM: EM *m/z* 782,2 (M⁺+1).

20

Etapa 5: Preparación del Compuesto 1 y del Compuesto 2



25

A una solución desgasificada de (2S,3R)-1-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(4-metoxiisoquinolin-1-iloxi)pirrolidin-1-il)-3,7-dimetil-1-oxonon-8-en-2-ilcarbamato de *tert*-butilo (900 mg, 0,3 mmol) en dicloroetano (100 ml) se le añadió catalizador de Grubbs de II generación (24 mg, 10 % p/p) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La masa de reacción se calentó a 95 °C durante una noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó mediante Combiflash para obtener el producto deseado (500 mg, 58 %) en forma de una mezcla diastereomérica. La mezcla diastereomérica se separó usando HPLC preparativa para obtener el Compuesto 1 (12 mg, 8 %) y el Compuesto 2 (8 mg, 3 %).

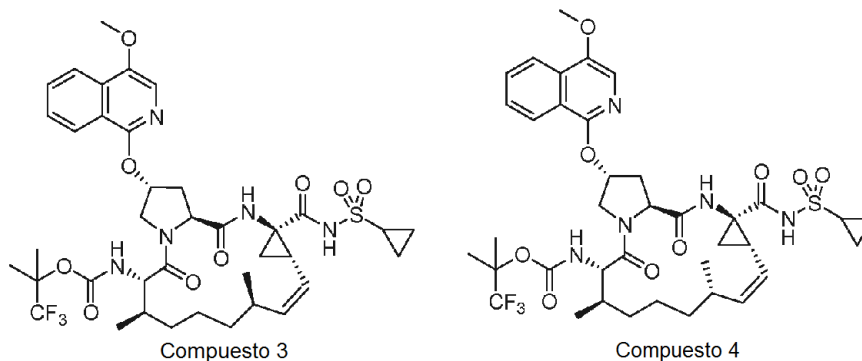
30

Compuesto 1: (2R,6S,7R, 11R, 13aS, 14aR, 16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(4-metoxiisoquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclo-pentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,17-8,15 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,13-8,11 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,75-7,71 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,58-7,54 (m, 2H), 7,30-7,28 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,83 (s a, 1H), 5,37-5,32 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 5,05-5,01 (m, 1H), 4,77-4,74 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 4,67-4,63 (m, 1H), 4,04-4,02 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,87-3,83 (m, 1H), 2,97-2,96 (m, 1H), 2,76-2,65 (m, 3H), 2,45-2,38 (m, 1H), 1,82-1,81 (m, 1H), 1,78-1,72 (m, 1H), 1,64-1,61(m, 3H), 1,45-1,32 (m, 5H), 1,13-1,11 (m, 13H), 0,99-0,98 (d, J = 6,4 Hz 3H), 0,95-0,93 (d, J = 6,4 Hz, 3H), EM: EM *m/z* 754,4 (M⁺+1).

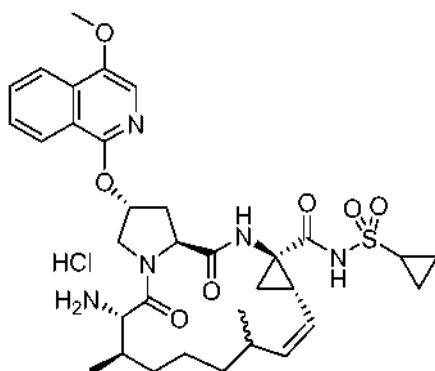
40

- Compuesto 2: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,17-8,15 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,13-8,10 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,75-7,71 (dt, J = 6,8 y 1,2 Hz, 1H), 7,58-7,54 (m, 2H), 5,83 (m, 1H), 5,38-5,33 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 5,06-5,04 (m, 1H), 4,74-4,71 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 4,69-4,64 (m, 1H), 4,03-4,01 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,89-3,84 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 3,28-3,18 (m, 1H), 2,96-2,88 (m, 1H), 2,72-2,57 (m, 2H), 2,35-2,32 (m, 1H), 1,98-1,95 (m, 1H), 1,75-1,69 (m, 2H), 1,64-1,61 (m, 3H), 1,40-1,38 (m, 1H), 1,30-1,26 (m, 3H), 1,19-1,12 (m, 3H), 1,07 (s, 9H), 0,99-0,91 (m, 6H), EM: EM *m/z* 752,4 (M⁺-1).

10 Preparación del Compuesto 3 y el Compuesto 4

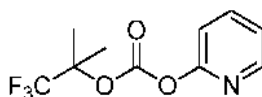


- 15 Preparación de clorhidrato de (2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-6-amino-N-(ciclopropilsulfonil)-2-(4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-14a-carboxamida



- 20 Una solución de (2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo (500 mg, 0,66 mmol) en dioxano.HCl se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto (350 mg, 77 %). El compuesto en bruto se lavó con éter dietílico y se recogió para la siguiente etapa sin purificación adicional. EM: EM *m/z* 652,2 (M⁺-1).

Preparación de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il carbonato de piridin-2-ilo



- 30 A una suspensión de NaH (1,03 g, 25,8 mmol) en THF (70 ml) se le añadió 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ol (3 g, 23,42 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 20 min. Después, se añadió una solución de carbonato de dipiridin-2-ilo (5,06 g, 23,42 mmol) en THF (30 ml) a la mezcla. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Los subproductos sólidos resultantes se filtraron y se lavaron con EtOAc (2 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El (1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo) carbonato de piridin-2-ilo de color blanco resultante (1,24 g, 21 %) se usó directamente como reactivo.

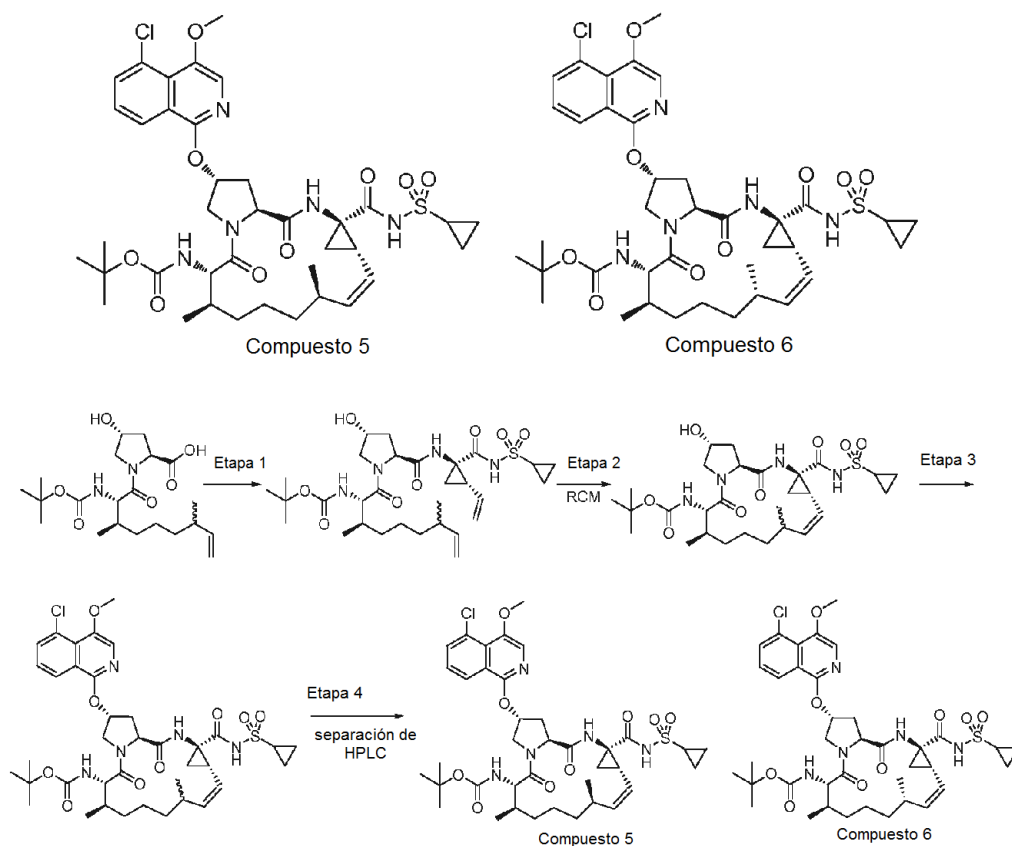
Preparación del Compuesto 3 y el Compuesto 4:

A una solución de clorhidrato de (2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-6-amino-N-(ciclopropilsulfonil)-2-(4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-14a-carboxamida (350 mg, 0,53 mmol) en DCM (4 ml) se le añadió DIPEA (0,3 ml, 1,8 mmol), seguido de 2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil éster de piridin-2-il éster del ácido carbónico (180 mg, 0,72 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La masa de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto en forma de una mezcla de diastereómeros. La mezcla de diastereómeros se separó usando HPLC preparativa para obtener el Compuesto 3 (50 mg, 12 %) y el Compuesto 4 (30 mg, 7 %) en forma de un sólido de color blanco.

Compuesto 3: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-2-(4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,17-8,15 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,13-8,11 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,75-7,71 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,58-7,54 (m, 2H), 7,30-7,28 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,82 (m, 1H), 5,38-5,32 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 5,04-4,98 (m, 1H), 4,79-4,77 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 4,79-4,77 (m, 1H), 4,02 (s, 3H), 4,00-3,99 (m, 1H), 3,85-3,79 (m, 1H), 3,98-2,94 (m, 1H), 2,77-2,66 (m, 3H), 2,42-2,38 (m, 1H), 1,88-1,82 (m, 1H), 1,74-1,71 (m, 1H), 1,64-1,57 (m, 3H), 1,44-1,40 (m, 1H), 1,36-1,31 (m, 6H), 1,17-1,11 (m, 4H), 0,99-0,93 (m, 9H), RMN ¹⁹F: δ ppm -85,12 (3 F); EM: EM m/z 808,1 (M⁺+1).

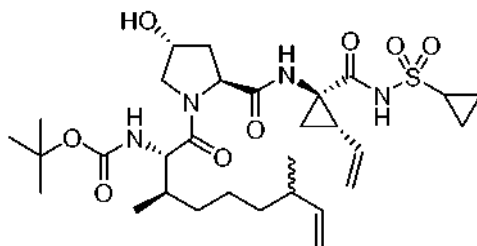
Compuesto 4: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-2-(4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. EM: EM m/z 808,3 (M⁺+1).

25 Preparación del Compuesto 5 y el Compuesto 6



30

Etapa 1: Preparación de (2S,3R)-1-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-hidroxi-pirrolidin-1-il)-3,7-dimetil-1-oxonon-8-en-2-ilcarbamato de terc-butilo



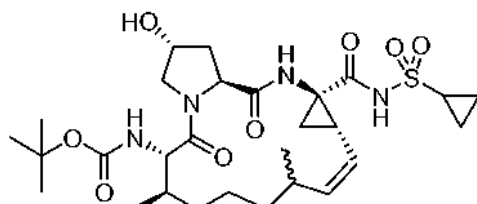
5

A una solución de ácido (2S,4R)-1-((2S,3R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3,7-dimetilnon-8-enoil)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (2 g, 4,9 mmol) en diclorometano (15 ml) se le añadió HATU (1,86 g, 4,9 mmol), seguido de DIPEA (4,2 ml, 24,5 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a la misma temperatura durante 10 min. Se añadió clorhidrato de (1R,2S)-1-amino-N-(ciclopropilsulfonil)-2-vinilciclopropanocarboxamida (preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO 03/099274, Página N.º 53-59, 74-76) (2 g, 5,3 mmol) a la masa de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La masa de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante Combiflash (MeOH al 3 % en CHCl₃) para obtener 1,9 g (62 %) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco. EM: EM m/z 623,5 (M⁺-1).

10

15

Etapa 2: Preparación de (2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-hidroxi-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de terc-butil terc-butilo



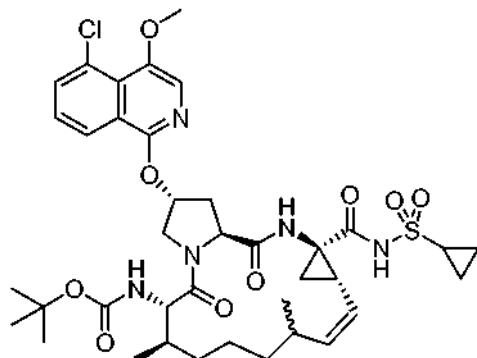
20

A una solución desgasificada de (2S,3R)-1-((2S,4R)-2-((1R,2S)-1-ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-hidroxi-pirrolidin-1-il)-3,7-dimetil-1-oxonon-8-en-2-ilcarbamato de *tert*-butilo (0,9 g, 1,4 mmol) en dicloroetano (150 ml) se le añadió catalizador de Grubbs de II generación (90 mg, 10 % p/p) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La masa de reacción se calentó a 95 °C durante una noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por ISCO para obtener el compuesto deseado (600 mg, 69 %). EM: EM m/z 595,2 (M⁺-1).

25

30

Etapa 3: Preparación de (2R, 6S, 7R, 13aS, 14aR, 16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de terc-butilo



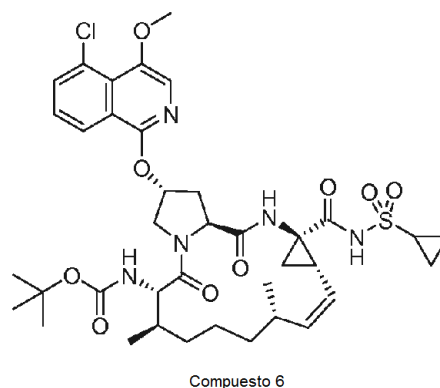
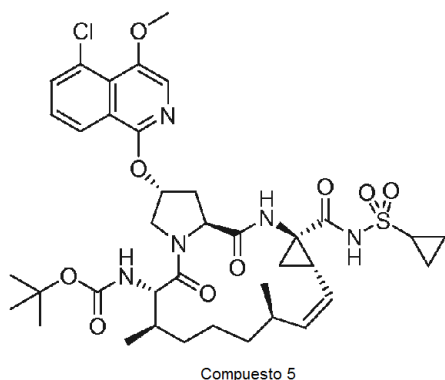
35

A una solución de ((2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-((ciclopropilsulfonil)carbamoil)-2-hidroxi-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il)carbamoilato de *tert*-butilo (500 mg, 0,8 mmol) y 1,5-dicloro-4-metoxiisquinolina (230 mg, 1,0 mmol) en DMSO (5 ml) se le añadió *t*-BuOK (solución 1 M en THF, 450 mg, 4,0 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La masa de reacción

se inactivó con una solución acuosa de ácido cítrico y se extrajo con acetato de etilo (150 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua y una solución de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto en bruto en forma de una mezcla de diastereómeros. EM: EM m/z 789,3 (M⁺+1).

5 Etapa 4: Preparación del Compuesto 5 y el Compuesto 6

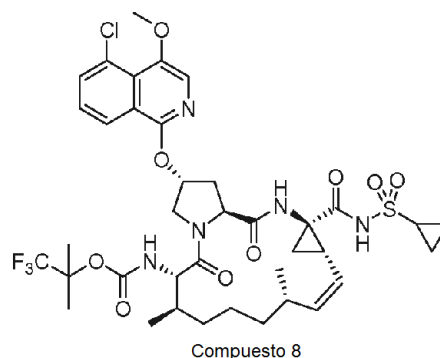
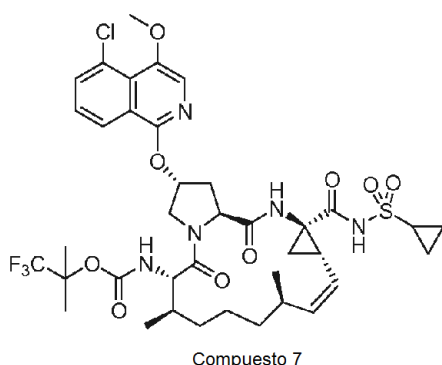
La mezcla de diastereómeros de (2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato se separó por HPLC preparativa para obtener el compuesto deseado 5 y el compuesto 6.



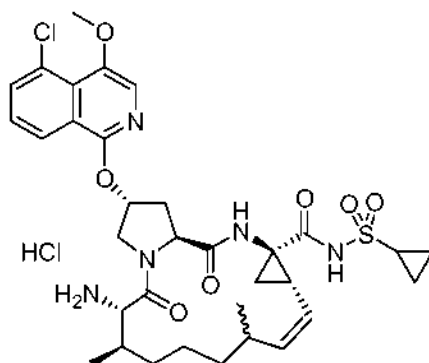
Compuesto 5: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato (230 mg, 35%). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,18-8,16 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,78-7,76 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,48-7,44 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 6,67-6,64 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,83 (s a, 1H), 5,37-5,32 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 5,05-5,01 (m, 1H), 4,77-4,74 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 4,67-4,63 (m, 1H), 4,04-4,02 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,87-3,83 (m, 1H), 2,97-2,96 (m, 1H), 2,76-2,65 (m, 3H), 2,45-2,38 (m, 1H), 1,82-1,81 (m, 1H), 1,78-1,72 (m, 1H), 1,64-1,61(m, 3H), 1,45-1,32 (m, 5H), 1,13-1,11 (m, 13H), 0,99-0,98 (d, J = 6,4 Hz 3H), 0,95-0,93 (d, J = 6,4 Hz, 3H), EM: EM m/z 789,2 (M⁺+1).

Compuesto 6: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,18-8,16 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,76-7,74 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,48-7,44 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,59-6,57 (d, J = 8,4 Hz, 1H) 5,83 (s a, 1H), 5,38-5,33 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 5,06-5,04 (m, 1H), 4,74-4,71 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 4,69-4,64 (m, 1H), 4,03-4,01 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,89-3,84 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 3,28-3,18 (m, 1H), 2,96-2,88 (m, 1H), 2,72-2,57 (m, 2H), 2,35-2,32 (m, 1H), 1,98-1,95 (m, 1H), 1,75-1,69 (m, 2H), 1,64-1,61(m, 3H), 1,40-1,38 (m, 1H), 1,30-1,26 (m, 3H), 1,19-1,12 (m, 3H), 1,07 (s, 9H), 0,99-0,91 (m, 6H), EM: EM m/z 787,8 (M⁺-1).

Preparación del Compuesto 7 y el Compuesto 8



Preparación de clorhidrato de (2R,6S,7R,13aS,14aR, 16aS,Z)-6-amino-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-14a-carboxamida



5

Una solución de (2R,6S,7R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a, 15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo.HCl se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto (250 mg, 96 %). El compuesto en bruto se lavó con éter dietílico y se recogió para la siguiente etapa sin purificación adicional. EM: EM m/z 688,2 ($M^+ - 36$).

10

El Compuesto 7 y el Compuesto 8 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 3. La mezcla diastereomérica se separó por HPLC prep.

15

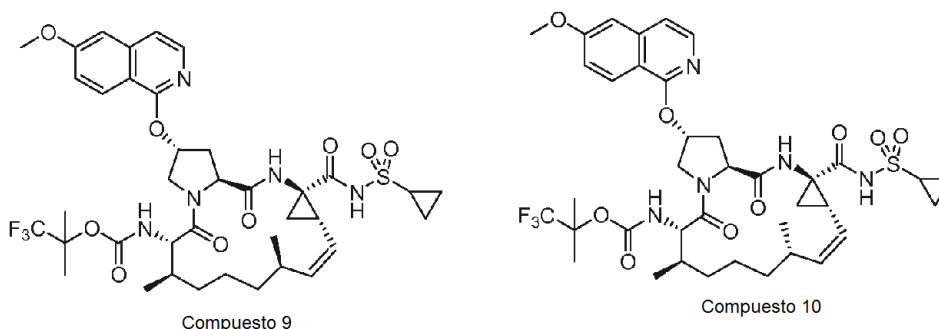
Compuesto 7: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN 1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,18-8,15 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,78-7,76 (d, $J = 6,4$ Hz, 1 H), 7,70 (s, 1H), 7,49-7,45 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 5,81 (m, 1 H), 5,37-5,35 (t, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 5,04-4,94 (m, 1H), 4,78-4,75 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 4,70-4,66 (m, 1H), 4,01-3,97 (m, 1 H), 3,96 (s, 3 H), 3,80-3,77 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 2,98-2,94 (m, 1H), 2,77-2,64 (m, 3 H), 2,45-2,38 (m, 1H), 1,84-1,82 (m, 1 H), 1,74-1,71 (m, 1H), 1,65-1,60(m, 3H), 1,43-1,29 (m, 8H), 1,17-1,05 (m, 4H), 0,98-0,91 (m, 9H), RMN ^{19}F : δ ppm -85,11 (3 F); EM: EM m/z 843,1 ($M^+ + 1$).

25

Compuesto 8: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. EM: EM m/z 843,3 ($M^+ + 1$).

30

Preparación del Compuesto 9 y el Compuesto 10



Compuesto 9

Compuesto 10

Los Compuestos 9 y 10 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7 y el Compuesto 8.

35

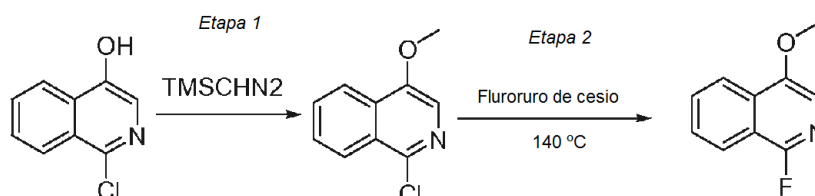
Compuesto 9: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoi)-2-(6-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN 1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,10-8,08 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,92-7,91 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 7,26-7,25(d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 7,23 (s a, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,12-7,11 (dd, $J = 2,4$ & 6,4 Hz, 1H) 5,88-5,87 (m,

40

1H), 5,39-5,33 (t, J = 10,8 Hz, 1H), 5,04-5,00 (m, 1 H), 4,74-4,68 (m, 2H), 4,02-3,99 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,88-3,84 (m, 1 H), 3,23-3,21 (m, 1H), 2,96-2,90 (m, 1H), 2,72-2,58 (m, 2H), 2,37-2,34 (m, 1H), 1,80-1,76 (m, 1H), 1,72-1,68 (m, 1H), 1,65-1,57(m, 3H), 1,40-1,28(m, 6H), 1,21-1,02 (m, 5H), 0,99-0,89 (m, 10H), RMN ¹⁹F: δ ppm -85,15 (3 F); EM: EM m/z 806,2 (M⁺-1).

5
 Compuesto 10: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonylcarbamoil)-2-(6-metoxiisoquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopro[a]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de
 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. EM: EM m/z 806,2 (M⁺+1).

10
 Preparación de 1-Fluoro-4-metoxiisoquinolina



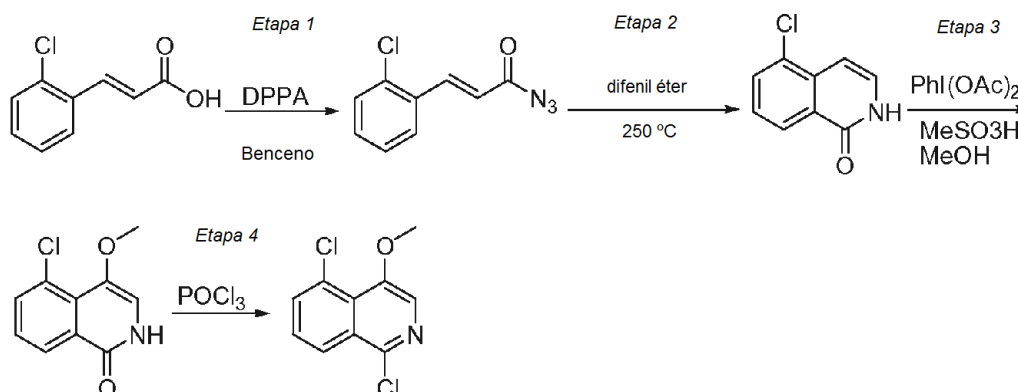
15 Etapa 1: Preparación de 1-cloro-4-metoxiisoquinolina

A una solución de 1-cloroisoquinolin-4-ol (5,0 g, 27,8 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se le añadió TMS-diazometano (12,73 g, 111,2 mmol) a 0 °C. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener 1-cloro-4-metoxiisoquinolina (2,5 g, 46,4 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,29-8,17 (m, 2H), 7,97 (s, 1H), 7,91-7,82 (m, 2H), 4,05 (s, 3H); EM: EM m/z 194,7 (M⁺+1).

25 Etapa 2: Preparación de 1-fluoro-4-metoxiisoquinolina

A una solución de 1-cloro-4-metoxiisoquinolina (2,5 g, 12,91 mmol) en DMSO se le añadió fluoruro de cesio (4,01 g, 25,82 mmol) a temperatura ambiente. El recipiente de reacción (Tubo a presión) se cerró herméticamente y se calentó a 145 °C durante 18 h. La masa de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener el compuesto deseado (700 mg, 62 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,10 (m, 1H), 8,08 (m, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,69-7,65 (m, 1H), 7,49 (m, 1H), 4,04 (s, 3H); RMN ¹⁹F: δ ppm -78,66 (1 F); EM: EM m/z 178,1 (M⁺+1).

35 Preparación de 1,5-dicloro-4-metoxiisoquinolina



40 Etapa 1: Preparación de (E)-3-(2-clorofenil)acrilóil azida

A una solución de ácido (E)-3-(2-clorofenil) acrílico (13 g, 71,2 mmol) en benceno (100 ml) se le añadió trietilamina (14,4 g, 141 mmol), seguido de DPPA (19,5 g, 71,2 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a la misma temperatura durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó para obtener el

compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna convencional (Gel de Sílice, malla 60-120) usando acetato de etilo al 10 % en éter de petróleo como fase móvil para obtener el compuesto deseado en forma de un sólido de color amarillo pálido (14 g, 95 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,19-8,15 (d, J = 16 Hz, 1H), 7,63-7,61 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,44-7,42 (m, 1H), 7,36-7,26 (m, 2H), 6,44-6,40 (d, J = 16 Hz, 1H).

5

Etapa 2: Preparación de 5-choroisoquinolin-1(2H)-ona

A un difenil éter (10 ml) caliente (125 °C) se le añadió (E)-3-(2-clorofenil)acrililo azida (2 g, 9,63 mmol) en porciones. La reacción se calentó a 250 °C durante 2 h. La masa de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con éter de petróleo. El sólido precipitado se filtró y se lavó con éter de petróleo para obtener el compuesto en bruto (1,1 g, 63,6 %) en forma de un sólido de color amarillo. El compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,29-8,27 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,84-7,82 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,32-7,30 (d, J = 8 Hz, 1H), 6,98-6,96 (d, J = 8 Hz, 1H); EM: EM *m/z* 180,7 (M⁺+1).

10

15 *Etapa 3: Preparación de 5-cloro-4-metoxiisoquinolin-1-(2H)-ona*

A una solución de 5-choroisoquinolin-1(2H)-ona (3,8 g, 21,2 mmol) en metanol (70 ml) se le añadió yodosobencenodiacetato (7,5 g, 23,4 mmol), seguido de metano ácido sulfónico (2,45 g, 25,5 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se evaporó y el residuo se diluyó con agua fría. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua para obtener el compuesto en bruto (3,9 g, 88 %) en forma de un sólido de color rojo claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,06-8,03 (d, J = 12 Hz, 1H), 7,60-7,57 (d, J = 12 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,01-6,99 (s, 1H), 3,51 (s, 3H); EM: EM *m/z* 209,1 (M⁺+1).

20

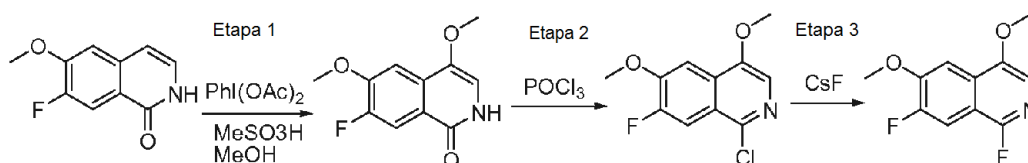
25 *Etapa 4: Preparación de 1,5-dicloro-4-metoxiisoquinolina*

Una solución de 5-cloro-4-metoxiisoquinolin-1-(2H)-ona (6,4 g, 30,5 mmol) en POCl₃ (45 ml) se calentó a reflujo durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua fría. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua para obtener el compuesto en bruto (4 g, 57,4 %) en forma de un sólido de color pardo claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,28-8,25 (d, J = 12 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,79-7,76 (d, J = 12 Hz, 1H), 7,58-7,54 (m, 1H), 4,03 (s, 3H); EM: EM *m/z* 228,0 (M⁺+1).

25

30

Preparación de 1,7-difluoro-4,6-dimetoxiisoquinolina



35

Etapa 1: Preparación de 7-fluoro-4,6-dimetoxiisoquinolin-1(2H)-ona

A una solución de 7-fluoro-6-metoxiisoquinolin-1(2H)-ona (6,3 g, 32,6 mmol) en metanol (70 ml) se le añadió yodozobencenodiacetato (10,5 g, 32,6 mmol), seguido de metano ácido sulfónico (3,76 g, 39,1 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se evaporó y el residuo se diluyó con agua fría. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua para obtener el compuesto en bruto (6,6 g, 91 %) en forma de un sólido de color rojo claro. EM: EM *m/z* 224,0 (M⁺+1).

40

45 *Etapa 2: Preparación de 1-cloro-7-fluoro-4,6-dimetoxiisoquinolina*

Una solución de 7-fluoro-4,6-dimetoxiisoquinolin-1(2H)-ona (7,6 g, 34,1 mmol) en POCl₃ (50 ml) se calentó a reflujo durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua fría. La solución acuosa se basificó con carbonato sódico sólido y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 20 % en éter de petróleo) para obtener el compuesto deseado (2 g, 24,3 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,88-7,85 (d, J = 12 Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,54-7,52 (d, J = 8 Hz, 1H), 4,05 (s, 3H); EM: EM *m/z* 242,0 (M⁺+1).

50

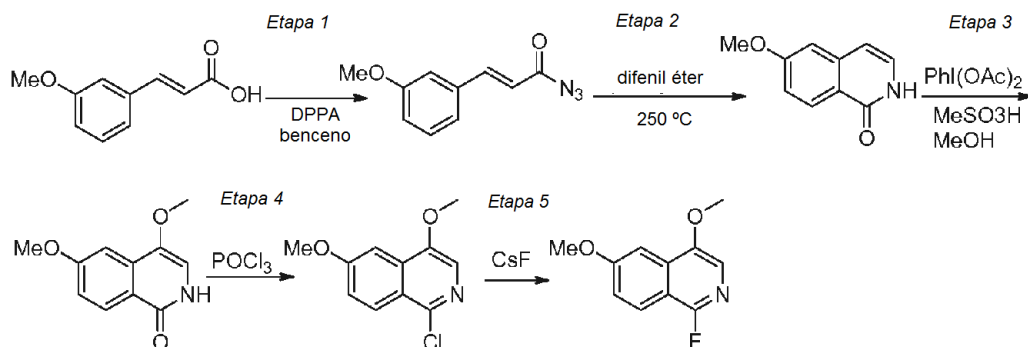
55 *Etapa 3: Preparación de 1,7-difluoro-4,6-dimetoxiisoquinolina*

A una solución de 1-cloro-7-fluoro-4,6-dimetoxiisoquinolina (2 g, 8,28 mmol) en DMSO (5 ml) se le añadió fluoruro de cesio (2,51 g, 16,55 mmol) a temperatura ambiente. El recipiente de reacción (Tubo a presión) se cerró herméticamente y se calentó a 145 °C durante 18 h. La masa de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener el compuesto

60

deseado (475 mg, 25,5 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,69-7,67 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,53-7,51 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,45-7,44 (m, 1H), 4,05 (s, 3H), 4,03 (s, 3H); RMN ^{19}F : δ ppm -129,58 (1 F), -79,2 (1F); EM: EM m/z 226,0 ($\text{M}^+ + 1$).

5 Preparación de 1-fluoro-4,6-dimetoxiisquinolina



Etapa 1: Preparación de azida (E)-3-(3-metoxifenil) acrílica

10 A una solución de ácido (E)-3-(3-metoxifenil)acrílico (20 g, 112 mmol) en benceno (200 ml) se le añadió trietilamina (22,72 g, 224 mmol), seguido de DPPA (30,9 g, 112 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a la misma temperatura durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna convencional (Gel de Sílice, malla 60-120) usando acetato de etilo al 10 % en éter de petróleo como fase móvil para obtener el compuesto deseado en forma de un sólido de color blanco (18 g, 79 %). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,73-7,69 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 7,33-7,29 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,14-7,12 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,98-6,96 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 6,43-6,39 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 3,86 (s, 3H).

Etapa 2: Preparación de 7-metoxiisquinolin-1(2H)-ona

25 A una solución de (E)-3-(3-metoxifenil)acrilil azida (7 g, 34,4 mmol) en 1,2-diclorobenceno (70 ml) se le añadió acetato mercúrico (0,11 g, 0,34 mmol). La reacción se calentó a 150 °C durante 10 min y la temperatura se elevó a 180 °C durante 1 h. La masa de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con éter de petróleo. El sólido precipitado se filtró y se lavó con éter de petróleo para obtener el compuesto en bruto (3,5 g, 58 %) en forma de un sólido de color amarillo. El compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ^1H (400 MHz, DMSO): δ ppm 8,09-8,06 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 7,14-7,11 (m, 2H), 7,05-7,03 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6,48-6,46 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 3,86 (s, 3H); EM: EM m/z 176,0 ($\text{M}^+ + 1$).

Etapa 3: Preparación de 4,6-dimetoxiisquinolin-1(2H)-ona

35 A una solución de 7-fluoro-6-metoxiisquinolin-1(2H)-ona (7 g, 40,0 mmol) en metanol (70 ml) se le añadió yodozobencenodiacetato (14,16 g, 40,0 mmol), seguido de ácido metanosulfónico (11,52 g, 120 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se evaporó y el residuo se diluyó con agua fría. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua para obtener el compuesto en bruto (4 g, 48,8 %) en forma de un sólido de color rojo claro. RMN ^1H (400 MHz, DMSO): δ ppm 8,11-8,09 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,13-7,11 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6,72-6,71 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,79 (s, 3H); EM: EM m/z 206,1 ($\text{M}^+ + 1$).

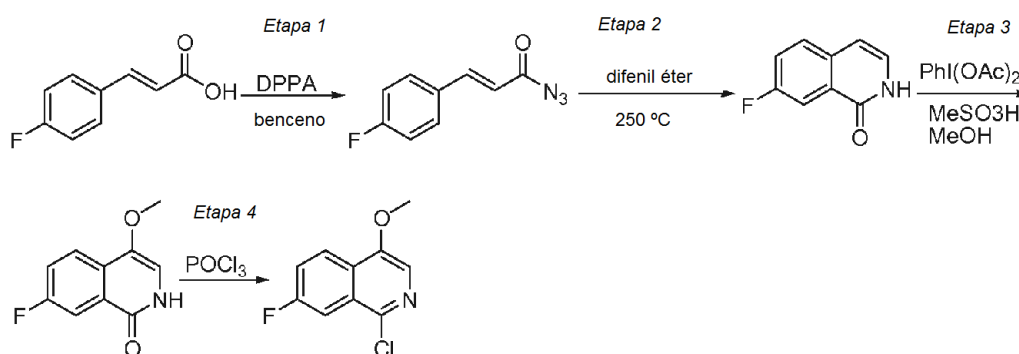
Etapa 4: Preparación de 1-cloro-4,6-dimetoxiisquinolina

45 Una solución de 4,6-dimetoxiisquinolin-1(2H)-ona (4 g, 19,49 mmol) en POCl_3 (40 ml) se calentó a reflujo durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua fría. La solución acuosa se basificó con carbonato sódico sólido y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 20 % en éter de petróleo) para obtener el compuesto deseado (1,2 g, 27,5 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 8,16-8,13 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,44-7,43 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 7,30-7,27 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 4,05 (s, 3H), 3,97 (s, 3H); EM: EM m/z 224,2 ($\text{M}^+ + 1$).

50

Etapa 5: Preparación de 1-fluoro-4,6-climetoxiisquinolina

A una solución de 1-cloro-4,6-dimetoxiisquinolina (1,5 g, 6,71 mmol) en DMSO (15 ml) se le añadió fluoruro de cesio (4 g, 26,8 mmol) a temperatura ambiente. El recipiente de reacción (Tubo a presión) se cerró herméticamente y se calentó a 145 °C durante 18 h. La masa de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener el compuesto deseado (280 mg, 20,15 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,99-7,97 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,44-7,39 (m, 2H), 7,27-7,11 (m, 1H), 4,03 (s, 3H), 3,97 (s, 3H); RMN ¹⁹F: δ ppm -79,32 (1F); EM: EM m/z 208,0 (M⁺+1).

Preparación de 1-cloro-7-fluoro-4-metoxiisquinolina*Etapa 1: Preparación de (E)-3-(4-fluorofenil)acrilato de azida*

A una solución de ácido (E)-3-(4-fluorofenil)acrílico (25 g, 150 mmol) en benceno (120 ml) se le añadió trietilamina (30,5 g, 301 mmol), seguido de DPPA (41,4 g, 150 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó a la misma temperatura durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna convencional (Gel de Sílice, malla 60-120) usando acetato de etilo al 10 % en éter de petróleo como fase móvil para obtener el compuesto deseado en forma de un sólido de color blanco (26 g, 90 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,73-7,69 (d, J = 16 Hz, 1H), 7,55-7,51 (m, 2H), 7,11-7,07 (m, 2H), 6,36-6,32 (d, J = 16 Hz, 1H).

Etapa 2: Preparación de 7-fluoroisquinolin-1(2H)-ona

A difenil éter (25 ml) caliente (125 °C) se le añadió en porciones (E)-3-(4-fluorofenil)acrilato de azida (5 g, 26,2 mmol). La reacción se calentó a 250 °C durante 4 h. La masa de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con éter de petróleo. El sólido precipitado se filtró y se lavó con éter de petróleo para obtener el compuesto en bruto (2,45 g, 57 %). El compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 7,96-7,93 (m, 1H), 7,76-7,72 (m, 1H), 7,56-7,51 (m, 1H), 7,18-7,16 (m, 1H), 6,72-6,70 (m, 1H); EM: EM m/z 164,1 (M⁺+1).

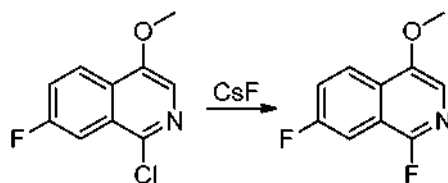
Etapa 3: Preparación de 7-fluoro-4-metoxiisquinolin-1(2H)-ona

A una solución de 7-fluoroisquinolin-1(2H)-ona (11 g, 67,4 mmol) en metanol se le añadió yodozobencenodiacetato (21,7 g, 67,4 mmol), seguido de metano ácido sulfónico (7,78 g, 81 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se evaporó y el residuo se diluyó con agua fría. El sólido precipitado se filtró y se lavó con agua para obtener el compuesto en bruto (11 g, 84 %) en forma de un sólido de color rojo claro. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,06-8,04 (m, 1H), 7,96-7,93 (m, 1H), 7,62-7,54 (m, 2H), 6,74 (s, 1H), 3,89 (s, 3H); EM: EM m/z 194,1 (M⁺+1).

Etapa 4: Preparación de 1-cloro-7-fluoro-4-metoxiisquinolina

Una solución de 7-fluoro-4-metoxiisquinolin-1(2H)-ona (11 g, 56,9 mmol) en POCl₃ (100 ml) se calentó a reflujo durante 18 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua fría. La solución acuosa se basificó con carbonato sódico sólido y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo en éter de petróleo) para obtener el compuesto deseado (2,9 g, 24 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,36-8,32 (m, 1H), 7,93-7,90 (m, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,70-7,65 (m, 1H), 4,11 (s, 3H); EM: EM m/z 212,1 (M⁺+1).

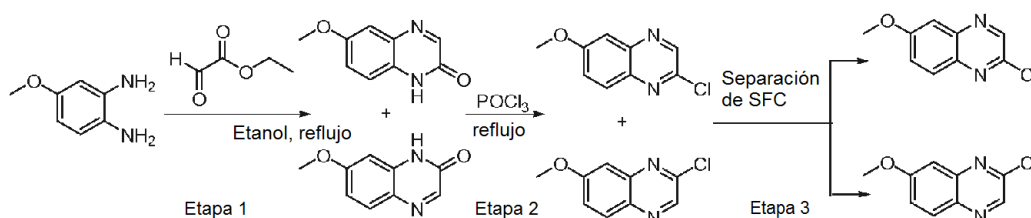
Preparación de 1,7-difluoro-4-metoxiisquinolina



- 5 A una solución de 1-cloro-7-fluoro-4-metoxiisquinolina (3,7 g, 17,48 mmol) en DMSO se le añadió fluoruro de cesio (10,26 g, 69,9 mmol) a temperatura ambiente. El recipiente de reacción (Tubo a presión) se cerró herméticamente y se calentó a 145 °C durante 18 h. La masa de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener el compuesto deseado (1,7 g, 49 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,20-8,18 (m, 1H), 7,69-7,66 (m, 1H), 7,54-7,47 (m, 1H), 7,46 (s, 1 H), 4,04 (s, 3H); RMN ¹⁹F: δ ppm 109,65 (1F), -78,53 (1F); EM: EM *m/z* 196,1 (M⁺+1).

Preparación de 2-cloro-6-metoxiquinoxalina y 3-cloro-6-metoxiquinoxalina

15



Etapa 1: Preparación de 6-metoxiquinoxalin-2(1H)-ona and 7-metoxiquinoxalin-2(1H)-ona

- 20 A una solución de 4-metoxibenceno-1,2-diamina (5 g, 36,2 mmol) en etanol (50 ml) se le añadió 2-oxoacetato de etilo (4,06 g, 39,8 mmol). La masa de reacción se calentó a reflujo durante una noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con acetato de etilo y después se evaporó a sequedad para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se lavó con éter de petróleo para obtener el compuesto en bruto (5,1 g, rendimiento del 80 %) en forma de una mezcla de regioisómeros (sólido de color negro). Este compuesto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin separación de isómeros. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 8,17 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,70-7,68 (d, *J* = 8 Hz, 1 H), 7,31-7,30 (d, *J* = 4 Hz, 1 H), 7,27-7,20 (m, 2 H), 6,93-6,90 (m, 1H), 6,77-6,76 (d, *J* = 4 Hz, 1 H), 3,84 (s, 3H), 3,83 (s, 3H); EM: EM *m/z* 177,0 (M⁺+1).

Etapas 2 y 3: Preparación de 2-cloro-6-metoxiquinoxalina y 3-cloro-6-metoxiquinoxalina

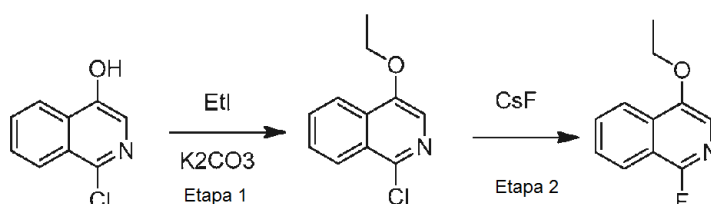
30

Una solución de 6-metoxiquinoxalin-2(1H)-ona y 7-metoxiquinoxalin-2(1H)-ona (3 g, 18,28 mmol) en POCl₃ (20 ml) se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua fría. La solución acuosa se basificó con carbonato sódico sólido y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 20 % en éter de petróleo) para proporcionar una mezcla de regioisómeros (3,7 g). Se separaron 2 g de la mezcla anterior por purificación de SFC para proporcionar 2-cloro-7-metoxiquinoxalina (0,7 g, 34,7 %) y 2-cloro-6-metoxiquinoxalina (0,9 g, 44,6 %) en forma de un sólido de color blanquecino. 2-Cloro-6-metoxiquinoxalina: RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,71 (s, 1H), 7,91-7,89 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,46-7,38 (m, 2H), 3,97 (s, 3H); EM: EM *m/z* 194,9(M⁺+1). 2-Cloro-7-metoxiquinoxalina: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,63 (s, 1H), 7,99-7,96 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 7,43-7,40 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 3,96 (s, 3H); EM: EM *m/z* 194,9 (M⁺+1).

35

40

Preparación de 1-fluoro-4-etoxiisquinolina



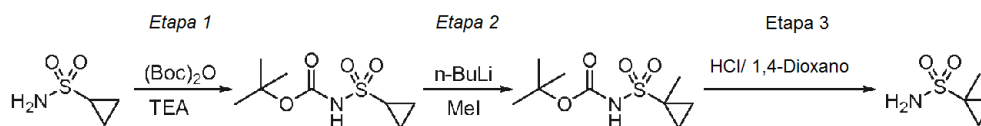
45

Etapa 1: Preparación de 1-cloro-4-etoxiisoquinolina

A una solución de 1-cloroisoquinolin-4-ol (1,0 g, 5,5 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se le añadió K_2CO_3 (2,3 g, 16,7 mmol), seguido de yoduro de etilo (0,87 ml, 11,0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener 1-cloro-4-etoxiisoquinolina (0,7 g, 62 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN 1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,26-8,24 (m, 2H), 7,79 (s, 1H), 7,76-7,26 (m, 2H), 4,29-4,24 (c, J = 6,8 Hz, 2H), 1,58-1,54 (t, J = 6,8 Hz, 3H); EM: EM m/z 207,7 ($M^+ + 1$).

Etapa 2: Preparación de 1-Fluoro-4-etoxiisoquinolina

A una solución de 1-cloro-4-etoxiisoquinolin (4,8 g, 23,12 mmol) en DMSO se le añadió fluoruro de cesio (6,9 g, 46,24 mmol) a temperatura ambiente. El recipiente de reacción (Tubo a presión) se cerró herméticamente y se calentó a 145 °C durante 18 h. La masa de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para obtener el compuesto deseado (2,6 g, 58,8 %) en forma de un sólido de color blanco. EM: EM m/z 192,3 ($M^+ + 1$).

Preparación de 1-metilciclopropano-1-sulfonamida*Etapa 1: Preparación de ciclopropilsulfonilcarbamato de terc-butilo*

A una solución de ciclopropanosulfonamida (100 g, 82,6 mmol) en DCM (800 ml) se le añadió trietilamina (234 ml, 165 mmol), seguido de DMAP (10,28 g, 82,6 mmol) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla de reacción se le añadió lentamente Boc anhídrido (247 ml, 107 mmol) en DCM (400 ml). La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una solución HCl de 1,5 N y $NaHCO_3$ al 10 % y se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto en bruto (143 g, 65,0 %) en forma de un sólido. El compuesto en bruto se recogió directamente para la siguiente etapa. RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ ppm 11,08 (s, 1H), 2,90 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 1,06 (m, 4H).

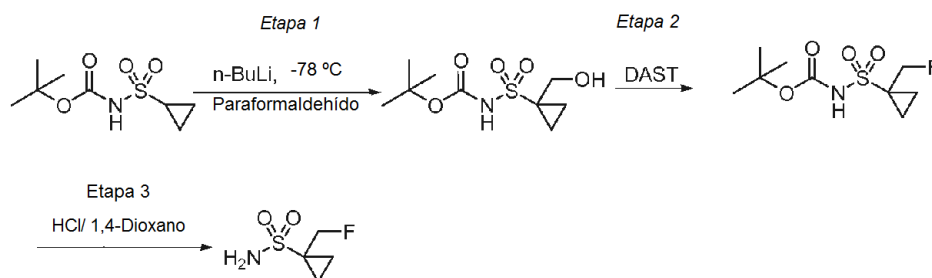
Etapa 2: Preparación de (1-metilciclopropil) sulfonilcarbamato de terc-butilo

Una solución de ciclopropilsulfonilcarbamato de *terc*-butilo (4,3 g, 20 mmol) se disolvió en THF seco (100 ml) y se enfrió a -78 °C. A esta solución se le añadió lentamente *n*-BuLi (17,6 ml, 44 mmol, 2,5 M en hexano). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante un periodo de 1,5 h. Después, esta mezcla se enfrió a -78 °C, y se añadió una solución de *n*-BuLi (20 mmol, 8 ml, 2,5 M en hexano), se agitó durante 1 h y se añadió una solución pura de yoduro de metilo (5,68 g, 40 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche y se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado (100 ml) a temperatura ambiente. Se extrajo con EtOAc (100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó a presión reducida para dar un aceite de color amarillo que se cristalizó en hexano para proporcionar el producto en forma de un sólido de color ligeramente amarillo. (3,1 g, 81 %). RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ ppm 10,97 (s, 1H), 1,44 (s, 12H), 1,35-1,33 (m, 2H), 0,93-0,91 (m, 2H).

Etapa 3: Preparación de 1-metilciclopropano-1-sulfonamida

Una solución de *N-terc*-butil-(1-metil) ciclopropil-sulfonamida (1,91 g, 10 mmol) se disolvió en HCl 4 M en dioxano (30 ml) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío para dar un aceite de color amarillo que se cristalizó en EtOAc/hexano (1:4, 40 ml) para producir 1-metil-ciclopropilsulfonamida, en forma de un sólido de color blanco (1,25 g, 96 %). RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 6,73 (s, 2H), 1,43 (s, 3H), 1,14-1,12 (m, 2H), 0,75-0,73 (m, 2H).

Preparación 1 - (Fluoro metil) ciclopropano-1-sulfonamida

5 Etapa 1: Preparación de 1-(hidroximetil)ciclopropilsulfonilcarbamato de *tert*-butilo

A una solución de ciclopropilsulfonilcarbamato de *tert*-butilo (30 g, 136 mmol) en 750 ml de THF se le añadió gota a gota butillitio (1,6 M en hexano, 212 ml, 339 mmol) durante 30 min a -78 °C y la mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 1 h. Se generó gas de formaldehído a partir de para-formaldehído (calentando a 180 °C) y se purgó en la masa de reacción anterior durante 30 min a -30 °C. La reacción se agitó a la misma temperatura durante 1 h, después se dejó calentar a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió con una solución acuosa de cloruro de amonio y se diluyó con agua. La masa resultante se lavó con acetato de etilo y la capa acuosa se acidificó a pH ~2 y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron a presión reducida para obtener el compuesto deseado (27 g, 79 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 10,90 (s a, 1H), 4,95 (s a, 1H), 3,75 (s, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,27(m, 2H), 1,08 (m, 2 H).

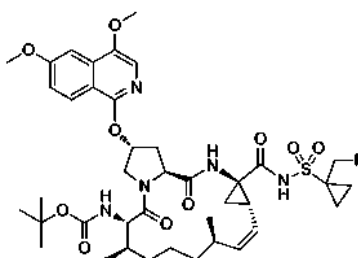
Etapa 2: Preparación de 1-(fluorometil)ciclopropil)sulfonilcabamato de *tert*-butilo

A una solución de 1-(hidroximetil)ciclopropil) sulfonilcarbamato de *tert*-butilo (10 g, 39,98 mmol) en DCM (150 ml) a -78 °C se le añadió gota a gota DAST (25,7 g, 159 mmol). La masa de reacción se agitó durante 2 h. La masa de reacción se inactivó con una solución 1 N de NaOH (200 ml) y se separó la capa de DCM. La capa de DCM se lavó con una solución de NaOH (400 ml), la capa acuosa combinada se acidificó con una solución 1,5 N de HCl (600 ml) y se extrajo con DCM. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto deseado (9,8 g, 97 %) en forma de un sólido de color pardo claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 6,97 (s a, 1H), 4,74-4,62 (d, J = 48 Hz, 2H), 1,83-1,80 (m, 2H), 1,56-1,44 (m, 9H), 1,20-1,11 (m, 2H).

Etapa 3: Preparación de 1-(fluorometil) ciclopropano-1-sulfonamida

A una solución de 1-(fluorometil)ciclopropil)sulfonilcarbamato de *tert*-butilo (19,8 g, 38,7 mmol) en DCM (100 ml) se le añadió gota a gota TFA (30 ml, 387 mmol) a temperatura ambiente. La masa de reacción se agitó durante 2 h. La masa de reacción se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto deseado (6 g, 100 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 4,78-4,66 (d, J = 48 Hz, 2H), 2,61 (s a, 1H), 1,59-1,56 (m, 2H), 1,13-1,10 (m, 2H).

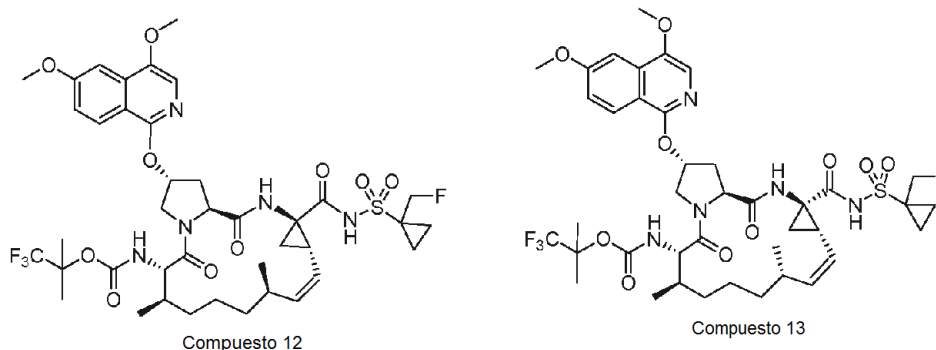
Preparación del Compuesto 11



El Compuesto 11 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 5. Compuesto 11: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(4,6-dimetoxiisocquinolin-1-iloxi)-14a-(1-(fluorometil)ciclopropilsulfonilcarbamoi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4] diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,06 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,51 (s, 1 H) 7,42 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,14 (dd, J = 9,16, 2,64 Hz, 1 H) 5,79 (s a, 1 H) 5,29 (s a, 1 H) 4,54 - 4,65 (m, 2 H) 4,02 (s, 3 H) 3,95 (s, 3 H) 3,03 - 3,09 (m, 3 H) 2,67 (d, J = 17,57 Hz, 2 H) 1,77 (d, J = 4,77 Hz, 1 H) 1,62 (d, J = 11,80 Hz, 2 H) 1,43 (s, 1 H) 1,29 - 1,35 (m, 9 H) 1,24 (s a, 2 H) 1,12 (s, 9 H) 0,99 (dd, J = 13,05, 6,53 Hz, 6 H) 0,89 - 0,94 (m, 3 H);

EM: EM m/z 816,4 (M^{+1}).

Preparación del Compuesto 12 y el Compuesto 13



5

El Compuesto 12 y el Compuesto 13 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7 y el Compuesto 8.

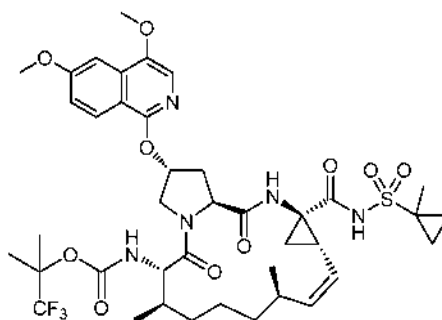
10 Compuesto 12: ((2R,6S,7R,11R,13aS,14aR, 16aS,Z)-2-(4,6-dimetoxiisoquinolin-1-iloxi)-14a-(1-(fluorometil)ciclopropilsulfonilcarbamoil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,89 (s, 1 H) 8,09 (d, J = 9,29 Hz, 1 H) 7,52 (s, 1 H) 7,45 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,17 (dd, J = 9,03, 2,51 Hz, 1 H) 5,81 (s a, 1 H) 5,37 (t, J = 9,66 Hz, 1 H) 4,96 - 5,03 (m, 2 H) 4,67 - 4,75 (m, 2 H) 4,43 - 4,61 (m, 1 H) 4,00 - 4,05 (m, 3 H) 3,96 (s, 3 H) 3,85 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 3,23 (d, J = 7,03 Hz, 2 H) 2,59 - 2,71 (m, 2 H) 2,29 - 2,36 (m, 1 H) 1,70 - 1,82 (m, 2 H) 1,63 (td, J = 8,47, 5,40 Hz, 4 H) 1,36 (s, 3 H) 1,31 (s, 3 H) 1,25 - 1,28 (m, 3 H) 1,15 - 1,21 (m, 2 H) 0,97 (d, J = 4,52 Hz, 6 H) 0,87 - 0,93 (m, 2 H); EM: EM m/z 870,4 (M^{+1}).

15

20 Compuesto 13: ((2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-((4,6-dimetoxiisoquinolin-1-il)oxi)-14a-(((1-(fluorometil)ciclopropil)sulfonil)carbamoil)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il)carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,07 (d, J = 9,29 Hz, 1 H) 7,52 (s, 1 H) 7,42 (d, J = 2,26 Hz, 1 H) 7,09 - 7,16 (m, 1 H) 6,71 (d, J = 8,53 Hz, 1 H) 5,80 (s, 1 H) 5,34 (s a, 1 H) 4,81 - 4,81 (m, 1 H) 4,62 - 4,71 (m, 3 H) 4,02 (s, 4 H) 3,95 (s, 4 H) 2,67 - 2,75 (m, 3 H) 2,42 (s a, 1 H) 1,83 (s a, 1 H) 1,66 (d, J = 7,53 Hz, 6 H) 1,48 (s a, 1 H) 1,17 (s, 11 H) 1,00 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,95 (d, J = 6,27 Hz, 4 H); EM: EM m/z 870,6 (M^{+1}).

25

Preparación del Compuesto 14

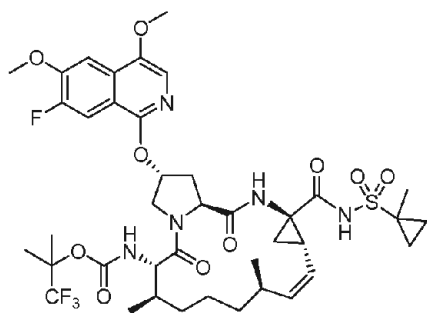


30 El Compuesto 14 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7. Compuesto 14: ((2R,6S,7R,11R,13aS, 14aR,16aS,Z)-2-(4,6-dimetoxiisoquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-14a-(1-metilciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,07 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,53 (s, 1 H) 7,44 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,28 (d, J = 8,28 Hz, 1 H) 7,15 (dd, J = 9,03, 2,51 Hz, 1 H) 5,81 (s a, 1 H) 5,34 - 5,40 (m, 1 H) 5,02 (dd, J = 10,42, 7,40 Hz, 1 H) 4,67 - 4,74 (m, 2 H) 3,98 - 4,04 (m, 4 H) 3,95 (s, 3 H) 3,84-3,90 (m, 1 H) 3,20 (s a, 1 H) 2,58 - 2,72 (m, 2 H) 2,35 (c, J = 8,11 Hz, 1 H) 1,79 (d, J = 7,03 Hz, 1 H) 1,57 - 1,69 (m, 5 H) 1,54 (s, 3 H) 1,42 - 1,51 (m, 2 H) 1,37 (s, 3 H) 1,27 - 1,33 (m, 1 H) 1,17 (dd, J = 14,18, 8,91 Hz, 1 H) 0,96 - 1,00 (m, 8 H) 0,89 - 0,93 (m, 3 H); EM: EM m/z 852,5 (M^{+1}).

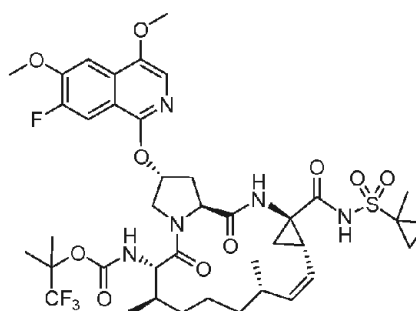
35

40

Preparación del Compuesto 15 y el Compuesto 16



Compuesto 15



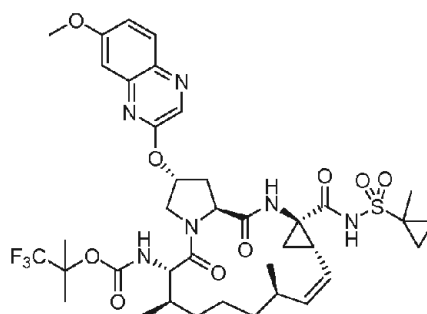
Compuesto 16

- 5 El Compuesto 15 y el Compuesto 16 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis de Compuesto 7 y Compuesto 8.

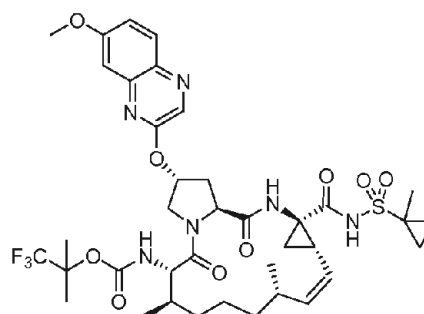
Compuesto 15: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(7-fluoro-4,6-dimetoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-14a-(1-metilciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 7,75 (d, J = 11,54 Hz, 1 H) 7,58 (d, J = 8,28 Hz, 1 H) 7,54 (s, 1 H) 5,82 (s a, 1 H) 5,33 - 5,40 (m, 1 H) 5,04 (d, J = 10,54 Hz, 1 H) 4,64 - 4,73 (m, 2 H) 3,97 - 4,05 (m, 7 H) 3,86 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 2,57 - 2,72 (m, 2 H) 2,34 (d, J = 6,53 Hz, 1 H) 1,79 (d, J = 6,78 Hz, 1 H) 1,57 - 1,70 (m, 5 H) 1,53 (s, 3 H) 1,48 (d, J = 11,04 Hz, 1 H) 1,39 (s, 3 H) 1,32 (s a, 1 H) 1,12 - 1,29 (m, 3 H) 1,08 (s, 3 H) 0,98 (d, J = 6,53 Hz, 6 H) 0,87 - 0,93 (m, 3 H); EM: EM *m/z* 870,4 (M⁺+1).

Compuesto 16: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(7-fluoro-4,6-dimetoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-14a-(1-metilciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 7,75 (d, J = 11,54 Hz, 1 H) 7,58 (d, J = 8,28 Hz, 1 H) 7,54 (s, 1 H) 5,81 (s a, 1 H) 5,36 (t, J = 10,29 Hz, 1 H) 4,95 (t, J = 10,42 Hz, 1 H) 4,65 - 4,72 (m, 2 H) 4,03 (d, J = 2,01 Hz, 7 H) 3,83 (d, J = 10,29 Hz, 1 H) 2,73 (dt, J = 13,93, 6,84 Hz, 3 H) 2,36 - 2,44 (m, 1 H) 1,85 (s a, 1 H) 1,57 - 1,74 (m, 5 H) 1,54 (s, 3 H) 1,45 (d, J = 11,80 Hz, 2 H) 1,41 (s, 3 H) 1,30 (d, J = 14,05 Hz, 3 H) 1,14 (s, 4 H) 1,01 (d, J = 6,27 Hz, 3 H) 0,95 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,91 (s a, 2 H); EM: EM *m/z* 868,9 (M⁺-1).

Preparación del Compuesto 17 y el Compuesto 18



Compuesto 17



Compuesto 18

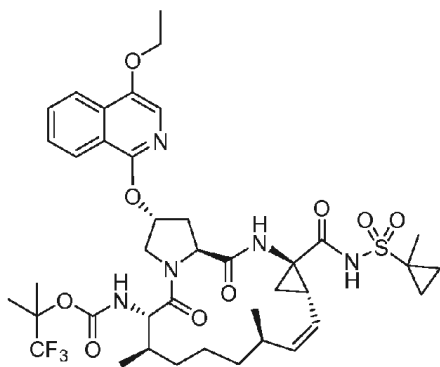
- 30 El Compuesto 17 y el Compuesto 18 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7 y el Compuesto 8.

Compuesto 17: ((2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-((7-metoxiquinoxalin-2-il)oxi)-7,11-dimetil-14a-(((1-metilciclopropil)sulfonil)carbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il)carbamoilato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,26 (s, 1 H) 7,87 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,32 (d, J = 2,76 Hz, 1 H) 7,26 - 7,30 (m, 1 H) 5,88 (s a, 1 H) 5,34 (s a, 1 H) 4,75 (s, 1 H) 4,68 (s a, 1 H) 4,07 (d, J = 8,78 Hz, 1 H) 3,99 (s, 3 H) 3,84 (s, 1 H) 2,66 (d, J = 7,03 Hz, 2 H) 2,27 (s a, 1 H) 1,74 - 1,83 (m, 1 H) 1,69 (s a, 1 H) 1,60 (d, J = 8,03 Hz, 3 H) 1,54 (s, 4 H) 1,40 (d, J = 6,27 Hz, 3 H) 1,31 (s, 2 H) 1,26 (s, 4 H) 1,20 (s, 3 H) 0,97 (dd, J = 13,68, 6,40 Hz, 7 H) 0,88 (s a, 2 H); EM: EM *m/z* 823,5 (M⁺+1).

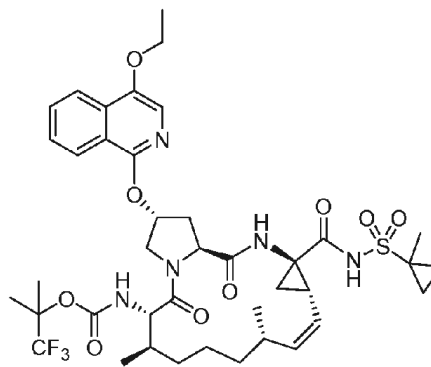
40

Compuesto 18: ((2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-((7-metoxiquinoxalin-2-il)oxi)-7,11-dimetil-14a-(((1-metilciclopropil)sulfonyl)carbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il)carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,27 (s, 1 H) 7,87 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,34 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,28 (dd, J = 9,03, 2,76 Hz, 1 H) 5,88 (s a, 1 H) 5,32 (t, J = 10,29 Hz, 1 H) 4,73 - 4,81 (m, 1 H) 4,66 (t, J = 8,41 Hz, 1 H) 4,12 (d, J = 10,54 Hz, 1 H) 3,99 (s, 3 H) 3,84 (d, J = 10,29 Hz, 1 H) 2,70 (dd, J = 13,93, 7,65 Hz, 3 H) 2,45 - 2,59 (m, 2 H) 1,98 (s, 2 H) 1,85 (d, J = 6,02 Hz, 1 H) 1,70 - 1,77 (m, 2 H) 1,61 (s a, 3 H) 1,54 (s, 3 H) 1,31 - 1,47 (m, 2 H) 1,28 (s, 4 H) 1,23 (s, 3 H) 0,96 (t, J = 6,90 Hz, 6 H) 0,87 (s a, 2 H); EM: EM m/z 823,5 (M⁺+1).

10 *Preparación del Compuesto 19 y el Compuesto 20*



Compuesto 19



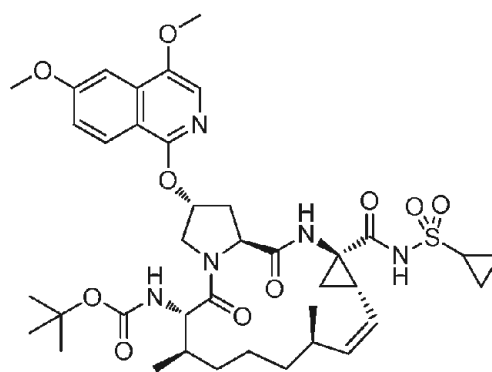
Compuesto 20

15 El Compuesto 19 y el Compuesto 20 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7 y el Compuesto 8.

Compuesto 19: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(4-etoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-14a-(1-metilciclopropilsulfonylcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,16 (t, J = 8,03 Hz, 2 H) 7,74 (t, J = 7,78 Hz, 1 H) 7,54 - 7,60 (m, 2 H) 5,83 (s a, 1 H) 5,37 (t, J = 10,29 Hz, 1 H) 5,00 - 5,06 (m, 1 H) 4,69 - 4,77 (m, 2 H) 4,25 (c, J = 7,03 Hz, 2 H) 4,02 (d, J = 12,05 Hz, 1 H) 3,87 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 2,58 - 2,75 (m, 3 H) 2,35 (d, J = 8,53 Hz, 1 H) 1,73 - 1,84 (m, 1 H) 1,58 - 1,70 (m, 5 H) 1,53 - 1,57 (m, 6 H) 1,40 - 1,51 (m, 2 H) 1,31 - 1,37 (m, 4 H) 1,28 (s, 1 H) 1,09 - 1,21 (m, 1 H) 0,98 (dd, J = 6,27, 5,02 Hz, 6 H) 0,91 (s, 5 H); EM: EM m/z 836,5 (M⁺+1).

20
25
30
35
Compuesto 20: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(4-etoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dietil-14a-(1-metilciclopropilsulfonylcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,16 (t, J = 7,40 Hz, 2 H) 7,74 (t, J = 7,78 Hz, 1 H) 7,53 - 7,59 (m, 2 H) 5,83 (s a, 1 H) 5,36 (s, 1 H) 4,93 - 4,99 (m, 1 H) 4,69 - 4,79 (m, 2 H) 4,24 (c, J = 6,94 Hz, 2 H) 4,04 (d, J = 10,29 Hz, 1 H) 3,85 (d, J = 11,29 Hz, 1 H) 2,63 - 2,79 (m, 3 H) 2,42 (s a, 1 H) 1,85 (d, J = 9,54 Hz, 1 H) 1,62 - 1,77 (m, 3 H) 1,52 - 1,59 (m, 6 H) 1,39 - 1,49 (m, 3 H) 1,36 (s, 3 H) 1,27 - 1,32 (m, 3 H) 1,17 (s, 1 H) 0,89 - 1,01 (m, 11 H). EM: EM m/z 836,4 (M⁺+1).

Preparación del Compuesto 21

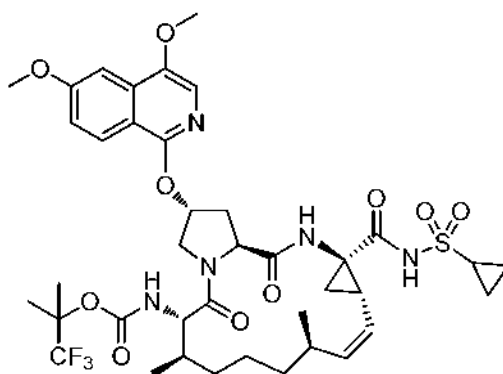


Compuesto 21

El Compuesto 21 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 5. Compuesto 21: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(4,6-dimetoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]

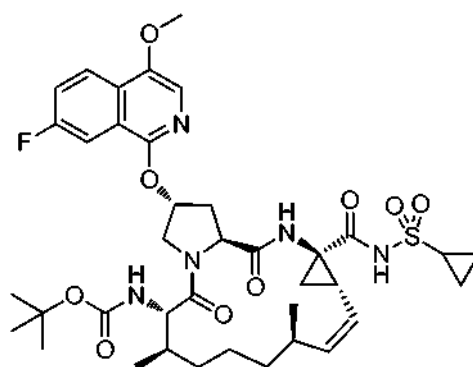
5 diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de *terc*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,06 (d, J = 9,04 Hz, 1 H) 7,51 (s, 1 H) 7,42 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,13 (dd, J = 9,03, 2,51 Hz, 1 H) 5,81 (s a, 1 H) 5,37 (t, J = 10,16 Hz, 1 H) 5,01 (dd, J = 10,54, 7,28 Hz, 1 H) 4,62 - 4,69 (m, 2 H) 3,98 - 4,04 (m, 4 H) 3,89 - 3,96 (m, 4 H) 3,18 - 3,25 (m, 1 H) 2,89 - 2,97 (m, 1 H) 2,55 - 2,70 (m, 2 H) 2,38 (c, J = 7,86 Hz, 1 H) 1,77 (td, J = 10,54, 6,27 Hz, 1 H) 1,70 (dd, J = 8,28, 5,27 Hz, 1 H) 1,57 - 1,66 (m, 3 H) 1,35 - 1,46 (m, 1 H) 1,24 - 1,34 (m, 3 H) 1,02 - 1,22 (m, 12 H) 0,98 (t, J = 6,53 Hz, 6 H) 0,88 - 0,94 (m, 1 H); EM: EM *m/z* 784,2 (M⁺+1).

Preparación de Compuesto 22



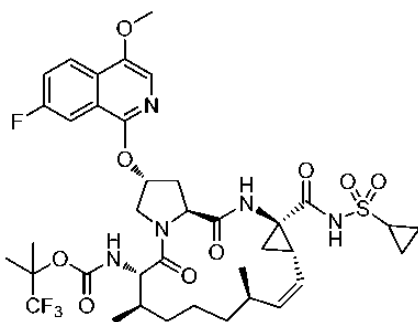
15 El Compuesto 22 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis de Compuesto 7. Compuesto 22: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(4,6-dimetoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,06 (d, J = 9,29 Hz, 1 H) 7,53 (s, 1 H) 7,43 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,15 (dd, J = 9,16, 2,64 Hz, 1 H) 5,81 (s a, 1 H) 5,37 (t, J = 10,04 Hz, 1 H) 5,00 - 5,06 (m, 1 H) 4,67 - 4,73 (m, 2 H) 3,97 - 4,04 (m, 4 H) 3,95 (s, 3 H) 3,83 - 3,89 (m, 1 H) 3,22 (d, J = 9,54 Hz, 1 H) 2,94 (s, 1 H) 2,56 - 2,71 (m, 2 H) 2,36 (d, J = 7,28 Hz, 1 H) 1,75 - 1,84 (m, 1 H) 1,71 (dd, J = 8,03, 5,27 Hz, 1 H) 1,56 - 1,66 (m, 3 H) 1,39 - 1,46 (m, 1 H) 1,37 (s, 3 H) 1,24 - 1,32 (m, 2 H) 1,03 - 1,22 (m, 4 H) 0,98 (t, J = 7,53 Hz, 9 H) 0,88 - 0,93 (m, 1 H); EM: EM *m/z* 838,2 (M⁺+1).

Preparación del Compuesto 23



30 El Compuesto 23 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis de Compuesto 5. Compuesto 23: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-fluoro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-il-carbamato de *terc*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 9,09 (s, 1 H) 8,17 (dd, J = 9,03, 5,27 Hz, 1 H) 7,74 (dd, J = 9,54, 2,51 Hz, 1 H) 7,49 - 7,58 (m, 2 H) 5,83 (s a, 1 H) 5,36 (t, J = 10,67 Hz, 1 H) 5,03 (t, J = 10,67 Hz, 1 H) 4,63 - 4,78 (m, 2 H) 3,99 - 4,05 (m, 4 H) 3,85 (d, J = 10,54 Hz, 1 H) 2,97 (tt, J = 7,94, 4,86 Hz, 1 H) 2,64 - 2,78 (m, 3 H) 2,41 (ddd, J = 13,80, 9,66, 4,14 Hz, 1 H) 1,78 - 1,87 (m, 1 H) 1,73 (dd, J = 8,28, 5,77 Hz, 1 H) 1,56 - 1,67 (m, 3 H) 1,29 - 1,49 (m, 5 H) 1,04 - 1,21 (m, 12 H) 1,00 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,95 (d, J = 6,27 Hz, 3 H); EM: EM *m/z* 772,4 (M⁺+1).

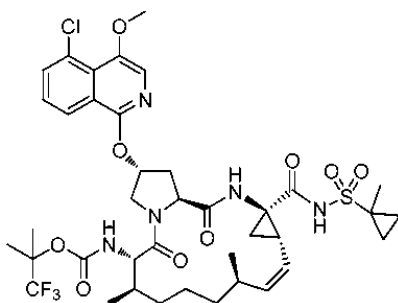
Preparación del Compuesto 24



5 El Compuesto 24 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis de Compuesto 7. Compuesto 24:

10 (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-fluoro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 9,10 (s, 1 H) 8,19 (dd, J = 9,16, 5,40 Hz, 1 H) 7,76 (dd, J = 9,54, 2,51 Hz, 1 H) 7,51 - 7,61 (m, 2 H) 5,80 - 5,85 (m, 1 H) 5,36 (t, J = 10,54 Hz, 1 H) 4,99 - 5,06 (m, 1 H) 4,65 - 4,77 (m, 2 H) 3,99 - 4,05 (m, 4 H) 3,81 (d, J = 10,29 Hz, 1 H) 2,94 - 3,00 (m, 1 H) 2,64 - 2,79 (m, 3 H) 2,41 (ddd, J = 13,80, 9,79, 4,27 Hz, 1 H) 1,85 (d, J = 6,27 Hz, 1 H) 1,73 (dd, J = 8,28, 5,77 Hz, 1 H) 1,57 - 1,68 (m, 3 H) 1,44 (d, J = 12,05 Hz, 1 H) 1,29 - 1,39 (m, 7 H) 1,09 - 1,20 (m, 3 H) 1,04 - 1,08 (m, 3 H) 1,00 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,94 (d, J = 6,53 Hz, 3 H); EM: EM *m/z* 824,2 (M⁺-1).

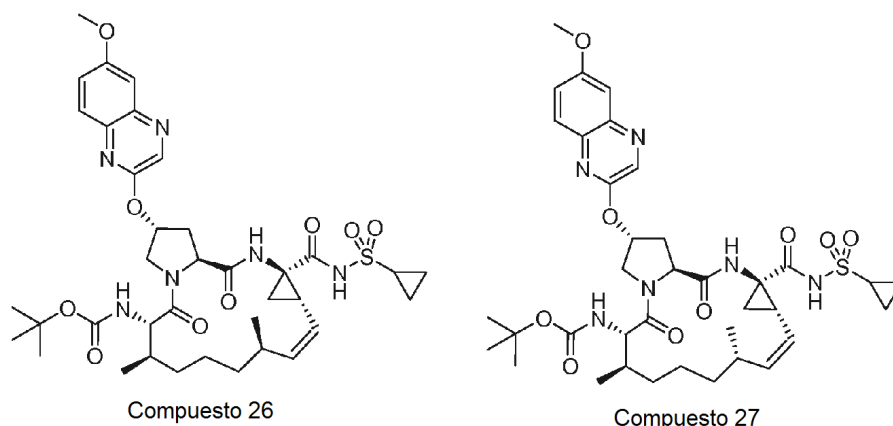
15 Preparación del Compuesto 25



20 El Compuesto 25 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7. Compuesto 25:

25 (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(5-cloro-4-metoxiisquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-14a-(1-metilciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,18 (dd, J = 8,41, 1,13 Hz, 1 H) 7,78 (dd, J = 7,53, 1,00 Hz, 1 H) 7,72 (s, 1 H) 7,48 (t, J = 8,03 Hz, 1 H) 5,83 (s a, 1 H) 5,36 (t, J = 9,91 Hz, 1 H) 5,01 - 5,07 (m, 1 H) 4,69 - 4,79 (m, 2 H) 3,96 - 4,03 (m, 4 H) 3,83 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 3,19 (s a, 1 H) 2,60 - 2,74 (m, 3 H) 2,32 (s a, 1 H) 1,73 - 1,81 (m, 1 H) 1,56 - 1,71 (m, 5 H) 1,54 (s, 3 H) 1,46 - 1,51 (m, 1 H) 1,39 (s a, 1 H) 1,31 - 1,35 (m, 3 H) 1,24 (d, J = 7,28 Hz, 2 H) 0,97 (t, J = 6,02 Hz, 6 H) 0,90 (s, 6 H); EM: EM *m/z* 856,2 (M⁺+1).

30 Preparación del Compuesto 26 y el Compuesto 27

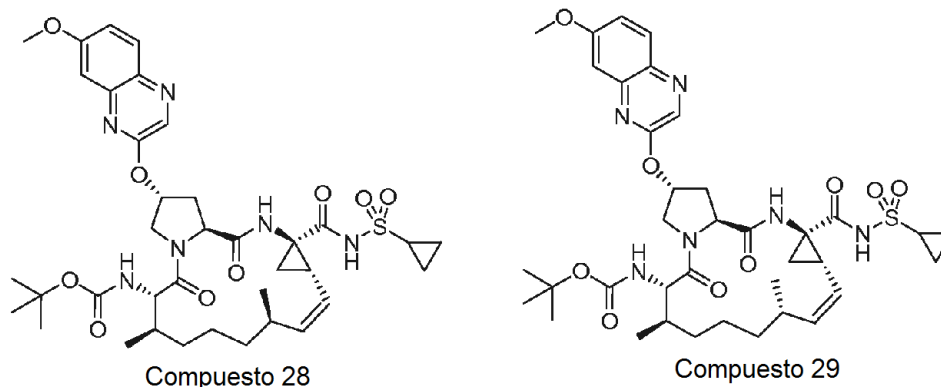


El Compuesto 26 y el Compuesto 27 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 5 y el Compuesto 6.

Compuesto 26: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(6-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,86 (s, 1 H) 8,37 (s, 1 H) 7,82 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,36 - 7,44 (m, 2 H) 5,87 (s a, 1 H) 5,37 (t, J = 10,42 Hz, 1 H) 5,02 (dd, J = 10,54, 7,28 Hz, 1 H) 4,64 - 4,73 (m, 2 H) 4,04 (dd, J = 11,80, 3,51 Hz, 1 H) 3,95 (s, 3 H) 3,84 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 3,18 - 3,23 (m, 1 H) 2,90 - 2,98 (m, 1 H) 2,64 (d, J = 8,53 Hz, 2 H) 2,31 - 2,38 (m, 1 H) 1,68 - 1,80 (m, 2 H) 1,55 - 1,67 (m, 3 H) 1,36 - 1,45 (m, 1 H) 1,22 - 1,34 (m, 2 H) 1,15 - 1,22 (m, 2 H) 1,02 - 1,13 (m, 11 H) 0,98 (d, J = 6,27 Hz, 3 H) 0,94 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,86 (s a, 1 H); EM: EM *m/z* 755,4 (M⁺+1).

Compuesto 27: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(6-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,38 (s, 1 H) 7,82 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,34 - 7,46 (m, 2 H) 5,86 (s a, 1 H) 5,26 - 5,38 (m, 1 H) 4,53 - 4,76 (m, 2 H) 4,12 (c, J = 7,28 Hz, 1 H) 3,95 (s, 3 H) 3,85 (d, J = 10,29 Hz, 1 H) 2,94 (s a, 1 H) 2,62 - 2,77 (m, 2 H) 2,46 (s a, 1 H) 1,55 - 1,87 (m, 5 H) 1,23 - 1,42 (m, 6 H) 1,14 (s, 11 H) 1,05 (dd, J = 6,53, 4,02 Hz, 2 H) 0,89 - 0,98 (m, 6 H); EM: EM *m/z* 755,4 (M⁺+1).

Preparación del Compuesto 28 y el Compuesto 29

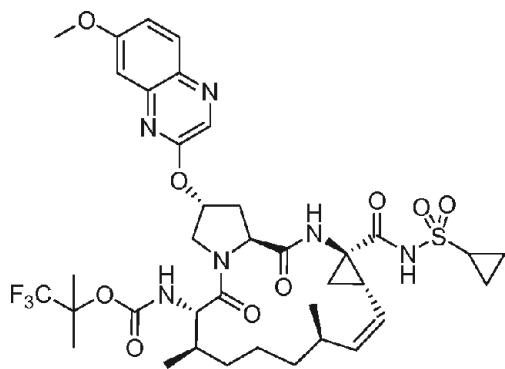


El Compuesto 28 y el Compuesto 29 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 5 y el Compuesto 6.

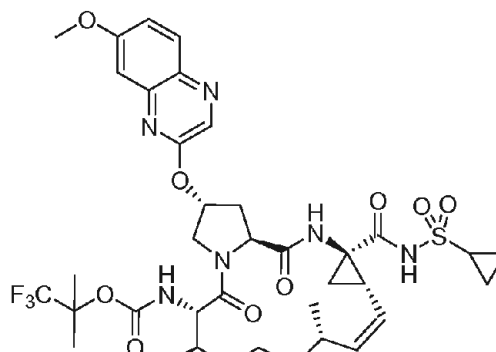
Compuesto 28: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,24 (s, 1 H) 7,86 (s, 1 H) 7,23 - 7,33 (m, 2 H) 5,89 (d, J = 2,76 Hz, 1 H) 5,36 (t, J = 9,54 Hz, 1 H) 5,05 (s a, 1 H) 4,62 - 4,75 (m, 2 H) 4,07 (d, J = 8,28 Hz, 1 H) 3,98 (s, 3 H) 3,85 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 2,93 (s a, 1 H) 2,60 - 2,72 (m, 2 H) 2,31 (s a, 1 H) 1,68 - 1,82 (m, 2 H) 1,54 - 1,67 (m, 3 H) 1,36 - 1,48 (m, 1 H) 1,16 - 1,32 (m, 5 H) 1,11 (s, 11 H) 0,96 (dd, J = 18,82, 6,53 Hz, 6 H) 0,81 - 0,91 (m, 1 H); EM: EM *m/z* 755,4 (M⁺+1).

Compuesto 29: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de *tert*-butilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,25 (s, 1 H) 7,84 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,33 (d, J = 2,51 Hz, 1 H) 7,26 (dd, J = 9,03, 2,76 Hz, 1 H) 5,88 (s a, 1 H) 5,29 (s a, 1 H) 4,71 (d, J = 11,54 Hz, 1 H) 4,56 - 4,64 (m, 1 H) 4,16 (s a, 1 H) 3,98 (s, 3 H) 3,88 (d, J = 10,29 Hz, 1 H) 2,94 (s a, 1 H) 2,68 (dd, J = 13,43, 7,91 Hz, 2 H) 2,50 (s a, 1 H) 1,95 - 2,00 (m, 1 H) 1,73 - 1,89 (m, 3 H) 1,62 (s a, 2 H) 1,32 (d, J = 12,05 Hz, 4 H) 1,20 - 1,27 (m, 1 H) 1,13 (s, 12 H) 0,93 - 0,97 (m, 7 H); EM: EM *m/z* 755,4 (M⁺+1).

Preparación del Compuesto 30 y el Compuesto 31



Compuesto 30



Compuesto 31

El Compuesto 30 y el Compuesto 31 se prepararon usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7 y el Compuesto 8.

5

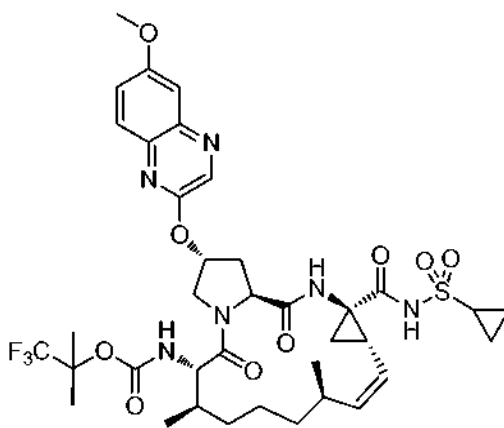
Compuesto 30: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,89 (s, 1 H) 8,26 (s, 1 H) 7,87 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,25 - 7,35 (m, 2 H) 5,88 (d, J = 2,76 Hz, 1 H) 5,33 - 5,41 (m, 1 H) 5,03 (dd, J = 10,67, 7,15 Hz, 1 H) 4,76 - 4,81 (m, 1 H) 4,69 (t, J = 8,41 Hz, 1 H) 3,96 - 4,07 (m, 4 H) 3,81 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 3,23 (s a, 2 H) 2,90 - 3,00 (m, 1 H) 2,66 (d, J = 6,02 Hz, 2 H) 2,29 - 2,38 (m, 1 H) 1,54 - 1,82 (m, 5 H) 1,40 (d, J = 6,27 Hz, 1 H) 1,28 - 1,35 (m, 3 H) 1,25 (s, 3 H) 1,03 - 1,22 (m, 5 H) 0,84 - 1,02 (m, 7 H); EM: EM *m/z* 809,2 (M⁺+1).

10

Compuesto 31: (2R,6S,7R,11S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,27 (s, 1 H) 7,86 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,33 (d, J = 2,76 Hz, 1 H) 7,27 (dd, J = 9,29, 2,76 Hz, 1 H) 5,86 (s a, 1 H) 5,30 (s a, 1 H) 4,57 - 4,77 (m, 2 H) 4,15 (s a, 1 H) 3,93 - 4,04 (m, 4 H) 3,84 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 2,94 (s a, 1 H) 2,63 - 2,74 (m, 2 H) 2,51 (d, J = 14,31 Hz, 2 H) 1,98 (s, 1 H) 1,72 - 1,91 (m, 3 H) 1,62 (s a, 2 H) 1,32 (d, J = 12,30 Hz, 4 H) 1,28 (s, 3 H) 1,22 (s, 3 H) 1,10 (d, J = 4,52 Hz, 3 H) 0,95 (t, J = 6,02 Hz, 6 H); EM: EM *m/z* 807,2 (M⁺-1).

20

Preparación del Compuesto 32



25

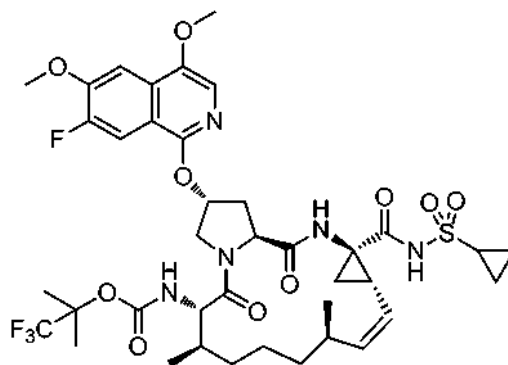
El Compuesto 32 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7. Compuesto 32: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(6-metoxiquinoxalin-2-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,88 (s, 1 H) 8,39 (s, 1 H) 7,92 (s, 1 H) 7,83 (d, J = 9,03 Hz, 1 H) 7,39 - 7,45 (m, 2 H) 5,86 (s a, 1 H) 5,34 - 5,40 (m, 1 H) 5,03 (dd, J = 10,79, 7,78 Hz, 2 H) 4,66 - 4,77 (m, 2 H) 4,02 (dd, J = 11,92, 3,39 Hz, 1 H) 3,78 - 3,84 (m, 1 H) 3,20 (s a, 1 H) 2,91 - 2,98 (m, 1 H) 2,63 - 2,68 (m, 2 H) 2,29 - 2,35 (m, 1 H) 1,55 - 1,80 (m, 5 H) 1,39 (s a, 1 H) 1,28 - 1,35 (m, 2 H) 1,24 - 1,28 (m, 4 H) 1,22 (s, 3 H) 1,04 - 1,20 (m, 4 H) 0,99 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,94 (d, J = 6,53 Hz, 3 H) 0,87 (s a, 1 H); EM: EM

30

35

m/z 809,4 (M^{+1}).

Preparación del Compuesto 33



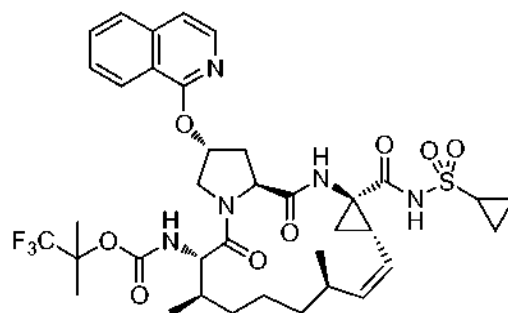
5

El Compuesto 33 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7. Compuesto 33: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(7-fluoro-4,6-dimetoxiisoquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 7,74 (d, J = 11,54 Hz, 1 H) 7,57 (d, J = 8,28 Hz, 1 H) 7,54 (s, 1 H) 5,81 (s a, 1 H) 5,37 (t, J = 10,42 Hz, 1 H) 5,02 (dd, J = 10,42, 7,40 Hz, 1 H) 4,64 - 4,71 (m, 2 H) 4,03 (d, J = 1,25 Hz, 6 H) 3,95 - 4,00 (m, 1 H) 3,82 - 3,87 (m, 1 H) 3,22 (d, J = 6,53 Hz, 1 H) 2,90 - 2,97 (m, 1 H) 2,57 (d, J = 4,27 Hz, 2 H) 2,31 - 2,38 (m, 1 H) 1,74 - 1,82 (m, 1 H) 1,70 (dd, J = 8,03, 5,27 Hz, 1 H) 1,57 - 1,66 (m, 3 H) 1,38 (s, 3 H) 1,23 - 1,33 (m, 3 H) 1,10 - 1,22 (m, 3 H) 1,02 - 1,09 (m, 4 H) 0,98 (dd, J = 6,53, 3,76 Hz, 6 H) 0,93 (d, J = 6,53 Hz, 1 H); EM: EM m/z 856,2 (M^{+1}).

10

15

Preparación del Compuesto 34



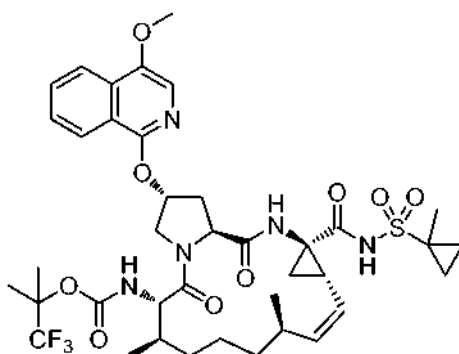
20

El Compuesto 34 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis de Compuesto 7. Compuesto 34: (2R,6S,7R,11R,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(isoquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,22 (d, J = 8,78 Hz, 1 H) 8,00 (d, J = 6,02 Hz, 1 H) 7,92 (s, 2 H) 7,83 (d, J = 8,03 Hz, 1 H) 7,72 (td, J = 7,53, 1,25 Hz, 1 H) 7,54 (t, J = 7,15 Hz, 1 H) 7,34 (d, J = 5,77 Hz, 1 H) 5,90 (s a, 1 H) 5,36 (t, J = 10,04 Hz, 1 H) 5,04 (s a, 2 H) 4,72 - 4,81 (m, 3 H) 4,62 (s, 1 H) 4,01 (s a, 1 H) 3,85 (d, J = 10,79 Hz, 1 H) 2,94 (s a, 1 H) 2,61 - 2,76 (m, 2 H) 1,74 - 1,82 (m, 1 H) 1,68 - 1,73 (m, 1 H) 1,64 (dd, J = 9,54, 5,27 Hz, 3 H) 1,41 (s a, 1 H) 1,30 (s, 3 H) 1,23 - 1,28 (m, 1 H) 1,19 (d, J = 8,28 Hz, 4 H) 0,98 (dd, J = 9,03, 6,53 Hz, 6 H) 0,90 - 0,94 (m, 1 H) 0,87 (s, 3 H); EM: EM m/z 776,2 (M^{+1}).

25

30

Preparación del Compuesto 35



El Compuesto 35 se preparó usando los intermedios descritos en el presente documento y siguiendo el procedimiento general descrito para la síntesis del Compuesto 7. Compuesto 35: (2R,6S,7R,11R,13aS, 14aR, 16aS,Z)-2-(4-metoxiisoquinolin-1-iloxi)-7,11-dimetil-14a-(1-metilciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazacyclopentadecin-6-ilcarbamato de 1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-ilo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ ppm 8,14 (dd, J = 17,69, 8,16 Hz, 2 H) 7,74 (ddd, J = 8,28, 7,03, 1,25 Hz, 1 H) 7,55 - 7,59 (m, 2 H) 5,83 (s a, 1 H) 5,36 (t, J = 10,29 Hz, 1 H) 5,03 (s a, 1 H) 4,74 (d, J = 10,29 Hz, 2 H) 4,03 (s, 3 H) 3,86 (d, J = 10,54 Hz, 1 H) 3,21 (d, J = 18,07 Hz, 1 H) 2,58 - 2,74 (m, 2 H) 2,34 (s a, 1 H) 1,74 - 1,83 (m, 1 H) 1,56 - 1,70 (m, 5 H) 1,53 (s, 3 H) 1,38 - 1,50 (m, 3 H) 1,31 - 1,35 (m, 3 H) 1,13 - 1,29 (m, 3 H) 0,97 (t, J = 6,02 Hz, 6 H) 0,90 (s, 5 H); EM: EM *m/z* 823,4 (M⁺+1).

Estudios biológicos

Se utilizaron ensayos enzimáticos del complejo de la proteasa NS3/4A del VHC y ensayos celulares del replicón del VHC en la presente descripción, y se prepararon, se llevaron a cabo y se validaron como sigue:

Generación del complejo de la proteasa NS3/4A del VHC recombinante

Se generaron complejos de proteasa NS3 del VHC, derivados de la cepa BMS, de la cepa H77 o de la cepa J4L6S, como se describe a continuación. Estas proteínas recombinantes purificadas se generaron para usar en un ensayo homogéneo (véase a continuación) para proporcionar indicios sobre cuán eficaces resultarían los compuestos de la presente divulgación para inhibir la actividad proteolítica de NS3 del VHC.

Se obtuvo suero de un paciente infectado con VHC del Dr. T. Wright, Hospital de San Francisco. Se construyó un molde de longitud completa de ADNc (ácido desoxirribonucleico complementario) del genoma del VHC (cepa BMS) a partir de fragmentos de ADN obtenidos por PCR de transcripción reversa (RT-PCR) de ARN del suero (ácido ribonucleico) y usando cebadores seleccionados sobre la base de homología entre otras cepas del genotipo 1a. A partir de la determinación de la secuencia completa del genoma, se asignó un genotipo 1a al aislado de VHC de acuerdo con la clasificación de Simmonds y col. (véase P Simmonds, KA Rose, S Graham, SW Chan, F McOmish, BC Dow, EA Follett, PL Yap y H Marsden, *J. Clin. Microbiol.*, 31(6), 1493-1503 (1993)). La secuencia de aminoácidos de la región no estructural, NS2-5B, se mostró que era >97 % idéntica al genotipo 1a del VHC (H77) y un 87 % idéntica al genotipo 1b (J4L6S). Los clones infecciosos, H77 (genotipo 1a) y J4L6S (genotipo 1b) se obtuvieron de R. Purcell (NIH) y las secuencias se publican en Genbank (AAB67036, véase Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U. y Bukh, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94(16), 8738-8743 (1997); AF054247, véase Yanagi, M., St Claire, M., Shapiro, M., Emerson, S.U., Purcell, R.H. y Bukh, J., *Virology* 244 (1), 161-172, (1998)).

Se utilizaron las cepas H77 y J4L6S para la producción de los complejos de proteasa NS3/4A recombinante. Se manipuló el ADN que codifica el complejo de proteasa NS3/4A recombinante (aminoácidos 1027 a 1711) para estas cepas como se describe por P. Gallinari y col. (véase Gallinari P, Paolini C, Brennan D, Nardi C, Steinkuhler C, De Francesco R. *Biochemistry*. 38(17):5620-32, (1999)). Brevemente, se añadió una cola solubilizadora de tres lisinas en el extremo 3' de la región codificante del NS4A. La cisteína en la posición P1 del sitio de escisión de NS4A-NS4B (aminoácido 1711) se cambió por una glicina para evitar la escisión proteolítica de la cola de lisina. Adicionalmente, se introdujo una mutación de cisteína a serina por PCR en la posición del aminoácido 1454 para evitar la escisión autolítica en el dominio de NS3 helicasa. El fragmento de ADN variante se clonó en el vector de expresión bacteriano pET21b (Novagen) y el complejo de NS3/4A se expresó en *Escherichia coli* cepa BL21 (DE3) (Invitrogen) siguiendo el protocolo descrito por P. Gallinari y col. (véase Gallinari P, Brennan D, Nardi C, Brunetti M, Tomei L, Steinkuhler C, De Francesco R., *J Virol.* 72(8):6758-69 (1998)) con modificaciones. Brevemente, se indujo la expresión del complejo de la proteasa NS3/4a con Isopropil β-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) 0,5 mM durante 22 horas (h) a 20 °C. Una fermentación típica (1 litro (l)) produjo aproximadamente 10 gramos (g) de pasta húmeda de células. Las células se resuspendieron en tampón de lisis (10 ml/g) que consistía en ácido N-(2-Hidroxi-etil)Piperazin-N'-(2-etansulfónico) (HEPES) 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, cloruro de sodio (NaCl) 500 mM, Triton X100 al 0,5 %, 1 microgramo/mililitro de lisozima ("µg/ml"), Cloruro de magnesio 5 mM (MgCl₂), DNasal 1 µg/ml, β-mercaptoetanol (βME) 5 mM, inhibidor de proteasa-libre de ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) (Roche), se homogeneizaron e incubaron durante 20

minutos (min) a 4 °C. El homogeneizado se trató con ultrasonidos y se clarificó por ultracentrifugación a 235000 g durante 1 hora (h) a 4 °C. Se añadió imidazol al sobrenadante hasta una concentración final de 15 mM y el pH se ajustó a 8,0. El extracto bruto de proteína se cargó en una columna de níquel-ácido nitrilotriacético (Ni-NTA) preequilibrada con tampón B (HEPES 25 mM, pH 8,0, glicerol al 20 %, NaCl 500 mM, Triton X-100 al 0,5 %, imidazol 15 mM, βME 5 mM). La muestra se cargó a una velocidad de caudal de 1 ml/min. La columna se lavó con 15 volúmenes de columna de tampón C (el mismo tampón que B excepto con Triton X-100 al 0,2%). La proteína se eluyó con 5 volúmenes de columna de tampón D (lo mismo que para el tampón C pero con imidazol 200 mM).

Las fracciones que contenían el complejo proteasa NS3/4A se juntaron y se cargaron en una columna de desalación Superdex-S200 pre-equilibrada con tampón D (HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, NaCl 300 mM, Triton X-100 al 0,2%, βME 10 mM). La muestra se cargó a una velocidad de caudal de 1 ml/min. Las fracciones que contenían el complejo de proteasa NS3/4A se juntaron y se concentraron a aproximadamente 0,5 mg/ml. Se consideró que la pureza de los complejos de proteasa NS3/4A, derivados de las cepas BMS, H77C y J4L6S, era mayor del 90 % por SDS-PAGE y análisis de espectrometría de masas. La enzima se almacenó a -80 °C, se descongeló en hielo y se diluyó antes de usar en tampón de ensayo.

Ensayo del péptido FRET para monitorizar la actividad proteolítica de NS3/4A del VHC

El propósito de este ensayo *in vitro* era medir la inhibición de los complejos de proteasa NS3 del VHC, derivados de la cepa BMS, de la cepa H77C o de la cepa J416S, como se describió anteriormente, por los compuestos de la presente divulgación. Este ensayo proporciona indicios de cuán eficaces serían los compuestos de la presente divulgación para inhibir la actividad proteolítica de NS3 del VHC.

Para monitorizar la actividad proteasa de NS3/4A del VHC, se usó un sustrato peptídico NS3/4A. El sustrato fue RET S1 (Transferencia de Energía por Resonancia del Sustrato Depsipeptido; AnaSpec, Inc. n.º de cat 22991) (péptido FRET), descrito por Taliani y col. en Anal. Biochem. 240(2):60-67 (1996). La secuencia de este péptido se basa libremente en el sitio de escisión natural NS4A/NS4B para la proteasa NS3 del VHC excepto porque hay un enlace éster en lugar de un enlace amida en el sitio de escisión. El péptido también contiene un donante fluorescente, EDANS, cerca de un extremo del péptido y un aceptor, DABCYL, cerca del otro extremo. La fluorescencia del péptido se inactiva por transferencia de energía por resonancia intermolecular (RET) entre el donante y el aceptor, pero ya que la proteasa NS3 escinde el péptido los productos se liberan de la inactivación del RET y la fluorescencia del donante se vuelve evidente.

El sustrato peptídico se incubó con uno de los tres complejos de proteasa NS3/4A recombinantes, en ausencia o presencia de un compuesto de la presente divulgación. Los efectos inhibidores de un compuesto se determinaron monitorizando la formación del producto de reacción fluorescente en tiempo real usando un Cytofluor Series 4000.

Los reactivos fueron como sigue: HEPES y Glicerol (Ultrapure) se obtuvieron de GIBCO-BRL. El Dimetil Sulfoxido (DMSO) se obtuvo de Sigma. El β-Mercaptoetanol se obtuvo de Bio Rad.

Tampón de ensayo: HEPES 50 mM, pH 7,5; NaCl 0,15 M; Triton al 0,1 %; Glicerol al 15 %; βME 10 mM. Sustrato: concentración final 2 μM (a partir de una solución madre 2 mM en DMSO almacenada a -20 °C). Proteasa NS3/4A del VHC tipo 1a (1b), concentración final 2-3 nM (a partir de una solución madre 5 μM en HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, NaCl 300 mM, Triton-X100 al 0,2 %, βME 10 mM). Para compuestos con potencias que se aproximan al límite del ensayo, el ensayo se hizo más sensible añadiendo Albúmina de Suero Bovino 50 μg/ml (Sigma) al tampón de ensayo y reduciendo la concentración final de proteasa a 300 pM.

El ensayo se realizó en una placa negra de poliestireno de 96 pocillos de Falcon. Cada pocillo contenía 25 μl de complejo de proteasa NS3/4A en tampón de ensayo, 50 μl de un compuesto de la presente divulgación en DMSO/tampón de ensayo al 10 % y 25 μl de sustrato en tampón de ensayo. También se preparó un control (sin compuesto) en la misma placa de ensayo. El complejo enzimático se mezcló con solución de compuesto o de control durante 1 min antes de iniciar la reacción enzimática por adición del sustrato. La placa de ensayo se leyó inmediatamente usando el Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). El instrumento se ajustó para leer una emisión de 340 nm y una excitación de 490 nm a 25 °C. Las reacciones se siguieron en general durante aproximadamente 15 min.

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

$$100 - [(\delta F_{inh} / \delta F_{con}) \times 100]$$

donde δF es el cambio de fluorescencia en el intervalo lineal de la curva. Se aplicó un ajuste de curva no lineal a los datos de inhibición-concentración y se calculó la concentración eficaz para el 50 % (IC₅₀) mediante el uso del software Excel XLfit usando la ecuación, $y = A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D)))$.

Se encontró que los compuestos de la presente divulgación, que se ensayaron frente a más de un tipo de complejo de NS3/4a, tenían propiedades de inhibición similares aunque los compuestos demostraron uniformemente mayor

potencia frente a las cepas 1b en comparación con las cepas 1a.

Generación del replicón del VHC

- 5 Se estableció un sistema de célula entera de replicón del VHC como describen Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R., Science 285(5424):110-3 (1999) y se modificó para introducir un indicador de luciferasa, como se describe en primer lugar por Krieger y col. (Krieger N, Lohmann V, y Bartenschlager R, J. Virol. 75(10):4614-4624 (2001)). El ADNc que codifica una forma humanizada del gen de la luciferasa Renilla y una secuencia de enlace fusionada directamente al extremo 3' del gen de la luciferasa se introdujeron en el constructo de replicón usando un sitio de restricción Asc1 ubicado en el centro, directamente corriente arriba del gen marcador de neomicina. También se introdujo la mutación adaptativa en la posición 1179 (de serina a isoleucina) (Blight KJ, Kolykhalov, AA, Rice, CM, Science 290(5498):1972-1974). Se generó una línea celular estable que expresa constitutivamente el constructo replicón del VHC linealizando el ADN del plásmido con Scal. Los transcritos de ARN se sintetizaron *in vitro* usando el kit de transcripción T7 MegaScript (Ambion, Austin, TX) de acuerdo con las directrices del fabricante. Los transcritos *in vitro* de ADNc se transfectaron a la línea celular del hepatoma humano, HUH-7. La selección de células que expresan constitutivamente el replicón del VHC se logró en presencia del marcador seleccionable, neomicina (G418). Las líneas celulares resultantes se caracterizaron por la producción de hebras de ARN positivas y negativas y la producción de proteínas con el transcurso del tiempo.
- 10
- 15
- 20 Se generó una línea celular indicadora de luciferasa del replicón del VHC que representa la cepa H77 del genotipo 1a (Yanagi M, Purcell RH, Emerson SU, y col. Transcripts from a single full-length cDNA clone of hepatitis C virus are infectious when directly transfected into the liver of a chimpanzee. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94(16):8738-8743) como se describe previamente para la línea celular del replicón que expresa luciferasa del genotipo 1b(Con1). El constructo del replicón se modificó mediante la introducción de mutaciones en los genes que codifican el dominio NS3 helicasa (prolina reemplazada por leucina en la posición 1496) y NS5A (de serina a isoleucina en la posición 2204) para mejorar la replicación en cultivo celular.
- 25

Ensayo del indicador de luciferasa con replicón del VHC

- 30 Se desarrollaron ensayos de luciferasa con el replicón del VHC para monitorizar los efectos inhibidores de los compuestos descritos en la presente divulgación sobre los genotipos 1a y 1b de replicación vírica del VHC. Las células HUH-7, que expresan constitutivamente el replicón del VHC, se hicieron crecer en el medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Gibco-BRL) que contenía suero de ternero fetal (FCS) (Sigma) al 10 % y G418 1 mg/ml (Gibco-BRL). Los compuestos se diluyeron en serie 3 veces en DMSO durante una titulación de veinte puntos y posteriormente se transfirieron a placas tratadas estériles de cultivo tisular de 384 pocillos (Corning n.º de cat. 3571). Las placas se sembraron después con 50 µl de células a una densidad de 3,0 x 10³ células/pocillo en DMEM que contenía FCS al 4 % (concentración final de DMSO al 0,5 %). Después de 3 días de incubación a 37 °C, las células se analizaron para determinar la actividad de la luciferasa Renilla, utilizando EnduRen como sustrato (Promega n.º de cat. E6485). El sustrato EnduRen se diluyó en DMEM y después se añadió a las placas a una concentración final de 7,5 µM. Las placas se incubaron durante 2 h a 37 °C y después se leyeron inmediatamente durante 30 segundos con Viewlux Imager (PerkinElmer), usando un programa de luminiscencia. Para evaluar la citotoxicidad de los compuestos, se generaron los valores CC₅₀ multiplexando las placas que contenían EnduRen con Cell Titer-Blue (Promega, n.º de cat. G8082). Se añadió Cell-Titer Blue (3 µl) a cada pocillo y se incubó durante 8 horas a 37 °C. Se leyó la señal de fluorescencia de cada pocillo, con una longitud de onda de excitación a 525/10 nm y una longitud de onda de emisión a 598/10 nm, usando el Viewlux Imager.
- 35
- 40
- 45

Los valores EC₅₀ para los compuestos se calcularon usando una ecuación logística de cuatro parámetros:

$$y = A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))),$$

- 50 donde A y B denotan el % mínimo y máximo de inhibición, respectivamente, C es la EC₅₀, D es la pendiente de Hill y x representa la concentración del compuesto.

- La tabla 2 muestra los valores de EC₅₀ de los compuestos representativos de la presente invención. Los intervalos son como sigue: A = 0,20 nM - 1,00 nM; B = 1,01 nM - 2,0 nM; C = 2,01 nM - 5,00 nM; D = 5,01 nM - 68 nM.
- 55

Tabla 2

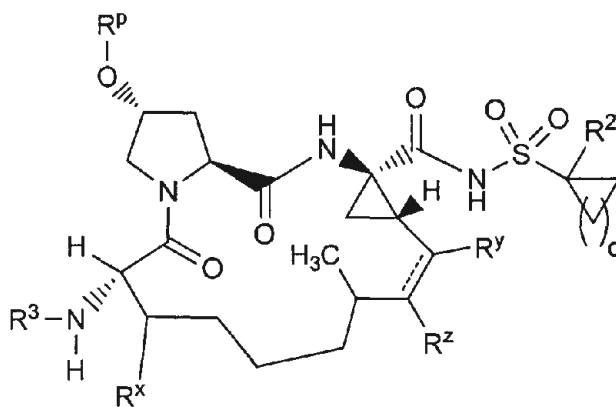
Números de compuesto	Genotipo 1a EC ₅₀ (nM)	Genotipo 1b EC ₅₀ (nM)
3	A	A
4	4,9	2,8
5	0,41	1,2
6	B	C
7	B	A

ES 2 604 690 T3

8	C	B
9	1,0	0,36
11	C	A
12	C	B
13	D	C
14	C	B
15	B	B
17	D	D
18	D	D
19	C	B
21	B	A
22	B	A
23	D	D
24	D	D
25	B	A
26	214,8	86,5
27	D	D
28	D	B
29	D	D
30	C	A
31	D	D
32	D	D
33	C	B
34	C	A
35	1,96	0,51

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)

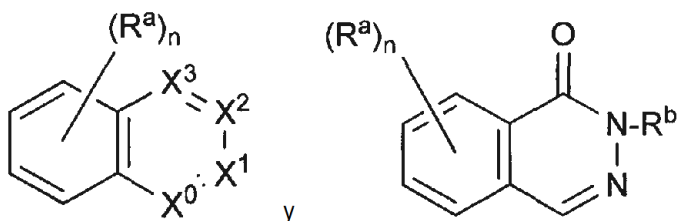


(I),

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

10 q es 1 o 2;
 ----- es un enlace simple o doble;
 R^p se selecciona entre



15 en la que R^p está unido al resto molecular precursor a través de cualquier átomo de carbono sustituible en el grupo;

n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

X⁰ se selecciona entre CH y N;

X¹ se selecciona entre CH y N;

20 X² y X³ se seleccionan independientemente entre CH, C(R^a) y N; con la condición de que al menos uno de X¹, X² y X³ sea distinto de N;

25 cada R^a se selecciona independientemente entre alquenciloxi, alcoxi, alcoxialcoxi, alquilo, benzodioxanilo, carboxamido, carboxi, carboxialcoxi, ciano, cicloalquilalcoxi, cicloalquiloxi, deuteroalcoxi, dialquilamino, halo, haloalquilo, haloalcoxi, haloalcoxicarbonilo, hidroxilo, morfolinilo, fenilo, piperazinilo, pirazolilo, piridinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, el fenilo, el piperazinilo, el piridinilo y el pirrolidinilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, alquilsulfonilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y morfolinilo; y en donde dos grupos R^a adyacentes, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, pueden formar opcionalmente un anillo seleccionado entre dioxanilo, dioxolanilo, morfolinilo, piranilo y fenilo, en donde el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alquilo y halo;

R^p es alquilo;

R^x se selecciona entre metilo y etilo;

R^y y R^z se seleccionan independientemente entre hidrógeno e hidroxilo; con la condición de que cuando ----- es un enlace doble, R^y y R^z son cada uno hidrógeno;

35 R² se selecciona entre hidrógeno, alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo e hidroxialquilo; y

40 R³ se selecciona entre hidrógeno, alcoxialcoxicarbonilo, alcoxialcoxi, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, cicloalquilalcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo, cicloalquiloxicarbonilo, deuteroalcoxicarbonilo, deuterohaloalcoxicarbonilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilcarbonilo, haloalcoxicarbonilo, haloalquilaminocarbonilo, haloalquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, heterocicliloxicarbonilo, fenilcarbonilo y feniloxicarbonilo, en donde la parte cicloalquilo del cicloalquilalcoxicarbonilo, el cicloalquilcarbonilo y el cicloalquiloxicarbonilo, la parte heterociclilo del heterociclilcarbonilo y el heterocicliloxicarbonilo, y la parte fenilo del fenilcarbonilo y el feniloxicarbonilo, están opcionalmente sustituidas con uno, dos o tres grupos

seleccionados independientemente entre alquilo, alquilamino, alquilcarbonilo, cicloalquilo, dialquilamino, halo, haloalcoxi y haloalquilo.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

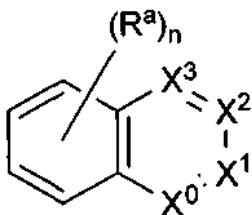
q es 1;

— es un enlace doble;

R^x es metilo; y

R^y y R^z son cada uno hidrógeno.

3. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R^p es:



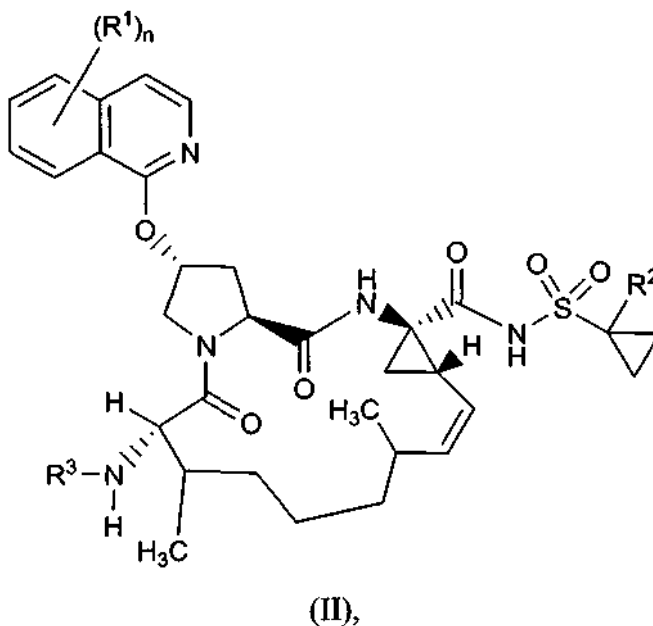
4. Un compuesto de la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que

n es 0, 1, 2 o 3;

cada R^a se selecciona independientemente entre alcoxi y halo; y

R³ se selecciona entre alcoxycarbonilo y haloalcoxycarbonilo.

5. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula (II)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

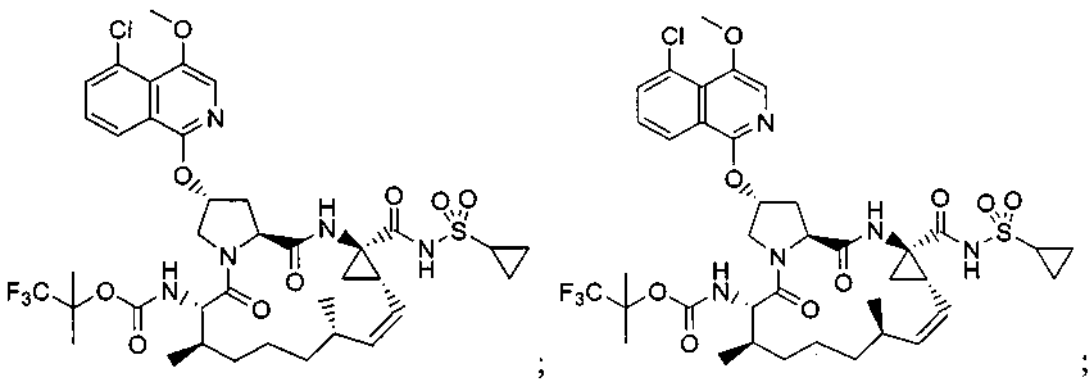
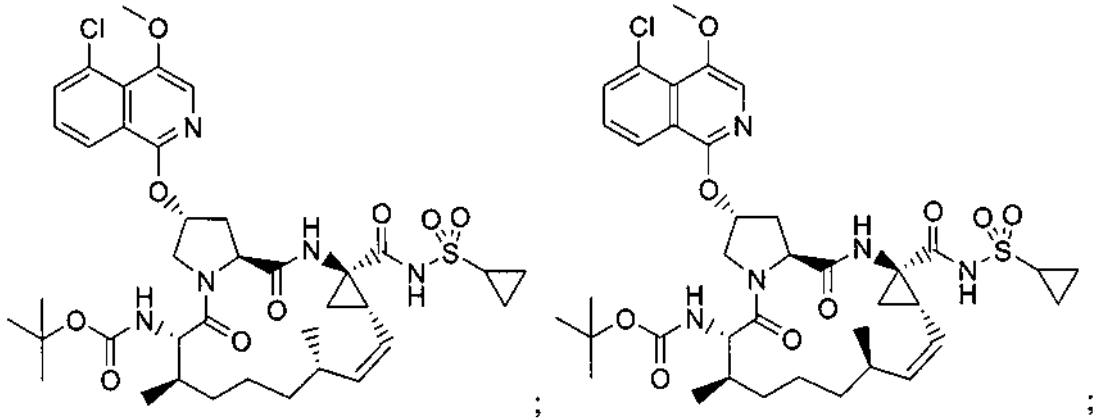
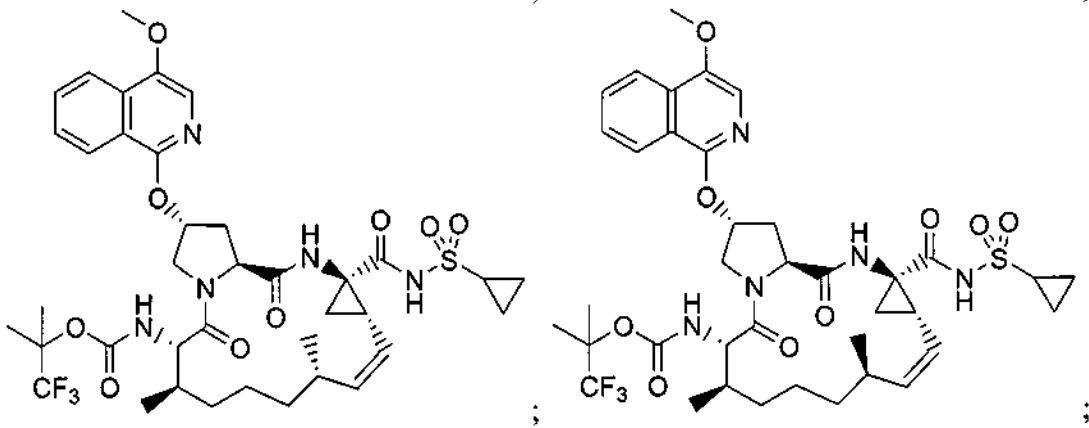
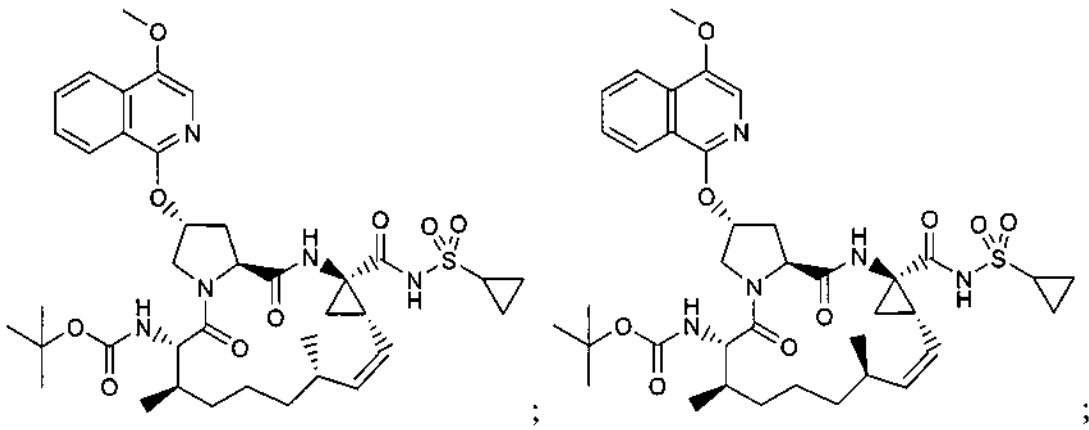
n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

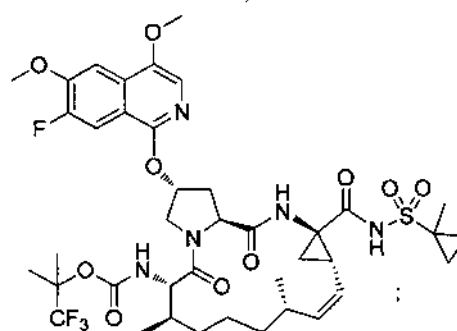
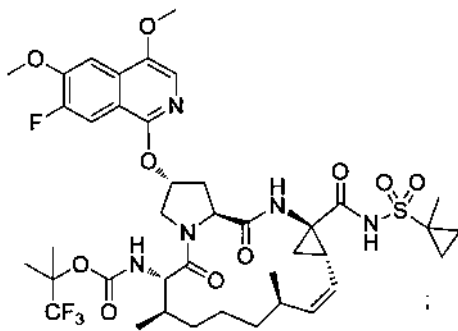
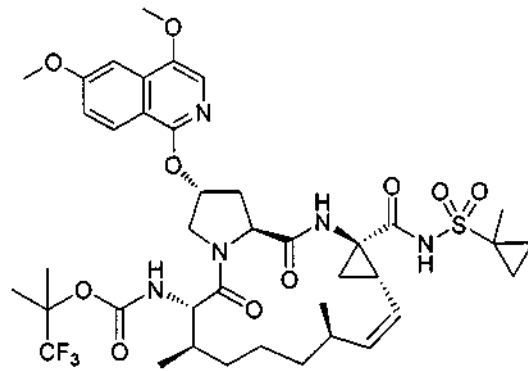
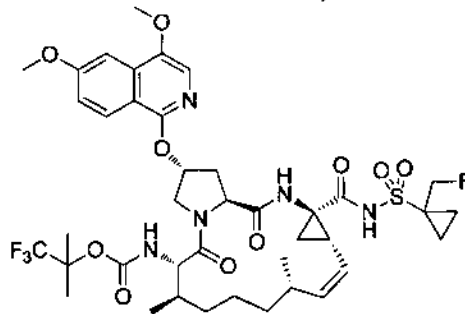
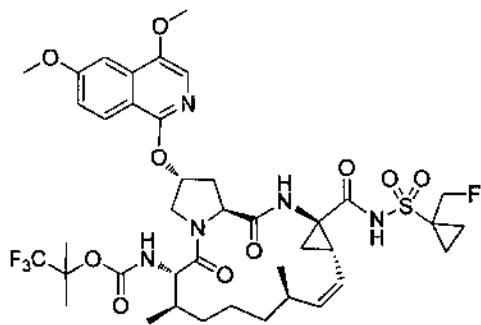
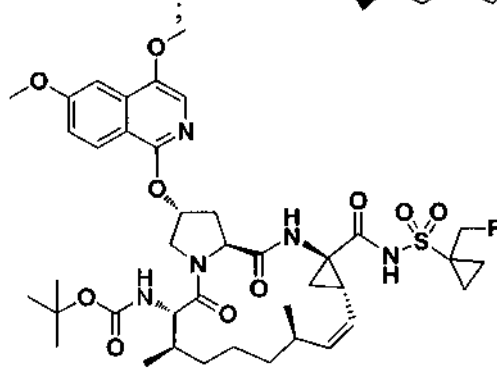
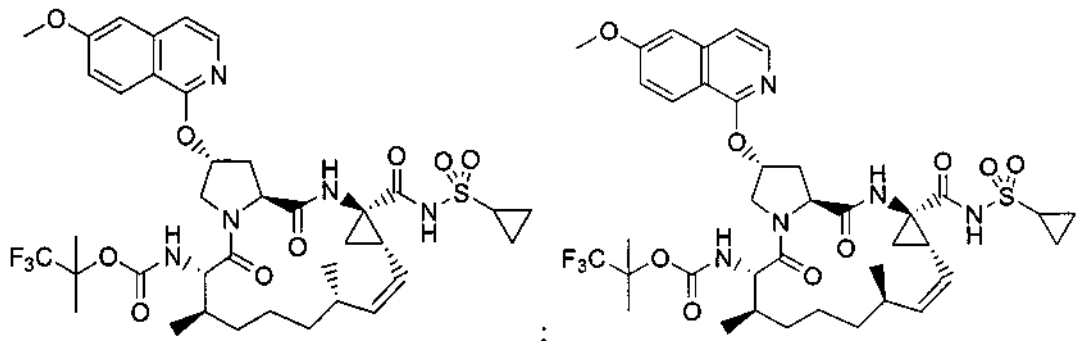
cada R¹ se selecciona independientemente entre alcoxi, alquilo, carboxamido, carboxi, ciano, cicloalquilo, dialquilamino, halo, haloalquilo, haloalcoxi y fenilo, en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo;

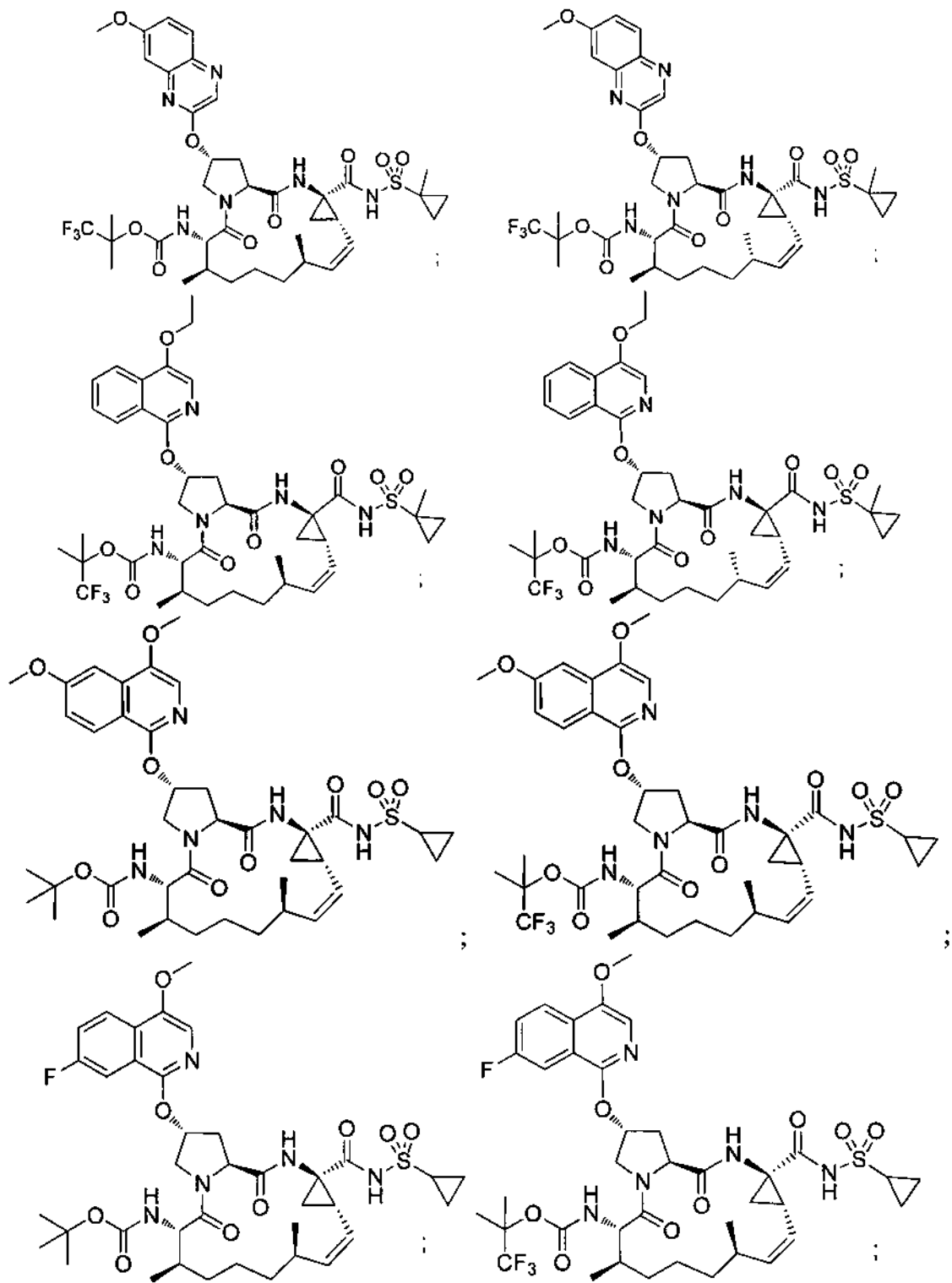
R² se selecciona entre hidrógeno, alquilo, halo y haloalquilo; y

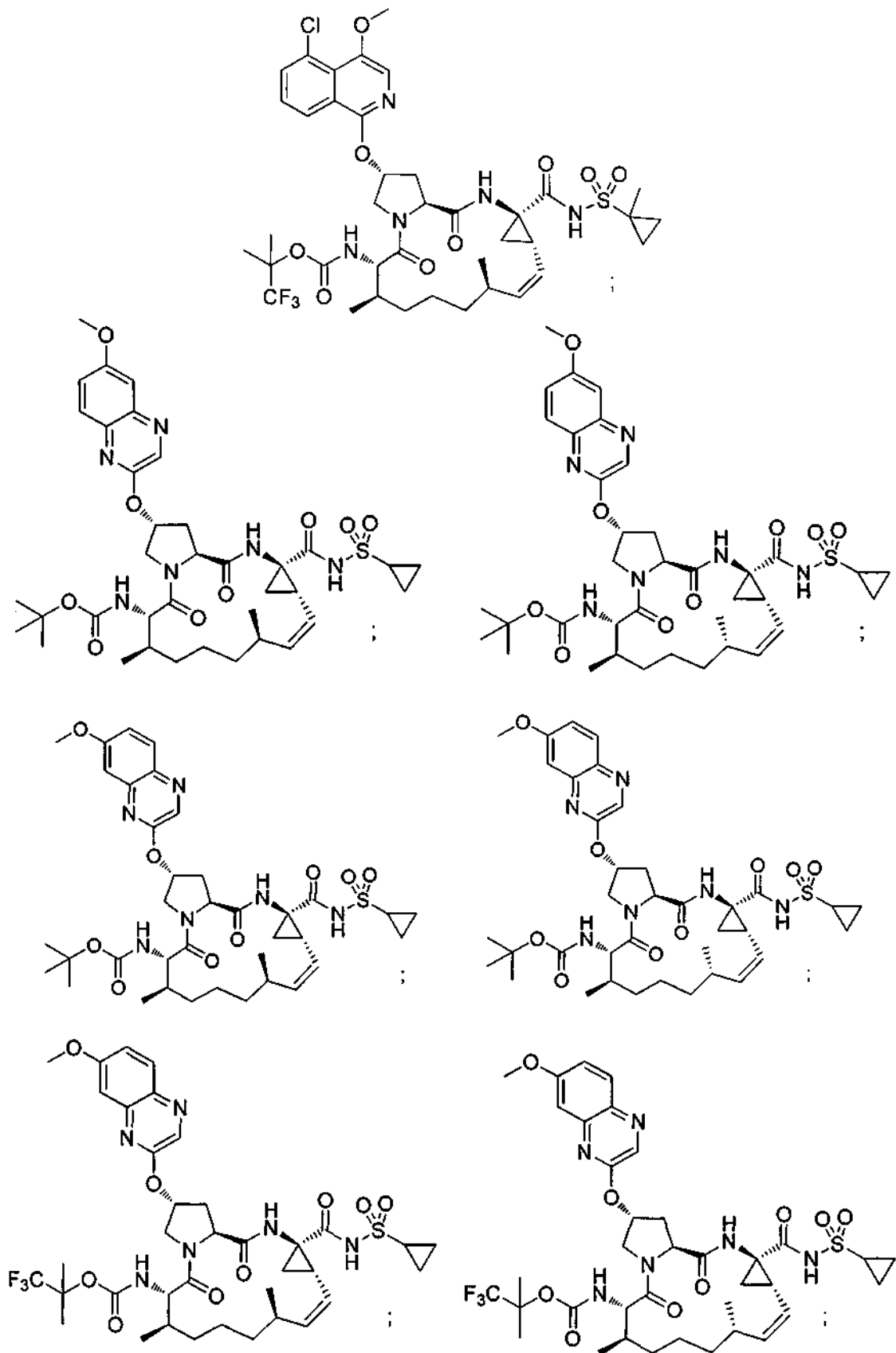
R³ se selecciona entre alcoxycarbonilo, alquilcarbonilo, haloalcoxycarbonilo, haloalquilcarbonilo y fenilcarbonilo, en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente entre alquilo y halo.

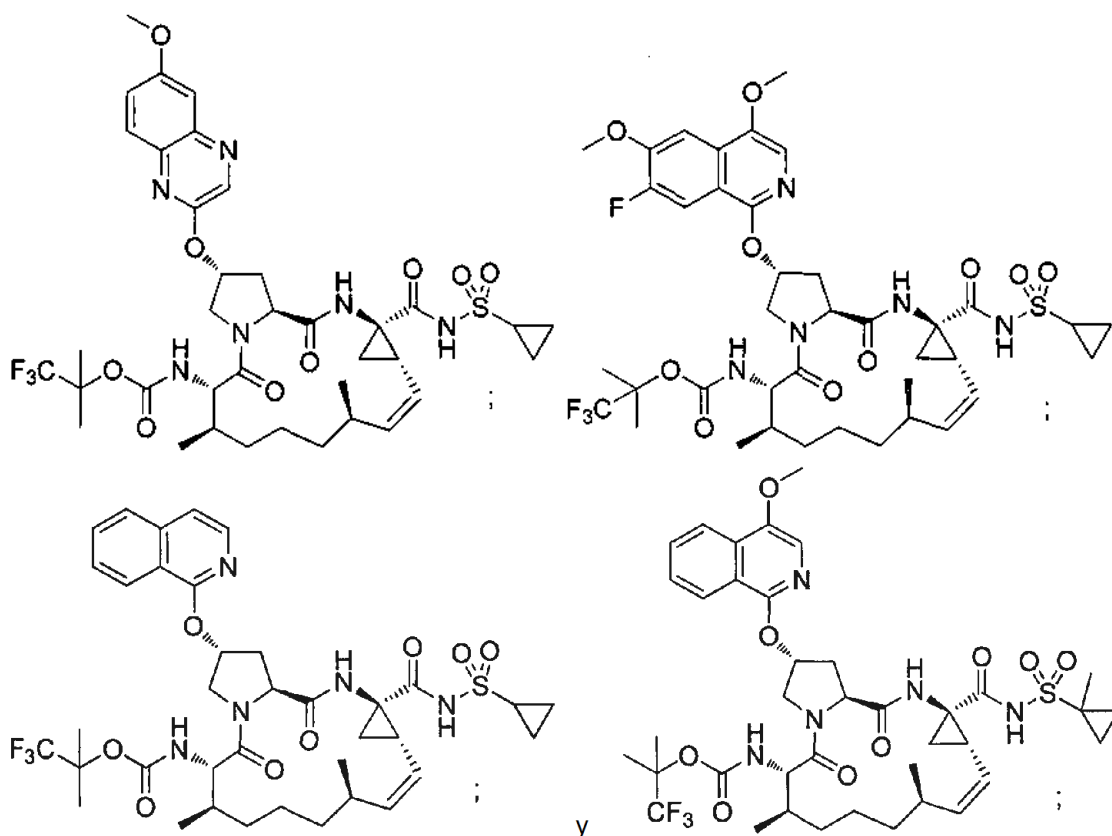
6. Un compuesto de la reivindicación 1, seleccionado entre











o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 7. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
8. La composición de la reivindicación 7 que comprende además al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC.
- 10 9. La composición de la reivindicación 8 en la que al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina.
- 15 10. La composición de la reivindicación 9 en la que el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide.
- 20 11. La composición de la reivindicación 8 en la que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, Imiquimod, ribavirina, un inhibidor de la inosín 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 25 12. La composición de la reivindicación 8 en la que al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz inhibiendo la función de una diana seleccionada de metaloproteasa de VHC, serina proteasa de VHC, polimerasa de VHC, helicasa de VHC, proteína NS4B de VHC, entrada de VHC, ensamblaje de VHC, egreso de VHC, proteína NS5A de VHC e IMPDH para el tratamiento de una infección por VHC.
- 30 13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en un procedimiento de tratamiento de una infección por VHC en un paciente.
14. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 13 que además comprende administrar al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de, o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
15. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el al menos un compuesto adicional es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.