

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 644**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 38/12 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2009 E 14181565 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018 EP 2805726**

54 Título: **Inhibidores macrocíclicos de la serina proteasa de la hepatitis C**

30 Prioridad:

11.09.2008 US 191725 P

10.03.2009 US 209689 P

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

06.08.2018

73 Titular/es:

ENANTA PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

500 Arsenal Street

Watertown, MA 02472, US y

ABBVIE IRELAND UNLIMITED COMPANY (50.0%)

72 Inventor/es:

KU, YIYIN;

OR, YAT, SUN;

WAGAW, SABLE, H.;

ENGSTROM, KEN;

GRIEME, TIM;

SHEIKH, AHMAD;

MEI, JIANZHANG;

MCDANIEL, KEITH, F.;

CHEN, HUI-JU;

SHANLEY, JASON, P.;

KEMPF, DALE, J.;

GRAMPOVNIK, DAVID, J.;

GAI, YONGHUA;

SUN, YING y

LIU, DONG

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 677 644 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 macrocíclicos de la serina proteasa de la hepatitis C

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de Estados Unidos núm. de serie 61/191,725, presentada el 11 de Septiembre de 2008, y la solicitud de patente provisional de Estados Unidos núm. de serie 61/209,689, presentada el 10 de Marzo de 2009.

10

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de nuevos macrociclos que tienen actividad contra el virus de la hepatitis C (VHC) para su uso en el tratamiento de las infecciones por el VHC. Más particularmente, la invención se refiere a composiciones que contienen compuestos macrocíclicos y a dicho compuesto para el uso en métodos de tratamiento del VHC.

15

Antecedentes de la invención

El VHC es la causa principal de hepatitis no A, no B, y es un problema de salud pública cada vez más grave, tanto en el mundo desarrollado como en el mundo en vías de desarrollo. Se estima que el virus infecta a más de 200 millones de personas en todo el mundo, lo que supera en casi cinco veces el número de individuos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Los pacientes infectados con el VHC, debido al alto porcentaje de individuos afectados con infecciones crónicas, tienen un riesgo elevado de desarrollar cirrosis hepática, posterior carcinoma hepatocelular y enfermedad hepática terminal. El VHC es la causa más prevalente de cáncer hepatocelular y es la causa de que los pacientes requieran trasplantes de hígado en el mundo occidental.

20

Existen barreras considerables para el desarrollo de terapias anti-VHC, que incluyen, pero no se limitan a, la persistencia del virus, la diversidad genética del virus durante la replicación en el huésped, la alta tasa de incidencia de los virus que desarrollan mutantes resistentes a fármacos, y la falta de sistemas de cultivo infecciosos reproducibles y de modelos animales pequeños para la replicación y la patogénesis del VHC. En la mayoría de los casos, dado el curso leve de la infección y la biología compleja del hígado, deben considerarse cuidadosamente los fármacos antivirales, que probablemente tengan efectos colaterales significativos.

30

El documento WO2004/093798A2 describe composiciones farmacéuticas que comprenden inhibidores macrocíclicos de quinoxalino de la serina proteasa para su administración a un sujeto que padece infección por el VHC.

35

Breve descripción de la invención

De acuerdo con una primera modalidad, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

40

(2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida o una sal aceptable farmacéuticamente de esta en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente; y

45

(a) un agente antiviral o una sal aceptable farmacéuticamente de este; o

(b) un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este; en donde:

50

el agente antiviral comprende uno o más inhibidores de un objetivo en el ciclo de vida del VHC seleccionado del grupo que consiste en helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, ciclofilina NS5A y el sitio interno de entrada al ribosoma; y

55

el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.

De acuerdo con una segunda modalidad, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la infección por el VHC en un sujeto, que comprende:

60

(2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida o una sal aceptable farmacéuticamente de esta en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente; y

65

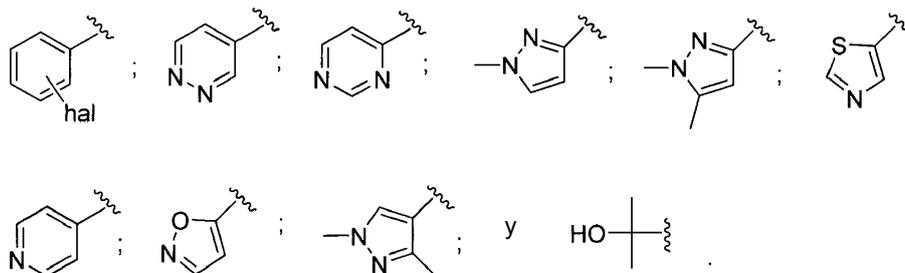
(a) un agente antiviral o una sal aceptable farmacéuticamente de este; o

(b) un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este; en donde:

el agente antiviral comprende uno o más inhibidores de un objetivo en el ciclo de vida del VHC seleccionado del grupo que consiste en helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, NS5A, ciclofilina y el sitio interno de entrada al ribosoma; y

el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.

Descripción detallada de la invención



El compuesto abarcado por la invención es el compuesto siguiente:

(2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida.

La presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad con eficacia terapéutica del compuesto abarcado por la invención como se describió anteriormente, o una sal aceptable farmacéuticamente de este, en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente. Más en particular, de acuerdo con una primera modalidad, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

(2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida o una sal aceptable farmacéuticamente de esta en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente; y

(a) un agente antiviral o una sal aceptable farmacéuticamente de este; o

(b) un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este; en donde:

el agente antiviral comprende uno o más inhibidores de un objetivo en el ciclo de vida del VHC seleccionado del grupo que consiste en helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, ciclofilina NS5A y el sitio interno de entrada al ribosoma; y

el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.

Además, de acuerdo con una segunda modalidad, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la infección por el VHC en un sujeto, que comprende:

(2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida o una sal aceptable farmacéuticamente de esta en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente; y

(a) un agente antiviral o una sal aceptable farmacéuticamente de este; o

(b) un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este; en donde:

el agente antiviral comprende uno o más inhibidores de un objetivo en el ciclo de vida del VHC seleccionado del grupo que consiste en helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, NS5A, ciclofilina y el sitio interno de entrada al ribosoma; y

el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.

De acuerdo con modalidades preferidas, las composiciones farmacéuticas de la primera o la segunda modalidad de la presente invención pueden contener, además, uno o más agentes anti-VHC diferentes. Los ejemplos de agentes anti-VHC incluyen, pero no se limitan a, α -interferón; β -interferón; α -interferón pegilado; lambda-interferón pegilado; ribavirina; viramidina; R-5158; nitazoxanida; amantadina; Debio-025, NIM-811; inhibidores de la polimerasa del VHC tales como R7128, R1626, R4048, T-1106, PSI-7851, PF-00868554, ANA-598, IDX184, IDX102, IDX375, GS-9190, VCH-759, VCH-916, MK-3281, BCX-4678, MK-3281, VBY708, ANA598, GL59728 o GL60667; BMS-790052; BMS-791325; BMS-650032; inhibidores de la entrada del VHC, de la helicasa o del sitio interno de entrada al ribosoma; u otros inhibidores de la replicación del VHC tales como GS-9132, ACH-1095, AP-H005, A-831, A-689, o AZD2836. Para más detalles, ver S. Tan, A. Pause, Y. Shi, N. Sonenberg, Hepatitis C Therapeutics: Current Status and Emerging Strategies, Nature Rev. Drug Discov., 1, 867-881 (2002); los documentos WO 00/59929 (2000); WO 99/07733 (1999); WO 00/09543 (2000); WO 99/50230 (1999); la patente de Estados Unidos US5861297 (1999); y la patente de Estados Unidos US2002/0037998 (2002).

De acuerdo con una modalidad preferida adicional, las composiciones farmacéuticas de la primera y la segunda modalidad de la presente invención pueden contener además otro inhibidor de proteasas del VHC, tal como telaprevir, boceprevir, ITMN-191, BI-201335, TMC-435, MK-7009, VBY-376, VX-500, VX-813, PHX-B, ACH-1625, IDX136 o IDX316.

En otras modalidades preferidas, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende además interferón pegilado, otro agente antiviral, antibacteriano, antifúngico o anticancerígeno, o un inmunomodulador, y/o que comprende además un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este. En ciertas modalidades, el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.

En otro aspecto, la invención proporciona el compuesto de la invención para su uso como un agente para evitar o tratar una infección viral. En otro aspecto, la presente descripción se refiere al uso del compuesto de la invención para producir un agente para evitar o tratar la infección por hepatitis C. La presente invención contempla, además, el uso de un solvato (por ejemplo, hidrato) del compuesto de la invención para producir composiciones farmacéuticas para evitar o tratar la infección por hepatitis C. Como se usa en la presente descripción, "solvato" se refiere a la asociación física del compuesto de la invención con una o más moléculas de solvente, ya sean orgánicas o inorgánicas. Esta asociación física a menudo incluye enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato es capaz de aislarse, por ejemplo, cuando una o más moléculas de solvato se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino.

Los compuestos o composiciones farmacéuticas de la invención se administran con ritonavir, ya sea simultánea o secuencialmente. En ciertas modalidades, se administra un compuesto o una composición farmacéutica de la invención en la misma composición que el ritonavir. En otra modalidad, un compuesto o una composición farmacéutica de este de la invención se administra en una composición diferente al ritonavir.

De acuerdo con la invención, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender, además, inhibidor(es) de otros objetivos en el ciclo de vida del VHC, que incluyen, pero no se limitan a, helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, NS5A, ciclofilina, y el sitio interno de entrada al ribosoma (IRES, por sus siglas en inglés).

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención son para su uso en métodos que pueden incluir además la administración de un agente terapéutico adicional, lo que incluye otro agente antiviral o un agente anti-VHC como se describió anteriormente. El agente adicional puede administrarse (tal como administrarse simultáneamente o administrarse secuencialmente) con el compuesto (o una sal aceptable farmacéuticamente de este) o una composición farmacéutica de la presente invención. El(los) agente(s) adicional(es) y el compuesto (o una sal aceptable farmacéuticamente de este) de la presente invención puede(n) formularse en la misma composición, o en composiciones diferentes, pero coadministrarse simultánea o secuencialmente. Los métodos en la presente descripción pueden incluir, además, la etapa de identificar que el sujeto necesita tratamiento para la infección por hepatitis C. La identificación puede ser por medios subjetivos (por ejemplo, determinación del proveedor de atención médica) u objetivos (por ejemplo, prueba diagnóstica).

La presente invención es para su uso en métodos en los que el paciente que se trata se infecta preferentemente con el genotipo 1 del VHC (por ejemplo, genotipo 1a o 1b). Los pacientes infectados con otros genotipos del VHC, tales como los genotipos 2, 3, 4, 5 o 6, pueden tratarse, además, con el compuesto o una composición farmacéutica de la presente invención.

Una modalidad adicional de la presente descripción incluye métodos de tratamiento de muestras biológicas mediante el contacto de las muestras biológicas con los compuestos de la presente invención.

Aún otro aspecto de la presente descripción es un proceso de fabricación de cualquiera de los compuestos definidos en la presente descripción mediante el empleo de cualquiera de los medios de síntesis definidos en la presente descripción.

Definiciones

Se enumeran más abajo las definiciones de diversos términos usados para describir la presente descripción y la invención abarcada por estos. Estas definiciones se aplican a los términos tal como se usan en toda esta especificación y las

reivindicaciones, a menos que se limite de cualquier otra manera en casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande. El número de átomos de carbono en un sustituyente hidrocarbilo puede indicarse con el prefijo "C_x-C_y," donde x es el mínimo y y es el número máximo de átomos de carbono en el sustituyente.

5 El prefijo "halo" indica que el sustituyente al que se une el prefijo se sustituye con uno o más radicales halógeno seleccionados independientemente. Por ejemplo, "haloalquilo" significa un sustituyente alquilo en donde al menos un radical hidrógeno se reemplaza con un radical halógeno.

10 Si un elemento de enlace en una estructura representada está "ausente", entonces el elemento izquierdo en la estructura representada se une directamente al elemento derecho en la estructura representada. Por ejemplo, si una estructura química se representa como X-L-Y en donde L está ausente, entonces la estructura química es X-Y.

15 El término "alquilo", como se usa en la presente descripción, se refiere a un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada saturado que contiene típicamente de 1 a 20 átomos de carbono. Por ejemplo, un "alquilo C₁-C₆" o "alquilo C₁-C₈" contiene de uno a seis, o de uno a ocho, átomos de carbono, respectivamente. Los ejemplos de radicales alquilo incluyen, pero no se limitan a, radicales metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *tert*-butilo, neopentilo, *n*-hexilo, heptilo, octilo y similares.

20 El término "alqueno", como se usa en la presente descripción, denota un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada que contiene uno o más dobles enlaces y típicamente de 2 a 20 átomos de carbono. Por ejemplo, un "alqueno C₂-C₆" o "alqueno C₂-C₈" contiene de dos a seis, o de dos a ocho átomos de carbono, respectivamente. Los grupos alqueno incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo, heptenilo, octenilo y similares.

25 El término "alquino", como se usa en la presente descripción, denota un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene uno o más triples enlaces y típicamente de 2 a 20 átomos de carbono. Por ejemplo, un "alquino C₂-C₆" o "alquino C₂-C₈" contiene de dos a seis, o de dos a ocho átomos de carbono, respectivamente. Los grupos alquino representativos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, etinilo, 1-propinilo, 1-butinilo, heptinilo, octinilo y similares.

30 El término "alqueno" se refiere a un grupo divalente derivado de una cadena hidrocarbónica lineal o ramificada saturada que contiene típicamente de 1 a 20 átomos de carbono, más típicamente de 1 a 8 átomos de carbono, e incluso más típicamente de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alqueno incluyen, pero no se limitan a, -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂CH₂-, y -CH₂CH(CH₃)CH₂-.

35 El término "alqueno" se refiere a un grupo hidrocarbilo insaturado divalente que puede ser lineal o ramificado y que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Un grupo alqueno contiene típicamente de 2 a 20 átomos de carbono, más típicamente de 2 a 8 átomos de carbono, e incluso más típicamente de 2 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos alqueno incluyen -C(H)=C(H)-, -C(H)=C(H)-CH₂-, -C(H)=C(H)-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(H)=C(H)-CH₂-, -C(H)=C(H)-CH(CH₃)-, y -CH₂-C(H)=C(H)-CH(CH₂CH₃)-.

40 El término "alquino" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado divalente que puede ser lineal o ramificado y que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Los grupos alquino representativos incluyen, a modo de ejemplo, -C≡C-, -C≡C-CH₂-, -C≡C-CH₂-CH₂-, -CH₂-C≡C-CH₂-, -C≡C-CH(CH₃)-, y -CH₂-C≡C-CH(CH₂CH₃)-.

45 El término "cicloalquilo" denota un grupo monovalente derivado de un compuesto de anillo carbocíclico monocíclico o policíclico saturado. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, biciclo [2.2.1] heptilo y biciclo [2.2.2] octilo y similares.

50 Los términos "carbociclo" o "carbocíclico" o "carbociclilo" se refieren a un sistema de anillo saturado (por ejemplo, "cicloalquilo"), saturado parcialmente (por ejemplo, "cicloalqueno" o "cicloalquino") o insaturado completamente (por ejemplo, "arilo") que contiene cero heteroátomos en los átomos del anillo y típicamente de 3 a 18 átomos de carbono en el anillo. Un carbociclilo puede ser, sin limitación, un anillo único, o dos o más anillos fusionados, o anillos con puente o espiroanillos. Un carbociclilo puede contener, por ejemplo, de 3 a 14 miembros del anillo (es decir, carbociclilo C₃-C₁₄, tal como cicloalquilo C₃-C₁₄), de 3 a 10 miembros del anillo (es decir, carbociclilo C₃-C₁₀, tal como cicloalquilo C₃-C₁₀), de 3 a 8 miembros del anillo (es decir, carbociclilo C₃-C₈, tal como cicloalquilo C₃-C₈), o de 3 a 6 miembros del anillo (es decir, carbociclilo C₃-C₆, tal como cicloalquilo C₃-C₆). Un carbociclilo sustituido puede tener una geometría *cis* o *trans*. Los ejemplos representativos de grupos carbociclilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclopentadienilo, ciclohexadienilo, adamantilo, decahidro-naftalenilo, octahidro-indenilo, ciclohexenilo, fenilo, naftilo, fluorenilo, indanilo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftilo, indenilo, isoindenilo, biciclodecanilo, antraceno, benzonaftenilo (también conocido como "fenalenilo"), decalinilo y norpinanilo y similares. Un grupo carbociclilo puede unirse al resto molecular parental a través de cualquier átomo de carbono sustituible del grupo.

65 El término "arilo" se refiere a un carbociclilo aromático que contiene de 6 a 14 átomos de carbono en el anillo. Los ejemplos no limitantes de arilos incluyen fenilo, naftalenilo, antraceno e indenilo y similares. Un grupo arilo puede conectarse al resto molecular parental a través de cualquier átomo de carbono sustituible del grupo.

El término "aralquilo" o "arilalquilo" se refiere a un residuo de alquilo unido a un anillo de arilo. Los ejemplos de aralquilo incluyen, pero no se limitan a, bencilo, fenetilo y similares.

5 El término "heteroarilo" significa un heterociclilo aromático que contiene típicamente de 5 a 18 átomos en el anillo. Un heteroarilo puede ser un anillo simple, o dos o más anillos fusionados. Los ejemplos no limitantes de heteroarilos de cinco miembros incluyen imidazolilo; furanilo; tiofenilo (o tienilo o tiofuranilo); pirazolilo; oxazolilo; isoxazolilo; tiazolilo; 1,2,3-, 1,2,4-, 1,2,5- y 1,3,4-oxadiazolilo; e isotiazolilo. Los ejemplos no limitantes de heteroarilos de seis miembros incluyen piridinilo; pirazinilo; pirimidinilo; piridazinilo; y 1,3,5-, 1,2,4- y 1,2,3-triazinilo. Los ejemplos no limitantes de heteroarilos de anillo fusionado de 6/5 miembros incluyen benzotiofuranilo, isobenzotiofuranilo, bencisoxazolilo, benzoxazolilo, purinilo y antranililo. Los ejemplos no limitantes de heteroarilos de anillo fusionado de 6/6 miembros incluyen quinolinilo; isoquinolinilo; y benzoxazinilo (lo que incluye cinnolinilo y quinazolinilo).

15 El término "heteroaralquilo" o "heteroarilalquilo" se refiere a un residuo alquilo unido a un anillo heteroarilo. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, piridinilmetilo, pirimidiniletilo y similares.

20 El término "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo no aromático de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros o un sistema fusionado bicíclico o tricíclico, donde (i) cada anillo contiene entre uno y tres heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno, (ii) cada anillo de 5 miembros tiene de 0 a 1 dobles enlaces y cada anillo de 6 miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, (iii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente, (iv) el heteroátomo de nitrógeno puede cuaternizarse opcionalmente, y (v) cualquiera de los anillos anteriores puede fusionarse a un anillo de benceno. Los grupos heterocicloalquilo representativos incluyen, pero no se limitan a, [1,3]dioxolano, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo y tetrahidrofurilo y similares.

25 Los términos "heterocíclico" o "heterociclo" o "heterociclilo" se refieren a un sistema de anillo saturado (por ejemplo, "heterocicloalquilo"), insaturado parcialmente (por ejemplo, "heterocicloalqueno" o "heterocicloalquinilo") o insaturado completamente (por ejemplo, "heteroarilo") que contiene típicamente de 3 a 18 átomos en el anillo, donde al menos uno de los átomos del anillo es un heteroátomo (es decir, nitrógeno, oxígeno o azufre), y los átomos restantes del anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre. Un grupo heterociclilo puede unirse al resto molecular parental a través de cualquier átomo de carbono o nitrógeno sustituible en el grupo, siempre y cuando resulte en una molécula estable. Un heterociclilo puede ser, sin limitación, un anillo único, que contiene típicamente de 3 a 14 átomos en el anillo, de 3 a 8 átomos en el anillo, de 3 a 6 átomos en el anillo, o de 5 a 6 átomos en el anillo. Los ejemplos no limitantes de heterociclilos de anillo único incluyen furanilo, dihidrofuranilo, pirrolilo, isopirrolilo, pirrolinilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, triazolilo, tetrazolilo, ditioilo, oxatolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiazolinilo, isotiazolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, tiodiazolilo, oxatiazolilo, oxadiazolilo, piranilo, dihidropirranilo, piridinilo, piperidinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piperazinilo, triazinilo, isoxazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, oxatiazinilo, oxadiazinilo, morfolinilo, azequinilo, oxepinilo, tiepinilo o diazepinilo. Un heterociclilo puede incluir, además, sin limitación, dos o más anillos fusionados entre sí, tales como, por ejemplo, naftiridinilo, tiazolpirimidinilo, tienopirimidinilo, pirimidopirimidinilo o piridopirimidinilo. Un heterociclilo puede comprender uno o más átomos de azufre como miembros del anillo; y en algunos casos, el(los) átomo(s) de azufre se oxida(n) a SO o SO₂. El(los) heteroátomo(s) de nitrógeno en un heterociclilo puede(n) o no cuaternizarse, y puede(n) o no oxidarse a N-óxido. Además, el(los) heteroátomo(s) de nitrógeno puede(n) estar o no N-protégido(s).

45 Los términos "sustituido opcionalmente", "alquilo sustituido opcionalmente", "alqueno sustituido opcionalmente", "alquinilo sustituido opcionalmente", "carbocíclico sustituido opcionalmente", "arilo sustituido opcionalmente", "heteroarilo sustituido opcionalmente", "heterocíclico sustituido opcionalmente" y cualquier otro grupo sustituido opcionalmente como se usa en la presente, se refiere a grupos que se sustituyen o no se sustituyen por reemplazo independiente de uno, dos o tres o más átomos de hidrógeno con sustituyentes que incluyen, pero no se limitan a:

50 -F, -Cl, -Br, -I,
-OH, hidroxil protegido, alcoxi, oxo, tiooxo,
-NO₂, -CN, CF₃, N₃,
-NH₂, amino protegido, alquilo -NH, alqueno -NH, alquinilo -NH, cicloalquilo -NH, -arilo -NH, -heteroarilo -NH, -heterocíclico -NH, -dialquilamino, -diarilamino, -diheteroarilamino,
55 alquilo -O-, alqueno -O-, alquinilo -O-, cicloalquilo -O-, arilo-O-, heteroarilo-O-, heterocíclico-O-,
alquilo -C(O)-, alqueno -C(O)-, alquinilo -C(O)-, cicloalquilo -C(O)-, arilo-C(O)-, heteroarilo-C(O)-, heterocicloalquilo-C(O)-,
,
-CONH₂, alquilo -CONH-, alqueno -CONH-, alquinilo -CONH-, cicloalquilo-CONH-, arilo-CONH-, heteroarilo-CONH-,
heterocicloalquilo-CONH-,
60 alquilo -OCO₂-, alqueno -OCO₂-, alquinilo -OCO₂-, cicloalquilo -OCO₂-, arilo-OCO₂-, heteroarilo-OCO₂-,
heterocicloalquilo-OCO₂-, -OCONH₂, alquilo -OCONH-, alqueno -OCONH-, alquinilo -OCONH-, cicloalquilo -OCONH-,
arilo -OCONH-, heteroarilo -OCONH-, heterocicloalquilo -OCONH-,
alquilo -NHC(O)-, alqueno -NHC(O)-, alquinilo -NHC(O)-, cicloalquilo -NHC(O)-, arilo-NHC(O)-, heteroarilo-NHC(O)-,
heterocicloalquilo -NHC(O)-, alquilo-NHCO₂-, alqueno-NHCO₂-, alquinilo-NHCO₂-, cicloalquilo-NHCO₂-, arilo-NHCO₂-,
65 heteroarilo-NHCO₂-, heterocicloalquilo-NHCO₂-, NHC(O)NH₂, alquilo-NHC(O)NH-, alqueno-NHC(O)NH-, alquilo-NHC(O)NH-,
alqueno-NHC(O)NH-, cicloalquilo -NHC(O)NH-, arilo-NHC(O)NH-, heteroarilo-NHC(O)NH-, heterocicloalquilo -NHC(O)NH-

5 NHC(S)NH₂, alquilo-NHC(S)NH-, alquenilo-NHC(S)NH-, alquinilo-NHC(S)NH-, cicloalquilo-NHC(S)NH-, arilo-NHC(S)NH-, heteroarilo-NHC(S)NH-, heterocicloalquilo-NHC(S)NH-, -NHC(NH)NH₂, alquilo-NHC(NH)NH-, -alquenilo-NHC(NH)NH-, alquenilo-NHC(NH)NH-, cicloalquilo -NHC(NH)NH-, arilo-NHC(NH)NH-, heteroarilo-NHC(NH)NH-, heterocicloalquilo-NHC(NH)NH-, alquilo-NHC(NH)-, alquenilo -NHC(NH)-, alquenilo -NHC(NH)-, cicloalquilo -NHC(NH)-, arilo -NHC(NH)-, heteroarilo -NHC(NH)-, heterocicloalquilo -NHC(NH)-, alquilo HC(NH)-, alquenilo -NHC(NH)-, alquenilo -NHC(NH)-, cicloalquilo -NHC(NH)-, arilo -NHC(NH)-, heteroarilo -NHC(NH)-, heterocicloalquilo -NHC(NH)-, alquilo -C(NH)NH-, alquenilo -C(NH)NH-, alquinilo -C(NH)NH-, cicloalquilo -C(NH)NH-, arilo-C(NH)NH-, heteroarilo-C(NH)NH-, heterocicloalquilo-C(NH)NH-, alquilo -S(O)-, alquenilo -S(O)-, alquinilo -S(O)-, cicloalquilo -S(O)-, arilo-S(O)-, heteroarilo-S(O)-, heterocicloalquilo-S(O)-SO₂NH₂, alquilo -SO₂NH-, alquenilo -SO₂NH-, alquinilo -SO₂NH-, cicloalquilo -SO₂NH-, arilo -SO₂NH-, heteroarilo -SO₂NH-, heterocicloalquilo-SO₂NH-, alquilo -NHSO₂-, alquenilo -NHSO₂-, alquinilo -NHSO₂-, cicloalquilo -NHSO₂-, arilo -NHSO₂-, heteroarilo -NHSO₂-, heterocicloalquilo -NHSO₂-, -CH₂NH₂, -CH₂SO₂CH₃, -alquilo, -alquenilo, -alquinilo, -arilo, -arilalquilo, -heteroarilo, -heteroarilalquilo, -heterocicloalquilo, -cicloalquilo, -carbocíclico, - heterocíclico, polialcoxialquilo, polialcoxilo, -metoximetoxi, -metoxietoxilo, -SH, alquilo -S-, alquenilo -S-, alquinilo-S-, cicloalquilo -S-, arilo-S, heteroarilo-S-, heterocicloalquilo-S- o metiltiometil.

20 Se entiende que los arilos, heteroarilos, carbocíclicos, heterocíclicos, alquilos y similares pueden sustituirse adicionalmente.

Los términos "halo" y "halógeno", como se usan en la presente descripción, se refieren a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

25 El término "sujeto", como se usa en la presente descripción se refiere a un mamífero. Por lo tanto, un sujeto se refiere a, por ejemplo, perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, conejillos de indias y similares. Preferentemente, el sujeto es un humano. Cuando el sujeto es un ser humano, el sujeto puede ser un paciente o un ser humano sano.

30 El término "grupo activador de hidroxilo", como se usa en la presente descripción, se refiere a un resto químico lábil que se conoce en la técnica que activa un grupo hidroxilo de modo que se separará durante los procedimientos de síntesis tales como en reacciones de sustitución o eliminación. Los ejemplos de grupo activador de hidroxilo incluyen, pero no se limitan a, mesilato, tosilato, triflato, p-nitrobenzoato, fosfonato y similares.

35 El término "grupo saliente" o "LG, por sus siglas en inglés", como se usa en la presente descripción, se refiere a cualquier grupo que sale en el curso de una reacción química que implica al grupo e incluye, pero no se limita a, halógeno, brosilato, mesilato, tosilato, triflato, p-nitrobenzoato, grupos fosfonato, por ejemplo.

40 El término "hidroxilo protegido," como se usa en la presente descripción, se refiere a un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector de hidroxilo, como se definió anteriormente, que incluye grupos benzoilo, acetilo, trimetilsililo, trietilsililo y metoximetilo, por ejemplo.

45 El término "grupo protector de hidroxilo", como se usa en la presente descripción, se refiere a un resto químico lábil que se conoce en la técnica que protege un grupo hidroxilo frente a reacciones indeseadas durante los procedimientos de síntesis. Después de dicho(s) procedimiento(s) de síntesis, el grupo protector de hidroxilo como se describe en la presente descripción puede eliminarse selectivamente. Los grupos protectores de hidroxilo como se conocen en la técnica se describen generalmente en T. H. Greene y P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ra edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999). Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen benciloxicarbonilo, 4-nitrobenciloxicarbonilo, 4-bromobenciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, metoxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, difenilmetoxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, 2-(trimetilsilil) etoxicarbonilo, 2-furfuriloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, acetilo, formilo, cloroacetilo, trifluoroacetilo, metoxiacetilo, fenoxiacetilo, benzoilo, metilo, t-butilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-trimetilsilil etilo, 1,1-dimetil-2-propenilo, 3-metil-3-butenilo, alilo, bencilo, parametoxibencilodifenilmetilo, trifenilmetilo (tritilo), tetrahidrofurilo, metoximetilo, metiltiometil, benciloximetilo, 2,2,2-tri-hloroetoximetilo, 2-(trimetilsilil) etoximetilo, metanosulfonilo, para-toluenosulfonilo, trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, y similares. Los grupos protectores de hidroxilo preferidos para la presente descripción son acetilo (Ac o -C(O)CH₃), benzoilo (Bz o -C(O)C₆H₅) y trimetilsililo (TMS o -Si(CH₃)₃).

55 El término "grupo protector de amino", como se usa en la presente descripción, se refiere a un resto químico lábil que se conoce en la técnica que protege un grupo amino frente a reacciones indeseadas durante procedimientos de síntesis. Después de dicho(s) procedimiento(s) de síntesis, el grupo protector de amino como se describe en la presente descripción puede eliminarse selectivamente. Los grupos protectores de amino como se conocen en la técnica se describen generalmente en T. H. Greene y P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ra Edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999). Los ejemplos de grupos protectores de amino incluyen, pero no se limitan a, t-butoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo y similares.

65 El término "amino protegido", como se usa en la presente descripción, se refiere a un grupo amino protegido con un grupo protector de amino como se definió anteriormente.

El término "alquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura $-N(R_aR_b)$, donde R_a y R_b son H o alquilo independientes.

5 El término "acilo" incluye residuos derivados de ácidos, que incluyen pero no se limitan a ácidos carboxílicos, ácidos carbámicos, ácidos carbónicos, ácidos sulfónicos y ácidos fosforosos. Los ejemplos incluyen carbonilos alifáticos, carbonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, sulfonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, fosfatos aromáticos y fosfatos alifáticos. Los ejemplos de carbonilos alifáticos incluyen, pero no se limitan a, acetilo, propionilo, 2-fluoroacetilo, butirilo, 2-hidroxiacetilo y similares.

10 Como se usa en la presente descripción, el término "sal aceptable farmacéuticamente" se refiere a aquellas sales de los compuestos formados por el proceso de la presente invención que, dentro del alcance del buen criterio médico, son adecuadas para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y de animales inferiores sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable. Las sales aceptables farmacéuticamente se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, y otros describen sales aceptables farmacéuticamente en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977). Las sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos de la invención, o por separado mediante la reacción de una función de base libre con un ácido orgánico adecuado. Los ejemplos de sales aceptables farmacéuticamente incluyen, pero no se limitan a, sales de adición de ácido no tóxicas o sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o mediante el uso de otros métodos usados en la técnica tales como el intercambio iónico. Otras sales aceptables farmacéuticamente incluyen, pero no se limitan a, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, sales de valerato, y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sales de sodio, litio, potasio, calcio o magnesio y similares. Otras sales aceptables farmacéuticamente incluyen, cuando es apropiado, cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicas formados mediante el uso de contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, sulfonato y sulfonato de arilo.

35 Como se usa en la presente descripción, el término "éster aceptable farmacéuticamente" se refiere a ésteres de los compuestos de la presente descripción que se hidrolizan *in vivo* e incluyen aquellos que se degradan fácilmente en el cuerpo humano para dejar el compuesto original o una sal de este. Los grupos éster adecuados incluyen, por ejemplo, los derivados de ácidos carboxílicos alifáticos aceptables farmacéuticamente, particularmente ácidos alcanoico, alquenoico, cicloalcanoico y alcanodioico, en los que cada resto alquilo o alquenoilo tiene ventajosamente no más de 6 átomos de carbono. Los ejemplos de ésteres particulares incluyen, pero no se limitan a, formiatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etilsuccinatos.

40 El término "profármacos aceptables farmacéuticamente" como se usa en la presente descripción se refiere a los profármacos de los compuestos de la presente descripción que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y de animales inferiores sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y similares, proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso pretendido, así como también las formas zwitteriónicas, cuando sea posible, de los compuestos de la presente descripción. "Profármaco", como se usa en la presente descripción, significa un compuesto que es capaz de convertirse *in vivo* por medios metabólicos (por ejemplo, mediante hidrólisis) para proporcionar cualquier compuesto delineado por las fórmulas de la presente descripción. Se conocen diversas formas de profármacos en la técnica, por ejemplo, como se describe en Bundgaard, (ed.), Design of Prodrugs, Elsevier (1985); Widder, y otros (ed.), Methods in Enzymology, vol. 4, Academic Press (1985); Krogsgaard-Larsen, y otros, (ed). "Design and Application of Prodrugs, Textbook of Drug Design and Development, Capítulo 5, 113-191 (1991); Bundgaard, y otros, Journal of Drug Delivery Reviews, 8:1-38(1992); Bundgaard, J. of Pharmaceutical Sciences, 77:285 y siguientes (1988); Higuchi y Stella (eds.) Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems, American Chemical Society (1975); y Bernard Testa y Joachim Mayer, "Hydrolysis In Drug And Prodrug Metabolism: Chemistry, Biochemistry And Enzymology," John Wiley and Sons, Ltd. 2002).

55 Las combinaciones de sustituyentes y variables previstas por esta invención son sólo aquellas que resultan en la formación de compuestos estables. El término "estable", como se usa en la presente descripción, se refiere a compuestos que poseen estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un período de tiempo suficiente para ser útil para los fines detallados en la presente descripción (por ejemplo, administración terapéutica o profiláctica a un sujeto).

Composiciones Farmacéuticas

65 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad con eficacia terapéutica del compuesto de la presente invención formulado junto con uno o más portadores aceptables farmacéuticamente. Como se usa en la presente descripción, el término "portador aceptable farmacéuticamente" significa un relleno, diluyente, material

encapsulante o auxiliar de formulación de cualquier tipo sólido, semisólido o líquido, inerte y no tóxico. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante polvos, ungüentos, o gotas), bucal, o como un aerosol oral o nasal.

5

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires aceptables farmacéuticamente. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua, alcohol u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, etil carbonato, etil acetato, alcohol bencílico, bencil benzoato, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, polisorbato, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), mono- o diglicéridos, glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso del sorbitán, y mezclas de estos. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir, además, adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes antioxidantes, edulcorantes, saborizantes y perfumantes. La forma de dosificación líquida puede encapsularse, además, en una cápsula de gelatina, en donde el compuesto de la presente invención puede disolverse en un portador aceptable farmacéuticamente que contiene, por ejemplo, uno o más agentes solubilizantes (por ejemplo, polisorbato 80 y mono y diglicéridos), y otros excipientes adecuados (por ejemplo, un antioxidante tal como ascorbilo palmitato, o un agente edulcorante o saborizante).

10

15

20

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones estériles inyectables acuosas u oleaginosas pueden formularse de conformidad con la técnica conocida mediante el uso de agentes humectantes o dispersantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una suspensión, solución o emulsión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer, U.S.P. y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito puede emplearse cualquier aceite fijo suave lo que incluye los mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico se usan en la preparación de inyectables.

25

30

Para prolongar el efecto de un fármaco, a menudo es deseable ralentizar la absorción del fármaco por inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede llevarse a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra mediante la disolución o suspensión del fármaco en un vehículo oleoso. Además, se contemplan en la presente invención las formas de liberación inmediata.

35

Las composiciones para la administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que pueden prepararse mediante la mezcla de los compuestos de esta invención con excipientes no irritantes adecuados o portadores tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o en la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

40

Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden emplearse, además, como rellenos en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras mediante el uso de excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como también polietilenglicoles de peso molecular alto y similares.

45

Los compuestos activos pueden estar, además, en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se indicó anteriormente.

50

Las formas sólidas de dosificación de los comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos pueden prepararse con revestimientos y capas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En esas formas de dosificación sólida, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Esas formas de dosificación pueden comprender también, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricante para tableteado y otros ayudantes del tableteado tales como estearato magnésico y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender además agentes tampones.

55

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica del compuesto de esta invención incluyen ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, aerosoles, inhalantes o parches. El componente activo se administra en condiciones estériles con un portador aceptable farmacéuticamente y cualquier conservante o tampón necesario que pueda requerirse. La formulación oftálmica, gotas para los oídos, ungüentos oculares, polvos y soluciones también se contemplan dentro del alcance de esta invención.

60

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de estos.

65

Los polvos y aerosoles pueden contener, además de los compuestos de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener además propelentes habituales tales como clorofluorohidrocarburos.

5 Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar un suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Esas formas de dosificación pueden prepararse al disolver o dispensar el compuesto en el medio adecuado. Los potenciadores de absorción pueden usarse para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse al proporcionar una membrana de control de la velocidad o mediante la dispersión del compuesto en una matriz de polímero o gel.

10

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica de la invención es para su uso en métodos de tratamiento; las infecciones virales se tratan o previenen en un sujeto, tal como un ser humano u otro animal, mediante la administración al sujeto de una cantidad con eficacia terapéutica del compuesto de la invención (o una sal aceptable farmacéuticamente de este), en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para alcanzar el resultado deseado. El término "cantidad con eficacia terapéutica" del compuesto de la invención, como se usa en la presente descripción, significa una cantidad suficiente del compuesto para disminuir la carga viral en un sujeto y/o disminuir los síntomas del VHC del sujeto. Como se entiende bien en las técnicas médicas, una cantidad con eficacia terapéutica del compuesto de esta invención estará en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

15

20 Actividad Antiviral

Una cantidad o dosis inhibitoria de los compuestos de la presente invención puede variar de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, alternativamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/kg. Las cantidades o dosis inhibitorias variarán, además, en dependencia de la vía de administración, así como también de la posibilidad de co-uso con otros agentes.

25

De acuerdo con los métodos de tratamiento de la presente descripción, las infecciones víricas se tratan o previenen en un sujeto tal como un humano o mamífero inferior mediante la administración al sujeto de una cantidad eficaz viralmente contra la hepatitis C o una cantidad inhibitoria de un compuesto de la presente descripción, en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para alcanzar el resultado deseado. Un método adicional de la presente descripción es el tratamiento de muestras biológicas con una cantidad inhibitoria de un compuesto de la composición de la presente invención en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para alcanzar el resultado deseado.

30

El término "cantidad eficaz viralmente anti-hepatitis C" del compuesto de la invención, como se usa en la presente descripción, significa una cantidad suficiente del compuesto para disminuir la carga viral en una muestra biológica o en un sujeto. Como se entiende bien en las técnicas médicas, una cantidad eficaz viralmente anti-hepatitis C del compuesto de esta invención estará en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

35

El término "cantidad inhibitoria" del compuesto de la presente invención significa una cantidad suficiente para disminuir la carga viral de hepatitis C en una muestra biológica o en un sujeto. Se entiende que cuando dicha cantidad inhibitoria del compuesto de la presente invención se administra a un sujeto, estará en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico determinado por un médico. El término "muestra(s) biológica(s)", como se usa en la presente descripción, significa una sustancia de origen biológico destinada a la administración a un sujeto. Los ejemplos de muestras biológicas incluyen, pero no se limitan a, sangre y componentes de esta tales como plasma, plaquetas, subpoblaciones de células sanguíneas y similares; órganos tales como riñón, hígado, corazón, pulmón y similares; esperma y óvulos; médula ósea y los componentes de esta; o células madre. Por lo tanto, otro aspecto de la presente descripción es un método para tratar una muestra biológica al poner en contacto dicha muestra biológica con una cantidad inhibitoria de un compuesto o composición farmacéutica de la presente invención.

40

45

Al mejorar la condición de un sujeto, puede administrarse una dosis de mantenimiento del compuesto, composición o combinación de esta invención, si es necesario. Posteriormente, la dosificación o frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse, en función de los síntomas, a un nivel en el que la condición mejorada se mantenga cuando los síntomas se han aliviado al nivel deseado, el tratamiento debe cesar. El sujeto puede, sin embargo, requerir tratamiento intermitente a largo plazo ante cualquier recurrencia de los síntomas de la enfermedad.

50

55

Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención serán decididos por el médico que lo atiende dentro del alcance del criterio médico. La dosis inhibitoria específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se trata y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

60

La dosis inhibitoria diaria total de los compuestos de esta invención administrada a un sujeto en dosis únicas o en dosis divididas puede estar en cantidades, por ejemplo, de 0,01 a 50 mg/kg de peso corporal o más usualmente de 0,1 a 25 mg/kg de peso corporal. Las composiciones de dosis únicas pueden contener dichas cantidades o submúltiplos de estas

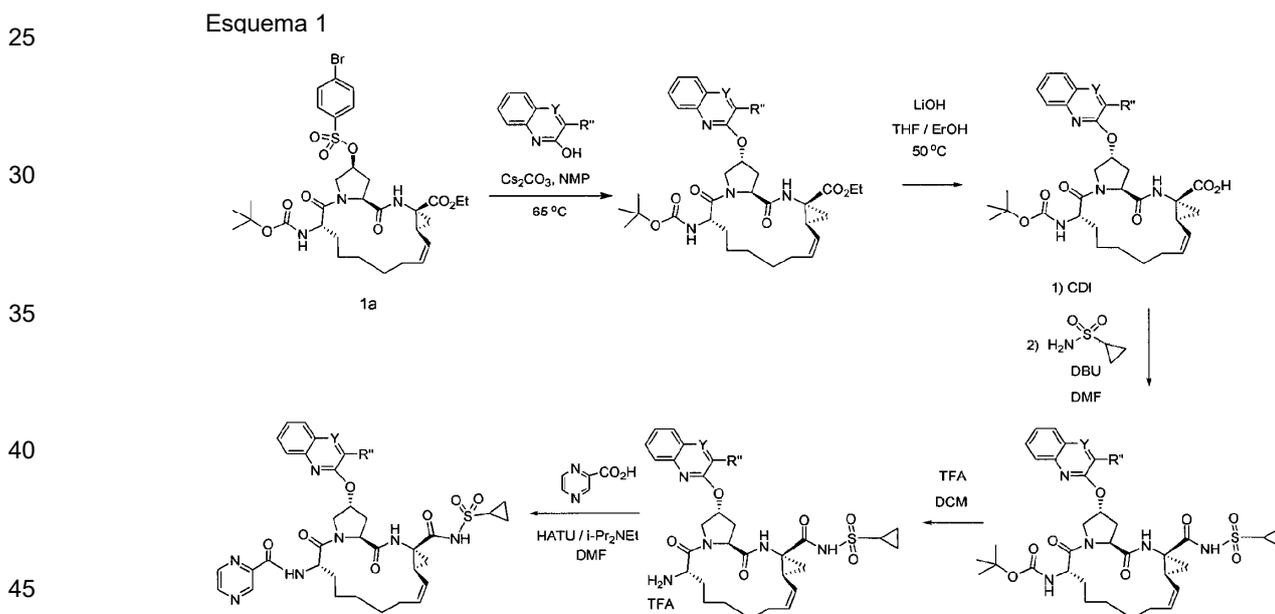
65

para constituir la dosis diaria. En una modalidad, los regímenes de tratamiento de acuerdo con la presente descripción comprenden la administración a un paciente que necesita dicho tratamiento de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1000 mg del(de los) compuesto(s) de esta invención por día en dosis únicas o múltiples. En otra modalidad, el régimen de tratamiento comprende la administración a un paciente que necesita dicho tratamiento de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 6000 mg del compuesto de esta invención por día en dosis únicas o múltiples, con o sin un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa tal como ritonavir. La dosis diaria adecuada para el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa coadministrado (por ejemplo, ritonavir) puede variar, sin limitación, de 10 a 200 mg. Preferentemente, el compuesto de la presente invención, o una combinación del compuesto de la invención y ritonavir, se administra una vez al día o dos veces al día para alcanzar la cantidad de dosis diaria deseada. Por ejemplo, cuando se usa sin ritonavir, el compuesto de la presente invención puede administrarse a un paciente dos veces al día con una dosis diaria total de 4000, 4200, 4400, 4600, 4800 o 5000 mg. En otro ejemplo, cuando se usa en combinación con ritonavir, el compuesto de la presente invención puede administrarse a un paciente una o dos veces al día con una dosis diaria total de 200, 400, 600 u 800 mg, donde la cantidad de ritonavir puede ser 25, 50 o 100 mg por administración.

15 Métodos de síntesis

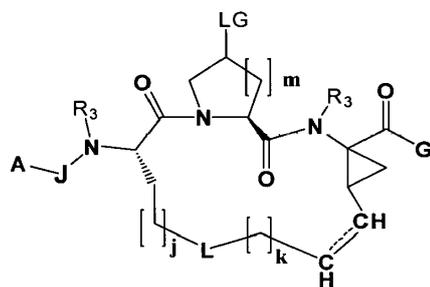
Los compuestos y procesos de la presente descripción se entenderán mejor en relación con los siguientes esquemas de síntesis que ilustran los métodos mediante los cuales pueden prepararse los compuestos de la presente descripción, que incluyen el compuesto de la invención.

Las definiciones de las variables en las estructuras en los esquemas en la presente descripción son proporcionales con aquellas de las posiciones correspondientes en las fórmulas delineadas en la presente descripción.



El esquema 1 describe la síntesis de diversos compuestos de la presente descripción. El material de partida se desplazó en los grupos salientes mediante la reacción con un nucleófilo para proporcionar un macrociclo sustituido con un nucleófilo. La hidrólisis básica del éster al ácido fue seguida por el acoplamiento de un derivado sulfonamida. Después el nitrógeno protegido se desprotegió y se sustituyó por otro grupo.

En un aspecto, la presente descripción proporciona un método para producir un compuesto de la fórmula I, que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II:



(II);

15 en donde,

J está ausente, es alquileo sustituido opcionalmente, alquenileno sustituido opcionalmente, alquinileno sustituido opcionalmente, -C(O)-, -O-C(O)-, -N(R₃)-C(O)-, -C(S)-, -C(=NR₄)-, -S(O)-, -S(O₂)-, o -N(R₃)-;

20 A es alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente o alquinilo sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados entre O, S o N; arilo sustituido opcionalmente, arilalquilo sustituido opcionalmente, alcoxi sustituido opcionalmente, heteroarilo sustituido opcionalmente, heterociclo sustituido opcionalmente, o carbocíclico sustituido opcionalmente;

G es -E-R₅;

25 en donde E está ausente; es alquileo sustituido opcionalmente, alquenileno sustituido opcionalmente, alquinileno sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados entre O, S, o N; u -O-, -S-, -N(R₃)-, -N(R₃)S(O_p)-, -N(R₃)C(O)-, -N(R₃)C(O)S(O_p)-, -OS(O_p)-, -C(O)S(O_p)-, o -C(O)N(R₃)S(O_p)-;

p es 0, 1 o 2;

30 R₅ es H; alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente o alquinilo sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, S o N; carbocíclico sustituido opcionalmente, heterociclo sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente o heteroarilo sustituido opcionalmente;

35 Cada R₃ y R₄ se selecciona independientemente en cada caso de entre los siguientes: alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente o alquinilo sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, S o N; arilo sustituido opcionalmente; heteroarilo sustituido opcionalmente; heterocíclico sustituido opcionalmente; carbocíclico sustituido opcionalmente; o hidrógeno;

L está ausente o se selecciona de alquileo sustituido opcionalmente, alquenileno sustituido opcionalmente o alquinileno sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, S o N;

40 j = 0, 1, 2, 3 o 4;

k = 0, 1, 2 o 3;

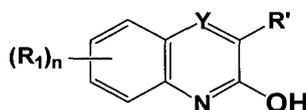
m = 0, 1 o 2;

n es 0, 1, 2, 3 o 4; y

45 denota un enlace simple o doble carbono-carbono; y

LG es un grupo saliente;

con un compuesto de la Fórmula III:



(III);

55 en donde:

Cada R₁ se selecciona independientemente de

60 (i) halógeno, hidroxilo, amino, -CN, -CF₃, -N₃, -NO₂, -OR₄, -SR₄, -SOR₄, -SO₂R₄, -N(R₃)S(O)₂-R₄, -N(R₃)(SO₂)NR₃R₄, -NR₃R₄, -C(O)OR₄, -C(O)R₄, -C(O)NR₃R₄, o -N(R₃)C(O)R₄;

(ii) arilo sustituido opcionalmente;

(iii) heteroarilo sustituido opcionalmente;

(iv) heterocíclico sustituido opcionalmente;

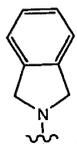
65 (v) carbocíclico sustituido opcionalmente; o

(vi) alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente o alquinilo sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados entre O, S o N;

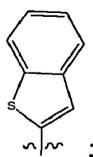
R₃ y R₄ se seleccionan cada uno independientemente en cada aparición de los siguientes: alquilo sustituido opcionalmente, alquenilo sustituido opcionalmente o alquinilo sustituido opcionalmente, que contiene cada uno 0, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, S o N; arilo sustituido opcionalmente; heteroarilo sustituido opcionalmente; heterocíclico sustituido opcionalmente; carbocíclico sustituido opcionalmente; o hidrógeno;

Y es N o C(R'');

en donde si Y es N, entonces R' es heterocíclico sustituido opcionalmente, heteroarilo sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente o carbocíclico sustituido opcionalmente, y comprende dos o más anillos fusionados, y en donde R' no es



o

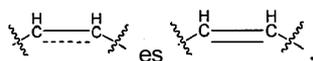


además, siempre y cuando dicho compuesto no sea terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato;

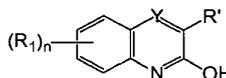
en donde si Y es -C(R''), entonces R' y R'' tomados junto con los átomos de carbono a los que se unen forman un anillo arilo o heteroarilo, cada uno de dichos anillos se sustituye opcionalmente;

en donde A, R₁, R' y/o R'' pueden tomarse juntos para formar un anillo, para producir de este modo un compuesto de fórmula I o I'.

Un compuesto de fórmula I puede prepararse, además, de acuerdo con el proceso representado en el Esquema 2, en donde A, J, L, G, Y, R' R₁, R₃, n, m, j y k se definen anteriormente en la presente descripción, y

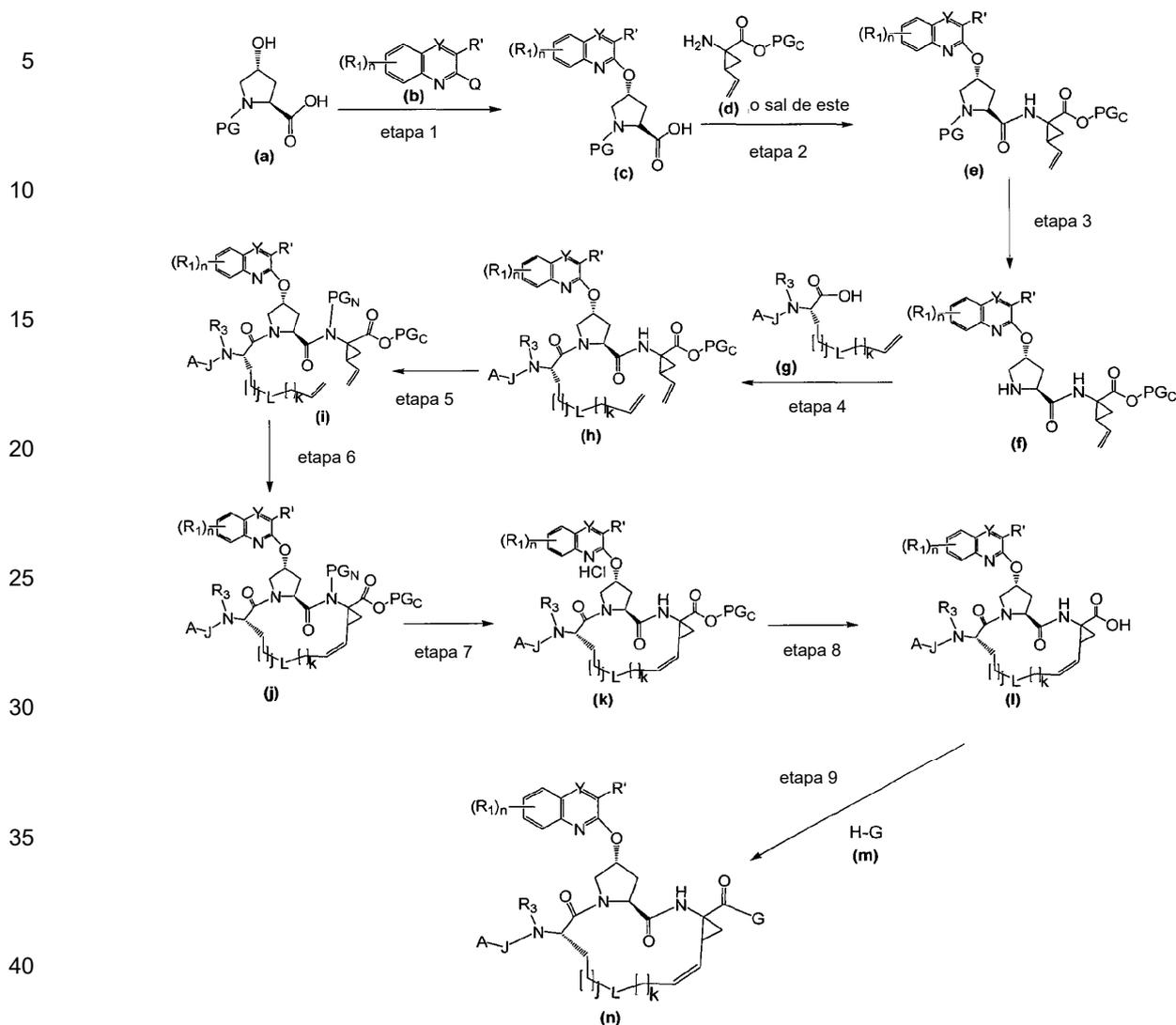


y en donde Q es halógeno o un grupo saliente, PG y PG_N son cada uno independientemente un grupo protector de amino, y PG_C es un grupo protector de ácido carboxílico. El compuesto (b) puede prepararse mediante la reacción



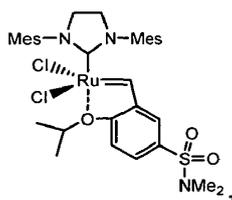
con un agente de halogenación tal como POCl₃. Los ejemplos no limitantes del grupo protector de amino incluyen alcoxicarbonilo C₁-C₆(por ejemplo, terc-butoxicarbonilo o Boc), carboxibencilo, p-metoxibencilcarbonilo, 9-fluorenilmetiloxycarbonilo, bencilo, p-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, p-metoxifenilo, benzoilo, o tosilo u otras sulfonamidas adecuadas. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores de ácido carboxílico incluyen alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, terc-butilo, metilo o etilo), bencilo o sililo, todos los cuales protegen restos de ácido carboxílico en la forma de ésteres.

Esquema 2



En la etapa 1, el compuesto (a) reacciona con el compuesto (b) para formar el compuesto (c), donde la reacción puede conducirse, como un ejemplo no limitante, en presencia de terc-butóxido de sodio o terc-butóxido de potasio. Preferentemente, la reacción se conduce en ausencia de cloruro de lantano. Además, preferentemente, el rendimiento de esta reacción es al menos del 50 %. Con mayor preferencia, el rendimiento de la reacción es al menos 60 %, 70 % u 80 %. Muy preferentemente, el rendimiento de la reacción es al menos 90 % o 95 %. El PG preferido es alcóxicarbonilo C₁-C₆, tal como terc-butoxicarbonilo o Boc.

El compuesto (c) puede después hacerse reaccionar con el compuesto (d), o una sal de este tal como sal de TsOH, para formar el compuesto (e) (etapa 2), seguido de la desprotección del grupo amino para crear el compuesto (f) o una sal de este (por ejemplo, sal de HCl) (etapa 3). El PG_C preferido incluye, pero no se limita a, alquilo C₁-C₆ tal como etilo. El compuesto (f) puede después hacerse reaccionar con el compuesto (g) para formar el compuesto (h) (etapa 4), que posteriormente se protege con amino para formar el compuesto (i) (etapa 5) y después se somete a metátesis de cierre del anillo para formar el compuesto (j) (etapa 6). El PG_N preferido incluye, pero no se limita a, alcóxicarbonilo C₁-C₆, tal como terc-butoxicarbonilo o Boc. Los procesos generales para la metátesis de cierre del anillo (RCM, por sus siglas en inglés) se conocen bien en la técnica. Los procedimientos preferidos implican el uso de catalizadores de metales de transición, tales como los descritos en la patente de Estados Unidos núm. 6.921.753 y la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos núm. 20070043180. Los ejemplos no limitantes de catalizadores adecuados incluyen el Catalizador 1-B de Zhan (

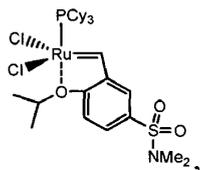


5

10

donde Mes es 2,4,6-trimetilfenilo; también conocido como Zhan-B) y el Catalizador 1-C de Zhan (

15



20

donde Cy es ciclohexilo), ambos comercializados por Zannan Pharma, Ltd. (Shanghai, China). La desprotección del resto amino en el compuesto (**j**) conduce al compuesto (**k**) (o su base libre) (etapa 7). En ciertos casos, el compuesto (**h**) puede someterse directamente a la reacción de metátesis de cierre del anillo para formar el compuesto (**k**) (o su base libre), sin las etapas de protección y desprotección de amino.

25

El resto de ácido carboxílico en el compuesto (**k**) puede entonces desprotegerse para formar el compuesto (**l**) (etapa 8), que reacciona con el compuesto (**m**) para formar el compuesto (**n**) (etapa 9). G en el compuesto (**m**) se define como -E-R₅, en donde E y R₅ se definieron en la presente anteriormente.

30

Un compuesto de fórmula I', como se describió en la presente descripción, puede prepararse de manera similar de acuerdo con el Esquema 2.

35

Los compuestos descritos en la presente descripción contienen uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, dan lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-, o como (D)- o (L)- para aminoácidos. La presente invención pretende incluir todos los posibles isómeros, así como también sus formas racémicas y ópticamente puras. Los isómeros ópticos pueden prepararse a partir de sus respectivos precursores activos ópticamente mediante los procedimientos descritos anteriormente, o mediante la resolución de las mezclas racémicas. La resolución puede llevarse a cabo en presencia de un agente de resolución, por cromatografía o mediante cristalización repetida o por alguna combinación de estas técnicas que se conocen por los expertos en la técnica. Pueden encontrarse más detalles sobre las resoluciones en Jacques, y otros, *Enantiomers, Racemates, and Resolutions* (John Wiley & Sons, 1981). Cuando los compuestos descritos en la presente descripción contienen enlaces dobles olefinicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique de cualquier otra manera, se pretende que los compuestos incluyan isómeros geométricos tanto E como Z. Igualmente, todas las formas tautoméricas también se destinan a ser incluidas. La configuración de cualquier doble enlace carbono-carbono que aparezca en la presente descripción se selecciona solo por conveniencia y no pretende designar una configuración particular a menos que el texto así lo indique; por lo tanto, un doble enlace carbono-carbono representado en la presente descripción arbitrariamente como *trans* puede ser *cis*, *trans*, o una mezcla de los dos en cualquier proporción.

45

50

Los compuestos sintetizados pueden separarse de una mezcla de reacción y purificarse posteriormente mediante un método tal como cromatografía en columna, cromatografía líquida de alta presión o recristalización. Como puede apreciarse por el experto en la materia, serán evidentes otros métodos para sintetizar los compuestos de las fórmulas de la presente descripción para los expertos en la técnica. Adicionalmente, las diversas etapas de síntesis pueden realizarse en una secuencia alterna o en un orden para obtener los compuestos deseados. Además, los solventes, temperaturas, duraciones de reacción, etcétera, delineados en la presente descripción tienen únicamente fines ilustrativos y un experto en la técnica reconocerá que la variación de las condiciones de reacción puede producir los productos macrocíclicos con puente deseados de la presente descripción. Las transformaciones de química sintética y las metodologías de grupos protectores (protección y desprotección) útiles para sintetizar los compuestos descritos en la presente descripción son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, aquellas tales como las descritas en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T.W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2da. Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), y ediciones posteriores a esta.

60

65

Los compuestos de esta descripción pueden modificarse mediante la adición de diversas funcionalidades a través de cualquier medio sintético delineado en la presente descripción para mejorar las propiedades biológicas selectivas. Dichas modificaciones son conocidas en la técnica e incluyen aquellas que aumentan la penetración biológica en un sistema biológico dado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central), aumentan la disponibilidad oral,

aumentan la solubilidad para permitir la administración por inyección, alteran el metabolismo y alteran la velocidad de excreción.

5 La lectura de una lista de grupos químicos en cualquier definición de una variable en la presente descripción incluye definiciones de esa variable como cualquier grupo único o combinación de grupos enumerados. La lectura de una modalidad para una variable en la presente descripción incluye esa modalidad como cualquier modalidad única o en combinación con cualquier otra modalidad o partes de esta.

10 EJEMPLOS

10

Los compuestos y procesos de la presente descripción se entenderán mejor en conexión con los siguientes ejemplos, que pretenden ser solo ilustrativos y no limitan el alcance de la invención. Los ejemplos siguientes pueden prepararse de acuerdo con el Esquema 1 o el Esquema 2 como se describió anteriormente. El Ejemplo 29 se abarca por la presente invención, mientras que los ejemplos restantes son comparativos o ilustran además intermediarios adecuados en la ruta sintética del ejemplo 29. Diversos cambios y modificaciones a las modalidades descritas serán evidentes para los expertos en la técnica y dichos cambios y modificaciones que incluyen, sin limitación, aquellos relacionados con las estructuras químicas, los sustituyentes, los derivados, las formulaciones y/o los métodos de la invención pueden realizarse sin apartarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

15

20

Ejemplo 1. *tert*-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-ilcarbamato

25

Ejemplo 1a. (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 2-(4-bromofenilsulfoniloxi)-6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato

30

Se agitó una solución de (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-2-hidroxi-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato y DABCO en tolueno a temperatura ambiente (*ta*). A esta solución se le añadió una solución de cloruro de 4-bromobenceno-1-sulfonilo en tolueno. Después de que se completó la adición, la mezcla de reacción se desactivó con carbonato de sodio acuoso al 10 % y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió tetrahidrofurano y la mezcla se lavó con HCl 0,5 M, agua y después con cloruro de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida y se secó para proporcionar el compuesto del título.

35

Ejemplo 1b. (2R,6S,13aR,14aR,16aS,Z)-etil 6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-2-(3-cloroquinoxalin-2-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato (1b)

40

A una solución del compuesto 1a (15,0 g, 21,0 mmol) en NMP (55 ml) se le añadió 3-cloroquinoxalin-2-ol (4,56 g, 25,3 mmol) seguido de Cs₂CO₃ (17,1 g, 52,6 mmol). La mezcla resultante se calentó a 70 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y después se dividió entre etil acetato (300 ml) y HCl 1N (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto en forma de un sólido. El sólido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (gradiente de EtOAc-hexano) para obtener el compuesto del título en forma de un sólido (6,2 g, 45 % de rendimiento); MS(ESI): *m/z* = 656,3 [M+H]

45

50

Ejemplo 1c. (2R,6S,13aR,14aR,16aS,Z)-etil 6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-5,16-dioxo-2-(3-fenilquinoxalin-2-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato (1c)

55

A un recipiente de microondas se añadieron el producto de 1b (700 mg, 1,07 mmol), 2-(tributylestannil)benzo[d]tiazol (905 mg, 2,13 mmol), paladio-tetrakis(trifenilfosfina) (113 mg, 11 mmol) y dioxano (5 ml). El recipiente se evacuó y se introdujo nitrógeno, lo que se repitió dos veces. La mezcla se hizo reaccionar en un reactor de microondas a 110 grados C durante 1 hora. La reacción se diluyó con MeCN y se lavó 3 veces con hexano. La capa de MeCN se evaporó y se purificó por columna cromatográfica en gel de sílice (gradiente de CHCl₃-EtOAc) para obtener el compuesto del título (692 mg, 86 % de rendimiento). MS(ESI): *m/z* = 755,2 [M+H].

60

Ejemplo 1d. Ácido (2R,6S,13aR,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxílico (1d)

65

A una solución del producto del Ejemplo 1c (692 mg, 0,95 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) / etanol (2,5 ml) / agua (2,5 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (154 mg, 3,7 mmol). La mezcla resultante se calentó a 50 °C durante una hora y se enfrió a temperatura ambiente. Los solventes orgánicos se eliminaron en su mayor parte a presión reducida, se

le añadió EtOAc (100 ml) y después se lavó con HCl 1N (30 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar 666 mg del producto 1d.

Ejemplo 1f.

5

A una solución del producto del Ejemplo 1d (666 mg, 0,92 mmol) en 1,2-dicloroetano (9 ml) se le añadió 1,1'-carbonildiimidazol (246 mg, 1,52 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 40 grados C durante 2 horas. A la solución anterior se le añadió después la ciclopropanosulfonamida (184 mg, 1,52 mmol) seguido de DBU (0,23 ml, 1,52 mmol). La mezcla resultante se agitó a 40 grados C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con HCl 1N (20 ml) y después con cloruro de sodio saturado (20 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (gradiente de CHCl₃/EtOAc) para obtener el compuesto del título (322 mg, 38 % de rendimiento). MS (ESI): *m/z* = 830,0 [M+H].

10

15 Ejemplo 2. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(isonicotinamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

20 Ejemplo 2a. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-amino-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

20

A una suspensión del producto del Ejemplo 1 (320 mg, 0,39 mmol) en EtOAc (3 mL) se le añadió una solución 4 M de HCl en dioxano (1,9 mL, 7,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. El solvente se evaporó a presión reducida y el sólido resultante se secó al vacío para proporcionar (2R,6S,13aR,14aR,16aS,Z)-6-amino-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-ilo)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida, ácido clorhídrico (295 mg, rendimiento cuantitativo).

25

30 Ejemplo 2b.

A una solución del Ejemplo 2a (28 mg, 0,037 mmol) en diclorometano (0,5 mL) se le añadió ácido isonicotínico (5,0 mg, 0,040 mmol), HATU (16,7 mg, 0,044 mmol) y diisopropiletilamina (0,021 mL, 0,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 horas y se evaporó. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): *m/z* = 835,0 [M+H].

35

40 Ejemplo 3. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(2-fluorobenzamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

40

El Ejemplo 3 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido 2-fluorobenzoico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

45

MS (ESI): *m/z* = 851,9 [M+H].

Ejemplo 4. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-il)-5-metilisooxazolo-3-carboxamida

50

El Ejemplo 4 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido 5-metilsoxazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): *m/z* = 838,9 [M+H].

55

Ejemplo 5. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

60 El Ejemplo 5 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): *m/z* = 849,9 [M+H].

Ejemplo 6. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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)isoxazolo-5-carboxamida

5 El Ejemplo 6 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido isoxazolo-5-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 824,9$ [M+H].

10 Ejemplo 7. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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)tiazolo-4-carboxamida

15 El Ejemplo 7 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido tiazolo-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 840,9$ [M+H].

20 Ejemplo 8. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

25 El Ejemplo 8 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido 1-metil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 838,0$ [M+H].

30 Ejemplo 9. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-6-(pirimidino-4-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

35 El Ejemplo 9 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido pirimidino-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 835,9$ [M+H].

40 Ejemplo 10. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1,3-dimetil-1H-pirazolo-4-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

45 El Ejemplo 10 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con ácido 1,3-dimetil-1H-pirazolo-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 852,0$ [M+H].

50 Ejemplo 11. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(3-fluorobenzamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

55 El Ejemplo 11 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 2, mediante el reemplazo del ácido isonicotínico con cloruro de 3-fluorobenzóilo. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 838,0$ [M+H]. Ejemplo 12. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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-ilcarbamoato.

60 Ejemplo 12a. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-hidroxi-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-ilcarbamoato.

65 A una solución de terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(9H-fluoren-9-ilideneaminoxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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-ilcarbamoato (20,0 g, 26,8 mmol) en ácido acético (80 ml) en agitación a 40 °C se le añadió polvo de zinc (10,52 g, 166 mmol). Después de que se completó la adición, la mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 1 hora. La mezcla se enfrió después a temperatura ambiente, se diluyó con tolueno y se filtró a través de Celite. El licor madre se lavó con agua, HCl 1N y cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. El filtrado se evaporó después a presión reducida para proporcionar el compuesto del título 12a (14,8 g, 97 % de rendimiento).

Ejemplo 12b. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-cloroquinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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-licarbamato.

5 Una solución del compuesto 12a (10,0 g, 17,6 mmol), carbonato de cesio (17,2 g, 52,8 mmol) y 2,3-dicloroquinoxalina (3,50 g, 17,6 mmol) en dimetilformamida (175 ml) se calentó a 70 °C durante 18 horas. Se añadió una porción adicional de 2,3-dicloroquinoxalina (0,70 g, 3,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y después se dividió entre etil acetato (300 ml) y HCl 1N (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto en forma de un sólido. El sólido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (gradiente de EtOAc-hexano) para obtener el compuesto del título en forma de un sólido (4,7 g, 37 % de rendimiento); MS(ESI): $m/z = 731,1$ [M+H].

Ejemplo 12c.

15 A un recipiente de microondas se añadió el producto de 12b (0,40 g 0,547 mmol), benzofuran-2-iltributilestannano (0,245 g, 0,602 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (50 mg, 0,055 mmol), 1,3,5,7-tetrametil-2,4,8-trioxa-6-fenil-6-fosfaadamantano (32 mg, 0,11 mmol), bicarbonato de sodio (46 mg, 0,547 mmol) y dioxano (3 mL). El recipiente se evacuó y se introdujo nitrógeno. La mezcla se hizo reaccionar en un reactor de microondas a 110 grados C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con etil acetato, se lavó con HCl 1N seguido de cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La mezcla se filtró a través de Celite y se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetonitrilo y se lavó con hexano (cinco veces) y después se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (gradiente de CHCl₃-EtOAc) para obtener el compuesto del título (386 mg, 87 % de rendimiento). MS(ESI): $m/z = 813,0$ [M+H].

25 Ejemplo 13. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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)-5-metilisoxazolo-3-carboxamida.

30 Ejemplo 13a. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-amino-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida clorhidrato

35 El producto del Ejemplo 12 (0,386 g, 0,475 mmol) se disolvió en una mezcla de etil acetato (2,4 mL) y HCl 4N en dioxano (2,4 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla se evaporó después a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (0,338 mg, 100 % de rendimiento).

Ejemplo 13b.

40 Una mezcla del producto del Ejemplo 13a (30 mg, 0,040 mmol), ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico (5,1 mg, 0,040 mmol), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (15,6 mg, 0,12 mmol) y HATU (18,3 mg, 0,048 mmol) en diclorometano (0,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante una hora y después se evaporó. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título (14 mg, 42 % de rendimiento). MS (ESI): $m/z = 822,0$ [M+H].

45 Ejemplo 14. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

50 El Ejemplo 14 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 13, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 833,0$ [M+H].

55 Ejemplo 15. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

60 El Ejemplo 15 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 13, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido 1-metil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título. MS (ESI): $m/z = 821,1$ [M+H].

65 Ejemplo 16. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 16 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 13, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido 1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

5 MS (ESI): $m/z = 835,0$ [M+H].

Ejemplo 17. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzofuran-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-6-(pirimidino-4-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

10

El Ejemplo 17 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 13, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido pirimidino-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 818,9$ [M+H].

15

Ejemplo 18. *terc-butil* (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-ilcarbamato

20

El Ejemplo 18 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 12, mediante el reemplazo de benzofuran-2-iltributilestannano con benzo[b]tiofen-2-iltributilestannano. La purificación del material bruto por cromatografía en gel de sílice mediante la elución con hexano/etil acetato (1:2) proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 829,1$ [M+H].

25

Ejemplo 19. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-il)-5-metilisoxazolo-3-carboxamida

30

Ejemplo 19a. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-amino-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonilo)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida clorhidrato

El producto del Ejemplo 18 (0,296 g, 0,357 mmol) se disolvió en una mezcla de etil acetato (1,7 mL) y HCl 4N en dioxano (1,7 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla se evaporó después a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (0,262 mg, 96 % de rendimiento).

35

Ejemplo 19b.

Una mezcla del producto del Ejemplo 19a (30 mg, 0,039 mmol), ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico (5,0 mg, 0,039 mmol), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (15,2 mg, 0,118 mmol) y HATU (17,9 mg, 0,047 mmol) en diclorometano (0,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante una hora y después se evaporó. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título (18 mg, 53 % de rendimiento). MS (ESI): $m/z = 837,9$ [M+H].

40

Ejemplo 20. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

45

El Ejemplo 20 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 19, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 848,7$ [M+H].

50

Ejemplo 21. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

55

El Ejemplo 21 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 19, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido 1-metil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 836,9$ [M+H].

60

Ejemplo 22. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

65

El Ejemplo 22 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 19, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido 1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

5 MS (ESI): $m/z = 851,0$ [M+H].

Ejemplo 23. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[b]tiofen-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-6-(pirimidino-4-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

10

El Ejemplo 23 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 19, mediante el reemplazo del ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico con ácido pirimidino-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

15

MS (ESI): $m/z = 835,1$ [M+H].

Ejemplo 24. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-6-licarbamato

20

Ejemplo 24a. (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 2-(4-bromofenilsulfoniloxi)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato

25

Una solución de (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-hidroxi-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato (22,1 g, 44,8 mmol) y DABCO (8,5 g, 76,7 mmol) en tolueno (88 mL) se agitó a temperatura ambiente. A esta solución se le añadió una solución de cloruro de 4-bromobenceno-1-sulfonilo (17,2 g, 67,2 mmol) en tolueno (44 mL). Después de que se completó la adición, la mezcla de reacción se desactivó con carbonato de sodio acuoso al 10 % (110 mL) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió tetrahidrofurano (44 mL) y la mezcla se lavó con HCl 0,5 M, agua y después con cloruro de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida y se secó para proporcionar el compuesto del título (27,7 g, 87 % de rendimiento), que se usó sin purificación adicional.

30

35

Ejemplo 24b (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 6-(terc-butoxicarbonilamino)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato

40

A una solución del compuesto del Ejemplo 24a (11,0 g, 15,4 mmol) en NMP (100 ml) se le añadió fenantridina-6(5H)-ona (3,15 g, 16,2 mmol) seguido de Cs_2CO_3 (7,53 g, 23,1 mmol). La mezcla resultante se calentó a 55 °C durante cuatro horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se dividió entre etil acetato (250 ml) y solución acuosa de bicarbonato de sodio al 5 % (200 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con solución acuosa al 5 % de bicarbonato de sodio (200 ml) seguido de salmuera (150 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto en forma de un sólido. El sólido se disolvió después en metil t-butil éter (200 ml), la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se filtró. El filtrado que contenía el producto deseado se concentró a presión reducida para obtener 7,95 g del producto 24b en forma de un sólido; MS-DCI/ NH_3 : 671 (M+H)⁺.

45

50

Ejemplo 24c Ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxílico (24c)

55

A una solución del producto del Ejemplo 24b (7,8 g, 11,6 mmol) en tetrahidrofurano (40 ml)/etanol (40 ml) se le añadió una solución acuosa de hidróxido de litio (0,84 g de hidróxido de litio en 40 ml de H_2O). La mezcla resultante se calentó a 50 °C durante dos horas y se enfrió a temperatura ambiente. Los solventes orgánicos se eliminaron en su mayor parte a presión reducida, y el residuo resultante se acidificó con una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % y se extrajo con etil acetato (200 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (200 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un sólido amarillo claro, que se secó después en un horno de vacío a 45 °C durante 18 h para obtener 7,5 g del producto 24c en forma de un sólido amarillo claro; MS-DCI/ NH_3 : 643 (M+H)⁺.

60

Ejemplo 24d. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-6-licarbamato

65

A una solución del producto del Ejemplo 24c (7,46 g, 11,6 mmol) en DMF (80 ml) se le añadió 1,1'-carbonildiimidazol (5,64 g, 34,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. A la solución anterior se le añadió después ciclopropanosulfonamida (4,21 g, 34,8 mmol) seguido de DBU (5,73 ml, 36,0 mmol). La mezcla resultante se

- 5 agitó a temperatura ambiente durante 14 horas. A la mezcla de reacción se le añadió EtOAc (200 ml), solución de ácido cítrico acuoso al 10 % (200 ml) y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (gradiente de etil acetato/heptano) para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (6,40 g, 74 % de rendimiento). MS (ESI): *m/z* = 746,1 [M+H].
- 10 Ejemplo 25. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-6-(pirazino-2-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- 15 Ejemplo 25a (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-amino-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida clorhidrato
- 20 A una suspensión del producto del Ejemplo 24 (0,35 g, 0,47 mmol) en acetonitrilo (5 mL) se le añadió una solución 4 M de HCl en dioxano (0,6 mL, 2,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El solvente se evaporó a presión reducida y el sólido resultante se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (0,32 g, rendimiento cuantitativo).
- 25 Ejemplo 25b. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-6-(pirazino-2-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- 30 A una solución del Ejemplo 25a (320 mg, 0,47 mmol) en dimetilformamida (5 mL) se le añadió ácido pirazinocarboxílico (0,065 g, 0,52 mmol), HATU (214 mg, 0,56 mmol) y diisopropiletilamina (0,2 mL, 1,18 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 horas y después se dividió entre bicarbonato de sodio acuoso al 5 % y etil acetato. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cristalización con etil acetato/hexano para dar el producto deseado (155 mg, 44 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. MS (ESI): *m/z* = 752,0 [M+H].
- 35 Ejemplo 26. Ciclopentil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-6-ilarbamato
- 40 Ejemplo 26a (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 6-(ciclopentiloxicarbonilamino)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato
- 45 El Ejemplo 26a se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24b, mediante el reemplazo del compuesto del Ejemplo 24a con el compuesto (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 2-(4-bromofenilsulfoniloxi)-6-(ciclopentiloxicarbonilamino)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato, para proporcionar el compuesto del título.
MS (DCI/NH₃): *m/z* = 683,0 [M+H]
- 50 Ejemplo 26b Ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-(ciclopentiloxicarbonilamino)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxílico
- 55 El Ejemplo 26b se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24c, mediante el reemplazo del compuesto 24b por el compuesto 26a, para proporcionar el compuesto del título.
MS (DCI/NH₃): *m/z* = 655,0 [M+H].
- 60 Ejemplo 26c.
Ciclopentil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-6-ilarbamato
- 65 El compuesto del título del Ejemplo 26 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24, mediante el reemplazo del compuesto 24c con el compuesto 26b, para proporcionar el compuesto del título.
MS (DCI/NH₃): *m/z* = 758,0 [M+H].
- Ejemplo 27. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

- El Ejemplo 27 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 5-metil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 754,2$ [M+H].
- 5 Ejemplo 28. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-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)-5-metilisoxazolo-3-carboxamida
- 10 El Ejemplo 28 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 755,1$ [M+H].
- 15 Ejemplo 29. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- 20 El Ejemplo 29 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 766,1$ [M+H].
- 25 Ejemplo 30. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-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)tiazol-5-carboxamida
- 30 El Ejemplo 30 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido tiazol-5-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 757,1$ [M+H].
- 35 Ejemplo 31. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(2-fluorobenzamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- 40 El Ejemplo 31 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 2-fluorobenzoico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 768,1$ [M+H].
- 45 Ejemplo 32. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-6-(piridazino-4-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- 50 El Ejemplo 32 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido piridazino-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 752,1$ [M+H].
- 55 Ejemplo 33. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-6-(pirimidino-4-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo [1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- 60 El Ejemplo 33 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido pirimidino-4-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.
MS (ESI): $m/z = 752,1$ [M+H].
- 65 Ejemplo 34. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo [1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida
- El Ejemplo 34 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 1-metil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 754,2$ [M+H].

Ejemplo 35. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(2-hidroxi-2-metilpropanamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 35 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 2-hidroxi-2-metilpropanoico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 732,2$ [M+H].

Ejemplo 36. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 36 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 25, mediante el reemplazo del ácido 2-pirazinocarboxílico con ácido 1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxílico. La purificación del material bruto por cromatografía de fase inversa mediante la elución con acetonitrilo/agua/TFA proporcionó el compuesto del título.

MS (ESI): $m/z = 768,1$ [M+H].

Ejemplo 37. Ciclopentil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(2-fluorofenantridin-6-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-6-ilarbamoato

Ejemplo 37a. 5'-Fluoro-2'-nitrobifenil-2-carboxilato

A un recipiente de microondas se añadió ácido 2-(metoxicarbonil)fenilborónico (63,4 mg, 0,352 mmol), 2-bromo-4-fluoro-1-nitrobenzoceno (77 mg, 0,35 mmol), diacetoxipaladio (0,93 mg, 4,1 μ mol) y dicitclohexil(2',6'-dimetoxibifenil-2-il)fosfina (3,47 mg, 8,45 μ mol). Se añadieron etanol (1760 μ l) y carbonato de sodio (176 μ l, 0,352 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar en un reactor de microondas a 100 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía de capa fina preparativa (eluyente: hexano/etil acetato 9:1) para proporcionar metil 5'-fluoro-2'-nitrobifenil-2-carboxilato (37a, 54,8 mg, 0,199 mmol, 56,6 % de rendimiento).

Ejemplo 37b. 2-fluoro-5-hidroxifenantridin-6(5H)-ona

A una solución del producto del Ejemplo 37a (metil 5'-fluoro-2'-nitrobifenil-2-carboxilato, 56,79 mg, 0,206 mmol) en metanol (9 mL) se le añadió paladio al 10 % sobre carbono (15,6 mg, 0,015 mmol). El matraz se equipó con un balón de hidrógeno y se desgasificó tres veces con hidrógeno. La mezcla de reacción se agitó, se diluyó con dimetilformamida y se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar 2-fluoro-5-hidroxifenantridin-6(5H)-ona (37b, 46,36 mg, 0,202 mmol, 98 % de rendimiento).

Ejemplo 37c. 2-Fluorofenantridin-6(5H)-ona

Una mezcla del producto del Ejemplo 37b (2-fluoro-5-hidroxifenantridin-6(5H)-ona, 46,4 mg, 0,202 mmol), ácido acético (3 mL) y zinc (99 mg, 1,517 mmol) se calentó a reflujo a 130 °C durante 1 h. La mezcla se diluyó con dimetilformamida y se filtró, y el filtrado se concentró para dar un sólido de color canela (100 mg). El sólido se dividió entre diclorometano/dimetilformamida (2/1, 50 mL) y carbonato de sodio (10 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 10 ml) y se concentró para proporcionar 2-fluorofenantridin-6(5H)-ona (37c, 38,2 mg, 88 % de rendimiento).

Ejemplo 37d. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 6-(ciclopentiloxicarbonilamino)-2-(2-fluorofenantridin-6-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato

El Ejemplo 37d se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 37b, mediante la sustitución con (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 2-(4-bromofenilsulfoniloxi)-6-(ciclopentiloxicarbonilamino)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato del 1a, y mediante la sustitución con 2-fluorofenantridin-6(5H)-ona (80c) de la fenantridin-6(5H)-ona, para proporcionar el compuesto del título con un rendimiento del 48 %.

Ejemplo 37e. Ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-(ciclopentiloxicarbonilamino)-2-(2-fluorofenantridin-6-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxílico

El Ejemplo 37e se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 67c, mediante la sustitución con el producto del Ejemplo 37d del producto del Ejemplo 24b.

Ejemplo 37f. Ciclopentil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(2-fluorofenantridin-6-iloxi)-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

5 El compuesto del Ejemplo 37 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24, mediante la sustitución con el producto del Ejemplo 37e del producto del Ejemplo 24c (14,6 mg, 78 % de rendimiento). MS (ESI): $m/z = 776,1$ [M+H].

10 Ejemplo 38. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(2,9-difluorofenantridin-6-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-6-ilcarbamato

Ejemplo 38a. Metil 5,5'-difluoro-2'-nitrobifenil-2-carboxilato

15 A 2-bromo-4-fluoro-1-nitrobenceno (185,16 mg, 0,842 mmol) se le añadió Pd₂dba₃ (23,12 mg, 0,025 mmol) y polvo de cobre (271 mg, 4,26 mmol). Se añadieron dimetilsulfóxido (2,3 ml) y metil 2-bromo-4-fluorobenzoato (0,122 ml, 0,842 mmol) y la mezcla se agitó vigorosamente a 100 °C durante 2 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con etil acetato (20 ml) y se filtró. El filtrado se lavó con agua y se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró para dar un aceite amarillo (279,8 mg). Este aceite se usó sin purificación para la preparación del Ejemplo 38b.

20 Ejemplo 38b. 2,9-Difluoro-5-hidroxifenantridin-6(5H)-ona

Al producto del Ejemplo 38a (279,8 mg) se le añadió metanol (7,5 mL) y paladio al 10 % sobre carbono (76 mg, 0,071 mmol). El matraz se equipó con un balón de hidrógeno y la mezcla se desgasificó y se volvió a llenar con hidrógeno tres veces. La mezcla se agitó en hidrógeno durante 16 horas, se diluyó con dimetilformamida y se filtró. El filtrado se concentró para dar un sólido rojo. Este material se trituró con diclorometano/hexano (9/1) y se filtró para proporcionar el compuesto del título (Ejemplo 38b, 43,15 mg, 0,175 mmol, rendimiento cuantitativo).

30 Ejemplo 38c. 2,9-Difluorofenantridin-6(5H)-ona

El Ejemplo 38c se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 37c, mediante la sustitución con el producto del Ejemplo 38b del producto del Ejemplo 80b.

35 Ejemplo 38d. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil 6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(2,9-difluorofenantridin-6-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato

40 El Ejemplo 38d se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24c, mediante la sustitución con el producto del Ejemplo 38c de la fenantridin-6(5H)-ona.

Ejemplo 38e. Ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(2,9-difluorofenantridin-6-iloxi)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxílico

45 El Ejemplo 38e se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24c, mediante la sustitución con el producto del Ejemplo 38d del producto del Ejemplo 24b.

50 Ejemplo 38f. terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-(2,9-difluorofenantridin-6-iloxi)-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

El Ejemplo 38 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24, mediante la sustitución con el producto del Ejemplo 38e del producto del Ejemplo 24c. MS (ESI): $m/z = 782,1$ [M+H].

55 Ejemplo 39. terc-butil (2R,6S,13aR,14aR,16aS)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)octadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato

60 Se añadió etanol desgasificado con argón (0,8 ml) al producto del Ejemplo 24 (79,1 mg, 0,106 mmol) y catalizador de Crabtree (3,45 mg, 4,24 μmol) (4 % molar) en una botella de presión de 4 mL. El recipiente se purgó tres veces con argón y después se presurizó con hidrógeno (50 psi). La mezcla se calentó a 50 °C en hidrógeno y se agitó durante 4,5 horas a 50 °C.

65 La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía de fase inversa, mediante la elución con un gradiente de acetonitrilo(TFA al 1%)/agua para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (70,41 mg, 0,094 mmol, 89 % de rendimiento). MS (ESI): $m/z = 748,2$ [M+H].

Ejemplo 40. Ciclopentil (2R,6S,13aR,14aR,16aS)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)octadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato

5 El Ejemplo 40 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 39, mediante el reemplazo del producto del Ejemplo 24 con el producto del Ejemplo 26. MS (ESI): $m/z = 760,2$ [M+H].

Ejemplo 41. terc-butil (2R,6S,13aR,14aR,16aS)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-14a-(tiofen-2-ilsulfonilcarbamoil)octadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato

10 El Ejemplo 41 se preparó de acuerdo con el procedimiento usado para la preparación del Ejemplo 24, mediante el reemplazo de la ciclopropanosulfonamida con tiofeno-2-sulfonamida. MS (ESI): $m/z = 788,0$ [M+H].

15 Ejemplo 42. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(2-metilpirimidina-5-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

Ejemplo 42a. Ácido (S)-2-(2-metilpirimidino-5-carboxamido) non-8-enoico.

20 La sal de dicitohexilamina del ácido Boc-2(S)-amino-non-8-eoico puede suspenderse en isopropil acetato, lavarse varias veces con una solución acuosa de ácido cítrico y después una vez con agua. El producto lavado, concentrado y después diluido de nuevo en isopropil acetato, puede hacerse reaccionar con HCl para producir sal HCl del ácido 2(S)-amino-non-8-eoico. El ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico, el carbonato de N,N'-disuccinimidilo y la N,N-dimetilaminopiridina pueden disolverse en N-metil-2-pirrolidona (NMP) y agitarse. A continuación, se añade sal HCl del ácido 2(S)-aminonon-8-eoico, seguido de trietilamina, y se agita para producir el compuesto del título del Ejemplo 42a, que puede cristalizarse mediante la adición de HCl seguido de agua.

Ejemplo 42b. (1R,2S)-etil-1-((2S,4R)-N-(terc-butoxicarbonil)-1-((S)-2-(2-metilpirimidino-5-carboxamido)non-8-enoil)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato

30 (2S,4R)-N-Boc-4-hidroxirolina puede hacerse reaccionar con 2-cloro-3-(tiofen-2-il)quinoxalina en NMP, en presencia de *t*-butóxido de sodio, para producir ácido (2S,4R)-1-(terc-butoxicarbonil)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)pirrolidino-2-carboxílico. Después puede añadirse metil terc-butil éter (MTBE) y agua. La capa acuosa se separa, se lava y después se añade HCl, seguido de extracción con MTBE. El producto extraído puede mezclarse con diisopropiletilamina (DIPEA) y HATU (CAS # 148893-10-1), y después puede hacerse reaccionar con sal tosionato de (1R,2S)-etil-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxilato en dimetilformamida (DMF) y tolueno. La reacción produce (2S,4R)-terc-butil 2-((1R,2S)-1-(etoxicarbonil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)pirrolidino-1-carboxilato, que puede extraerse con MTBE y lavarse con HCl, y después extraerse, lavarse, secarse y disolverse en 2-propanol.

40 Puede añadirse HCl a la solución de 2-propanol para producir (1R,2S)-etil-1-((2S,4R)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato, que puede cristalizarse mediante neutralización con NaOH.

45 (1R,2S)-etil 1-((2S,4R)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato, el compuesto del título del Ejemplo 42a, N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboximida, y clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida pueden mezclarse y agitarse en DMF durante horas, seguido de la adición de N,N-dimetiletildiamina. La reacción produce (1R,2S)-etil 1-((2S,4R)-1-((S)-2-(2-metilpirimidino-5-carboxamido)non-8-enoil)-4-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato, que puede disolverse en isopropil acetato y extraerse con H₃PO₄ acuoso y después extraerse con K₂HPO₄ acuoso. El producto puede hacerse reaccionar con di-terc-butildicarbonato en presencia de dimetilaminopiridina, seguido de extracción con una mezcla de una solución de ácido cítrico y una solución de cloruro de sodio, para producir el compuesto del título del Ejemplo 42b.

55 Ejemplo 42c. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil-6-(2-metilpirimidino-5-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato clorhidrato

60 El producto del Ejemplo 42b puede someterse a metátesis de cierre de anillo en presencia del catalizador Zhan-B en tolueno para producir (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-15-terc-butil 14a-etil 6-(2-metilpirimidino-5-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,16,16a-tetradecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a,15 (1H)-dicarboxilato. El catalizador puede neutralizarse con imidazol después de la reacción.

65 Puede cambiarse el solvente del producto de anillo cerrado de tolueno a acetonitrilo, seguido de la adición de cloruro de hidrógeno en dioxano y de calentamiento para producir el compuesto del título del Ejemplo 42c.

Ejemplo 42d. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(2-metilpirimidino-5-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

5 El producto aislado del Ejemplo 42c puede mezclarse con tetrahidrofurano, agua y LiOH·H₂O, y después calentarse y agitarse. La mezcla de reacción puede después enfriarse, añadirse H₃PO₄ acuoso, NaCl acuoso y 2-metiltetrahidrofurano, y la capa orgánica se separa, se lava y se filtra. Se añade MeCN a la capa orgánica concentrada, se calienta y se enfría, y después se añade dietilamina. La suspensión se calienta y se enfría para formar la sal de dietilamina del
10 (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-(2-metilpirimidino-5-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato, que puede lavarse y secarse posteriormente.

La sal de dietilamina puede mezclarse con tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano y H₃PO₄ acuoso. La capa orgánica se separa, se lava con NaCl acuoso y después se concentra y/o purifica. El producto puede mezclarse posteriormente
15 con NMP, seguido de la adición de carbonildimidazol (CDI) y después 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU). Puede añadirse posteriormente ciclopropilsulfonamida. La mezcla de reacción se agita durante horas. Después puede añadirse isopropil acetato, seguido de KH₂PO₄ acuoso y después H₃PO₄ acuoso. La capa orgánica puede aislarse, lavarse y purificarse para producir el compuesto del título del Ejemplo 42d.

20 Ejemplo 43. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-il)-3-metilisoxazolo-5-carboxamida

El Ejemplo 43 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 42, mediante
25 el reemplazo del ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico del Ejemplo 42a con ácido 3-metilisoxazolo-5-carboxílico en el Ejemplo 43a para producir ácido (S)-2-(3-metilisoxazolo-5-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de manera similar al Ejemplo 42 para producir el Ejemplo 43.

30 Ejemplo 44. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-il)-5-metilisoxazolo-3-carboxamida

El Ejemplo 44 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 42, mediante
35 el reemplazo del ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico del Ejemplo 42a con ácido 5-metilisoxazolo-3-carboxílico en el Ejemplo 44a para producir ácido (S)-2-(5-metilisoxazolo-3-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de manera similar al Ejemplo 42 para producir el Ejemplo 44.

40 Ejemplo 45. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(3-fluorobenzamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 45 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 42, mediante
45 el reemplazo del ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico del Ejemplo 42a con ácido 3-fluorobenzoico en el Ejemplo 45a para producir ácido (S)-2-(3-fluorobenzamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de una manera similar al Ejemplo 42 para producir el Ejemplo 45.

50 Ejemplo 46. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-6-(pirimidino-4-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 46 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 42, mediante
55 el reemplazo del ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico del Ejemplo 42a con ácido pirimidino-4-carboxílico en el Ejemplo 46a para producir ácido (S)-2-(pirimidino-4-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de manera similar al Ejemplo 42 para producir el Ejemplo 46.

Ejemplo 47. N-((2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-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]diazaciclopentadecino-6-il)isoxazolo-5-carboxamida

60 El Ejemplo 47 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 42, mediante el reemplazo del ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico del Ejemplo 42a con ácido isoxazolo-5-carboxílico en el Ejemplo 47a para producir ácido (S)-2-(isoxazolo-5-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de una manera similar al Ejemplo 42 para producir el Ejemplo 47.

Ejemplo 48. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)quinoxalin-2-iloxi)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

5 El Ejemplo 48 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 42, mediante el reemplazo del ácido 2-metilpirimidino-5-carboxílico del Ejemplo 42a con ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico en el Ejemplo 48a para producir ácido (S)-2-(5-metilpirazino-2-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de una manera similar al Ejemplo 42 para producir el Ejemplo 48.

10 Ejemplo 49. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

Ejemplo 49a. Ácido (S)-2-(5-metilpirazino-2-carboxamido)non-8-enoico.

15 La sal de dicitohexilamina del ácido Boc-2(S)-amino-non-8-enoico puede suspenderse en isopropil acetato, lavarse varias veces con una solución acuosa de ácido cítrico y después una vez con agua. El producto lavado, concentrado y después diluido de nuevo en isopropil acetato, puede hacerse reaccionar con HCl para producir sal HCl del ácido 2(S)-amino-non-8-enoico. El ácido 5-metil-2-pirazinocarboxílico, el carbonato de N,N'-disuccinimidilo y la N,N-dimetilaminopiridina pueden disolverse en N-metil-2-pirrolidona (NMP) y agitarse. A continuación se añade la sal de HCl del ácido 2(S)-amino-non-8-enoico, seguido de trietilamina, y se agita para producir el compuesto del título del Ejemplo 49a, que puede cristalizarse mediante la adición de HCl seguido de agua.

20 Ejemplo 49b. (1R,2S)-etil-1-((2S,4R)-N-(terc-butoxicarbonil)-1-((S)-2-(5-metilpirazino-2-carboxamido)non-8-enoil)-4-(fenantridin-6-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato

25 Puede hacerse reaccionar (2S,4R)-N-Boc-4-hidroxirolina con 6-clorofenantridina en NMP, en presencia de *t*-butóxido de sodio, para producir ácido (2S,4R)-1-(terc-butoxicarbonilo)-4-(fenantridin-6-iloxi)pirrolidino-2-carboxílico. Después puede añadirse metil terc-butil éter (MTBE) y agua. La capa acuosa se separa, se lava y después se añade HCl, seguido de extracción con MTBE. El producto extraído puede mezclarse con diisopropiletilamina (DIPEA) y HATU (CAS # 148893-10-1), y después puede hacerse reaccionar con sal tosilato de (1R,2S)-etil-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxilato en dimetilformamida (DMF) y tolueno. La reacción produce (2S,4R)-terc-butil 2-((1R,2S)-1-(etoxicarbonil)-2-vinilciclopropilcarbamoil)-4-(fenantridin-6-iloxi)pirrolidino-1-carboxilato, que puede extraerse con MTBE y lavarse con HCl, posteriormente extraerse, lavarse, secarse y disolverse en 2-propanol.

30 Puede añadirse HCl a la solución de 2-propanol para producir (1R,2S)-etil-1-((2S,4R)-4-(fenantridin-6-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato, que puede cristalizarse mediante la neutralización con NaOH.

35 (1R,2S)-etil-1-((2S,4R)-4-(fenantridin-6-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato, el compuesto del título del Ejemplo 49a, N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboximida, y clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida pueden mezclarse y agitarse en DMF, seguido de la adición de N,N-dimetiletildiamina. La reacción produce (1R,2S)-etil-1-((2S,4R)-1-((S)-2-(5-metilpirazino-2-carboxamido)non-8-enoil)-4-(fenantridin-6-iloxi)pirrolidino-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato, que puede disolverse en isopropil acetato y extraerse con H₃PO₄ acuoso y después extraerse con K₂HPO₄ acuoso. El producto puede hacerse reaccionar con di-terc-butildicarbonato en presencia de dimetilaminopiridina, seguido de extracción con una mezcla de una solución de ácido cítrico y una solución de cloruro de sodio, para producir el compuesto del título del Ejemplo 49b.

40 Ejemplo 49c. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato clorhidrato

45 El producto del Ejemplo 49b puede someterse a metátesis de cierre de anillo en presencia de catalizador Zhan-B en tolueno para producir (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-15-terc-butil 14a-etil 6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,16,16a-tetradecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a,15(1H)-dicarboxilato. El catalizador puede neutralizarse con imidazol después de la reacción.

50 Puede cambiarse el solvente del producto de anillo cerrado de tolueno a acetonitrilo, seguido de la adición de cloruro de hidrógeno en dioxano y calentamiento para producir el compuesto del título del Ejemplo 49c.

55 Ejemplo 49d. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

60 El producto aislado del Ejemplo 49c puede mezclarse con tetrahidrofurano, agua y LiOH·H₂O, y después calentarse y agitarse. La mezcla de reacción puede después enfriarse, añadirse H₃PO₄ acuoso, NaCl acuoso y 2-metiltetrahidrofurano, y la capa orgánica se separa, se lava y se filtra. Se añade MeCN a la capa orgánica concentrada, se calienta y se enfría,

y después se añade dietilamina. La suspensión se calienta y se enfría para formar sal de dietilamina de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-6-(5-Metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato, que puede lavarse y secarse posteriormente.

La sal de dietilamina puede mezclarse con tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano y H₃PO₄ acuoso. La capa orgánica se separa, se lava con NaCl acuoso y después se concentra y/o purifica. El producto puede mezclarse posteriormente con NMP, seguido de la adición de carbonildiimidazol (CDI) y después 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU). Puede añadirse posteriormente ciclopropilsulfonamida. La mezcla de reacción se agita durante horas. Después puede añadirse isopropil acetato, seguido de KH₂PO₄ acuoso y después H₃PO₄ acuoso. La capa orgánica puede aislarse, lavarse y purificarse para producir el compuesto del título del Ejemplo 49d. El producto aislado puede disolverse posteriormente en isopropil acetato y después la solución se diluye con etanol. Puede añadirse agua a la solución resultante en forma de porciones con tiempos de espera adecuados después de cada adición para asegurar la sobresaturación. La adición de agua finaliza justo cuando el sistema de solvente ternario se vuelve bifásico debido a la inmiscibilidad parcial del sistema solvente isopropil acetato, etanol, y agua. La suspensión puede agitarse durante horas y después el sólido se aísla mediante filtración y se seca para producir el hidrato cristalino del compuesto del título.

Ejemplo 50. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 50 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 49, mediante el reemplazo del ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico del Ejemplo 49a con ácido (1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxílico en el Ejemplo 50a para producir ácido (S)-2-(1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deben proceder de manera similar al Ejemplo 49 para producir el Ejemplo 50.

Ejemplo 51. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 51 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 49, mediante el reemplazo del ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico del Ejemplo 49a con ácido 5-metil-1H-pirazolo-3-carboxílico en el Ejemplo 51a para producir ácido (S)-2-(5-metil-1H-pirazolo-3-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de una manera similar al Ejemplo 49 para producir el Ejemplo 51.

Ejemplo 52. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(2-fluorobenzamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

El Ejemplo 52 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 49, mediante el reemplazo del ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico del Ejemplo 49a con ácido 2-fluorobenzoico en el Ejemplo 52a para producir ácido (S)-2-(2-fluorobenzamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de manera similar al Ejemplo 49 para producir el Ejemplo 52.

Ejemplo 53. (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-6-(pirazino-2-carboxamido)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida

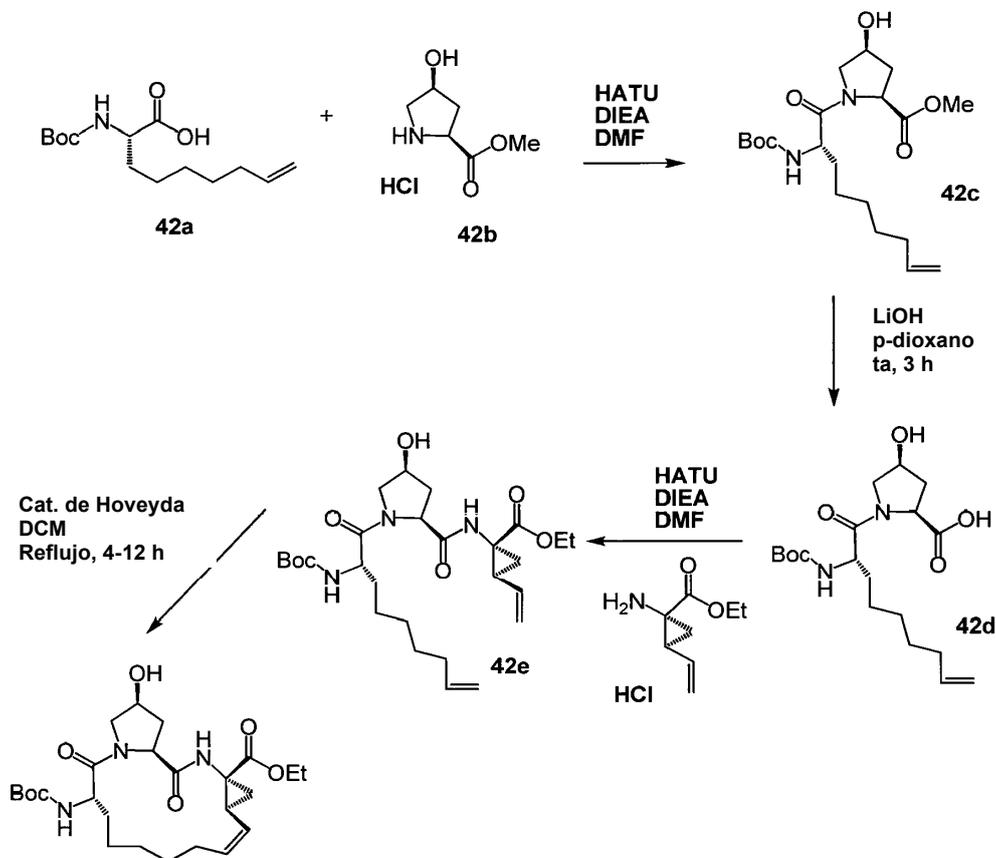
El Ejemplo 53 puede prepararse de acuerdo con el procedimiento descrito para la preparación del Ejemplo 49, mediante el reemplazo del ácido 5-metilpirazino-2-carboxílico del Ejemplo 49a con ácido pirazinocarboxílico en el Ejemplo 53a para producir ácido (S)-2-(pirazino-2-carboxamido)non-8-enoico. Todas las etapas posteriores deberían proceder de manera similar al Ejemplo 49 para producir el Ejemplo 53.

Ejemplo 54 terc-butil (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-5,16-dioxo-2-(tiazolo[4,5-c]quinolin-4-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-6-ilarbamato

Una mezcla de éster metílico del ácido 5-bromotiazolo-4-carboxílico (0,521 g, 2,35 mmol), 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (0,514 g, 2,35 mmol), cloruro de 1,1'-bis(di-t-butilfosfino)ferroceno paladio (0,060 g, 0,094 mmol) y carbonato de sodio (1,17 mL de solución acuosa 2M) en tetrahidrofurano (12 mL) se agitó en nitrógeno a ta durante 48 h. La mezcla de reacción después se calentó a 50 °C durante 16 h adicionales. La mezcla de reacción después se enfrió a ta, se diluyó con diclorometano (120 mL) y dimetilformamida (40 mL) y se lavó con agua (20 mL). El sólido resultante se aisló por filtración al vacío para proporcionar el compuesto del título (0,251 mg, 53 % de rendimiento, tiazolo[4,5-c]quinolin-4(5H)-ona).

Ejemplo 55

Síntesis del precursor peptídico cíclico



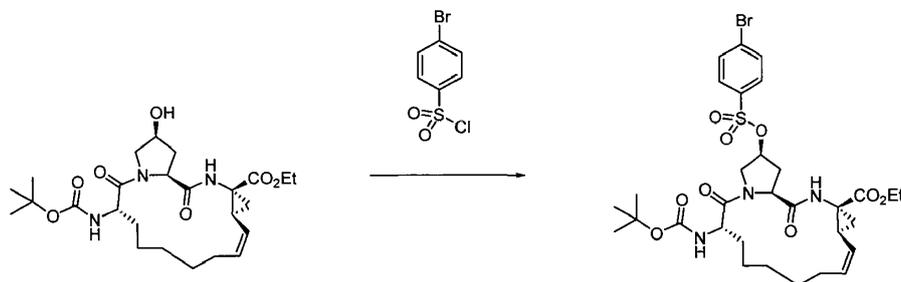
A una solución de ácido Boc-L-2-amino-8-nonenoico **42a** (1,36 g, 5 mmol) y el éster metílico de cis-L-hidroxiprolina disponible comercialmente **42b** (1,09 g, 6 mmol) en 15 ml de DMF, se le añadió DIEA (4 ml, 4 eq.) y HATU (4 g, 2 eq.). El acoplamiento se llevó a cabo a 0 °C durante un período de 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con 100 mL de EtOAc, y después se lavó con ácido cítrico al 5 % 2x20 ml, agua 2x20 ml, NaHCO₃ 1M 4x20 ml y salmuera 2x10 ml, respectivamente. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y después se evaporó, lo que proporcionó el dipéptido **42c** (1,91 g, 95,8 %) que se identificó mediante HPLC (tiempo de retención = 8,9 min, 30-70 %, 90 % B) y MS (encontrado 421,37, M+Na⁺).

El dipéptido **42c** (1,91 g) se disolvió en 15 mL de dioxano y 15 mL de solución acuosa de LiOH 1 N y la reacción de hidrólisis se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se acidificó con ácido cítrico al 5 % y se extrajo con 100 mL de EtOAc, y después se lavó con agua 2x20 ml y salmuera con 2x20 ml, respectivamente. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y después se eliminó al vacío, lo que produjo el compuesto de ácido carboxílico libre **42d** (1,79 g, 97 %), que se usó para la siguiente etapa de síntesis sin necesidad de purificación adicional.

A una solución del ácido libre obtenido anteriormente (1,77, 4,64 mmol) en 5 ml de DMF, se añadieron éster etílico del aminoácido D-β-vinilciclopropano (0,95 g, 5 mmol), DIEA (4 ml, 4 eq.) y HATU (4g, 2eq). El acoplamiento se llevó a cabo a 0 °C durante un período de 5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 80 mL de EtOAc y a continuación se lavó con ácido cítrico al 5 % 2x20 ml, agua 2x20 ml, NaHCO₃ 1M 4x20 ml y salmuera 2x10 ml, respectivamente. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y después se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice mediante el uso de diferentes relaciones de hexanos:EtOAc como fase de elución (5:1 → 3:1 → 1:1 → 1:2 → 1:5). El tripéptido lineal **42e** se aisló como un aceite después de la eliminación de los solventes de elución (1,59 g, 65,4 %), se identificó por HPLC (tiempo de retención = 11,43 min) y MS (encontrado 544,84, M+Na⁺).

Una solución del tripéptido lineal **42e** (1,51 g, 2,89 mmol) en 200 ml de DCM seco se desoxigenó mediante el burbujeo de N₂. Después se añadió el catalizador de 1^{ra} generación de Hoveyda (eq. 5 % molar) en forma de sólido. La reacción se sometió a reflujo en atmósfera de N₂ durante 12 horas. El solvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice mediante el uso de diferentes relaciones de hexanos:EtOAc como fase de elución (9:1 → 5:1 → 3:1 → 1:1 → 1:2 → 1:5). El precursor de péptido cíclico se aisló en forma de polvo blanco después de la eliminación de los solventes de elución (1,24 g, 87 %), se identificó por HPLC (tiempo de retención = 7,84 min, 30-70 %, 90 % B) y MS (encontrado 516,28, M+Na⁺).

(2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil2-(4-bromofenilsulfoniloxi)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-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]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato

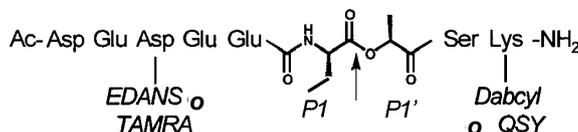


Una solución de (2S,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-hidroxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxilato (22,1 g, 44,8 mmol) y DABCO (8,5 g, 76,7 mmol) en tolueno (88 mL) se agitó a temperatura ambiente. A esta solución se le añadió una solución de cloruro de 4-bromobenceno-1-sulfonilo (17,2 g, 67,2 mmol) en tolueno (44 mL). Después de que se completó la adición, la mezcla de reacción se desactivó con carbonato de sodio acuoso al 10 % (110 mL) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió tetrahidrofurano (44 mL) y la mezcla se lavó con HCl 0,5 M, agua y después con cloruro de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida y se secó para proporcionar el compuesto del título (27,7 g, 87 % de rendimiento), que se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 56

Medición de la potencia de inhibición con enzima proteasa NS3 purificada

La actividad de las proteasas NS3 del VHC recombinantes derivadas de aislados que representan los genotipos 1, 2, 3 o 4 se mide mediante escisión del sustrato peptídico siguiente:



El sustrato se marca con un fluorógeno y un extintor de fluorescencia. La escisión resulta en la liberación del extintor y un aumento de la fluorescencia. La proteasa NS3 se incubó con una serie de diluciones de inhibidor en NaCl 150 mM, glicerol al 10 %, DTT 5 mM, con o sin dodecilmaltósido al 0,01 % durante 30 minutos o 300 minutos. El sustrato se añade a una concentración de 5 μ M para iniciar la reacción, y la fluorescencia se mide a intervalos de 2 minutos durante 30 minutos. Las concentraciones de enzima varían entre 10 y 100 nM en ausencia de detergente, o 10 veces más baja en presencia de detergente. Los péptidos sustrato se marcan con EDANS y DABCYL (excitación 355 nm, emisión 485 nm) o TAMRA y QSY (excitación 544 nm, emisión 590 nm). Para la determinación de la K_{150} de rutina, se usan diluciones en serie de 3 veces que comienzan con concentraciones iniciales de 100 μ M, 200 μ M o 2 mM. Para los compuestos con valores de K_i cercanos o inferiores a la concentración de enzima, se usa un formato de cálculo de unión estrecha, con 24 diluciones de inhibidor que cubren un intervalo de 0 a 100 nM de inhibidor. Los valores de K_i se calculan mediante el uso del formato de ensayo de unión estrecha, de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$V = A \{ [(K + I - E)^2 + 4KE]^{1/2} - (K + I - E) \},$$

donde I = concentración total de inhibidor, E = concentración de enzima activa, K = valor de K_i aparente y $A = [k_{cat}]/2[K_m + (S)]$.

Líneas celulares de replicones

Pueden usarse dos líneas celulares de replicones subgenómicas para la caracterización de compuestos en cultivo celular: una derivada del genotipo 1a y una derivada del genotipo 1b. Ambos constructos de replicón son replicones subgenómicos bicistrónicos similares esencialmente a los descritos por Bartenschlager y otros (Lohmann y otros, Science (1999) 285(5424):110-113). El constructo del replicón del genotipo 1a contiene la región codificante NS3-NS5B derivada de la cepa H77 del VHC (1a-H77) (Blight y otros, J Virol (2003) 77(5):3181-3190). El primer cistrón del constructo consiste en los primeros 36 nucleótidos del gen central del VHC 1a-H77 fusionado a un indicador de luciferasa de luciérnaga y un marcador seleccionable de neomicina fosfotransferasa (Neo). Las regiones codificantes de luciferasa y Neo se separan por la proteasa FMDV 2a. El segundo cistrón contiene la región de codificación NS3-NS5B derivada de 1a-H77 con la

adición de mutaciones adaptativas E1202G en NS3, K1691R en NS4A y K2040R y S2204I en NS5A. El constructo del replicón 1b-Con-1 es idéntico al replicón 1a-H77, excepto que los NTR 5' y 3' y la región codificante NS3-NS5B pueden derivarse de la cepa 1b-Con-1 (Blight y otros, Science (2000) 290 (5498): 1972-1974), y las mutaciones adaptativas son E1202G y T1280I en NS3 y S2204I en NS5A.

5

Pruebas de compuestos sobre los replicones

10

15

20

25

30

35

Las líneas celulares de replicones pueden mantenerse en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contiene 100 UI/ml de penicilina, 100 mg/ml de estreptomina (Invitrogen), 200 mg/ml de G418 (Invitrogen) y 10 % (v/v) de suero bovino fetal (FBS, por sus siglas en inglés). Las células que contienen replicón pueden sembrarse en placas de 96 pocillos a una densidad de 5000 células por pocillo en 100 μ l de DMEM que contiene FBS al 5 %. Al día siguiente, el compuesto puede diluirse inicialmente en dimetilsulfóxido (DMSO) para generar un stock 200x del inhibidor en una serie de 8 diluciones semilogarítmicas. La serie de diluciones puede diluirse después 100 veces en el medio que contiene FBS al 5 %. Pueden añadirse cien microlitros de medio con el inhibidor a cada pocillo de la placa de cultivo celular de una noche que ya contiene 100 μ l de DMEM con FBS al 5 %. En ensayos en los que se evalúa el efecto de unión a proteínas sobre la potencia del inhibidor, el medio de las placas de cultivo de células de una noche puede reemplazarse con 200 μ l de DMEM que contiene 40 % de plasma humano (Innovative Research) más 5 % de FBS, así como también compuesto. Las células pueden cultivarse durante 4 días en incubadoras de cultivo tisular. Los efectos inhibidores de los compuestos contra los replicones pueden determinarse mediante la medición del nivel de luciferasa o el ARN del VHC. El ensayo de luciferasa puede realizarse mediante el uso de un kit Luciferase Assay System (Promega) mediante el seguimiento de las instrucciones del fabricante. Brevemente, se retira el medio de cultivo celular y los pocillos se lavan con 200 μ l de solución salina tamponada con fosfato. Se añade a cada pocillo tampón Passive Lysis (Promega, WI) y las placas se incuban durante 30 min con balanceo para lisar las células. Se añade solución de luciferina (50 μ l, Promega) y se mide la actividad de luciferasa con un luminómetro Victor II (Perkin-Elmer). Para determinar los niveles de ARN del VHC, pueden realizarse extracciones de ARN mediante el uso del kit CellsDirect (Invitrogen) y puede medirse el número de copias de ARN del VHC mediante el uso del sistema de qRT-PCR SuperScript III Platinum One-Step (Invitrogen) y cebadores específicos para la región no traducida 5' del VHC. La citotoxicidad puede determinarse mediante el ensayo colorimétrico de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio bromuro (MTT) de la siguiente manera. Las células de replicón se siembran en placas de 96 pocillos (4000 células por pocillo), al día siguiente se añaden diluciones de compuestos como en el ensayo de actividad, y las células se cultivan en presencia de los inhibidores durante 4 días. La solución de MTT se diluye en DMEM que contiene FBS al 5 % y se añaden 60 μ l de la solución a las células. Después de 4 horas, las células se solubilizan mediante la adición de 30 μ l de SDS (20 % en HCl 0,02 N). Las placas se incuban durante toda la noche y la densidad óptica puede medirse a 570 nm. Para determinar la CE_{50} y la DT_{50} de los compuestos, los datos de luciferasa, inhibición de ARN y MTT pueden analizarse mediante el uso del software GraphPad Prism 4 (ecuación: dosis-respuesta sigmoidal - pendiente variable).

Mutantes en replicones transitorios

40

45

50

Las mutaciones detectadas en estudios de selección de resistencia pueden introducirse en constructos de replicones transitorios de tipo salvaje en base a los genotipos 1a-H77 y 1b-N. Ambos replicones son constructos subgenómicos bicistrónicos que contienen un informador de luciferasa de luciérnaga similar a los descritos anteriormente, pero no contienen un marcador seleccionable de Neo y, por lo tanto, solo son adecuados para ensayos de replicación transitorios. El replicón 1a-H77 para ensayos transitorios difiere además del replicón en la línea celular estable en que contiene NS2 a NS5B en el segundo cistrón. El replicón de la cepa 1b-N contiene NS3 a NS5B en el segundo cistrón, con mutaciones adaptativas E1202G en NS3 y S2204I en NS5A. La mutagénesis puede realizarse mediante el uso del kit de mutagénesis dirigida a sitio Stratagene QuikChange XL II. Las secuencias mutantes pueden confirmarse, los plásmidos pueden linealizarse con la enzima de restricción *Xba*I y usarse como plantilla para reacciones de transcripción in vitro para producir ARN de replicón mutante para las transfecciones transitorias. La transcripción in vitro puede realizarse con el kit T7 Megascript (Ambion).

55

60

Las transfecciones de replicones transitorios pueden realizarse esencialmente como se describió por Mo y otros (Antimicrob Agents Chemother (2005) 49(10):4305-4314) con ligeras modificaciones. Pueden usarse quince microgramos de RNA plantilla para electroporar 3×10^6 células en un volumen de 200 μ l en una cubeta de 0,2 cm. Las células usadas para transfecciones transitorias pueden ser células Huh7 obtenidas mediante el curado de células que contienen replicones con IFN (Mo y otros, *supra*). La electroporación puede hacerse con un Gene Pulser II (Bio-Rad, CA) a 480 V y 25 μ F, mediante el uso de dos pulsos manuales. Las células transfectadas pueden diluirse a $7,5 \times 10^4$ células/ml y sembrarse en placas de 96 pocillos a $7,5 \times 10^3$ células por pocillo en DMEM con FBS al 5 % y penicilina 100 UI/ml, estreptomina 100 mg/ml (Invitrogen). Cuatro horas después de la transfección, se cosecha una placa para medir la luciferasa; esta placa puede proporcionar una medida de la cantidad de ARN de entrada que puede traducirse, y por lo tanto de la eficacia de la transfección. A las placas restantes, pueden añadirse diluciones en serie del compuesto de prueba en DMSO (concentración final de DMSO al 0,5 %) y las placas se incuban durante 4 días.

65

Los compuestos ilustrativos de la presente descripción se evaluaron para sus actividades anti-VHC. Muchos de los compuestos evaluados mostraron actividades inesperadas anti-VHC, que incluyen actividades excelentes en ensayos bioquímicos contra las proteasas del VHC que representan diversos genotipos del VHC, actividades superiores en ensayos de replicones del VHC estándar que incluyen actividad contra cepas de VHC 1a-H77 y 1b-con1 en ausencia o

presencia de un 40 % de plasma humano, y/o actividades excelentes en ensayos de repicones transitorios frente a mutantes resistentes a fármacos en una serie de fondos genéticos diferentes del VHC.

5 A menos que se defina de cualquier otra manera, a todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción se les otorga el significado comúnmente conocido por los expertos en la técnica.

Reivindicaciones

1. Una composición farmacéutica, que comprende:
- 5 (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida o una sal aceptable farmacéuticamente de esta en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente; y
- 10 (a) un agente antiviral o una sal aceptable farmacéuticamente de este; o
(b) un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este;
- en donde:
- 15 el agente antiviral comprende uno o más inhibidores de un objetivo en el ciclo de vida del VHC seleccionado del grupo que consiste en helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, ciclofilina NS5A y el sitio interno de entrada al ribosoma; y
el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.
- 20 2. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica se formula como una forma de dosificación sólida.
3. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 2, en donde la forma de dosificación sólida es un comprimido.
- 25 4. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la infección por el VHC en un sujeto, que comprende:
- 30 (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-N-(ciclopropilsulfonil)-6-(5-metilpirazino-2-carboxamido)-5,16-dioxo-2-(fenantridin-6-iloxi)-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecino-14a-carboxamida o una sal aceptable farmacéuticamente de esta en combinación con un portador o excipiente aceptable farmacéuticamente; y
- 35 (a) un agente antiviral o una sal aceptable farmacéuticamente de este; o
(b) un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa o una sal aceptable farmacéuticamente de este;
- en donde:
- 40 el agente antiviral comprende uno o más inhibidores de un objetivo en el ciclo de vida del VHC seleccionado del grupo que consiste en helicasa, polimerasa, metaloproteasa, CD81, NS5A, ciclofilina y el sitio interno de entrada al ribosoma; y
el inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa es ritonavir.
- 45 5. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 4, en donde la composición farmacéutica se formula como una forma de dosificación sólida.
6. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 5, en donde la forma de dosificación sólida es un comprimido.
- 50 7. La composición farmacéutica de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 4-6, para su uso en el tratamiento del genotipo 1 del VHC.