



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 326 707**

(51) Int. Cl.:

C07K 5/083 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

C12P 41/00 (2006.01)

C07K 5/087 (2006.01)

C07C 229/48 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **99938084 .3**

(96) Fecha de presentación : **09.08.1999**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1105413**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **13.06.2001**

(54) Título: **Tripéptidos inhibidores de la hepatitis C.**

(30) Prioridad: **10.08.1998 US 95931 P**
04.05.1999 US 132386 P

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.10.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.10.2009

(73) Titular/es:
BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) Ltd.
2100 rue Cunard
Laval, Québec H7S 2G5, CA

(72) Inventor/es: **Llinas-Brunet, Montse;**
Bailey, Murray, D.;
Cameron, Dale;
Faucher, Anne-Marie;
Ghiro, Elise;
Goudreau, Nathalie;
Halmos, Teddy;
Poupart, Marc-André;
Rancourt, Jean;
Tsantrizos, Youla, S.;
Wernic, Dominik, M. y
Simoneau, Bruno

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Tripéptidos inhibidores de la hepatitis C.

5 **Campo del invento**

El presente invento se refiere a compuestos, a un procedimiento para su síntesis, a composiciones y a métodos para el tratamiento de una infección causada por el virus de la hepatitis C (HCV). En particular, el presente invento proporciona nuevos compuestos análogos a péptidos, composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos análogos, y métodos para utilizar estos compuestos análogos en el tratamiento de una infección causada por el HCV. El presente invento proporciona también procedimientos y compuestos intermedios para la síntesis de estos compuestos análogos a péptidos.

Antecedentes del invento

El virus de la hepatitis C (HCV) es el principal agente etiológico de la hepatitis no A y no B posterior a transfusiones y adquirida en colectividades, por todo el mundo. Se estima que están infectadas por el virus más de 150 millones de personas por todo el mundo. Un alto porcentaje de los portadores quedan infectados crónicamente y muchos de ellos avanzan a una enfermedad crónica del hígado, la denominada hepatitis C crónica. Este grupo se encuentra a su vez en alto riesgo de contraer graves enfermedades del hígado, tales como cirrosis hepática, carcinoma hepatocelular y la enfermedad terminal del hígado que conduce a la muerte.

El mecanismo por el cual el HCV establece la persistencia vírica y causa una elevada tasa de personas con enfermedad crónica del hígado, no ha sido explicado todavía completamente. No se sabe cómo interactúa el HCV con el sistema inmune de un hospedante y lo elude. Además, todavía han de ser establecidos y demostrados los papeles que desempeñan las respuestas inmunes celulares y humorales en la protección frente a una infección causada por el HCV y frente a la enfermedad. Se ha informado acerca de inmunoglobulinas para la profilaxia de hepatitis vírica asociada con transfusiones, pero el Centro para el Control de Enfermedades no recomienda actualmente un tratamiento con inmunoglobulinas para esta finalidad. La falta de una respuesta inmune protectora eficaz está obstaculizando el desarrollo de una vacuna o de adecuadas medidas de profilaxia posteriores a la exposición, de manera tal que, en el plazo inmediato, las esperanzas se restringen firmemente a intervenciones antivíricas.

Se han desarrollado diversos estudios clínicos con la meta de identificar agentes farmacéuticos que sean capaces de tratar de manera eficaz una infección causada por el HCV en pacientes afligidos con hepatitis C crónica. Estos estudios han implicado el uso de interferón-alfa, a solas y en combinación con otros agentes antivíricos. Dichos estudios han demostrado que un número sustancial de los participantes en ellos no responden a estas terapias, y de los que responden favorablemente se encontró que una gran proporción de ellos recaen después de la terminación del tratamiento.

Hasta recientemente, la terapia con interferón (IFN) era la única terapia disponible con beneficio demostrado, aprobada en el sector clínico para pacientes con hepatitis C crónica. No obstante, la tasa de respuestas prolongadas es baja, y el tratamiento con interferón induce también graves efectos colaterales (a saber, retinopatía, tiroiditis, pancreatitis aguda y depresión) que disminuyen la calidad de vida de los pacientes tratados. Recientemente, el interferón en combinación con ribavirina ha sido apropiado para pacientes que no responden al IFN a solas. No obstante, los efectos colaterales causados por el IFN no son aliviados con esta terapia combinada.

Por lo tanto, existe una necesidad del desarrollo de agentes antivíricos eficaces para el tratamiento de una infección causada por el HCV que supere las limitaciones de las existentes terapias farmacéuticas.

El HCV es un virus de ARN de cadena positiva con envoltura en la familia de los Flaviviridae. El genoma de ARN monocatenario del HCV presenta una longitud de aproximadamente 9.500 nucleótidos y tiene un único cuadro de lectura abierto (ORF, de *open reading frame*) que codifica una única poliproteína grande de aproximadamente 3.000 aminoácidos. En células infectadas, esta poliproteína es disociada en múltiples sitios por proteasas celulares y víricas para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS, de *non-structural*). En el caso del HCV, la generación de proteínas no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) es efectuada por dos proteasas víricas. La primera de ellas, hasta ahora malamente caracterizada, disocia en la unión de NS2-NS3; la segunda de ellas es una proteasa de serina contenida dentro de la región terminal de N de la NS3 (en lo sucesivo citada como proteasa de NS3) y media en todas las subsiguientes disociaciones secuencia abajo de NS3, tanto en *cis*, en el sitio de disociación en NS3-NS4, como en *trans*, para los restantes sitios de NS4A-NS4B, NS4B-NS5A y NS5A-NS5B. La proteína NS4A manifiesta servir para múltiples funciones, actuando como un cofactor par la proteasa de NS3 y ayudando posiblemente a la localización en membranas de la NS3 y otros componentes de replicasas víricas. La formación de complejos de la proteína NS3 con NS4A parece ser necesaria para los sucesos de tratamiento, intensificando la eficiencia proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 exhibe también actividades de nucleosido-trifosfatasa y ARN-helicasa. La NS5B es una ARN-polimerasa dependiente de ARN, que está implicada en la replicación del HCV.

Una estrategia general para el desarrollo de agentes antivíricos consiste en desactivar enzimas codificadas por virus, que son esenciales para la replicación de los virus. En este contexto, la solicitud de Patente WO 97/06804 describe el enantiómero (-) del compuesto análogo a nucleosido, citosina-1,3-oxa-tiolano (también conocido como 3TC), como activo frente al HCV. Este compuesto, aunque se ha informado que es seguro en pruebas clínicas anteriores frente a

los HIV y HBV, todavía ha de ser demostrada clínicamente como activo frente al HCV y se ha de informar todavía sobre su mecanismo de acción frente al virus.

Los intensos esfuerzos para descubrir compuestos que inhiban a la proteasa de NS3 o a la ARN-helicasa del HCV han conducido a las siguientes divulgaciones:

- La Patente de los EE.UU. 5.633.388 describe carboxamidas sustituidas con radicales heterocíclicos y compuestos análogos a ellas como siendo activas frente al HCV. Estos compuestos están dirigidos contra la actividad de helicasa que presenta la proteína NS3 del virus, pero todavía no se ha informado acerca de las pruebas clínicas.
- Se ha informado acerca de una fenantreno-quinona por Chu y colaboradores (Tet. Lett., (1996), 7229-7232) como poseedora de actividad frente a la proteasa de NS3 del HCV *in vitro*. No se ha informado acerca de ningún desarrollo adicional sobre este compuesto.
- Un artículo presentado en la Novena Conferencia Internacional sobre Investigación Antivírica, en Urbandai, Fukuyshima, Japón (1996) (Antiviral Research, (1996), 30, 1, A23 (resumen 19)) informa de que ciertos derivados de tiazolidina son inhibitorios para la proteasa del HCV.

Diversos estudios han informado acerca de compuestos que son inhibitorios para otras proteasas de serina, tales como la elastasa de leucocitos humanos. Una familia de estos compuestos es informada en el documento de Patente PCT WO 95/33764 (Hoechst Marion Roussel, 1995). Los péptidos divulgados en esta solicitud son compuestos análogos a morfolinilcarbonil-benzoil-péptidos que son estructuralmente diferentes de los péptidos del presente invento.

- El documento WO 98/17679 de Vertex Pharmaceuticals Inc. describe inhibidores de la proteasa de serina, particularmente la proteasa de NS3 del virus de la hepatitis C. Estos inhibidores son compuestos análogos a péptidos basados en el sustrato natural NS5A/5B. Aunque se describen varios tripéptidos, todos estos compuestos análogos a péptidos contienen una función carbonilo activada en el terminal de C como una característica esencial. Se informó también que estos compuestos análogos son activos contra otras proteasas de serina y por lo tanto no son específicos para la proteasa de NS3 del HCV.
- El documento WO 99/07733 describe análogos a péptidos basados en el producto de escisión N-terminal Ac-D-D-I-V-P-C-OH de un sustrato para la proteasa de NS3, que se ha encontrado que es inhibitorio para la proteasa de NS3.
- Hoffman LaRoche ha informado también acerca de hexapéptidos que son inhibidores de proteinasas, útiles como agentes antivíricos para el tratamiento de una infección causada por el HCV. Estos péptidos contienen un aldehído y un ácido borónico en el extremo terminal de C. Steinkühler y colaboradores e Ingallinella y colaboradores han publicado sobre la inhibición del producto de NS4A-4B (Biochemistry (1998), 37, 8.899-8.905 y 8.906-8.914). Sin embargo, los péptidos y compuestos análogos a péptidos presentados no incluyen, ni conducen a, el diseño de los péptidos del presente invento.

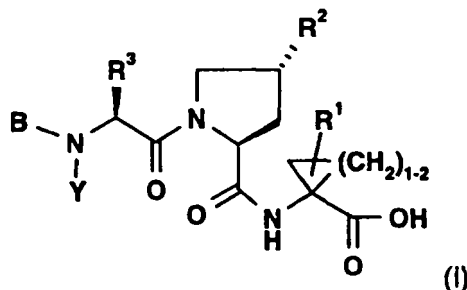
Una ventaja del presente invento consiste en que proporciona tripéptidos que son inhibitorios para la proteasa de NS3 del virus de la hepatitis C.

Una ventaja adicional de un aspecto del presente invento se encuentra en el hecho de que estos péptidos inhiben específicamente a la proteasa de NS3 y no presentan actividad inhibitoria importante en concentraciones hasta de 300 μ M contra otras proteasas de serinas tales como la elastasa de leucocitos humanos (HLE, de *human leukocyte elastase*), elastasa pancreática porcina (PPE, de *porcine pancreatic elastase*) o quimotripsina pancreática bovina, o bien proteasas de cisteína tales como catepsina B (Cat B) de hígado humano.

Una ventaja adicional del presente invento consiste en que proporciona péptidos pequeños de bajo peso molecular, que pueden ser capaces de penetrar a través de membranas celulares y pueden ser activos en cultivo celular e *in vivo* con un buen perfil farmacocinético.

Sumario del invento

Se incluyen en el alcance del invento racematos, diastereoisómeros e isómeros ópticos de un compuesto de fórmula (I):



en la que B es H, un arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆; Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; alcanoflo C₁₋₆; hidroxi; hidroxi alquilo; halo; haloalquilo; nitro; ciano; cianoalquilo; amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; amido; o (alquil inferior)amida;

o B es un carboxilo de fórmula R₄-O-C(O)-; una amida de fórmula R₄-NH-C(O)-; una tioamida de fórmula R₄-N(R₅)-C(S)-; o un sulfonilo de fórmula R₄-SO₂, en que

R₄ es (i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoflo C₁₋₆, hidroxi, alcoxi C₁₋₆, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)-amida;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇, cicloalcoxi C₃₋₇ o alquil-cicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxi, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)-carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)-amida;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; amido; o (alquil inferior)amida;

(iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxi, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxi, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

R₅ es H o alquilo C₁₋₆;

o B es un derivado de acilo de la fórmula R₄-C(O)-; en que

R₄ es (i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoflo C₁₋₆, hidroxi, alcoxi C₁₋₆ o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇, cicloalcoxi C₃₋₇ o alquil-cicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxi, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)-carbonilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxi o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxi o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

con la condición de que cuando B es una amida o una tioamida, R₄ no ha de ser un cicloalcoxi; e

Y es H o alquilo C₁₋₆;

R₃ es alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxi, alcoxi C₁₋₆, tioalquilo C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amido, arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆;

R₂ es CH₂-R₂₀, NH-R₂₀, O-R₂₀ o S-R₂₀, en que R₂₀ es un cicloalquilo C₃₋₇ o (alquilocicloalquilo) C₄₋₁₀ saturado o insaturado, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁,

o R₂₀ es un arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₄, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁,

ES 2 326 707 T3

o R₂₀ es Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁,

en que cada R₂₁ es independientemente alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; sulfonilo; NO₂; OH; SH; halo; haloalquilo; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄, Het o (alquil inferior)-Het;

amido opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄, Het o (alquil inferior)-Het;

carboxilo; carboxi(alquilo inferior); arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo o Het, estando dichos arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituidos con R₂₂;

en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; sulfonilo; (alquil inferior)sulfonilo; NO₂; OH; SH; halo; haloalquilo; carboxilo; amida; (alquil inferior)amida; o Het opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;

R¹ es H; alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇, alquenilo C₂₋₆ o alquiniilo C₂₋₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o ésteres.

Se incluye dentro del alcance de este invento una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz frente al virus de la hepatitis C de un compuesto de fórmula I, o una de sus sales terapéuticamente aceptables o ésteres, en mezcla con un medio de vehículo o agente auxiliar farmacéuticamente aceptable.

Un aspecto importante del invento permite tratar una infección causada por el virus de la hepatitis C en un mamífero, administrando al mamífero de una cantidad eficaz contra el virus de la hepatitis C del compuesto de la fórmula I, o una de sus sales terapéuticamente aceptables o ésteres, o de una composición como antes se ha descrito.

Otro aspecto importante permite inhibir la replicación del virus de la hepatitis C, exponiendo al virus a una cantidad del compuesto de fórmula I que es inhibitoria de la proteasa de NS3 del virus de la hepatitis C o una de sus sales terapéuticamente aceptables o ésteres, o de una composición como antes se ha descrito.

Todavía otro aspecto permite tratar una infección causada por el virus de la hepatitis C en un mamífero, administrando a éste una cantidad eficaz contra virus de la hepatitis C de una combinación del compuesto de fórmula I, o una de sus sales terapéuticamente aceptables o ésteres. De acuerdo con una realización, las composiciones farmacéuticas de este invento comprenden un agente inmunomodulatorio adicional. Ejemplos de agentes inmunomodulatorios adicionales incluyen, pero no se limitan a, los interferones- α , - β y - δ .

Descripción detallada de realizaciones preferidas

Definiciones

Como se utilizan en el presente contexto, se aplican las siguientes definiciones a menos que se señale otra cosa distinta:

Con referencia a los casos en que se utiliza (*R*) o (*S*) para designar la configuración de un sustituyente, p.ej. R¹ del compuesto de fórmula I, la designación se hace en el contexto del compuesto y no en el contexto del sustituyente a solas.

Los aminoácidos naturales, con excepción de la glicina, contienen un átomo de carbono quiral. A menos que se indique específicamente otra cosa distinta, se prefieren los compuestos que contienen aminoácidos naturales con la configuración L. No obstante, la solicitante contempla que cuando ello se especifique, algunos de los aminoácidos de fórmula I pueden ser indistintamente de configuración D o L o pueden ser mezclas de los isómeros D y L, inclusive mezclas racémicas.

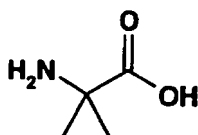
La designación "P1, P2 y P3" tal como se utiliza en el presente contexto, se refiere a la posición de los residuos de aminoácidos comenzando desde el extremo terminal de C de los compuestos análogos a péptidos y extendiéndose hacia el extremo terminal de N [es decir que P1 se refiere a la posición 1 desde el extremo terminal de C, P2 a la segunda posición desde el extremo terminal de C, etc.] (véase Berger A. & Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), B257, 249-264).

Las abreviaturas para los α -aminoácidos utilizados en esta solicitud se exponen en la Tabla A.

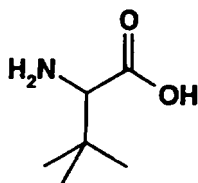
TABLA A

Aminoácido	Símbolo
Ácido 1-aminociclopropil-carboxílico	Acca
Alanina	Ala
Ácido aspártico	Asp
Cisteína	Cys
Ciclohexil-glicina (también denominada: ácido 2-amino-2-ciclohexil-acético)	Chg
Ácido glutámico	Glu
Isoleucina	Ile
Leucina	Leu
Fenilalanina	Phe
Prolina	Pro
Valina	Val
terc.-Butil-glicina	Tbg

Como se utiliza en el presente contexto, el término “ácido 1-amino-ciclopropil-carboxílico” (Acca) se refiere a un compuesto de fórmula:



Como se utiliza en el presente contexto, el término “terc.-butil-glicina” se refiere a un compuesto de fórmula:



El término “residuo” con referencia a un aminoácido o derivado de aminoácido significa un radical derivado del correspondiente α -aminoácido por eliminación del hidroxilo del grupo carboxi y de un hidrógeno del grupo α -amino. Por ejemplo, los términos Gln, Ala, Gly, Ile, Arg, Asp, Phe, Ser, Leu, Cys, Asn, Sar y Tyr representan los “residuos” de L-glutamina, L-alanina, glicina, L-isoleucina, L-arginina, L-ácido aspártico, L-fenilalanina, L-serina, L-leucina, L-cisteína, L-asparagina, sarcosina y L-tirosina, respectivamente.

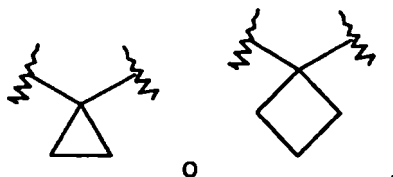
El término “cadena lateral” con referencia a un aminoácido o residuo de aminoácido significa un grupo unido al átomo de carbono en α del α -aminoácido. Por ejemplo, la cadena lateral del grupo R para glicina es hidrógeno, para alanina es metilo y para valina es isopropilo. Para los grupos R específicos o cadenas laterales de los α -aminoácidos se hace referencia al texto de A.L. Lehninger acerca de Bioquímica (véase el capítulo 4).

ES 2 326 707 T3

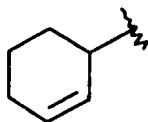
El término “halo”, tal como se utiliza en el presente contexto, significa un sustituyente halógeno seleccionado entre bromo, cloro, fluoro o yodo.

El término “alquilo C_{1-6} ” o “(alquil inferior)” como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro sustituyente, significa sustituyentes alquilo acíclicos, de cadena lineal o ramificada, que contienen de 1 a seis átomos de carbono e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, hexilo, 1-metil-etilo, 1-metil-propilo, 2-metil-propilo, 1,1-dimetil-etilo.

El término “cicloalquilo C_{3-7} ” como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro sustituyente, significa un sustituyente cicloalquilo que contiene de tres a siete átomos de carbono, e incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. Este término incluye también un grupo “espiro”-cíclico tal como espiro-ciclopropilo o espiro-ciclobutilo:



El término “cicloalquilo insaturado” incluye, por ejemplo, ciclohexenilo:



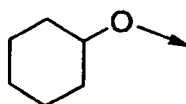
El término “(alquilocicloalquilo) C_{4-10} ” tal como se utiliza en el presente contexto, significa un radical cicloalquilo que contiene de tres a siete átomos de carbono, enlazado a un radical alquilo, conteniendo los radicales enlazados hasta diez átomos de carbono; por ejemplo, ciclopropil-metilo, ciclopentil-etilo, ciclohexil-metilo, ciclohexil-etilo o cicloheptil-etilo;

El término “alquenilo C_{2-10} ” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un radical alquilo como antes se ha definido, que contiene de 2 a 10 átomos de carbono y que contiene además por lo menos un doble enlace. Por ejemplo, alquenilo incluye alilo y vinilo.

El término “alcanoílo C_{1-6} ” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa radicales 1-oxo-alquilo lineales o ramificados que contienen de uno a seis átomos de carbono, e incluyen formilo, acetilo, 1-oxo-propilo (propionilo), 2-metil-1-oxo-propilo, 1-oxo-hexilo y otros similares.

El término “alcoxi C_{1-6} ” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa el radical -O(alquilo C_{1-6}) en el que alquilo es como antes se ha definido, que contiene hasta seis átomos de carbono. Alcoxi incluye metoxi, etoxi, propoxi, 1-metil-etoxi, butoxi y 1,1-dimetil-etoxi. Este último radical es conocido corrientemente como *terc.*-butoxi.

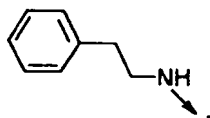
El término “cicloalcoxi C_{3-7} ” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un grupo cicloalquilo C_{3-7} enlazado a un átomo de oxígeno tal como, por ejemplo:



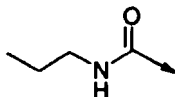
El término “arilo C_6 o C_{10} ” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa o bien un grupo monocíclico aromático que contiene seis átomos de carbono o un grupo bicíclico aromático que contiene diez átomos de carbono. Por ejemplo, arilo incluye fenilo, 1-naftilo ó 2-naftilo.

El término “arilalquilo C_{7-16} ” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un arilo C_6 o C_{10} como antes se define, enlazado a un grupo alquilo, en el que alquilo es como antes se define y contiene de 1 a 6 átomos de carbono. Arilalquilo C_{7-16} incluye, por ejemplo, bencilo, butilfenilo y 1-naftilmetilo.

El término “amino-arilalquilo” como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un grupo amino sustituido con un grupo arilalquilo C₇₋₁₆ tal como por ejemplo el amino-arilalquilo:

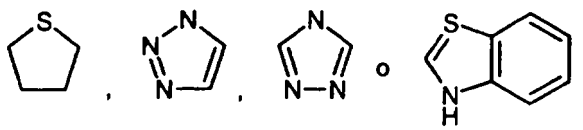


El término “(alquil inferior)amido” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un amido mono-sustituido con un alquilo C₁₋₆, tal como:

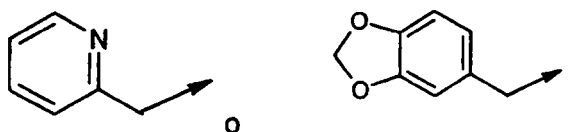


El término “carboxi-alquilo(inferior)”, tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un grupo carboxilo (COOH) enlazado a través de un grupo alquilo(inferior) como antes se define, e incluye por ejemplo ácido butírico.

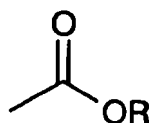
El término “heterociclo” o “Het”, tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un radical monovalente derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno a partir de un heterociclo saturado o insaturado (inclusive aromático) de cinco, seis o siete miembros, que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Además, “Het” tal como se utiliza en el presente contexto, significa un heterociclo como antes se ha definido, condensado con uno o más de otros ciclos que sean un heterociclo o cualquier otro ciclo. Ejemplos de heterociclos apropiados incluyen: pirrolidina, tetrahidrofurano, tiazolidina, pirrol, tiofeno, diazepina, 1H-imidazol, isoxazol, tiazol, tetrazol, piperidina, 1,4-dioxano, 4-morfolina, piridina, pirimidina, tiazolo[4,5-b]piridina, quinolina o indol, o los siguientes heterociclos:



El término “(alquil inferior)-Het” tal como se utiliza en el presente contexto, significa un radical heterocíclico como antes se define, enlazado a través de un grupo alquilo de cadena lineal o ramificado, en que alquilo es como antes se ha definido y contiene de uno a seis átomos de carbono. Ejemplos de (alquil inferior)-Het incluyen:



El término “éster farmacéuticamente aceptable” tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro sustituyente, significa ésteres del compuesto de fórmula I en los que cualquiera de las funciones carboxilo de la molécula, pero preferiblemente el extremo terminal de carboxi, ha sido reemplazado por una función alcoxicarbonilo:



en la que el resto R del éster se selecciona entre alquilo (p.ej. metilo, etilo, *n*-propilo, *t*-butilo, *n*-butilo); alcoxilalquilo (p.ej. metoximetilo); alcoxiacilo (p.ej. acetoximetilo); arilalquilo (p.ej. bencilo); ariloxialquilo (p.ej. fenoximetilo); arilo (p.ej. fenilo), opcionalmente sustituido con halógeno, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄. Otros ésteres profármacos apropiados pueden encontrarse en la obra Desing of prodrugs, Bundgaard, H. coordinador de edición, Elsevier (1985).

Dichos ésteres farmacéuticamente aceptables son hidrolizados usualmente *in vivo* cuando se inyectan a un mamífero y transformados en la forma ácida del compuesto de fórmula I.

Con respecto a los ésteres antes descritos, a menos que se especifique otra cosa distinta, cualquier resto alquilo presente contiene ventajosamente de 1 a 16 átomos de carbono, particularmente de 1 a 6 átomos de carbono. Cualquier resto arilo presente en tales ésteres constituye ventajosamente un grupo fenilo.

En particular, los ésteres pueden ser un éster de alquilo C₁₋₁₆, un éster de bencilo sin sustituir o un éster de bencilo sustituido con al menos un halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, nitro o trifluorometilo.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en el presente contexto, incluye las derivadas de bases farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de bases apropiadas incluyen colina, etanolamina y etilendiamina. Las sales de Na⁺, K⁺ y Ca⁺⁺ son también consideradas como encontrándose dentro del alcance del invento (véase también el artículo de Pharmaceutical salts, Birge, S.M. y colaboradores, J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19).

Realizaciones preferidas

Se incluyen dentro del alcance de este invento los compuestos de fórmula I en los que:

Preferiblemente, B es un radical arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; o

B es preferiblemente Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆.

Alternativamente, B es preferiblemente R₄-SO₂, en que R₄ es preferiblemente amido; (alquil inferior)amida; arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄ o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆.

Alternativamente, B es preferiblemente un derivado de acilo de fórmula R₄-C(O)- en que R₄ es preferiblemente

(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C₁₋₆ o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilcicloalquilo C₄₋₁₀, ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆.

Alternativamente, B es preferiblemente un carboxilo de fórmula R₄-O-C(O)-, en que R₄ es preferiblemente

(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇, alquilcicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida;

(iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)-amido.

Alternativamente, B es preferiblemente un amido de fórmula R₄-N(R₅)-C(O)-, en que R₄ es preferiblemente

(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} ;

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amido; y

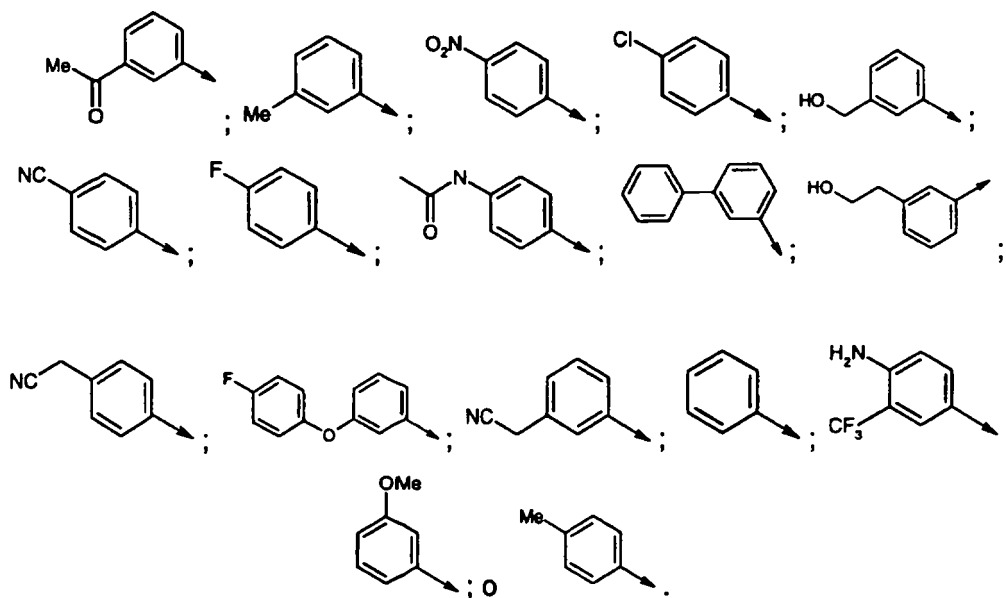
R_5 es preferiblemente H o metilo.

Alternativamente, B es preferiblemente una tioamida de fórmula $R_4-NH-C(S)-$; en que R_4 es preferiblemente

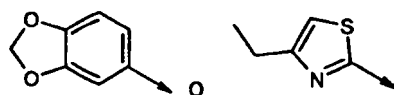
(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoflo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo, amino o amido.

Más preferiblemente, B es un arilo C_6 o C_{10} opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanoflo C_{1-6} , hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , tal que B es por ejemplo:

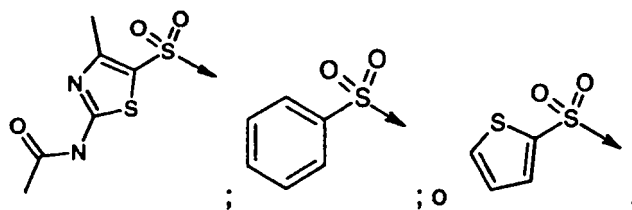


o B es más preferiblemente Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanoflo C_{1-6} , hidroxilo, halo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , tal que B es por ejemplo:



ES 2 326 707 T3

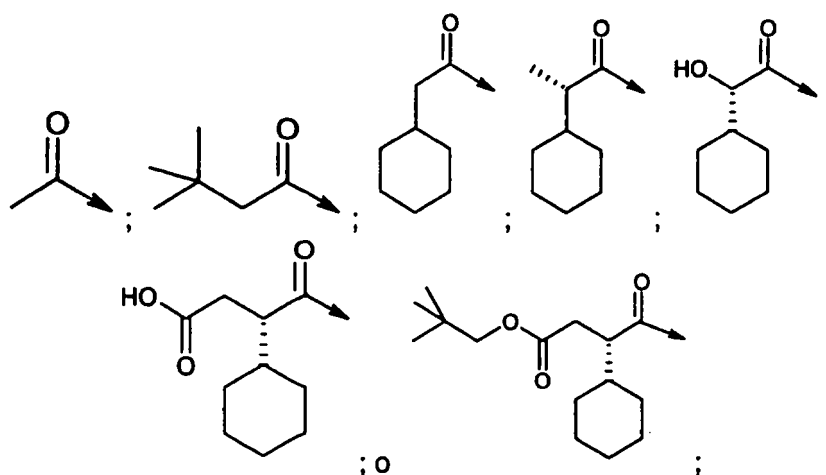
Alternativamente, B es más preferiblemente R_4-SO_2 , en que R_4 es preferiblemente arilo C_6 o C_{10} , un arilalquilo C_{7-14} o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} ; amido, (alquil inferior)amida, tal que B es, por ejemplo:



Alternativamente, B es más preferiblemente un derivado de acilo de fórmula $R_4-C(O)-$ en que R_4 es preferiblemente

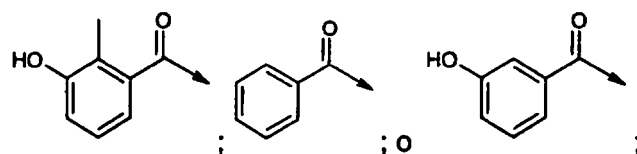
(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C_{1-6} ; o

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, tal que B es, por ejemplo:



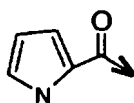
o R_4 es preferiblemente

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, tal que B es por ejemplo:



o R_4 es preferiblemente

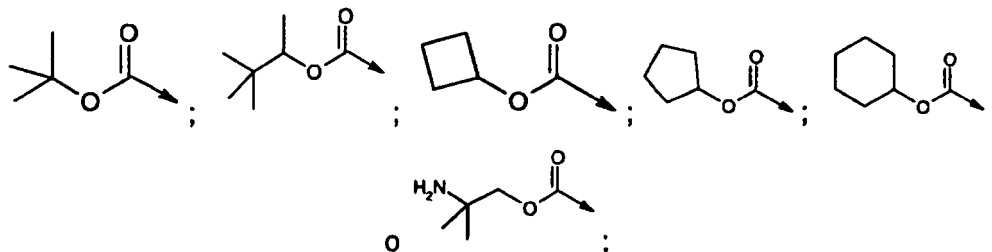
(v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino, tal que B es por ejemplo:



Alternativamente, B es más preferiblemente un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$, en que R_4 es preferiblemente

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} o amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

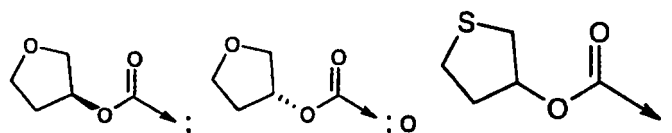
(ii) cicloalquilo C_{3-7} , alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , tal que B es por ejemplo:



o R_4 es preferiblemente

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido o amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} , tal que B es por ejemplo:

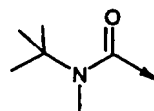


Alternativamente, B es más preferiblemente una amida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(O)-$, en que R_4 es preferiblemente

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior) amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

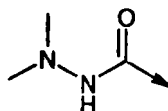
(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; y

R_5 es H o metilo, tal que B es por ejemplo:



o R_4 es preferiblemente

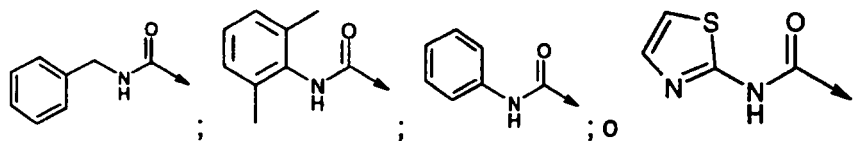
(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} , tal que B es por ejemplo:



o R_4 es preferiblemente

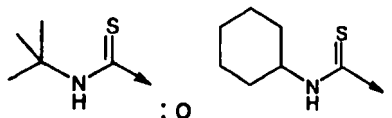
(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino o amido, tal que B es, por ejemplo:



Alternativamente, B es más preferiblemente una tioamida de fórmula R₄-NH-C(S)-; en que R₄ es preferiblemente

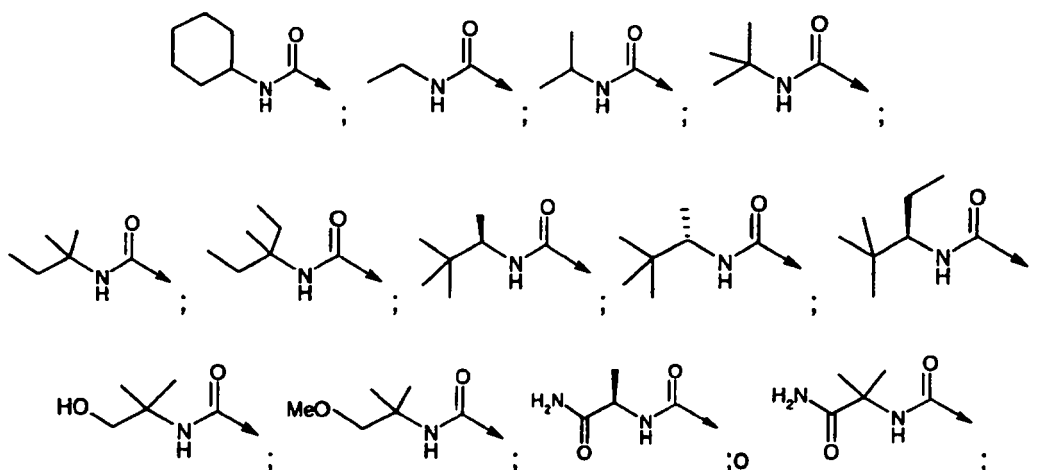
(i) alquilo C₁₋₁₀; o (ii) cicloalquilo C₃₋₇, tal que B es por ejemplo:



Lo más preferiblemente, B es una amida de fórmula R₄-NH-C(O)-, en que R₄ es preferiblemente

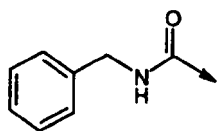
(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior) amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)-carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

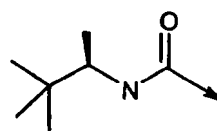


o R₄ es preferiblemente

(iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino o amido, tal que B es por ejemplo:

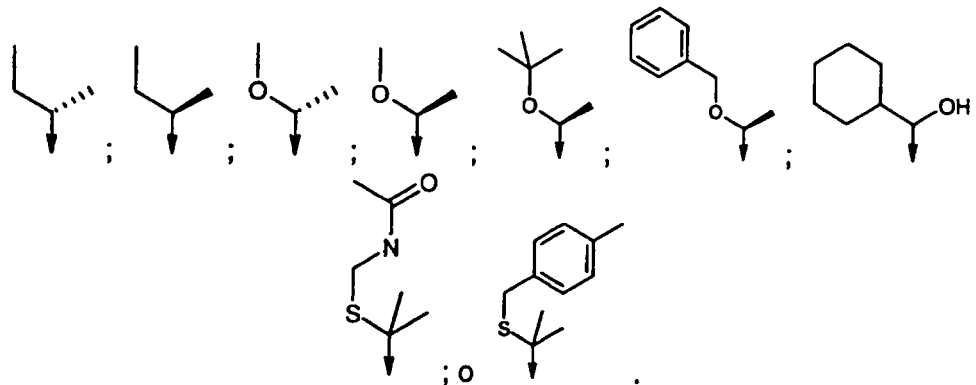


Incluso más preferiblemente, B es terc.-butoxicarbonilo (Boc) o

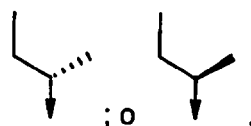


Preferiblemente, Y es H o metilo. Más preferiblemente, Y es H.

Preferiblemente, R₃ es alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, tioalquilo C₁₋₆, acetamido, arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, tal que R₃ es por ejemplo:



Más preferiblemente, R³ es la cadena lateral de *tert*-butilglicina (Tbg), Ile, Val, Chg o:



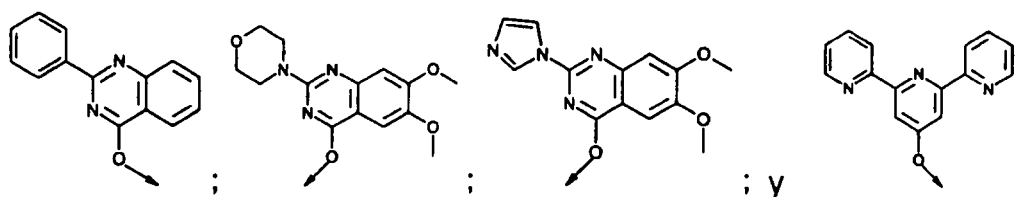
Lo más preferiblemente, R³ es la cadena lateral de Tbg, Chg o Val.

Se incluyen dentro del alcance del invento los compuestos de fórmula I en los que, preferiblemente, R₂ es S-R₂₀ u O-R₂₀, en que R₂₀ es preferiblemente un arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, Het o -CH₂-Het, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituídos con R₂₁.

Preferiblemente R₂₁ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; amino o amido opcionalmente mono- o di-sustituído con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, Het o (alquil inferior)-Het; NO₂; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo; arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, o Het, estando dichos arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituidos con R₂₂. Más preferiblemente, R₂₁ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; amino; di(alquil inferior)amino; (alquil inferior)amido; arilo C₆ o C₁₀, o Het, estando dichos arilo o Het opcionalmente sustituidos con R₂₂.

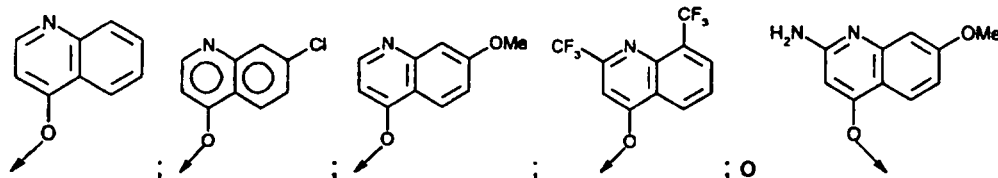
Preferiblemente, R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino; mono- o di-(alquil inferior)amino; (alquil inferior)amida; sulfonilalquilo; NO₂; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo o Het. Más preferiblemente, R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino; mono- o di-(alquil inferior)amino; amido; (alquil inferior)-amida; halo; trifluorometilo o Het. Lo más preferiblemente R₂₂ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; halo; amino opcionalmente mono- o di-sustituído con alquilo inferior; amido; (alquil inferior)amida; o Het. Incluso más preferiblemente, R₂₂ es metilo; etilo; isopropilo; *tert*-butilo; metoxi; cloro; amino opcionalmente mono- o di-sustituído con alquilo inferior; amido, (alquil inferior)amida; (alquilo inferior)-2-tiazol.

Alternativamente, R₂ se selecciona preferiblemente entre el grupo que consta de:

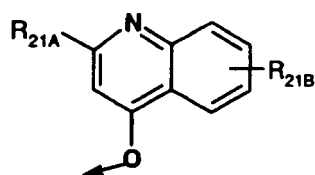


ES 2 326 707 T3

Más preferiblemente, R_2 es 1-naftilmetoxi; 2-naftilmetoxi; benciloxi; 1-naftiloxi; 2-naftiloxi; o quinolinoxio sin sustituir, mono- o di-sustituido con R_{21} como antes se define. Lo más preferiblemente, R_2 es 1-naftilmetoxi; o quinolinoxio sin sustituir, mono- o di-sustituido con R_{21} como antes se define, tal que R_2 es por ejemplo:

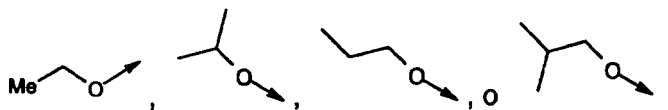


Todavía más preferiblemente, R_2 es

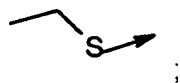


Más preferiblemente, R_{21A} es alquilo C_{1-6} tal como isopropilo, *tert.*-butilo o ciclohexilo;

alcoxi C_{1-6} tal como metoxi



tioalquilo inferior tal como



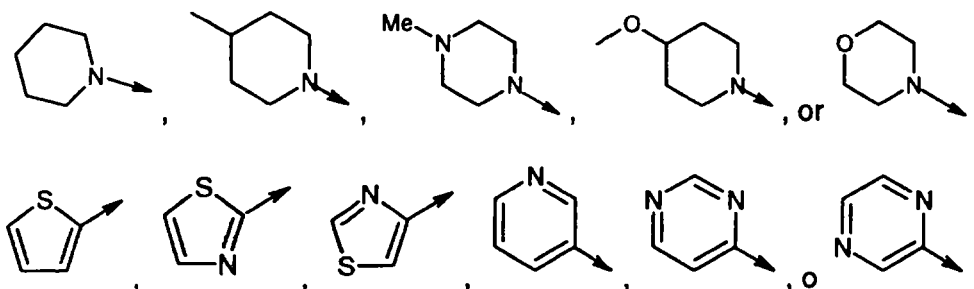
halo tal como cloro;

amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o arilo C_6 o C_{10} , tal que R_{21A} es por ejemplo: dimetilamino, Ph-N(Me)-; arilo C_6 o C_{10} sin sustituir, arilalquilo

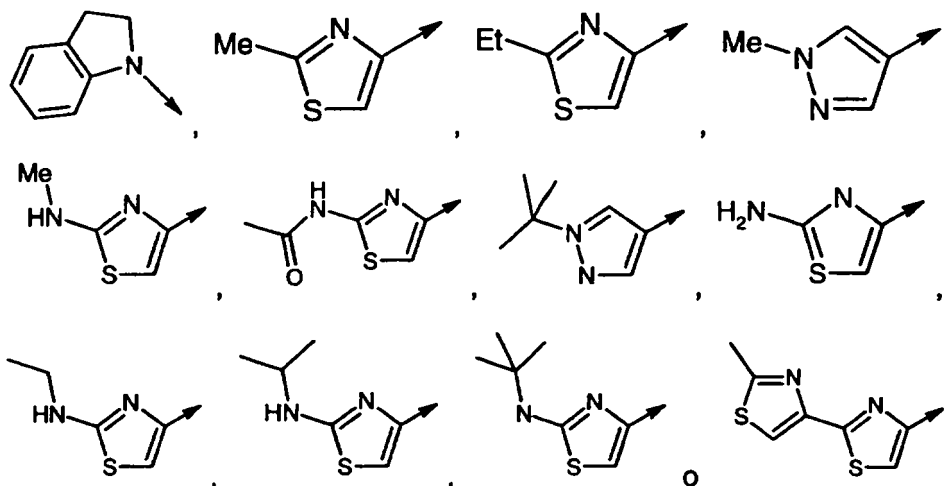
C_{7-16} , tal como por ejemplo fenilo o



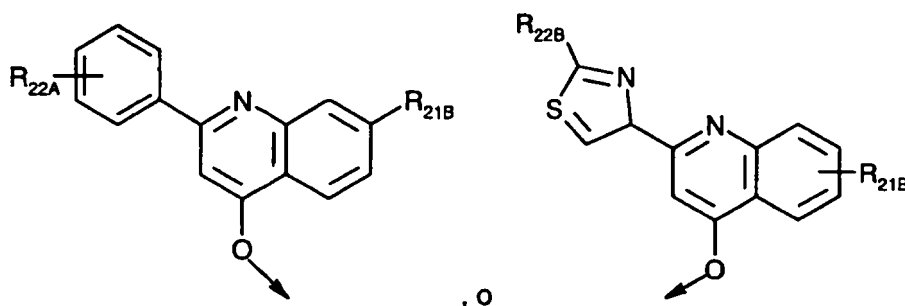
o R_{21A} es más preferiblemente Het opcionalmente sustituido con R_{22} en que R_{22} es alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amido, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , o Het, tal que R_{21A} es por ejemplo:



Lo más preferiblemente, R_{21A} es arilo C_6 , C_{10} o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con R_{22} como antes se define, tal que R_{21A} es por ejemplo:



Todavía más preferiblemente, R_2 es:

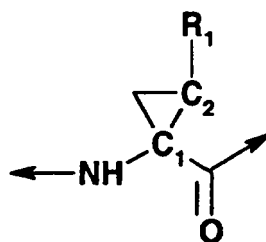


en que R_{22A} es preferiblemente alquilo C_{1-6} (tal como metilo); alcoxi C_{1-6} (tal como metoxi); o halo (tal como cloro); R_{22B} es preferiblemente alquilo C_{1-6} , amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior) amido; y R_{21B} es preferiblemente alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)amida, NO_2 , OH, halo, trifluorometilo o carboxilo. Más preferiblemente, R_{21B} es alcoxi C_{1-6} o di(alquil inferior)amino. Lo más preferiblemente, R_{21B} es metoxi.

Como se describe anteriormente en esta memoria, el segmento P1 de los compuestos de fórmula I es un anillo de ciclobutilo o ciclopropilo, ambos opcionalmente sustituidos con R^1 .

Preferiblemente, R^1 es H, alquilo C_{1-3} , cicloalquilo C_{3-5} o alqueno C_{2-4} opcionalmente sustituido con halo. Más preferiblemente, R^1 es etilo, vinilo, ciclopropilo, 1- ó 2-bromo-etilo o 1- ó 2-bromo-vinilo. Lo más preferiblemente, R^1 es vinilo.

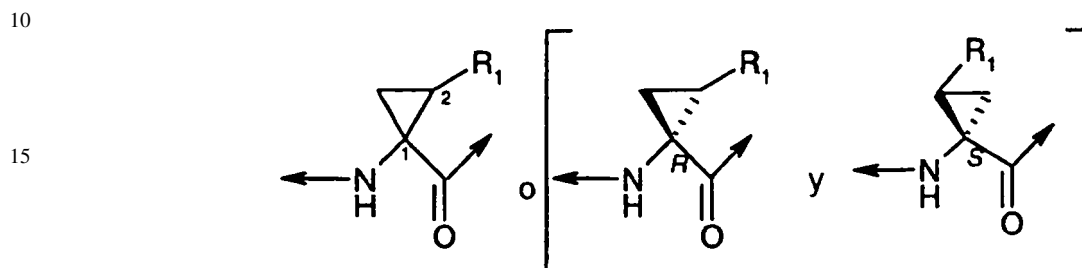
Cuando R^1 no es H, entonces P1 es, preferiblemente, un sistema con ciclopropilo de fórmula:



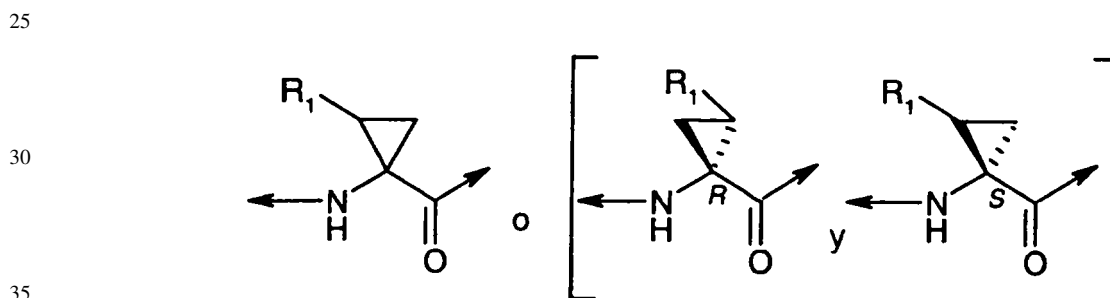
en que C_1 y C_2 representan cada uno un átomo de carbono asimétrico en las posiciones 1 y 2 del anillo de ciclopropilo. A pesar de otros posibles centros asimétricos en otros segmentos de los compuestos de fórmula I, la presencia de estos dos centros asimétricos significa que el compuesto de fórmula I puede existir en forma de mezclas racémicas de

diastereoisómeros. Tal como se ilustra en los Ejemplos dados seguidamente, las mezclas racémicas se pueden preparar y posteriormente separar en isómeros ópticos individuales o los isómeros ópticos se pueden preparar por síntesis quirales.

- 5 Por consiguiente, el compuesto de fórmula I puede existir como una mezcla racémica de diastereoisómeros en el carbono 1 pero en que R_1 en el carbono 2 está orientado en "sin" con respecto al carbonilo en posición 1, representado por el radical:

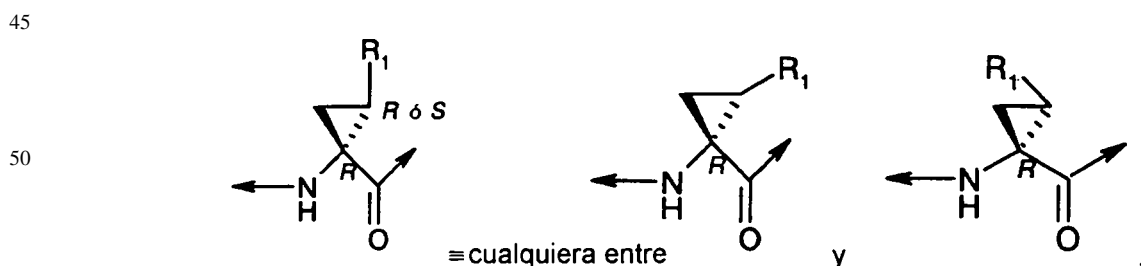


o el compuesto de fórmula I puede existir como una mezcla racémica de diastereoisómeros en la que R_1 en la posición 2 está orientado en "anti" con respecto al carbonilo en la posición 1, representado por el radical:



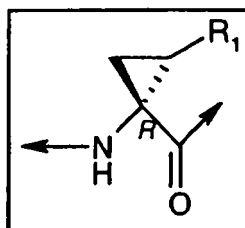
A su vez, las mezclas racémicas pueden ser separadas en isómeros ópticos individuales.

- 40 Un hallazgo sumamente interesante de este invento se refiere a la adición de un sustituyente R_1 en el carbono 2 así como a la orientación espacial del segmento P1. El hallazgo concierne a la configuración del átomo de carbono 1 asimétrico. Una realización preferida es una en la que el carbono 1 tiene la configuración R cuando R_1 no es H.



- Más explícitamente, la introducción de un sustituyente (R_1) en C2 tiene un impacto sobre la potencia cuando R_1 es introducido de una manera tal que C1 tenga la configuración R . Por ejemplo, los compuestos 901 ($1R,2S$) y 203 ($1R,2R$) tienen unas actividades de 25 y 82 nM, respectivamente. Cuando se compara con el compuesto de ciclopropilo sin sustituir 111 (475 nM) se observa un aumento sustancial en la potencia. Más aún, como se muestra para los compuestos 901 y 203, cuando el carbono 1 tiene la configuración R , la inhibición de la proteasa de NS3 del HCV es intensificada adicionalmente por la configuración del sustituyente R_1 (p.ej. alquilo o alquilenos) en el carbono 2 del anillo de ciclopropilo, p.ej. el compuesto que posee R_1 en "sin" con respecto al carboxilo tiene mayor potencia (25 nM) que el enantiómero "anti" (82 nM). Puede observarse el efecto de la configuración R con relación a la configuración S en C1 comparando los compuestos 801 ($1R,2S$) y su correspondiente isómero ($1S,2R$) que tienen potencias de 6 nM y $> 10 \mu M$ respectivamente, ¡una diferencia en un múltiplo de más de 1500!.

Por lo tanto, un compuesto sumamente preferido es un isómero óptico que tiene el sustituyente R_1 y el carbonilo en una orientación “*sin*” en la siguiente configuración absoluta:



En el caso en que R_1 es etilo, por ejemplo, los átomos de carbono asimétricos en las posiciones 1 y 2 tienen la configuración *R,R*.

Se incluyen dentro del alcance de este invento los compuestos de fórmula I en la que

B es un arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

B es R_4-SO_2 , en que R_4 es preferiblemente amido; (alquil inferior)amido; arilo C_6 o C_{10} , arilalquilo C_{7-14} o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} o

B es un derivado de acilo de fórmula $R_4-C(O)-$ en que R_4 es

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C_{1-6} o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , o

B es un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$, en que R_4 es

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amida;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} , alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amida;

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior) amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amido; o

B es una amida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(O)-$, en que R_4 es

alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, amido, (alquil inferior)-amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} ;

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida; y R₅ es preferiblemente H o metilo; o

B es tioamida de fórmula R₄-NH-C(S)-; en que R₄ es

(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanóilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, amino o amido;

Y es H o metilo;

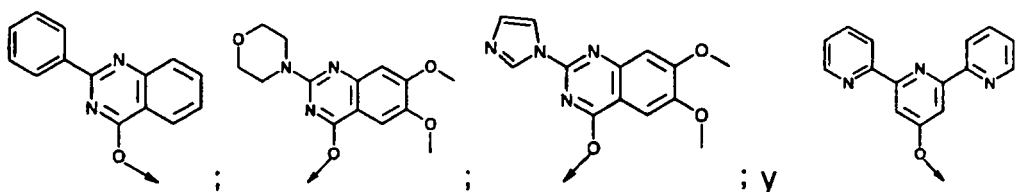
R³ es alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, tioalquilo C₁₋₆, acetamido, arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆;

R₂ es S-R₂₀ u O-R₂₀, en que R₂₀ es preferiblemente un arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, Het o CH₂-Het, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁, en que

R₂₁ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; amino o amido opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, Het o (alquil inferior)-Het; NO₂; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo; arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, o Het, estando dichos arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituidos con R₂₂, en que

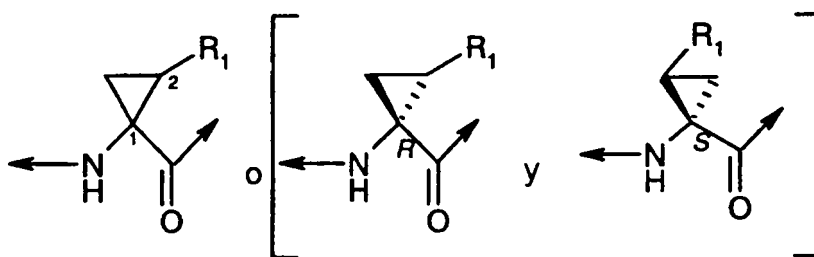
R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino; mono- o di-(alquil inferior)amino; (alquil inferior)amida; sulfonilalquilo; NO₂; OH; halo, trifluorometilo; carboxilo o Het; o

R₂ se selecciona entre el grupo que consta de:



o R₂ es 1-naftilmetoxi; 2-naftilmetoxi; benciloxi; 1-naftiloxi; 2-naftiloxi; o quinolinoxi sin sustituir, mono- o di-sustituido con R₂₁ como se ha definido anteriormente;

el segmento P1 es un anillo de ciclobutilo o ciclopropilo, ambos opcionalmente sustituidos con R₁, en que R₁ es H, alquilo C₁₋₃, cicloalquilo C₃₋₅, o alquencilo C₂₋₄ opcionalmente sustituido con halo y dicho R₁ en el carbono 2 está orientado en "sin" con respecto al carbonilo en la posición 1, representado por el radical:



Se incluyen dentro del alcance de este invento los compuestos de fórmula I en que B es un arilo C₆ o C₁₀ opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanóilo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o B es Het opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanóilo C₁₋₆, hidroxilo, halo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o B es R₄-SO₂ en que R₄ es arilo C₆ o C₁₀, un arilalquilo C₇₋₁₄ o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆; amido, (alquil inferior)amida; o B es un derivado de acilo de fórmula R₄-C(O)- en que R₄ es

(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C₁₋₆; o

(ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo; o

ES 2 326 707 T3

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo; o

(v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido o amino;

o B es un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$, en que R_4 es

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} o amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} , alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)-amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

o B es una amida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(O)-$, en que R_4 es

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)-amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

R_4 es (iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} ; o

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido;

y R_5 es H o metilo; o

B es una tioamida de fórmula $R_4-NH-C(S)-$; en que R_4 es:

(i) alquilo C_{1-10} ; o (ii) cicloalquilo C_{3-7} ; o

B es una amida de fórmula $R_4-NH-C(O)-$, en que R_4 es

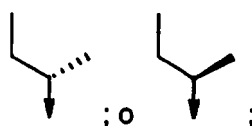
(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)-amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido;

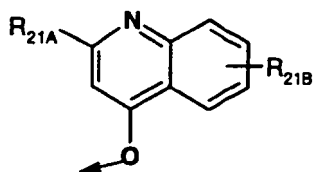
Y es H;

R^3 es la cadena lateral de *terc.*-butilglicina (Tbg), Ile, Val, Chg o



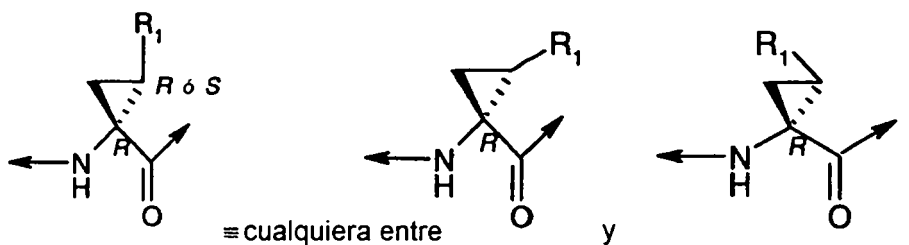
R_2 es 1-naftilmetoxi; o quinolinoxilo sin sustituir, mono- o di-sustituido con R_{21} como antes se define, o

R₂ es:



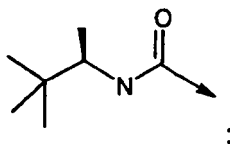
en que R_{21A} es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; arilo C₆, C₁₀ o Het; tioalquilo inferior; halo; amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆; o arilo C₆, C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆ o Het, opcionalmente sustituido con R₂₂ en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, o Het;

P1 es un anillo de ciclopropilo en que el carbono 1 tiene la configuración R,



y R¹ es etilo, vinilo, ciclopropilo, 1- ó 2-bromo-etilo o 1- ó 2-bromo-vinilo.

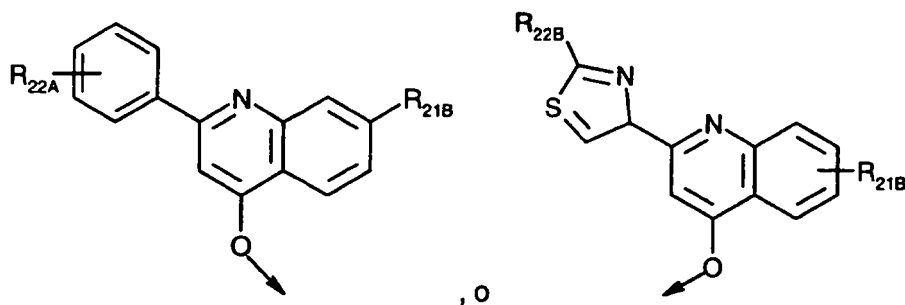
Se incluyen además en el alcance del invento los compuestos de fórmula I en que:



B es terc.-butoxicarbonilo (Boc) o

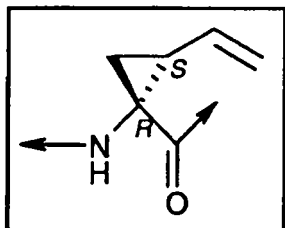
R³ es la cadena lateral de Tbg, Chg o Val;

R₂ es:



en que R_{22A} es alquilo C₁₋₆ (tal como metilo); alcoxi C₁₋₆ (tal como metoxi); o halo (tal como cloro); R_{22B} es alquilo C₁₋₆, amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amido; y R_{21B} es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)amido, NO₂, OH, halo, trifluorometilo o carboxilo;

y P1 es:



Finalmente, se incluye dentro del alcance de este invento cada uno de los compuestos de fórmula I que se presentan en las Tablas 1 a 10.

De acuerdo con una realización alternativa, las composiciones farmacéuticas de este invento pueden comprender adicionalmente otro agente anti-HCV. Ejemplos de agentes anti-HCV incluyen interferón- α o β , ribavirina y amantadina.

De acuerdo con otra realización alternativa, las composiciones farmacéuticas de este invento pueden comprender adicionalmente otros inhibidores de la proteasa del HCV.

De acuerdo con todavía otra realización alternativa, las composiciones farmacéuticas de este invento pueden comprender adicionalmente un inhibidor de otras dianas en el ciclo de vida del HCV, que incluyen pero no se limitan a, aquéllas tales como helicasa, polimerasa, metaloproteasa o el sitio de entrada en ribosomas internos (IRES, de *internal ribosome entry site*).

Las composiciones farmacéuticas de este invento se pueden administrar por vía oral, parenteral o a través de un reservorio implantado. Se prefieren la administración por vía oral o la administración por inyección. Las composiciones farmacéuticas de este invento pueden contener cualesquiera soportes, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables, no tóxicos, convencionales. En algunos casos, el pH de la formulación puede ser ajustado con ácidos, bases o tampones farmacéuticamente aceptables para intensificar la estabilidad del compuesto formulado o de su forma de suministro. El término "parenteral" como se utiliza en el presente contexto incluye técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intracutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales e intralesionales.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en la forma de una preparación inyectable estéril, por ejemplo como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con técnicas conocidas en el sector de la tecnología, utilizando agentes dispersantes o humectantes apropiados (tales como, por ejemplo, Tween 80) y agentes suspendedores.

Las composiciones farmacéuticas de este invento se pueden administrar por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable por vía oral, que incluye, pero no se limita a, cápsulas, tabletas y suspensiones y soluciones acuosas. En el caso de las tabletas para uso oral, los soportes que se utilizan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Se añaden también típicamente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para administración por vía oral en una forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando las suspensiones acuosas se administran por vía oral, el ingrediente activo es combinado con agentes emulsionantes y suspendedores. Si se desea, se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes y/o saboreantes y/o coloreantes.

Otros vehículos o soportes apropiados para las formulaciones y composiciones antes señaladas pueden encontrarse en textos farmacéuticos clásicos, p.ej. en la obra "Remington's Pharmaceutical Sciences", The Science and Practice of Pharmacy, 19ª edición, Mack Publishing Company, Easton, Penn., (1995).

Los niveles de dosificación comprendidos entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, preferiblemente entre alrededor de 0,5 y alrededor de 75 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos inhibidores de proteasas que se describen en la presente memoria son útiles en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de una enfermedad mediada por el HCV. Típicamente, las composiciones farmacéuticas de este invento serán administradas de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces por día o, alternativamente, como una infusión continua. Dicha administración se puede usar como una terapia crónica o aguda. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales de soporte para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del hospedante que sea tratado y del modo particular de administración. Una preparación típica contendrá desde aproximadamente 5% a aproximadamente 95% del compuesto activo (p/p = peso/peso). Preferiblemente, tales preparaciones contendrán de aproximadamente 20% a aproximadamente 80% de compuesto activo.

Como lo apreciará un profesional experto, se pueden requerir dosis mayores o menores que las antes citadas. Los regímenes de dosificación y tratamiento específicos para cualquier paciente particular dependerán de una diversidad de factores, inclusive la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general

de salud, el sexo, la dieta, el momento de administración, el régimen de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad y la evolución de la infección, la disposición de los pacientes para la infección y el criterio del médico que los esté tratando. Generalmente, el tratamiento es iniciado con pequeñas dosis sustancialmente menores que la dosis óptima del péptido. Después de ello, la dosificación es aumentada por pequeños incrementos, hasta que se alcance el efecto óptimo en dichas circunstancias. En general, el compuesto es administrado de un modo sumamente deseable en un nivel de concentración que generalmente proporcionará resultados eficaces antivíricamente, sin causar ningún efecto colateral perjudicial o peligroso.

Cuando las composiciones de este invento comprenden una combinación de un compuesto de fórmula I y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional deberán estar presentes en unos niveles de dosificación comprendidos entre aproximadamente 10 y 100% y más preferiblemente entre alrededor de 10 y 80% de la dosificación que normalmente se administra en un régimen de monoterapia.

Cuando estos compuestos o sus sales farmacéuticamente aceptables se formulan conjuntamente con un soporte farmacéuticamente aceptable, la composición resultante se puede administrar *in vivo* a mamíferos, tales como seres humanos, para inhibir a la proteasa de NS3 del HCV, o para tratar o evitar una infección causada por el virus HCV. Dicho tratamiento se puede conseguir también utilizando los compuestos de este invento en combinación con agentes que incluyan, pero no se limitan a: agentes inmunomoduladores, tales como interferones- α , - β o - γ ; otros agentes antivíricos tales como ribavirina, amantadina; otros inhibidores de la proteasa de NS3 del HCV; inhibidores de otras dianas en el ciclo de vida del HCV que incluyen, pero no se limitan a, metaloproteasa o el sitio de entrada en ribosomas internos (IRES); o combinaciones de ellos. Los agentes adicionales se pueden combinar con los compuestos de este invento para crear una única forma de dosificación. Alternativamente, estos agentes adicionales se pueden administrar por separado a un mamífero como una parte de una forma de dosificación múltiple.

De modo correspondiente, otra realización de este invento permite inhibir la actividad de la proteasa de NS3 del HCV en mamíferos por administración de un compuesto de la fórmula I, en el que los sustituyentes son como antes se definen.

En una realización preferida, el invento permite disminuir la actividad de la proteasa de NS3 del HCV en un mamífero. Si la composición farmacéutica comprende solamente un compuesto de este invento como el componente activo, dichos métodos pueden comprender adicionalmente la operación de administrar a dicho mamífero un agente seleccionado entre un agente inmunomodulador, un agente antivírico, un inhibidor de la proteasa del HCV, o un inhibidor de otras dianas en el ciclo de vida del HCV tales como helicasa, polimerasa o metaloproteasa, o bien un IRES. Dicho agente adicional se puede administrar al mamífero antes de, o concurrentemente con, o a continuación de, la administración de las composiciones de este invento.

En una realización preferida alternativa, el invento permite inhibir la replicación vírica en un mamífero. Dichos métodos son útiles para tratar o prevenir una enfermedad causada por el HCV. Si la composición farmacéutica comprende solamente un compuesto de este invento como el componente activo, tales métodos pueden comprender adicionalmente la operación de administrar a dicho mamífero un agente seleccionado entre un agente inmunomodulador, un agente antivírico, un inhibidor de la proteasa del HCV, o un inhibidor de otras dianas en el ciclo de vida del HCV. Dicho agente adicional se puede administrar al mamífero antes de, concurrentemente con, o a continuación de, la administración de la composición de acuerdo con este invento.

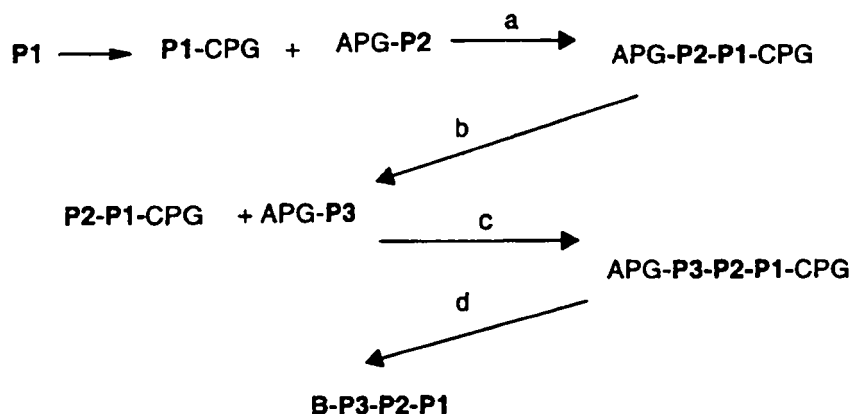
Los compuestos que aquí se exponen se pueden utilizar también como reactivos de laboratorios. Los compuestos de este invento pueden ser usados también para tratar o prevenir una contaminación por virus de materiales y reducir por tanto el riesgo de infección causada por virus del personal de laboratorios o de los médicos o de los pacientes que entren en contacto con dichos materiales (p.ej. sangre, tejido, instrumentos quirúrgicos y prendas de vestir quirúrgicas, instrumentos y prendas de vestir de laboratorios, y aparatos y materiales para la recogida de sangre).

Los compuestos que aquí se exponen pueden ser utilizados también como reactivos para investigaciones. Los compuestos de este invento se pueden utilizar también como testigo positivo para validar análisis basados en células, subrogados, o análisis de replicación de virus *in vitro* o *in vivo*.

Procedimiento

Los compuestos del presente invento se sintetizaron de acuerdo con un procedimiento general como se ilustra en el Esquema I (en el que CPG es un grupo protector de carboxilo y APG es un grupo protector de amino):

Esquema I



Dicho brevemente, los P1, P2 y P3 pueden ser enlazados por técnicas bien conocidas de acoplamiento de péptidos. Los grupos P1, P2 y P3 pueden ser enlazados conjuntamente en cualquier orden, siempre y cuando que el compuesto final corresponda a péptidos de fórmula I. Por ejemplo, P3 puede ser enlazado a P2-P1; o P1 puede ser enlazado a P3-P2.

En general, los péptidos son prolongados desprotegiendo el grupo α -amino del residuo terminal de N y acoplando el grupo carboxilo sin proteger del siguiente aminoácido apropiadamente protegido en N a través de un enlace de péptidos utilizando los métodos que se describen. Este procedimiento de desprotección y acoplamiento se repite hasta que se obtenga la secuencia deseada. Este acoplamiento se puede realizar con los aminoácidos constituyentes de una manera escalonada, como se describe en el Esquema I, o mediante síntesis de péptidos en fase sólida, de acuerdo con el método originalmente descrito en la cita de Merrifield, J. Am. Chem. Soc., (1963), 85, 2.149-2.154, cuya descripción se incorpora a la presente por su referencia.

El acoplamiento entre dos aminoácidos, entre un aminoácido y un péptido, o entre dos fragmentos de péptidos se puede llevar a cabo utilizando procedimientos clásicos de acoplamiento, tales como el método de la azida, el método mixto de ácido carbónico y anhídrido de ácido carboxílico (cloroformiato de isobutilo), el método de la carbodiimida (diciclohexil-carbodiimida, diisopropil-carbodiimida o una carbodiimida soluble en agua), el método del éster activo (éster p-nitrofenílico, imido-éster N-hidroxi-succínico), el método del reactivo K de Woodward, el método del carbonil-diimidazol, los métodos de reactivos con fósforo o los de oxidación-reducción. Algunos de estos métodos (especialmente el método de la carbodiimida) se pueden mejorar añadiendo 1-hidroxi-benzotriazol. Estas reacciones de acoplamiento se pueden llevar a cabo o bien en solución (en fase líquida) o en fase sólida.

Más explícitamente, la operación de acoplamiento implica el acoplamiento por deshidratación de un carboxilo libre de uno de los reaccionantes con el grupo amino libre del otro reaccionante, en presencia de un agente de acoplamiento para formar un enlace de amida de unión. Descripciones acerca de dichos agentes de acoplamiento se encuentran en libros de texto generales acerca de la química de los péptidos, por ejemplo, en M. Bodanszky, "Peptide Chemistry" (química de los péptidos), 2ª edición revisada, Springer-Verlag, Berlín, Alemania (1993). Ejemplos de apropiados agentes de acoplamiento son *N,N'*-diciclohexil-carbodiimida, 1-hidroxi-benzotriazol en presencia de *N,N'*-diciclohexil-carbodiimida o *N*-etil-*N'*-(3-dimetilamino)propil-carbodiimida. Un agente de acoplamiento práctico y útil es el hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris-(dimetilamino)fosfonio comercialmente disponible, o bien por sí sólo o en presencia de 1-hidroxi-benzotriazol. Otro agente de acoplamiento práctico y útil es el tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametil-uronio comercialmente disponible. Todavía otro agente de acoplamiento práctico y útil es el hexafluorofosfato de O-(7-aza-benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametil-uronio comercialmente disponible.

La reacción de acoplamiento se lleva a cabo en el seno de un disolvente inerte, p.ej. diclorometano, acetonitrilo o dimetil-formamida. Un exceso de una amina terciaria, p.ej. diisopropil-etilamina, *N*-metil-morfolina o *N*-metil-pirrolidina es añadido para mantener la mezcla de reacción a un pH de aproximadamente 8. La temperatura de reacción fluctúa usualmente entre 0°C y 50°C y el tiempo de reacción fluctúa usualmente entre 15 min y 24 h.

Cuando se emplea un enfoque de síntesis en fase sólida, el ácido carboxílico terminal en C es unido a un soporte insoluble (usualmente poliestireno). Estos soportes insolubles contienen un grupo que reaccionará con el grupo carboxílico para formar un enlace que sea estable frente a las condiciones de prolongación pero que sea disociado fácilmente más adelante. Ejemplos de ellos son: cloro- o bromo-metil-resina, hidroximetil-resina, tritil-resina y 2-metoxi-4-alcoxi-alcohol bencílico-resina.

Muchas de estas resinas están comercialmente disponibles con el aminoácido terminal en C deseado ya incorporado. Alternativamente, el aminoácido puede ser incorporado sobre el soporte sólido por métodos conocidos, Wang, S.-S., J. Am. Chem. Soc., (1973), 95, 1328; Atherton, E.; Shepard, R.C. "Solid-phase peptide synthesis; a practical approach" IRL Press: Oxford, (1989); 131-148. Además de lo que antecede, otros métodos de síntesis de péptidos se describen en las citas de Stewart y Young, "Solid Phase Peptide Synthesis", 2ª edición, Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984); Gross, Meienhofer, Udenfriend, coordinadores de edición, "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", volúmenes 1, 2, 3, 5, y 9, Academic Press, Nueva York, (1980-1987); Bodansky y colaboradores, "The Practice of Peptide Synthesis" Springer-Verlag, Nueva York (1984), cuyas divulgaciones se incorporan a la presente por su referencia.

Los grupos funcionales de los aminoácidos constituyentes deben generalmente ser protegidos durante las reacciones de acoplamiento para evitar la formación de enlaces indeseados. Los grupos protectores que se pueden utilizar se enumeran en las citas de Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley & Sons, Nueva York (1981) y "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology" volumen 3, Academic Press, Nueva York (1981), cuyas divulgaciones se incorporan a la presente por su referencia.

El grupo α -carboxilo del residuo terminal de C es protegido usualmente como un éster (CPG) que puede ser disociado para dar el ácido carboxílico. Los grupos protectores que se pueden usar incluyen: 1) ésteres de alquilo tales como los de metilo, trimetil-silil-etilo y *t*-butilo, 2) ésteres de arilalquilo tales como los de bencilo y bencilo sustituido, ó 3) ésteres que pueden ser disociados mediante un tratamiento con una base débil o medios reductores débiles tales como los ésteres de tricloroetilo y de fenacilo.

El grupo α -amino de cada aminoácido que ha de ser acoplado a la cadena de péptidos en crecimiento, debe de ser protegido (APG). Se puede usar cualquier grupo protector conocido en la técnica. Ejemplos de tales grupos incluyen: 1) grupos acilo tales como formilo, trifluoroacetilo, ftalilo y *p*-toluenosulfonilo; 2) grupos de carbamatos aromáticos tales como benciloxicarbonilo (Cbz o Z) y benciloxicarbonilos sustituidos, así como 9-fluorenil-metiloxicarbonilo (Fmoc); 3) grupos de carbamatos alifáticos tales como *terc*.-butiloxicarbonilo (Boc), etoxicarbonilo, diisopropil-metoxi-carbonilo y aliloxi-carbonilo; 4) grupos de alquil-carbamatos cíclicos tales como ciclopentiloxicarbonilo y adamantiloxicarbonilo; 5) grupos de alquilo tales como trifenilmetilo y bencilo; 6) grupos de trialquilsililo tales como trimetilsililo; y 7) grupos que contienen tiol tales como feniltiocarbonilo y ditiasuccinilo. El preferido grupo protector de amino en α es o bien Boc o Fmoc. Están disponibles comercialmente muchos derivados de aminoácidos apropiadamente protegidos para la síntesis de péptidos.

El grupo protector de α -amino del residuo de aminoácido que se acaba de añadir es disociado antes del acoplamiento del siguiente aminoácido. Cuando se utiliza el grupo Boc, los métodos a seleccionar son la utilización de ácido trifluoroacético puro o en diclorometano, o HCl en dioxano o en acetato de etilo. La resultante sal de amonio es luego neutralizada o bien antes del acoplamiento o bien *in situ* con soluciones de carácter básico tales como tampones acuosos, o aminas terciarias en diclorometano o acetonitrilo o dimetil-formamida. Cuando se utiliza el grupo Fmoc, los reactivos a seleccionar son piperidina o piperidina sustituida en dimetil-formamida, pero se puede utilizar cualquier amina secundaria. La desprotección se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 0°C y la temperatura ambiente (TA), usualmente de 20-22°C.

Cualquiera de los aminoácidos que tengan funcionalidades en cadenas laterales deben de ser protegidos durante la preparación del péptido utilizando cualquiera de los grupos antes descritos. Los expertos en la tecnología apreciarán que la selección y el uso de apropiados grupos protectores para estas funcionalidades en cadenas laterales dependen del aminoácido y de la presencia de otros grupos protectores en el péptido. La selección de dichos grupos protectores es importante puesto que el grupo no debe de ser eliminado durante la desprotección y el acoplamiento del grupo α -amino.

Por ejemplo, cuando se utiliza Boc como el grupo protector de amino en α , son apropiados los siguientes grupos protectores de cadenas laterales: se pueden utilizar restos de *p*-toluenosulfonilo (tosilo) para proteger a la cadena lateral de amino de aminoácidos tales como Lys y Arg; se pueden utilizar restos de acetamidometilo, bencilo (Bn) o *t*-butilsulfonilo para proteger a la cadena lateral que contiene sulfuro, de cisteína; se pueden utilizar éteres de bencilo (Bn) para proteger a las cadenas laterales que contienen hidroxilo, de serina, treonina o hidroxiprolina; y se pueden utilizar ésteres de bencilo para proteger a las cadenas laterales que contienen carboxi, del ácido aspártico y del ácido glutámico.

Cuando se escoge Fmoc para la protección del α -amino, usualmente son aceptables grupos protectores basados en *terc*.-butilo. Por ejemplo, se puede utilizar Boc para lisina y arginina, *terc*.-butil-éter para serina, treonina e hidroxiprolina, y éster *terc*.-butílico para ácido aspártico y ácido glutámico. El resto trifenilmetilo (trilito) se puede utilizar para proteger a la cadena lateral que contiene tiol, de la cisteína.

Una vez que se ha completado la prolongación del péptido, todos los grupos protectores se eliminan. Cuando se utiliza una síntesis en fase líquida, los grupos protectores son eliminados de cualquiera de las maneras que sean dictadas por la elección de los grupos protectores. Estos procedimientos son bien conocidos por los expertos en la técnica.

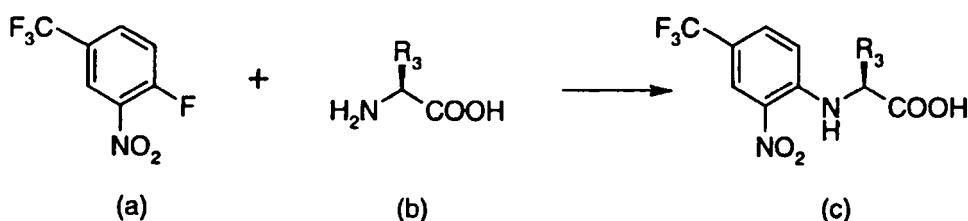
Cuando se utiliza una síntesis en fase sólida, el péptido es disociado desde la resina simultáneamente con la eliminación de los grupos protectores. Cuando se utiliza el método de protección con Boc en la síntesis, el tratamiento con aditivos que contienen HF anhidro, tales como dimetil-sulfuro, anisol, tioanisol o *p*-cresol a 0°C constituye el método preferido para separar el péptido con respecto de la resina. La separación del péptido se puede conseguir también mediante otros reactivos ácidos tales como mezclas de ácido trifluorometano-sulfónico y ácido trifluoroacético. Si se utiliza el método de protección con Fmoc, el grupo Fmoc terminal de N es disociado con los reactivos que se han descrito con anterioridad. Los otros grupos protectores y el péptido son separados de la resina utilizando una solución de ácido trifluoroacético y diversos aditivos tales como anisol, etc.

1. Síntesis del grupo rematador B

Diferentes grupos rematadores B se introducen de la siguiente manera:

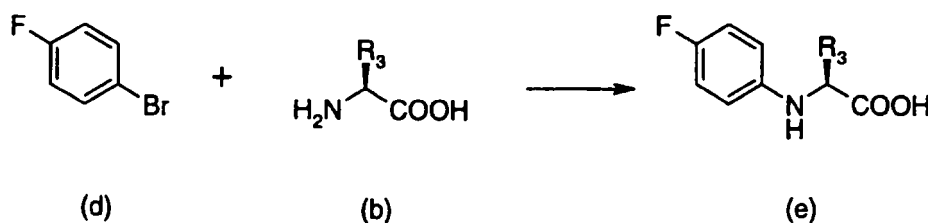
1.1) Cuando B es un arilo o arilalquilo: los aminoácidos arilados se prepararon por uno de los tres métodos dados seguidamente

a) Desplazamiento nucleofílico directo de un resto de fluoro-nitro-arilo:



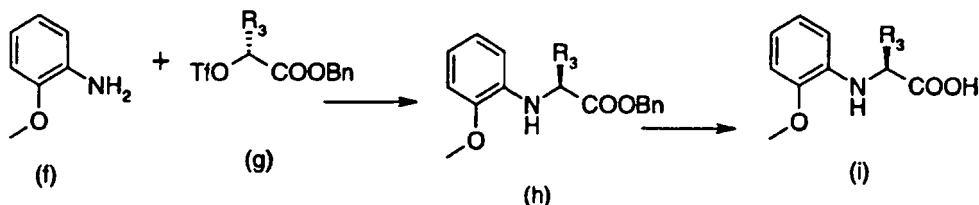
Dicho brevemente, el 4-fluoro-3-nitro-benzotrifluoruro (a) se hizo reaccionar con un L-aminoácido (b) en la presencia de una base tal como carbonato de potasio a 80°C para proporcionar el deseado N-aril-aminoácido (c);

b) Acoplamientos catalizados por cobre de acuerdo con Ma y colaboradores (*J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 12.459-12.467):



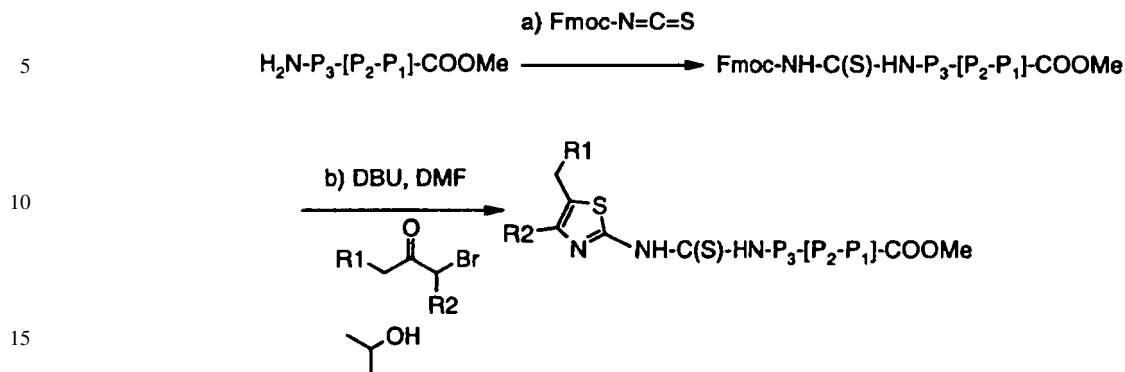
Dicho brevemente, se hizo reaccionar el bromo-4-fluoro-benceno (d) con el L-aminoácido (b) en presencia de una base tal como carbonato de potasio y una cantidad catalítica de yoduro de cobre a 90°C para proporcionar el deseado N-aril-aminoácido (e); o

c) Desplazamiento nucleofílico de un triflato por una anilina:



Dicho brevemente, se hizo reaccionar o-anisidina (f) con un triflato (g) en presencia de una base tal como 2,6-lutidina a 90°C para dar el éster de bencilo (h). La hidrogenación con Pd al 10%/C proporcionó el deseado N-aril-aminoácido (i).

1.2) Cuando B es un derivado de aminotiazol



a) El Fmoc-tiocianato preparado de acuerdo con Kearney y colaboradores, **1998**, J. Org. Chem. 63, 196, se hizo reaccionar con un residuo P3 protegido o con el péptido o con un segmento de péptido para proporcionar la tiourea.

b) El derivado de tiourea se hace reaccionar una apropiada bromo-cetona para preparar el correspondiente derivado de tiazol.

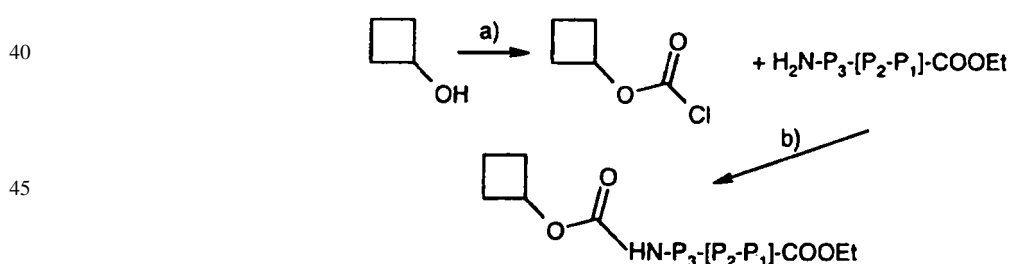
1.3) Cuando B es $R_4\text{-C(O)-}$, $R_4\text{-S(O)}_2$

El P3 protegido o el péptido total o un segmento del péptido se acopla a un apropiado cloruro de acilo o cloruro de sulfonilo respectivamente, que o bien está comercialmente disponible o cuya síntesis es bien conocida en la técnica.

1.4) Cuando B es $R_4\text{O-C(O)-}$

El P3 protegido o el péptido total o un segmento del péptido se acopla a un cloroformiato apropiado que o bien está comercialmente disponible o cuya síntesis es bien conocida en la técnica. Para derivados de Boc se utiliza $(\text{Boc})_2\text{O}$.

Por ejemplo:



a) Se trata ciclobutanol con fosgeno para proporcionar el correspondiente cloroformiato.

b) El cloroformiato se trata con el deseado NH_2 -tripeptido en presencia de una base tal como trietilamina para proporcionar el ciclobutil-carbamato.

D) Cuando B es $R_4\text{-N(R}_5\text{)-C(O)-}$ ó $R_4\text{-NH-C(S)-}$, el P3 protegido o el péptido total o un segmento de péptido se trata con fosgeno seguido por una amina tal como se describe en SynLett. Feb 1995; (2); 142-144.

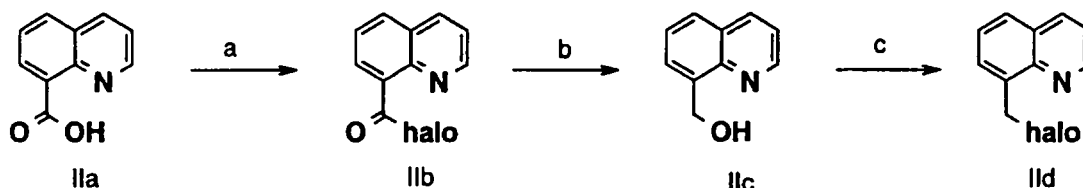
2. Síntesis de restos de P2

2.1 Síntesis de precursores

A) Síntesis de derivados de haloaril-metano

La preparación de halometil-8-quinolina IId se realizó de acuerdo con el procedimiento de K.N. Campbell y colaboradores, J. Amer. Chem. Soc., (1946), 68, 1.844.

Esquema II

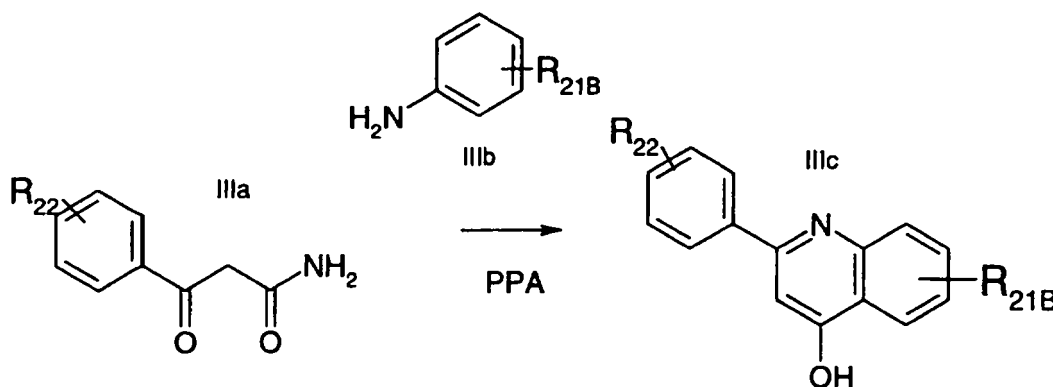


Dicho brevemente, el ácido 8-quinolina-carboxílico IIa se convirtió en el correspondiente alcohol IIc por reducción del correspondiente haluro de acilo IIb con un agente reductor tal como hidruro de litio y aluminio. El tratamiento del alcohol IId con el apropiado hidrácido halogenado proporciona el deseado derivado de halo IId. Unas realizaciones específicas de este procedimiento se presentan en el Ejemplo 1.

B) Síntesis de derivados de alcoholes arílicos

Se prepararon derivados de 2-fenil-4-hidroxi-quinolinas IIIc de acuerdo con Giardina y colaboradores (J. Med. Chem., (1997), 40, 1.794-1.807).

Esquema III



R_{22} y R_{21B} = alquilo, OH, SH, halo, NH_2 , NO_2 .

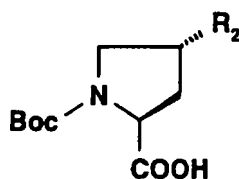
Dicho brevemente, se condensó benzoil-acetamida (IIIa) con la apropiada anilina (IIIb) y la imina obtenida se ciclizó con ácido polifosfórico para dar la correspondiente 2-fenil-4-hidroxi-quinolina (IIIc). Una realización específica de este procedimiento se presenta en el Ejemplo 2.

O alternativamente, el procedimiento se puede llevar a cabo de una manera diferente:

Dicho brevemente, el éster benzoil-etílico (IIIa) se condensó con la apropiada anilina (IIIb) en la presencia de un ácido y la imina obtenida se ciclizó calentando a 260-280°C para dar la correspondiente 2-fenil-4-hidroxi-quinolina (IIIc). Una realización específica de este procedimiento se presenta en el Ejemplo 3 (Compuesto 3e).

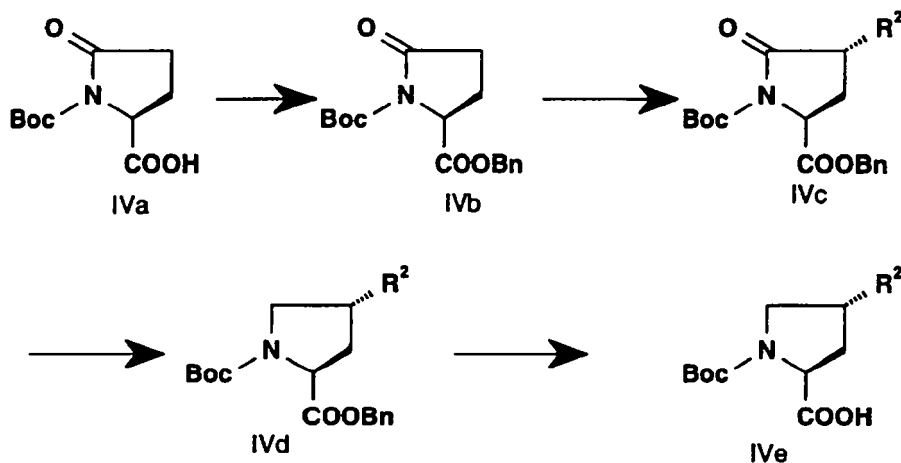
2.2 Síntesis de P2

A) La síntesis de prolina sustituida en 4 (en la que R^2 está unido al anillo a través de un átomo de carbono) (con la estereoquímica que se muestra):



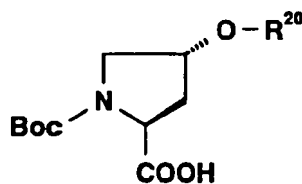
se realiza tal como se muestra en el Esquema IV de acuerdo con los procedimientos descritos por J. Ezquerro y colaboradores (Tetrahedron, (1993), 38, 8.665-8.678) y C. Pedregal y colaboradores (Tetrahedron Lett., (1994), 35, 2.053-2.056).

Esquema IV



Dicho brevemente, el ácido Boc-pirolutámico se protege como un éster de bencilo. El tratamiento con una base fuerte tal como diisopropil-amiduro de litio, seguido por la adición de un agente alquilante (Br-R^{20} o I-R^{20}) proporcionan los deseados compuestos IVe después de reducción de la amida y desprotección del éster.

B) La síntesis de 4-(*R*)-hidroxiprolina sustituida en O

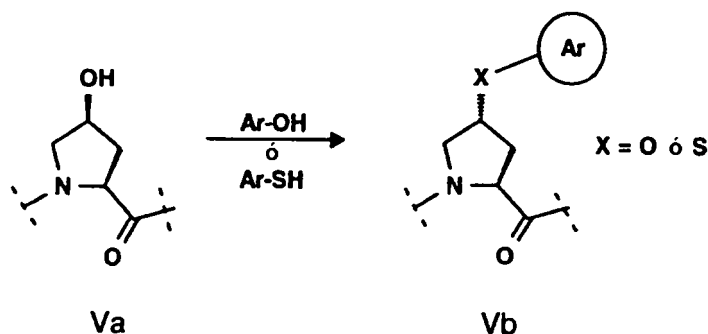


se puede llevar a cabo utilizando los diferentes procedimientos que se describen seguidamente.

1) Cuando R^{20} es arilalquilo o (alquil inferior)-Het, el procedimiento se puede llevar a cabo de acuerdo con el proceso descrito por E.M. Smith y colaboradores (J. Med. Chem. (1988), 31, 875-885). Dicho brevemente, la Boc-4(*R*)-hidroxiprolina comercialmente disponible es tratada con una base tal como hidruro de sodio o *tert*-butóxido de potasio y el alcóxido resultante se hace reaccionar con halo- R^{20} (Br-R^{20} , I-R^{20} , etc..) para dar los compuestos deseados. Realizaciones específicas de este procedimiento se presentan en los Ejemplos 4, 5 y 7.

2) Cuando R^{20} es arilo o Het, los compuestos se preparan a través de una reacción de Mitsunobu (Mitsunobu (1981), Synthesis, Enero, 1-28; Rano y colaboradores, (1995), Tet. Lett. 36(22), 3.779-3.792; Krchnak y colaboradores, (1995), Tet. Lett. 36(5), 62.193-6.196; Richter y colaboradores, (1994), Tet. Lett. 35(27), 4.705-4.706. Dicho brevemente, el éster metílico de Boc-4(*S*)-hidroxiprolina comercialmente disponible es tratado con el apropiado alcohol o tiol arílico en presencia de trifenil-fosfina y azo-dicarboxilato de dietilo (DEAD) y el éster resultante es hidrolizado para formar el ácido. Realizaciones específicas de este procedimiento se presentan en los Ejemplos 6 y 8.

Esquema V



Alternativamente, la reacción de Mitsunobu se puede llevar a cabo en fase sólida (Esquema V). El bloque de 96 pocillos del sintetizador Modelo 396 (Advanced Chem. Tech.) es provisto de partes alícuotas de un compuesto unido a una resina (Va) y se añaden una diversidad de alcoholes o tioles arílicos y reactivos apropiados. Después de incubación, cada producto unido a resina (Vb) se lava, seca y separa de la resina.

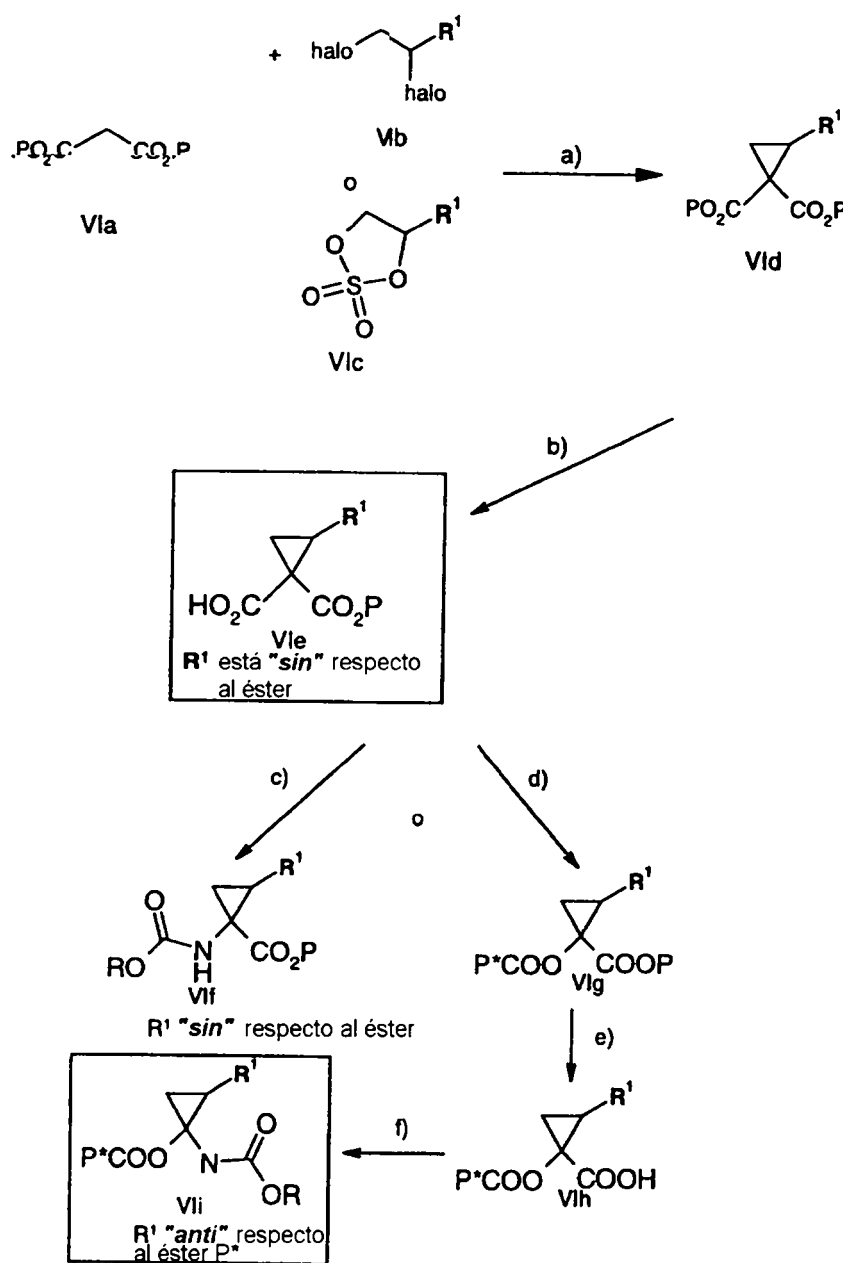
Una reacción de Suzuki (Miyaura y colaboradores, (1981), Synth. Comm. 11, 513; Sato y colaboradores, (1989), Chem. Lett., 1.405; Watanabe y colaboradores, (1992), Synlett., 207; Takayuki y colaboradores, (1993), J. Org. Chem. 58, 2.201; Frenette y colaboradores, (1994), Tet. Lett. 35(49), 9.177-9.180; Guiles y colaboradores, (1996), J. Org. Chem. 61, 5.169-5.171) se puede utilizar también para funcionalizar adicionalmente el sustituyente arilo.

3. Síntesis de restos P1

3.1 Síntesis de los 4 posibles isómeros de un ácido 1-amino-ciclopropil-carboxílico sustituido en posición 2

La síntesis se realizó de acuerdo con el Esquema VI.

Esquema VI



a) Dicho brevemente, el malonato di-protégido VIa y el 1,2-dihalo-alceno VIb o el sulfato cíclico VIc (sintetizado de acuerdo con K. Burgess y Chun-Yen KE (Synthesis, (1996), 1.463-1.467) se hacen reaccionar en condiciones básicas para dar el diéster VIId.

b) Una hidrólisis regio-selectiva del éster menos impedido se realiza para dar el ácido VIe.

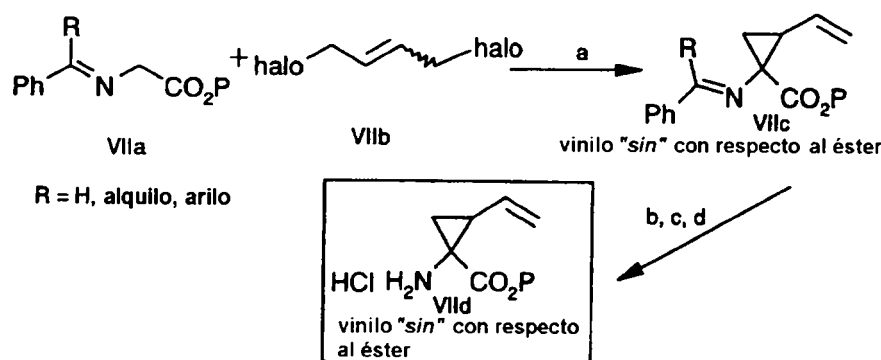
c) Este ácido VIe es sometido a una transposición de Curtius para dar una mezcla racémica de derivados de ácido 1-amino-ciclopropilcarboxílico VIIf estando el R¹ en "sin" con respecto al grupo carboxilo. Una realización específica de esta síntesis se presenta en el Ejemplo 9.

d, e) Alternativamente, la formación selectiva de los ésteres a partir del ácido VIe con un apropiado haluro (P*Cl) o alcohol (P*OH) forma el diéster VIg en que el P* éster es compatible con la hidrólisis selectiva del P éster. La hidrólisis del P éster proporciona el ácido VIh.

f) Una transposición de Curtius en VIh da una mezcla racémica de derivados de ácidos 1-amino-ciclopropilcarboxílicos VIIi estando el grupo R¹ en "anti" con respecto al grupo carboxilo. Una realización específica para esta síntesis se presenta en el Ejemplo 14.

Una síntesis alternativa para la preparación de derivados VIIIf (cuando R¹ es vinilo y está en "sin" con respecto al grupo carboxilo) se describe seguidamente.

Esquema VII



El tratamiento de iminas VIIa comercialmente disponibles o fácilmente obtenibles con 1,4-dihalo-buteno VIb en presencia de una base produce, después de hidrólisis de la imina resultante VIIc, el compuesto VIId que tiene el sustituyente vinilo en "sin" con respecto al grupo carboxilo. Una realización específica de este procedimiento se presenta en los Ejemplos 15 y 19.

La resolución de todas las anteriores mezclas enantioméricas en el carbono 1 (VIe y VIId) se puede llevar a cabo por medio de:

- 1) separación enzimática (Ejemplos 13, 17 y 20);
- 2) cristalización con un ácido quiral (Ejemplo 18); o
- 3) derivatización química (Ejemplo 10).

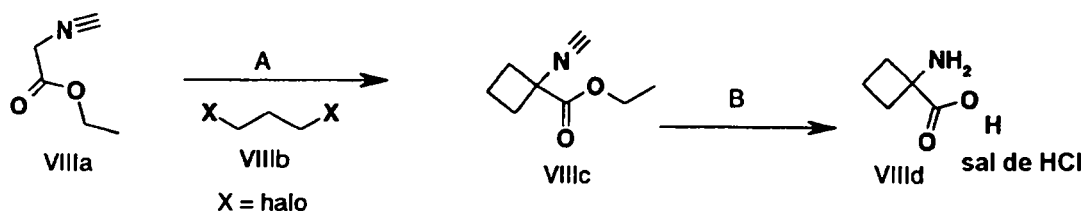
Después de resolución, la determinación de la estereoquímica absoluta se puede llevar a cabo tal como se presenta en el Ejemplo 11.

La resolución enantiomérica y la determinación de la estereoquímica se pueden llevar a cabo de la misma manera para las mezclas enantioméricas en el carbono 1 en que el sustituyente en C2 está en "anti" con relación al grupo carboxilo (VIIi).

3.2 Síntesis de un ácido 1-amino-ciclobutil-carboxílico

La síntesis del ácido 1,1-amino-ciclobutano-carboxílico se lleva a cabo de acuerdo con "Kavin Douglas; Ramaligam Kondareddiar; Woodard Ronald, Synth. Commun. (1985), 15(4), 267-72".

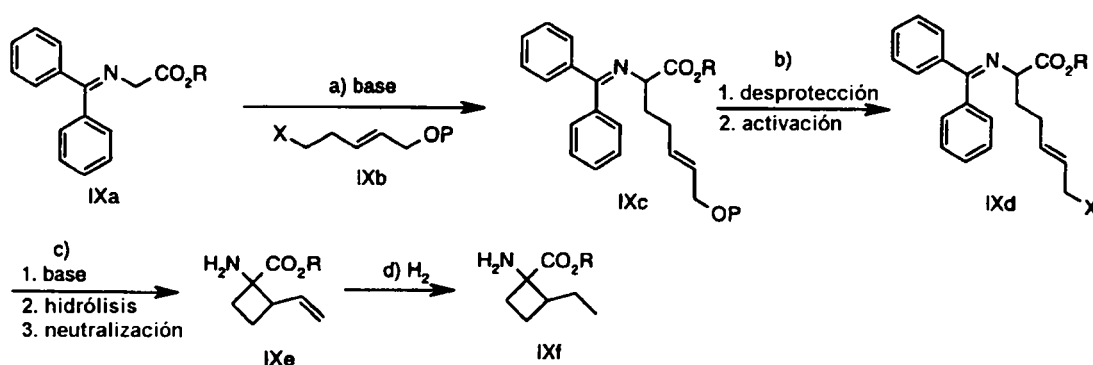
Esquema VIII



Dicho brevemente, el tratamiento del compuesto VIIIa con una base en presencia de VIIIb proporciona el correspondiente derivado de ciclobutilo VIIIc. La hidrólisis de los grupos de isocianato y éster de VIIIc en condiciones ácidas (HCl) proporciona la sal hidrocloreuro del ácido 1-amino-ciclobutil-carboxílico VIIIId. El ácido carboxílico es posteriormente esterificado bajo metanol en HCl. Una realización específica de esta esterificación se describe en el Ejemplo 21.

3.3 Síntesis de un ácido 1-amino-ciclobutil-carboxílico sustituido en posición 2

Esquema IX



a) Un derivado de éster de glicina protegido tal como la imina IXa se alquila con compuesto electrófilo homoalílico IXb utilizando una base apropiada tal como un hidruro, hidróxido o alcóxido de metal. Útiles grupos lábiles en IXb incluyen halógenos (X = Cl, Br, I) o ésteres sulfonatos (mesilato, tosilo o triflato). La funcionalidad de alcohol alílico en IXb es protegida con grupos protectores de hidroxilo bien conocidos en la tecnología (p.ej. acetato, sililo, acetales).

b) En una segunda operación, la función hidroxilo del derivado monoalquilado IXc es desprotegida y convertida en una apropiada función electrófila X tal como antes se describe para el compuesto IXb.

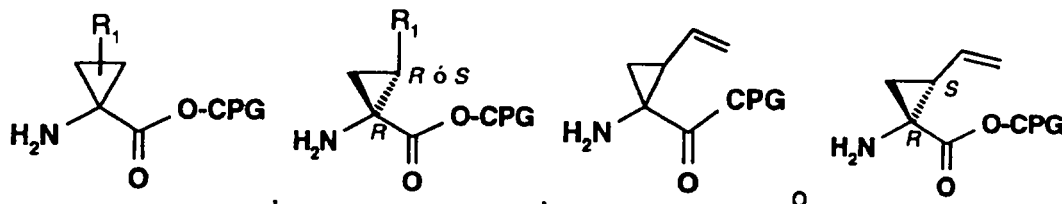
c) La ciclización del compuesto IXd para dar el derivado de ciclobutano IXe se lleva a cabo por tratamiento con una base (hidruros o alcóxidos de metales), seguido por hidrólisis utilizando ácidos minerales acuosos y neutralización con una base débil. En esta fase los isómeros "sin" y "anti" de IXe se pueden separar por cromatografía con resolución rápida.

d) Opcionalmente, el doble enlace existente en IXe puede también ser hidrogenado en condiciones normalizadas para proporcionar el correspondiente derivado saturado IXf.

El invento comprende además un procedimiento para la preparación de un compuesto análogo a un péptido de fórmula (I) en el que P1 es un residuo de ácido amino-ciclopropil-carboxílico sustituido, que comprende la operación de:

- acoplar un péptido seleccionado entre el grupo que consta de: APG-P3-P2; o APG-P2;

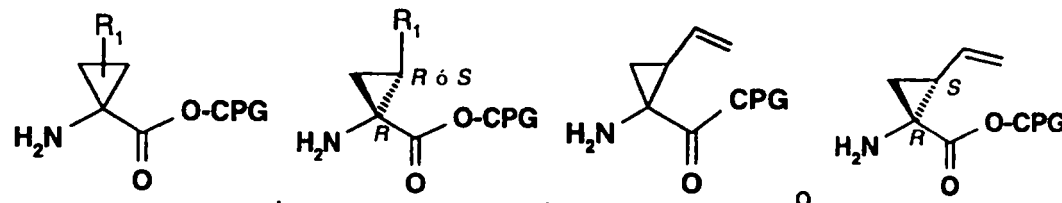
- con un compuesto intermedio de P1 que tiene la fórmula:



en la que R_1 es alquilo C_{1-6} , cicloalquilo o alquenoilo C_{2-6} , todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno, CPG es un grupo protector de carboxilo y APG es un grupo protector de amino y P3 y P2 son como antes se definen.

El invento comprende además un procedimiento para la preparación de: 1) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de serina, 2) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de NS3 del HCV, comprendiendo este procedimiento la operación de:

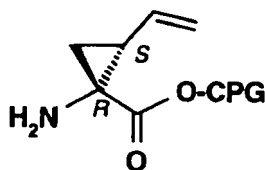
- acoplar un aminoácido, péptido o fragmento de péptido (apropiadamente protegido) con un compuesto intermedio de P1 que tiene la fórmula:



en que R_1 es alquilo C_{1-6} , cicloalquilo o alquenoilo C_{2-6} , todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno y CPG es un grupo protector de carboxilo.

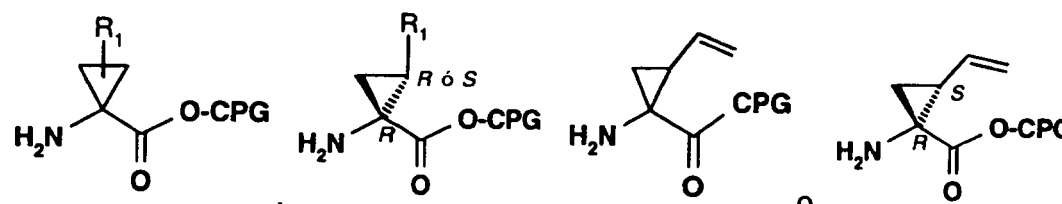
El invento comprende por lo tanto un procedimiento para la preparación de: 1) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa, ó 2) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de serina, comprendiendo este procedimiento la operación de:

- acoplar un aminoácido, péptido o fragmento de péptido (apropiadamente protegido) con un compuesto intermedio de fórmula:



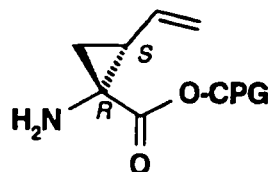
en el que CPG es un grupo protector de carboxilo.

El invento comprende también el uso de un compuesto intermedio de P1 de fórmula:



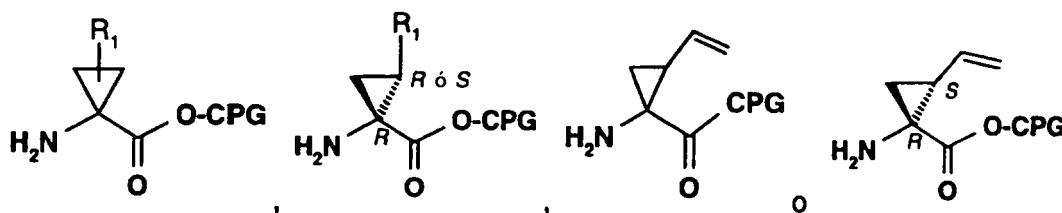
en el que R^1 es alquilo C_{1-6} , cicloalquilo o alquenoilo C_{2-6} , todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno, para la preparación de: 1) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de serina, ó 2) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de NS3 del HCV.

El invento comprende también el uso de un compuesto intermedio de fórmula:



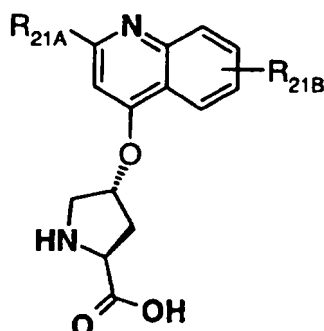
en el que CPG es un grupo protector de carboxilo, para la preparación de: 1) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa, o 2) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de serina.

El invento comprende también el uso de un compuesto intermedio de P1 que tiene la fórmula:



en la que R₁ es alquilo C₁₋₆, cicloalquilo o alqueno C₂₋₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno, para la preparación de un compuesto de fórmula I como antes se define.

Finalmente, el invento comprende también el uso de un compuesto análogo a prolina de fórmula:



en la que R_{21A} es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; halo; amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆; arilo C₆, C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆ o Het, estando dicho arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituido con R₂₂ en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆ o Het, y

R_{21B} es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)amida, NO₂, OH, halo, trifluorometilo o carboxilo;

para la síntesis de 1) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de serina, 2) un compuesto análogo a un péptido inhibidor de proteasa de NS3 del HCV, ó 3) un compuesto análogo a un péptido de fórmula I como antes se define.

Ejemplos

El presente invento es ilustrado con mayor detalle por los siguientes Ejemplos no limitativos.

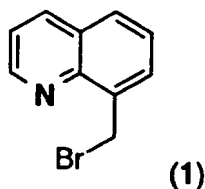
Las temperaturas están dadas en grados Celsius. Los porcentajes de las soluciones expresan una relación de peso a volumen, y las relaciones de las soluciones expresan una relación de volumen a volumen, a menos que se señale otra cosa distinta. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) se registraron en un espectrómetro Bruker de 400 MHz; los desplazamientos químicos (δ) se dan en partes por millón. La cromatografía con resolución rápida se llevó a cabo sobre gel de sílice (SiO₂) de acuerdo con la técnica de cromatografía con resolución rápida de Still (W.C. Still y colaboradora, J. Org. Chem., (1978), 43, 2.923).

Las abreviaturas utilizadas en los ejemplos incluyen Bn: bencilo; Boc: *tert.*-butiloxycarbonilo {Me₃COC(O)}; BSA: albúmina de suero bovino; CHAPS: 3-[(3-colamidopropil)-dimetilamonio]-1-propanosulfonato; DBU: 1,8-diaza-biciclo-[5.4.0]undec-7-eno; CH₂Cl₂ = DCM: cloruro de metileno; DEAD: azo-dicarboxilato de dietilo; DIAD: azo-dicarboxilato de diisopropilo; DIEA: diisopropil-etilamina; DIPEA: diisopropil-etilamina; DMAP: dimetilamino-piridina; DCC: 1,3-diciclohexil-carbodiimida; DME: 1,2-dimetoxi-etano; DMF: dimetil-formamida; DMSO: dimetil-sulfóxido; DTT: ditioneitol o treo-1,4-dimercapto-2,3-butanodiol; DPPA: difenil-fosfonil-azida; EDTA: ácido etilendiamina-tetraacético; Et: etilo; EtOH: etanol; EtOAc: acetato de etilo; Et₂O: dietil-éter; HATU: [hexafluorofosfato de O-7-aza-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio]; HPLC: cromatografía de líquido de alto rendimiento; MS: espectrometría de masas (MALDI-TOF: ionización-desorción con láser ayudada por matriz-tiempo de vuelo, FAB: bombardeo con átomos rápidos); LAH: hidruro de litio y aluminio; Me: metilo; MeOH: metanol; MES: (2-{N-morfolino}etano-sulfónico); NaHMDS: bis(trimetil-silil)amiduro de sodio; NMM: N-metil-morfolina; NMP: N-metil-pirrolidina; Pr: propilo; Succ: 3-carboxi-propanoilo; PNA: 4-nitro-fenilamino o p-nitro-anilida; TBAF: fluoruro de tetra-n-butyl-amonio; TBTU: tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio; TCEP: hidrocloreuro de tris(2-carboxi-etil)fosfina; TFA: ácido trifluoroacético; THF: tetrahidrofurano; TIS: triisopropil-silano; TLC: cromatografía de capa fina; TMSE: trimetil-silil-etilo; Tris/HCl: hidrocloreuro de tris(hidroximetil)aminometano.

Bloques de formacion de P2

Ejemplo 1

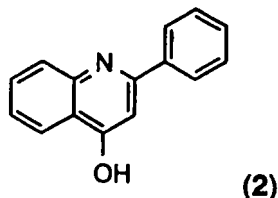
Síntesis de bromometil-8-quinolina (1)



A un ácido 8-quinolina-carboxílico comercialmente disponible (2,5 g, 14,4 mmol) se le añadió cloruro de tionilo puro (10 ml, 144 mmol). Esta mezcla se calentó a 80°C durante 1 h antes de que se separase por destilación el cloruro de tionilo en exceso bajo presión reducida. Al resultante sólido de color parduzco se le añadió EtOH absoluto (15 ml) que se calentó a 80°C durante 1 h antes de ser concentrado en vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso saturado, y la fase orgánica se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró para dar un aceite parduzco (2,8 g). Este material (aproximadamente 14,4 mmol) se añadió gota a gota durante 35 min a una suspensión de LAH (0,76 g, 20,2 mmol)/Et₂O que fue enfriada a -60°C. La mezcla de reacción se calentó lentamente a -35°C durante 1,5 h antes de que la reacción estuviera completa. La reacción se sofocó con MgSO₄·10H₂O lentamente durante 30 min y luego con THF húmedo. La mezcla se repartió entre Et₂O y NaHCO₃ acuoso al 10%. La fase orgánica se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró para dar un sólido amarillento (2,31 g, 80% a lo largo de 2 etapas) correspondiente al alcohol. El alcohol (2,3 g, 11,44 mmol) se disolvió en una mezcla de AcOH y HBr (20 ml, solución al 30% procedente de Aldrich) y se calentó a 70°C durante 2,5 h. La mezcla se concentró en vacío hasta sequedad, se repartió entre EtOAc (100 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado antes de ser secada (sobre MgSO₄), filtrada y concentrada para dar el compuesto (1) deseado como un sólido parduzco (2,54 g, 100%).

Ejemplo 2

Síntesis de 2-fenil-4-hidroxi-quinolina (2)



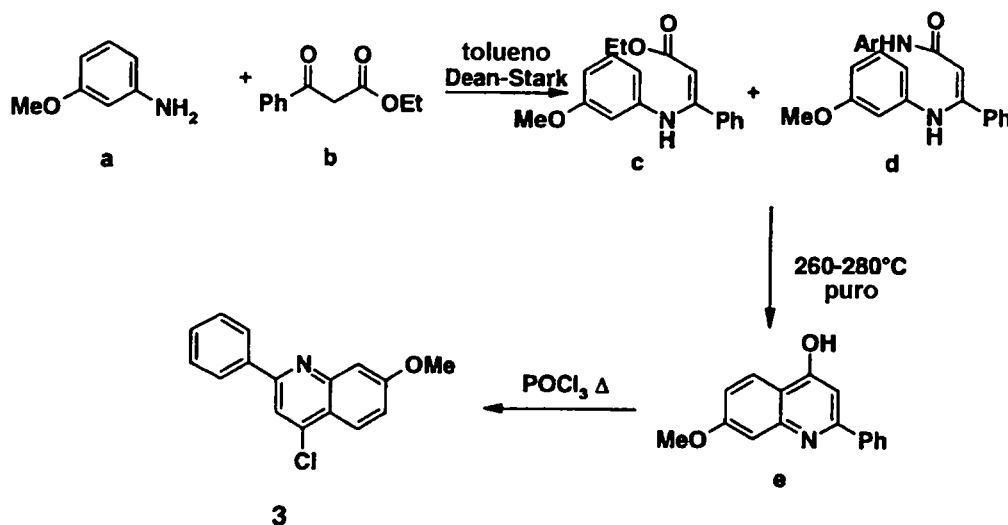
Un benzoil-acetato de etilo comercialmente disponible (6,00 g, 31,2 mmol) se calentó a 85°C (tubo cerrado herméticamente) en 75 ml de NH₄OH al 30% durante 2 horas. El sólido formado al enfriar se filtró y puso a reflujo en agua durante 2 horas. La solución se extrajo tres veces con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO₄, filtraron y concentraron. El residuo de color amarillo se cromatografió con resolución rápida sobre gel de sílice, eluyendo con una mezcla de EtOAc y hexano (3:7) para dar la correspondiente amida como un sólido de color blanco, 1,60 g, rendimiento 31%.

Esta amida (250 mg, 1,53 mmol) se puso a reflujo utilizando un aparato de Dean-Stark con anilina (143 mg, 1,53 mmol) y anilina-HCl (10 mg, 0,08 mmol) en tolueno (10 ml) durante 16 h. La solución se concentró para proporcionar un aceite de color pardo que se mezcló con ácido polifosfórico (2 g) y se calentó a 135°C durante 20 min. La mezcla de reacción se vertió en agua y se ajustó a pH 8 con NaOH 5 M. La suspensión acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió con resolución rápida sobre gel de sílice, eluyendo con MeOH al 3% en acetato de etilo, para dar la 2-fenil-4-hidroxi-quinolina (2), 67 mg, rendimiento 20%.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8,11 (d, J = 7 Hz, 1 H), 7,86-7,83 (m, 2 H), 7,77 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,68 (dd, J = 8, 7 Hz), 7,61-7,58 (m, 3 H), 7,35 (dd, J = 8, 7 Hz, 1 H), 6,34 (s, 1 H).

Ejemplo 3

Síntesis de 4-hidroxi-2-fenil-7-metoxi-quinolina (3)



4-hidroxi-2-fenil-7-metoxi-quinolina (e)

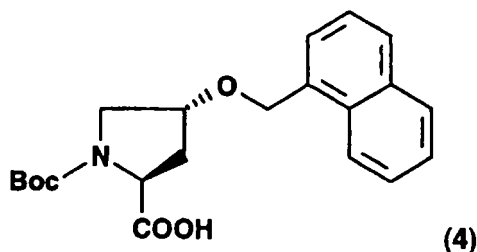
Una solución de benzoil-acetato de etilo (b) (100,0 g, 0,52 mol), m-anisidina (a) (128,1 g, 1,04 mol) y una mezcla de HCl 4 N y dioxano (5,2 ml) en tolueno (1,0 l) se puso a reflujo durante 6,25 h en un aparato de Dean-Stark. La solución en tolueno enfriada se lavó consecutivamente con HCl al 10% acuoso (2 x 300 ml), NaOH 1 N (2 x 300 ml), H₂O (300 ml) y salmuera (150 ml). La fase en tolueno se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar una mezcla 1,2:1,0 del éster c y la amida d (144,6 g, rendimiento bruto de 45%/38%) como un aceite de color pardo oscuro. El aceite bruto se calentó a 280°C durante 80 min mientras que se destilaba el EtOH generado. El sólido oscuro enfriado que se obtuvo fue triturado con CH₂Cl₂ (200 ml). La suspensión se filtró y el sólido resultante se lavó con CH₂Cl₂ para dar el compuesto e (22,6 g, 17% procedente del compuesto a) como un sólido de color beige.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8,00 (d, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,81-7,82 (m, 2 H), 7,57-7,59 (m, 3H), 7,20 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 6,94 (dd, J = 9,0, 2,2 Hz, 1H), 6,26 (s, 1 H), 3,87 (s, 3 H).

4-cloro-2-fenil-7-metoxi-quinolina (3)

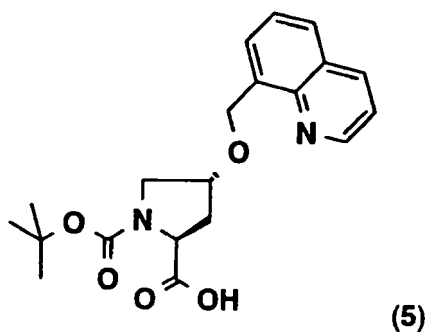
Una suspensión del compuesto e (8,31 g, 33,1 mmol) en POCl₃ (90 ml) se calentó a reflujo durante 2 h (solución transparente obtenida después de calentar). La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se repartió entre NaOH 1 N (exotérmico, se añadió NaOH 10 N para mantener un alto pH) y EtOAc (500 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O (100 ml) y salmuera (100 ml) y luego se secó (sobre MgSO₄), se filtró y concentró bajo presión reducida para dar el compuesto 3 (8,60 g, 96%) como un sólido de color amarillo pálido: ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8,28-8,30 (m, 2H), 8,20 (s, 1H), 8,10 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 7,54-7,58 (m, 3H), 7,52 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,38 (dd, J = 9,1, 2,5 Hz, 1H), 3,98 (s, 3H). Esta reacción se repitió tres veces y dio siempre un rendimiento de 96-98%, que es significativamente mayor que el rendimiento de 68% del que se informa en J. Med. Chem. 1997, 40, 1794.

Ejemplo 4

Síntesis de Boc-4(R)-(naftalen-1-ilmetoxi)prolina (4)

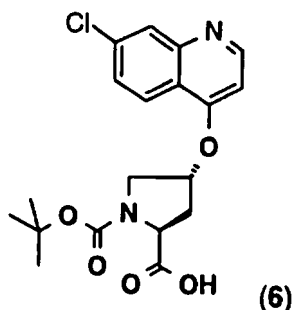
Una Boc-4(R)-hidroxiprolina comercialmente disponible (5,00 g, 21,6 mmol) se disolvió en THF (100 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió en porciones en el transcurso de 10 minutos hidruro de sodio (dispersión al 60% en un aceite, 1,85 g, 45,4 mmol) y la suspensión se agitó a TA durante 1 h. Luego se añadió 1-(bromometil)naftaleno (8,00 g, 36,2 mmol) (preparado como se describe en E.A. Dixon y colaboradores Can. J. Chem., (1981), 59, 2.629-2.641) y la mezcla se calentó a reflujo durante 18 h. La mezcla se vertió en agua (300 ml) y se lavó con hexano. La capa acuosa se acidificó con HCl acuoso al 10% y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron con salmuera, se secaron (sobre MgSO₄), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía con resolución rápida (mezcla 49:49:2 de hexano, acetato de etilo y ácido acético) para dar el compuesto del título como un aceite incoloro (4,51 g, rendimiento 56%). El ¹H NMR (DMSO-d₆) indicó la presencia de dos rotámeros: δ 8,05 (m, 1H), 7,94 (m, 1H), 7,29 (d, J=14 Hz, 1H), 7,55-7,45 (m, 4H), 4,96 (m, 2H), 4,26 (br. s, 1H), 4,12 (dd, J=8 Hz, 1H), 3,54-3,42 (m, 2H), 2,45-2,34 (m, 1H), 2,97-1,98 (m, 1H), 1,36 (s, (3/9) 9H), 1,34 (s, (6/9) 9H).

Ejemplo 5

Síntesis de Boc-4(R)-(8-quinolina-metoxi)prolina (5)

Se añadió Boc-4(R)-hidroxiprolina (1,96 g, 8,5 mmol) en THF anhidro (20 ml) a una suspensión de NaH (1,4 g, al 60% en un aceite, 34 mmol) en THF (100 ml). Esta mezcla se agitó durante 30 min antes de que se añadiese la bromometil-8-quinolina procedente del Ejemplo 1 (2,54 g, 11,44 mmol) en THF (30 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C (durante 5 h) antes de que el NaH en exceso fuese destruido cuidadosamente con THF húmedo. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el material resultante se disolvió en EtOAc y H₂O. La fase acuosa de carácter básico se separó y acidificó con HCl acuoso al 10% a pH ~5 antes de ser extraída con EtOAc (150 ml). La fase orgánica se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró para dar un aceite de color pardo. La purificación por cromatografía con resolución rápida (eluyente: mezcla de MeOH al 10% y CHCl₃) dio el compuesto (5) deseado como un sólido de color amarillo pálido (2,73 g, 86%) HPLC (97,5); la ¹H NMR (DMSO-d₆) muestra poblaciones de rotámeros en una relación 6:4, δ 12-11,4 (bs, 1H), 8,92 (2 x d, J=4,14 y 4,14 Hz, 1H), 8,38 (2 x d, J=8,27 y 8,27 Hz, 1H), 7,91 (d, J=7,94 Hz, 1H), 7,77 (d, J=7,0 Hz, 1H), 7,63-7,54 (m, 2H), 5,14 (2 x s, 2H), 4,32-4,29 (m, 1H), 4,14-4,07 (m, 1H), 3,44 (m, 2H), 2,43-2,27 (m, 1H), 2,13-2,04 (m, 1H), 1,36 y 1,34 (2 x s, 9H).

Ejemplo 6

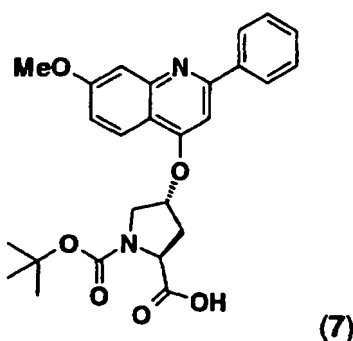
Preparación de Boc-4(R)-(7-cloro-quinolina-4-oxo)prolina (6)

Un éster metílico de Boc-4(S)-hidroxiprolina comercialmente disponible (500 mg, 2,04 mmol) y 7-cloro-4-hidroxi-quinolina (440 mg, 2,45 mmol) se dispusieron en THF seco (10 ml) a 0°C. Se añadió trifenil-fosfina (641 mg, 2,95 mmol) seguido por adición lenta de DIAD (426 mg, 2,45 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 20 h. Luego la mezcla de reacción se concentró, se recogió en acetato de etilo y se extrajo tres veces con HCl 1 N. La fase acuosa se alcalinizó con Na₂CO₃ y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar un aceite de color amarillo. El aceite se purificó por cromatografía con resolución rápida para dar el éster metílico como un sólido de color blanco, 498 mg, rendimiento 58%.

Este éster metílico (400 mg, 0,986 mmol) se hidrolizó con hidróxido de sodio acuoso 1 M (1,7 ml, 1,7 mmol) en metanol (4 ml), a 0°C durante 3 h. La solución se concentró para eliminar el metanol y se neutralizó con HCl acuoso 1 M. La suspensión se concentró hasta sequedad y se recogió en metanol (20 ml), las sales se separaron por filtración y el material filtrado se concentró para dar el compuesto (6) deseado como un sólido de color blanco, 387 mg, rendimiento cuantitativo.

¹H NMR (DMSO-d₆) (mezcla aproximadamente 1:1 de rotámeros) δ 8,74 (d, J= 5 Hz, 1H), 8,13-8,09 (m, 1H), 7,99 y 7,98 (s, 1H), 7,58 (d, J= 9 Hz, 1H), 7,02 (d, J= 5 Hz, 1H), 5,26-5,20 (m, 1H), 4,10-4,01 (m, 1H), 3,81-3,72 (m, 1H), 3,59 (dd, J= 12, 10 Hz, 1H), 2,41-2,31 (m, 2H), 1,34 y 1,31 (s, 9H).

Ejemplo 7

Síntesis de Boc-4(R)-(2-fenil-7-metoxi-quinolina-4-oxo)-prolina (7)*Boc-4(R)-(2-fenil-7-metoxi-quinolina-4-oxo)prolina (7)*

Se añadió terc.-butóxido de potasio (8,16 g, 72,7 mmol) en pequeñas porciones, en el transcurso de 15 min, a una solución de Boc-4(R)-hidroxiprolina (6,73 g, 29,1 mmol) en DMSO (883 ml) mantenida a 25°C. La mezcla se agitó a 25°C durante 1,5 h. Se añadió cloro-2-fenil-7-metoxi-quinolina 3 (8,61 g, 32,0 mmol) en 4 porciones durante 15 min a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 19 h. La suspensión resultante se vertió en H₂O (650 ml) y la mezcla se lavó con Et₂O (3 x 150 ml) para eliminar la cloro-quinolina en exceso (posteriormente se encontró que el EtOAc era más eficiente). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N acuoso (38 ml de calculado 1,5 equivalentes requeridos, 43,6 ml) a un pH de 4 - 5. El sólido de color blanco que precipitó se recuperó por filtración.

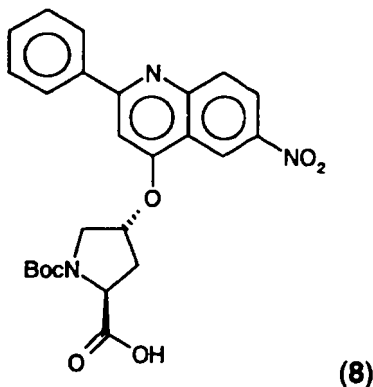
ES 2 326 707 T3

El sólido húmedo se secó bajo presión reducida sobre P_2O_5 para dar el derivado de prolina 7 (12,6 g, 91%, contiene 2,3% de p/p de DMSO) como un sólido de color beige:

1H NMR ($DMSO-d_6$) (mezcla 2:1 de rotámeros) δ 8,27 (d, $J=7,0$ Hz, 1H), 8,00, 7,98 (2d, $J=9,2$, $\sim 9,2$ Hz, 1H), 7,48-7,56 (m, 3H), 7,45, 7,33 (2s, 1H), 7,39 (d, $J=2,5$ Hz, 1H), 7,17 (dd, $J=9,2$, $2,5$ Hz, 1H), 5,53-5,59 (m, 1H), 4,34-4,41 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,76 (s ancho, 2H), 2,63-2,73 (m, 1H), 2,32-2,43 (m, 1H), 1,36, 1,33 (2s, 9H).

Ejemplo 8

Síntesis de Boc-4(R)-(2-fenil-6-nitro-quinolina-4-oxo)-prolina (8)



Se añadió azo-dicarboxilato de dietilo (0,77 ml, 4,89 mmol) gota a gota a una solución agitada de trifenil-fosfina (1,28 g, 4,88 mmol) en 15 ml de tetrahidrofurano a $0^\circ C$. Después de agitar durante 30 min bajo nitrógeno, se añadió una solución del éster metílico de Boc-4(S)-hidroxiprolina (1,00 g, 4,08 mmol) en 5 ml de tetrahidrofurano seguido por una suspensión de 6-nitro-2-fenil-4-quinolinol comercialmente disponible (1,30 g, 4,88 mmol) en 10 ml del mismo disolvente. La mezcla de color rojo se agitó durante 15 min a $0^\circ C$ y a TA durante una noche. El disolvente se evaporó en vacío. El aceite remanente se diluyó en acetato de etilo y se lavó dos veces con bicarbonato de sodio, una vez con agua y una vez con salmuera. La capa orgánica se secó (sobre $MgSO_4$), se filtró y se evaporó en vacío. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (mezcla de 70:30 v/v de hexanos y acetato de etilo), proporcionando el deseado éster metílico como un sólido de color amarillo claro (1,70 g, 85%).

1H NMR ($CDCl_3$) rotámeros $\equiv 3:7$ δ 9,03 (d, $J=2,5$ Hz, 1H), 8,46 (dd, $J=9, 2,5$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J=9$ Hz, 1H), 8,14-8,07 (m, 2H), 7,59-7,50 (m, 3H), 7,19 (s, 1H), 5,39-5,30 (m, 1H), 4,67 (t, $J=8$ Hz, 0,3H), 4,61 (t, $J=8$ Hz, 0,7H), 4,07-4,01 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,89-2,73 (m, 1H), 2,55-2,47 (m, 1H), 1,49 (s, 2,7H), 1,45 (s, 6,3H).

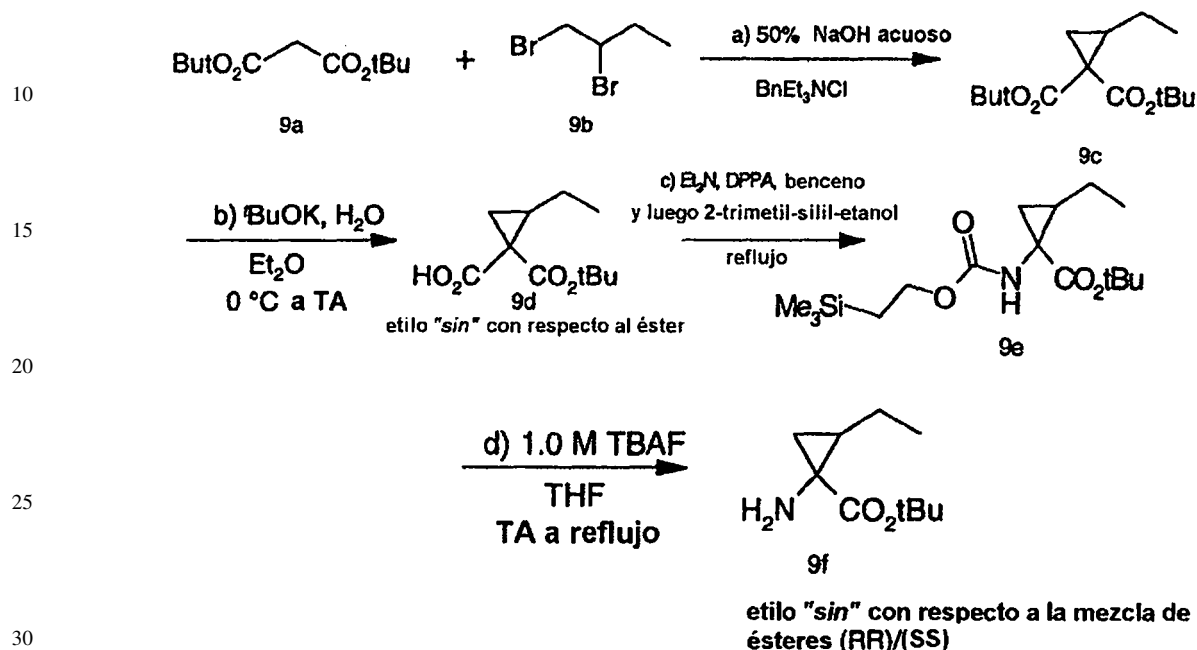
A una solución del éster metílico (503 mg, 1,02 mmol) en una mezcla de THF y H_2O (10:4 ml) se le añadió hidróxido de litio monohidratado (85 mg, 2,05 mmol). Se añadieron 2 ml de MeOH con el fin de obtener una solución homogénea. Resultó un precipitado de color blanco en el transcurso de 30 min. La suspensión resultante se agitó a TA durante 6 h adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con una solución acuosa de ácido cítrico al 10% y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó (sobre $MgSO_4$), se filtró y se evaporó en vacío para proporcionar 416 mg (85%) del ácido (8) deseado.

1H NMR ($DMSO-d_6$): δ 8,92-8,87 (m, 1H), 8,47 (dd, $J=9, 3$ Hz, 1H), 8,38-8,32 (m, 2H), 8,19 (d, $J=9$ Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,62-7,55 (m, 3H), 5,73-5,66 (m, 1H), 4,41 (t, $J=8$ Hz, 1H), 3,89-3,76 (m, 2H), 2,83-2,72 (m, 1H), 2,47-2,36 (m, 1H), 1,38 (s, 9H).

Bloques de formación de PI

Ejemplo 9

5 A) Síntesis de una mezcla de (1R,2R)/(1S,2S)-ácidos 1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílicos



35 a) A una suspensión de cloruro de bencil-trietil-amonio (21,0 g, 92,19 mmol) en una solución acuosa al 50% de NaOH (92,4 g en 185 ml de H₂O) se le añadieron consecutivamente malonato de di-*tert*-butilo (20,0 g, 92,47 mmol) y 1,2-dibromo-butano (30,0 g, 138,93 mmol). La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante una noche a TA, luego se añadió una mezcla de hielo y agua. El producto bruto se extrajo con CH₂Cl₂ (3x) y se lavó consecutivamente con agua (3x) y salmuera. La capa orgánica se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo se cromatografió con resolución rápida (7 cm, 2 a 4% de Et₂O en hexano) para proporcionar el deseado derivado de ciclopropano 9c (19,1 g, 70,7 mmol, rendimiento 76%). ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,78-1,70 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 1,44-1,39 (m, 1H), 1,26-1,64 (m, 3H), 1,02 (t, 3H, J = 7,6 Hz).

40 b) A una suspensión de *tert*-butoxido de potasio (6,71 g, 59,79 mmol, 4,4 eq.) en éter seco (100 ml) a 0°C se le añadió H₂O (270 µl, 15,0 mmol, 1,1 eq.). Después de 5 min, se añadió a la suspensión el diéster 9c (3,675 g, 13,59 mmol) en éter (10 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA, luego se vertió en una mezcla de hielo y agua y se lavó con éter (3x). La capa acuosa se acidificó con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico a 0°C y se extrajo con AcOEt (3x). La capa orgánica combinada se lavó consecutivamente con agua (2x) y salmuera. Después del tratamiento usual (con Na₂SO₄, filtración y concentración), el deseado ácido 9d se aisló como un aceite de color amarillo pálido (1,86 g, 8,68 mmol, rendimiento 64%).

50 ¹H NMR (CDCl₃): δ 2,09-2,01 (m, 1H), 1,98 (dd, J = 3,8, 9,2 Hz, 1H), 1,81-1,70 (m, 1H), 1,66 (dd, J = 3,0, J = 8,2 Hz, 1H), 1,63-1,56 (m, 1H), 1,51 (s, 9H), 1,0 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

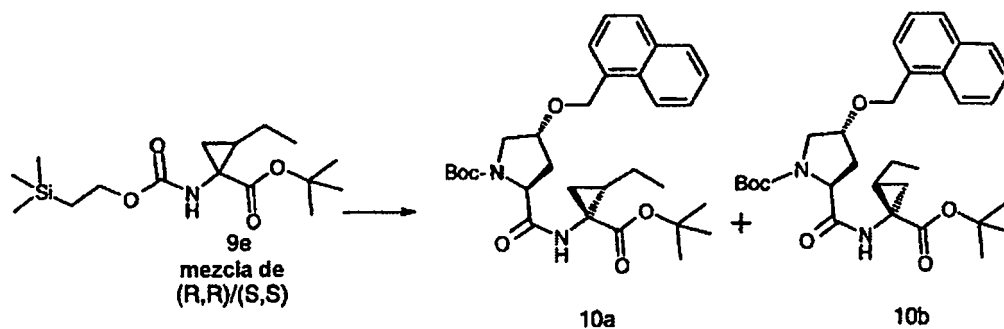
55 c) Al ácido 9d (2,017 g, 9,414 mmol) en benceno seco (32 ml) se le añadieron consecutivamente Et₃N (1,50 ml, 10,76 mmol, 1,14 eq.) y DPPA (2,20 ml, 10,21 mmol, 1,08 eq.). La mezcla de reacción se puso a reflujo durante 3,5 h y luego se añadió 2-trimetil-silil-etanol (2,70 ml, 18,84 mmol, 2,0 eq.). El reflujo se mantuvo durante una noche y luego la mezcla de reacción se diluyó con Et₂O y se lavó consecutivamente con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico, con agua, con NaHCO₃ acuoso saturado, con agua (2 veces) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración), el residuo se purificó por cromatografía con resolución rápida (5 cm, mezcla de 10% de AcOEt y hexano) para proporcionar el deseado carbamato 9e (2,60 g, 7,88 mmol, rendimiento 84%) como un aceite de color amarillo pálido. MS (FAB) 330 (MH)⁺; ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,1 (bs, 1H), 4,18-4,13 (m, 2H), 1,68-1,38 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,24-1,18 (m, 1H), 1,00-0,96 (m, 5H), 0,03 (s, 9H).

60 d) Al carbamato 9e (258 mg, 0,783 mmol) se le añadió una solución 1,0 M de TBAF en THF (940 µl, 0,94 mmol, 1,2 eq.). Después de 4,5 h se añadió una cantidad adicional de TBAF 1,0 M (626 µl, 0,63 mmol, 0,8 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA, se puso a reflujo durante 30 min y luego se diluyó con AcOEt. La solución se lavó consecutivamente con agua (2 veces) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) se aisló la deseada amina 9f (84 mg, 0,453 mmol, rendimiento 58%) como un líquido de color amarillo

pálido. ^1H NMR (CDCl_3): δ 1,96 (bs, 2H), 1,60-1,40 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,31-1,20 (m, 1H), 1,14 (dd, $J = 4,1, 7,3$ Hz, 1H), 1,02 (dd, $J = 4,1, 9,2$ Hz, 1H), 0,94 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

Ejemplo 10

*Resolución química de (1R,2R/(1S,2S))-1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxilatos de *t*-butilo (procedentes del Ejemplo 9)*



Isómeros separados por cromatografía en columna.

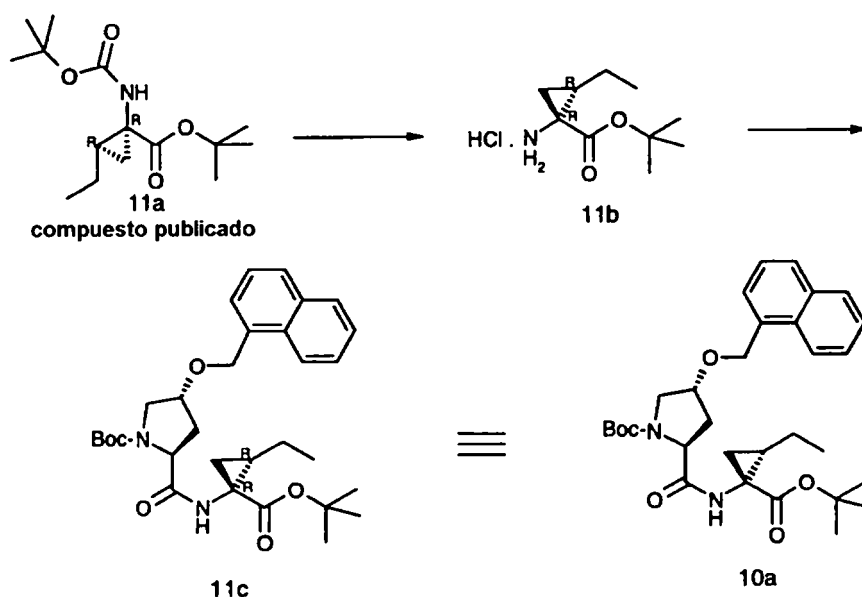
Isómero RR

Isómero SS

El compuesto 9e procedente del Ejemplo 9 (8,50 g, 25,86 mmol) se trató con TBAF/THF 1 M (26 ml) a reflujo durante 45 min. La mezcla de reacción enfriada se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (3 veces) y con salmuera (1 vez), luego se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se evaporó para proporcionar la amina libre como un aceite de color amarillo claro. La amina libre se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (120 ml), NMM (8,5 ml, 77,57 mmol), se añadieron consecutivamente el compuesto 4 (Ejemplo 4) (10,08 g, 27,15 mmol) y HATU (11,79 g, 31,03 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche, luego se trató tal como se ha descrito con anterioridad. La mezcla diastereoisómera bruta se separó por cromatografía con resolución rápida (eluyente - mezcla de hexano y Et_2O ; 25:75), para proporcionar los dipéptidos 10a (la mancha de elución menos polar) como una espuma de color blanco (4,42 g; 64% del rendimiento teórico) y 10b (la mancha de elución más polar) como una espuma de color marfil (4 g, 57% del rendimiento teórico). En este momento, ambos isómeros se habían separado pero todavía no se conocía la estereoquímica absoluta.

Ejemplo 11

*Determinación de la estereoquímica absoluta de los compuestos 10a y 10b por correlación con el (1R-amino-2R-etil-ciclopropil)-carboxilato de *t*-butilo conocido*

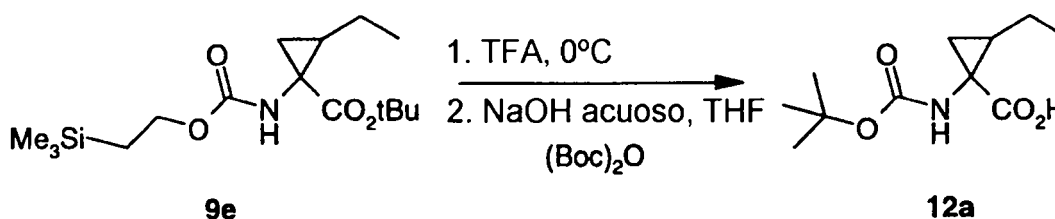


Comparación directa por TLC, HPLC y NMR

El Profesor A. Charette, de la Universidad de Montreal, proporcionó el compuesto 11a que tenía la estereoquímica absoluta que se muestra, la cual fue determinada por cristalografía de rayos X (J. Am. Chem. Soc., 1995, 117, 12.721). El compuesto 11a (13,2 mg, 0,046 mmol) se disolvió en una mezcla de HCl 1 N y EtOAc (240 μ l) y se agitó durante aproximadamente 48 horas. La mezcla se evaporó hasta sequedad para proporcionar el compuesto 11b como una pasta de color amarillo claro y se acopló al compuesto 4 (18 mg, 0,049 mmol) como se describe en el Ejemplo 10, utilizando NMM (20,3 μ l, 0,185 mmol) y HATU (21,1 mg, 0,056 mmol) en CH₂Cl₂. El material bruto se purificó por cromatografía con resolución rápida (eluyente - mezcla de hexano y Et₂O; 50:50) para proporcionar el dipéptido 11c en forma de un aceite (7,7 mg; 31%). Por comparación de las TLC, HPLC y NMR, se encontró que el dipéptido 11c era idéntico al compuesto 10a menos polar obtenido en el Ejemplo 10, identificando por lo tanto la estereoquímica absoluta del 10a como (1R,2R).

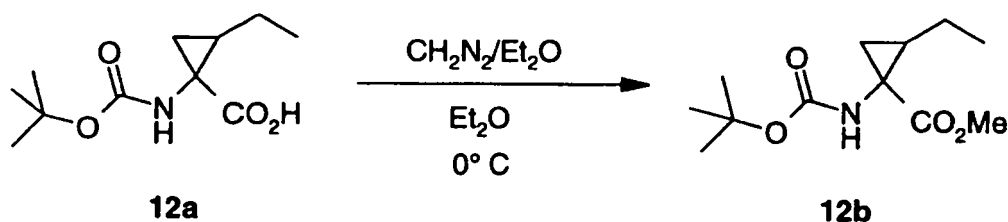
Ejemplo 12

Preparación de (1R,2R)/(1S,2S)-ácidos 1-Boc-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílicos: (12a)



El carbamato 9e procedente del Ejemplo 9 (2,6 g, 7,88 mmol) se agitó durante 40 min en TFA a 0°C. Luego la mezcla se concentró y diluyó con THF (10 ml). Se añadió una solución acuosa de NaOH (700 mg, 17,5 mmol en 8,8 ml de H₂O) seguido por una solución en THF (13 ml) de (Boc)₂O (2,06 g, 9,44 mmol, 1,2 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA (el pH se mantuvo en 8 añadiendo una solución acuosa al 10% de NaOH cuando se necesitaba), luego se diluyó con H₂O, se lavó con Et₂O (3x) y se acidificó a 0°C con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 veces) y se lavó consecutivamente con H₂O (2 veces) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) se aisló el deseado aminoácido protegido por Boc (12a) (788 mg, 3,44 mmol, rendimiento 44%). ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,18 (bs, 2H), 1,64-1,58 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,32-1,25 (m, 1H), 0,99 (t, 3H, J= 7,3 Hz).

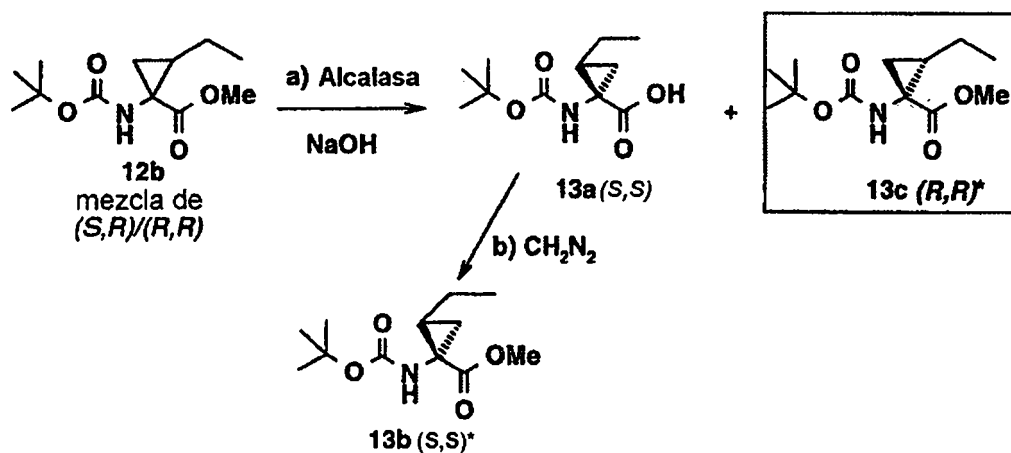
Preparación de (1R,2R)/(1S,2S)-ésteres metílicos de ácido 1-Boc-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílico: (12b)



El derivado con Boc 12a (0,30 g, 1,31 mmol) se disolvió en Et₂O (10 ml) y se trató con diazometano recientemente preparado en Et₂O a 0°C hasta que persistiese el color amarillo de un ligero exceso de diazometano. Después de haber agitado durante 20 min a TA, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad para dar el compuesto 12b como un aceite incoloro transparente (0,32 g, 100%). ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,1 (bs, 1H), 3,71 (s, 3H), 1,62-1,57 (m, 2H), 1,55 (s, 9H), 1,53-1,43 (m, 1H), 1,28-1,21 (m, 2H), 0,95 (t, J= 7,3 Hz, 3H).

Ejemplo 13

Resolución enzimática de una mezcla de (1R,2R)/(1S,2S)-Boc-1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxilatos de metilo



* Análisis por HPLC utilizando una columna de Chiracel® OD-H

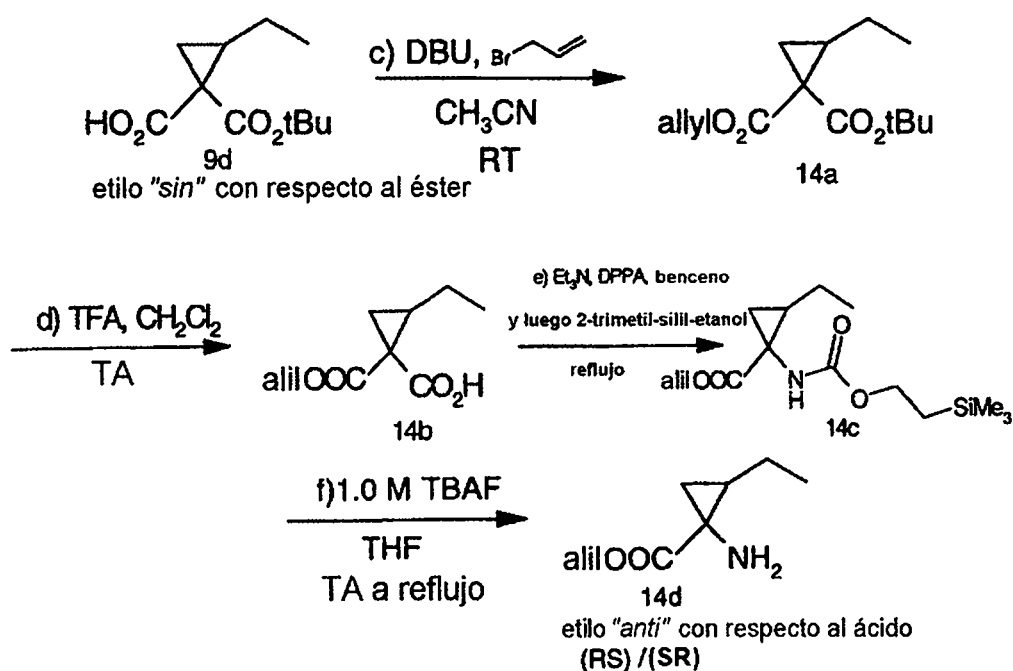
** Otros ésteres son también aceptables (p.ej. el Et)

25 a) La mezcla de enantiómeros (1S,2S)/(1R,2R)-ésteres metílicos de ácido 1-Boc-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílico del Ejemplo 10 (0,31 g, 1,27 mmol) se disolvió en acetona (3 ml) y luego se diluyó con agua (7 ml) mientras que se estaba agitando rápidamente. El pH de la solución se ajustó a 7,5 con NaOH acuoso 0,05 M antes de que se añadiese Alcalase® [extracto de 2,4 l procedente de Novo Nordisk Industrials] (300 mg). Durante la incubación, el pH fue estabilizado con NaOH y se ajustó un regulador del pH (pH-estato) para vigilar la adición de la solución de NaOH. Después de 40 h, la mezcla se diluyó con EtOAc y H₂O (con 5 ml de NaHCO₃ saturado) y las fases se separaron. La fase acuosa se acidificó con HCl acuoso al 10% y se extrajo con EtOAc, se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró para dar el ácido 13a (48,5 mg). La estereoquímica absoluta se determinó utilizando la correlación descrita en los Ejemplos 10 y 11.

35 b) El tratamiento de una parte alícuota del ácido 13a con diazometano en Et₂O para dar el éster metílico, seguido por un análisis mediante HPLC utilizando una columna quiral [Chiracel® OD-H, mezcla de 2,5% de isopropanol y hexano, isocrática] pusieron de manifiesto una relación 51:1 del isómero (S,S).

Ejemplo 14

Síntesis de (1R,2S)/(1S,2R)-ácidos 1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílicos



Partiendo del ácido 9d descrito en el Ejemplo 9:

c) Al compuesto 9d (1,023 g, 4,77 mmol) en CH₃CN (25 ml) se le añadieron consecutivamente DBU (860 µl, 5,75 mmol, 1,2 eq.) y bromuro de alilo (620 µl, 7,16 mmol, 1,5 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a TA y luego se concentró. El residuo se diluyó con Et₂O y se lavó consecutivamente con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico (2 veces), con H₂O, con NaHCO₃ acuoso saturado, con H₂O (2 veces) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) el éster 14a deseado se aisló (1,106 g, 3,35 mmol, rendimiento 91%) como un aceite incoloro. MS (FAB) 255 (MH⁺); ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,96-5,86 (m, 1H), 5,37-5,22 (m, 2H), 4,70-4,52 (m, 1H), 1,87-1,79 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,45-1,40 (m, 1H), 1,33-1,24 (m, 3H), 1,03 (t, J= 7,3 Hz, 3H).

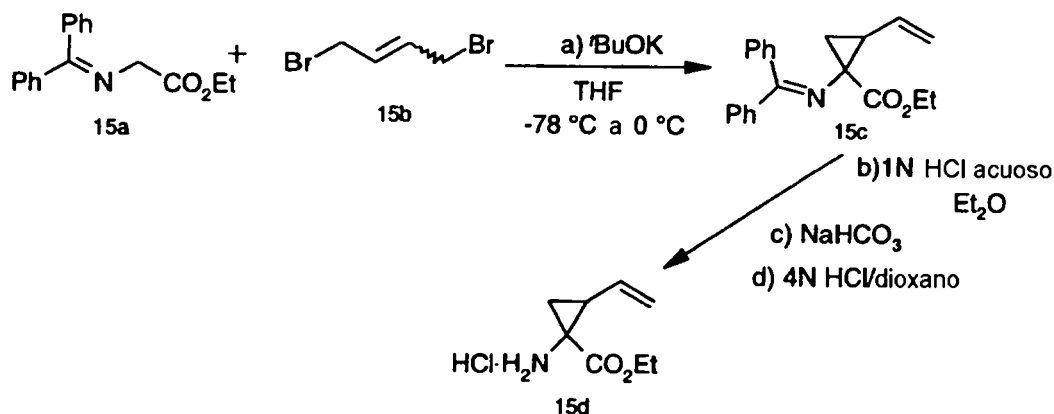
d) Al éster 14a (1,106 g, 4,349 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5 ml) a TA se le añadió TFA (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 h y luego se concentró para proporcionar el compuesto 14b (854 mg, 4,308 mmol, rendimiento 99%). MS (FAB) 199 (MH⁺); ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,99-5,79 (m, 1H), 5,40-5,30 (m, 2H), 4,71-4,62 (m, 2H), 2,22-2,00 (m, 2H), 1,95-1,88 (m, 1H), 1,84-1,57 (m, 2H), 0,98 (t, J= 7,3 Hz, 3H).

e) Al ácido 14b (853 mg, 4,30 mmol) en benceno seco (14,8 ml) se le añadieron consecutivamente Et₃N (684 µl, 4,91 mmol, 1,14 eq.) y DPPA (992 µl, 4,60 mmol, 1,07 eq.). La mezcla de reacción se puso a reflujo durante 4,5 h y luego se añadió 2-trimetil-silil-etanol (1,23 ml, 8,58 mmol, 2,0 eq.). El reflujo se mantuvo durante una noche y luego la mezcla de reacción se diluyó con Et₂O y se lavó consecutivamente con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico, con agua, con NaHCO₃ acuoso saturado, con agua (2 veces) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) el residuo se cromatógrafió con resolución rápida (5 cm, mezcla de 10 a 15% de AcOEt y hexano) para proporcionar el carbamato 14c (1,212 g, 3,866 mmol, rendimiento 90%) como un aceite de color amarillo pálido. MS (FAB) 314 (MH⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5,93-5,84 (m, 1H), 5,32-5,20 (m, 2H), 5,05 (bs, 1H), 4,60-4,56 (m, 2H), 4,20-4,11 (m, 2H), 1,71-1,60 (m, 3H), 1,39-1,22 (m, 1H), 1,03 (t, J= 7,6 Hz, 3H), 0,96-0,86 (m, 1H), 0,04 (s, 9H).

f) Al carbamato 14c (267 mg, 0,810 mmol) se le añadió una solución 1,0 M de TBAF en THF (1,62 ml, 1,62 mmol, 2,0 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA, se puso a reflujo durante 30 min y luego se diluyó con AcOEt. La solución se lavó consecutivamente con agua (2 veces) y con salmuera. Después del tratamiento usual (sobre MgSO₄, filtración y concentración) se aisló la amina 14d deseada (122 mg, 0,721 mmol, rendimiento 89%) como un líquido de color amarillo pálido. ¹H NMR (CDCl₃) δ 5,94-5,86 (m, 1H), 5,31-5,22 (m, 2H), 4,58 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 1,75 (bs, 2H), 1,61-1,53 (m, 2H), 1,51-1,42 (m, 2H), 1,00 (t, J= 7,3 Hz, 3H), 0,70-0,62 (m, 1H).

Ejemplo 15

Síntesis de una mezcla de (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilatos de etilo



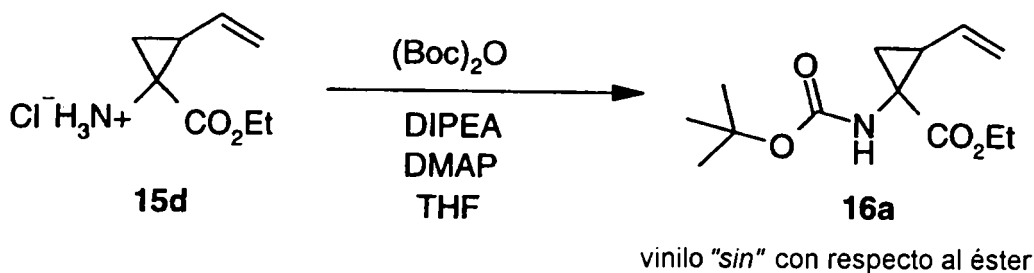
a) A una solución en THF (180 ml) de *tert*.-butóxido de potasio (4,62 g, 41,17 mmol, 1,1 eq.) a -78°C se le añadió la imina 15a comercialmente disponible (10,0 g, 37,41 mmol) en THF (45 ml). La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó a esta temperatura durante 40 min. Luego la mezcla se enfrió de vuelta a -78°C para la adición de 1,4-dibromo-buteno 15b (8,0 g, 37,40 mmol) y luego se agitó a 0°C durante 1 h y se enfrió de retorno a -78°C para la adición de *tert*.-butóxido de potasio (4,62 g, 41,17 mmol, 1,1 eq.). La mezcla de reacción se agitó finalmente durante una hora más a 0°C y se concentró para proporcionar el compuesto 15c.

b, c, d) El compuesto 15c se recogió en Et₂O (265 ml) y se trató con una solución acuosa 1 N de HCl (106 ml). Después de 3,5 h a TA, las capas fueron separadas y la capa acuosa fue lavada con Et₂O (2 veces) y alcalinizada con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. La amina deseada se extrajo con Et₂O (3 veces) y el extracto orgánico combinado se lavó con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) el residuo se trató con una solución 4 N de HCl en dioxano (187 ml, 748 mmol). Después de concentración, la sal hidrocloreto 15d

se aisló como un sólido de color pardo (2,467 g, 12,87 mmol, rendimiento 34%). ^1H NMR (CDCl_3) δ 9,17 (bs, 3H), 5,75-5,66 (m, 1H), 5,39 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 5,21 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 4,35-4,21 (m, 2H), 2,77-2,70 (m, 1H), 2,05 (dd, $J = 6,4, 10,2$ Hz, 1H), 1,75 (dd, $J = 6,4, 8,3$ Hz, 1H), 1,33 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

5 Ejemplo 16

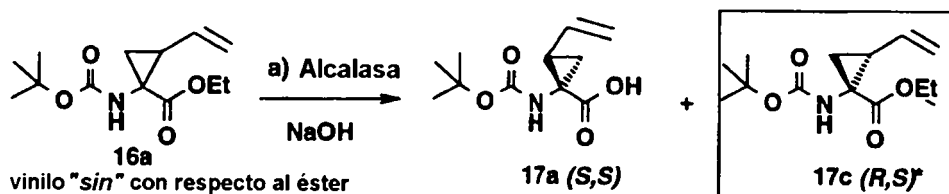
Preparación de una mezcla de (*1R,2S*)/(*1S,2R*)-ésteres etílicos de ácido 1-Boc-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxílico



La sal hidrocloreuro 15d (1,0 g, 5,2 mmol) y $(\text{Boc})_2\text{O}$ (1,2 g, 5,7 mmol) se disolvieron en THF (30 ml) y se trataron con DMAP (0,13 g, 1,04 mmol, 0,2 eq.) y diisopropil-etilamina (2,8 ml, 15,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h antes de ser diluida con EtOAc (40 ml) y se lavó consecutivamente con una solución (acuosa) saturada de NaHCO_3 , con HCl acuoso al 5% y con salmuera saturada. La fase orgánica se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se concentró para dar, después de purificación por cromatografía con resolución rápida (en una mezcla de 15% de EtOAc y hexano), el compuesto 16a (0,29 g, 23%). ^1H NMR (CDCl_3) δ 5,80-5,72 (m, 1H), 5,29-5,25 (dd, $J = 17,2, 17,2$ Hz, 1H), 5,24-5,1 (bs, 1H), 5,10 (dd, $J = 9,2, 9,2$ Hz, 1H), 4,22-4,13 (m, 2H), 2,15-2,04 (m, 1H), 1,85-1,73 (bs, 1H), 1,55-1,5 (m, 1H), 1,49 (s, 9H), 1,25 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

Ejemplo 17

Resolución enzimática de una mezcla de (*1R,2S*)/(*1S,2R*) de 1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilatos de etilo



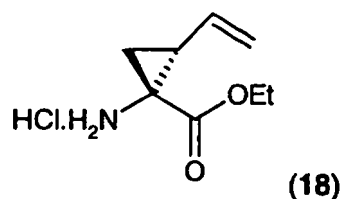
***Análisis por HPLC utilizando una columna de Chiralcel® OD-H**

a) El derivado racémico 17a (0,29 g, 1,14 mmol) se disolvió en acetona (5 ml) y se diluyó con H_2O (10 ml). El pH se ajustó con NaOH acuoso 0,2 N a 7,2 antes de que se añadiese Alcalase® (300 mg). Para mantener constante el pH durante la incubación, se añadió una solución de NaOH mediante un valorador con pH-estado durante 9 días hasta que se hubiera añadido la cantidad teórica de la base. Después de extracción con un ácido y con una base como se describe en el Ejemplo 13, se aislaron el éster sin hidrolizar (0,15 g, 100%) y el material hidrolizado (0,139 g, 95%). El análisis del éster sin hidrolizar por HPLC utilizando una columna quiral, puso de manifiesto una relación de 43:1 del compuesto 17c deseado al que se asignó la estereoquímica (*R,S*) basándose en la correlación química, como se describe en los Ejemplos 10 y 11.

Condiciones para el análisis por HPLC: columna Chiralcel® OD-H (4,6 mm x 25 cm), condiciones isocráticas utilizando una fase móvil a base de una mezcla de 2,5% de isopropanol y hexano.

Ejemplo 18

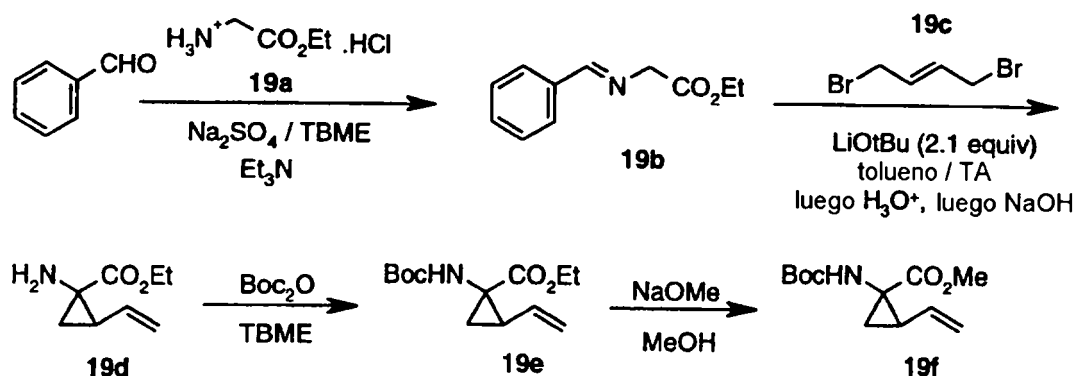
Resolución de una mezcla de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilatos por cristalización con ácido dibenzoil-*D*-tartárico



A una solución de una mezcla racémica bruta de (1*S*,2*R* y 1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilatos de etilo [obtenida a partir del éster etílico de *N*-(difenilmetil)-glicina (25,0 g, 93,5 mol) como se describe en el Ejemplo 15] en EtOAc (800 ml) se le añadió ácido dibenzoil-*D*-tartárico (33,5 g, 93,5 mol). La mezcla se calentó a reflujo, se dejó a TA durante 15 min y luego se enfrió a 0°C. Se obtuvo un sólido de color blanco después de 30 min. El sólido se filtró, se lavó con EtOAc (100 ml) y se secó en aire. El sólido se suspendió en acetona (70 ml), se sonicó (trató por ultrasonidos) y se filtró (3 veces). Luego el sólido se recrystalizó dos veces en acetona caliente (tanda cosechada A). Los líquidos madres se concentraron y el residuo se recrystalizó tres veces en acetona caliente (tanda cosechada B). Las dos tandas cosechadas de los sólidos amorfos de color blanco de sal de ácido dibenzoil-*D*-tartárico se combinaron (5,53 g) y suspendieron en una mezcla de Et₂O (250 ml) y solución saturada de NaHCO₃ (150 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (sobre MgSO₄) y se filtró. El material filtrado se diluyó con una mezcla de HCl 1 N y Et₂O (100 ml) y se concentró bajo presión reducida. El residuo oleoso se evaporó con CCl₄ para proporcionar hidrocloreto de 1(*R*)-amino-2(*S*)-vinil-ciclopropano-carboxilato de etilo (940 mg, rendimiento 11%) como un sólido higroscópico de color blanco: $[\alpha]^{25}_D +39,5^\circ$ (c 1,14 MeOH); $[\alpha]^{25}_{365} +88,5^\circ$ (c 1,14 MeOH); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 9,07 (s ancho 2H), 5,64 (ddd, J=17,2, 10,4, 8,7 Hz, 1H), 5,36 (dd, J=17,2, 1,6 Hz, 1H), 5,19 (dd, J=10,4, 1,6 Hz, 1H), 4,24-4,16 (m, 2H), 2,51-2,45 (m, picos impedidos por DMSO, 1H), 1,84 (dd, J=10,0, 6,0 Hz, 1H), 1,64 (dd, J=8,3, 6,0 Hz, 1H), 1,23 (t, J=7,1 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z* 156 (MH)⁺; se determinó que la pureza enantiomérica era de 91% ee según el análisis por HPLC (columna CHIRALPAK AS[®], mezcla de Hex y *i*-PrOH) del derivado de Boc.

Ejemplo 19

Preparación de una mezcla de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-hidrocloreto de ésteres metílicos de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico (19f)



Preparación de la imina 19b

El hidrocloreto del éster etílico de glicina 19a (1.519,2 g, 10,88 mol, 10 eq.) se suspendió en terc.-butil-metil-éter (8 l). Se añadieron benzaldehído (1115 g, 10,88 mol, 1 eq.) y sulfato de sodio anhidro (773 g, 5,44 mol, 0,5 eq.) y la mezcla se enfrió a 5°C en un baño de hielo y agua. Se añadió gota a gota trietilamina (2.275 ml, 16,32 mol, 1,5 eq.) en el transcurso de 15 min (con uso de 0,5 l de terc.-butil-metil-éter para enjuagados) y la mezcla se agitó durante 40 h a la temperatura ambiente. Luego la mezcla de reacción se sofocó por adición de agua enfriada con hielo (5 l) y la capa orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con terc.-butil-metil-éter (1 l) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con una mezcla de NaHCO₃ saturado (400 ml) y agua (1,6 l) y luego con salmuera. La solución se secó sobre MgSO₄, se concentró bajo presión reducida y el aceite residual de color amarillo se secó hasta peso constante en vacío. La imina 19b se obtuvo como un aceite amarillo espeso que solidifica a -20°C (2.001 g, rendimiento 96%): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,30 (s, 1H), 7,79 (m, 2H), 7,48-7,39 (m, 3H), 4,40 (d, J = 1,3 Hz, 2H), 4,24 (q, J = 7 Hz, 2H), 1,31 (t, J = 7 Hz, 3H).

ES 2 326 707 T3

Preparación de una mezcla racémica de *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-hidrocloruros de ésteres etílicos de ácidos 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílicos 19e

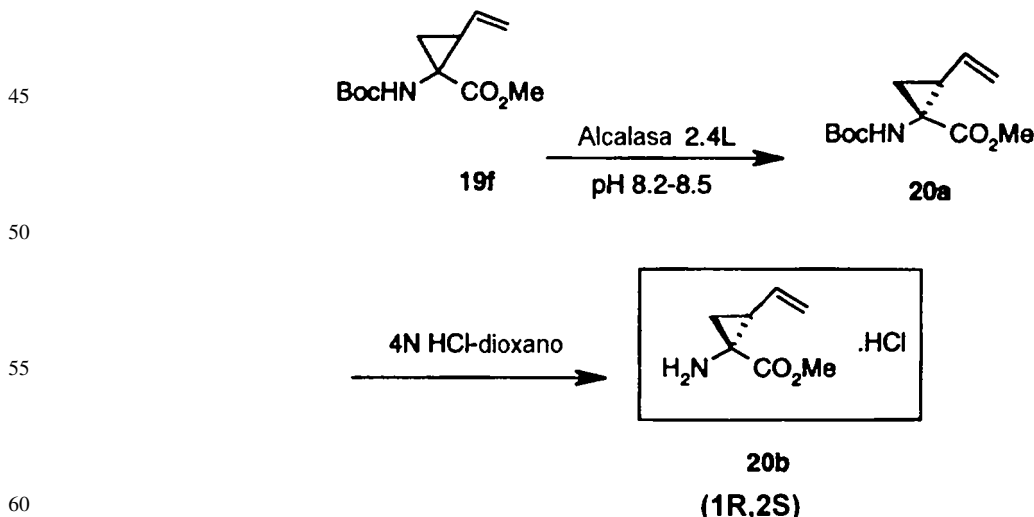
Se suspendió *tert*.-butoxido de litio (4,203 g, 52,5 mmol, 2,1 equiv.) en tolueno seco (60 ml). La imina 19b (5,020 g, 26,3 mmol, 1,05 equiv.) y el dibromuro 19c (5,348 g, 25 mmol, 1 equiv.) se disolvieron en tolueno seco (30 ml) y esta solución se añadió gota a gota durante 30 min a la solución agitada de LiOtBu a la temperatura ambiente. Después de completación, la mezcla de color rojo oscuro se agitó durante 10 min adicionales y se sofocó por adición de agua (50 ml) y *tert*.-butil-metil-éter (TBME, 50 ml). La fase acuosa se separó y se extrajo una segunda vez con TBME (50 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se añadió HCl 1 N (60 ml) y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 h. La fase orgánica se separó y extrajo con agua (40 ml). Las fases acuosas se combinaron luego, se saturaron con sal [cloruro de sodio] (35 g) y se añadió TBME (50 ml). La mezcla agitada se alcalinizó luego a pH 13 - 14 por cuidadosa adición de NaOH 10 N. La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con TBME (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos que contenían la amina libre 19d se combinaron y se añadió carbonato de di-*tert*.-butilo (5,46 g, 25 mmol, 1 equiv.). Después de haber agitado durante una noche a la temperatura ambiente, la TLC puso de manifiesto algo de amina libre sin reaccionar. Se añadió una cantidad adicional de di-carbonato de di-*tert*.-butilo (1,09 g, 5 mmol, 0,2 equiv.) y la mezcla se puso a reflujo durante 2 h, en cuyo punto el análisis por TLC indicó una conversión completa del compuesto 19d en el carbamato 19e. La solución se enfrió a la temperatura ambiente, se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía con resolución rápida utilizando mezclas de 10% y luego 20% de EtOAc y hexano como eluyente. El compuesto 19e purificado se obtuvo como un aceite de color amarillo transparente que solidificaba lentamente en vacío (4,014 g, rendimiento 63%). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,77 (ddd, J = 17, 10, 9 Hz, 1H), 5,28 (dd, J = 17, 1,5 Hz, 1H), 5,18 (s ancho, 1H), 5,11 (dd, J = 10, 1,5 Hz, 1H), 4,24-4,09 (m, 2H), 2,13 (q, J = 8,5 Hz, 1H), 1,79 (m ancho, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,28 (t, J = 7 Hz, 3H).

Preparación del compuesto del título 19f por medio de *trans*-esterificación del compuesto 19e

El éster etílico 19e (10,807 g, 42,35 mmol) se disolvió en metanol seco (50 ml) y se añadió una solución de metóxido de sodio en MeOH (al 25% p/p, 9,7 ml, 42 mmol, 1 equivalente). La mezcla se calentó a 50°C durante 2 h, en cuyo punto el análisis por TLC indicó una transesterificación completa (19e R_f 0,38, 19f R_f 0,34 en una mezcla 20% de EtOAc y hexano). La mezcla de reacción se enfrió a la temperatura ambiente y se acidificó a pH 4 utilizando HCl 4 N en dioxano. El NaCl precipitado se eliminó por filtración (con uso de *tert*.-butil-metil-éter para los lavados) y los materiales volátiles se eliminaron bajo presión reducida. Se añadió *tert*.-butil-metil-éter (100 ml) al residuo y los sólidos se eliminaron por filtración. La evaporación del material filtrado bajo presión reducida y la desecación bajo vacío dieron el éster metílico 19f puro (10,11 g, rendimiento 99%). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,75 (ddd, J = 17, 10, 9 Hz, 1H), 5,28 (dd, J = 17, 1 Hz, 1H), 5,18 (s ancho, 1H), 5,11 (ddd, J = 10, 1,5, 0,5 Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,14 (q, J = 9 Hz, 1H), 1,79 (m ancho, 1H), 1,50 (m ancho, 1H), 1,46 (s, 9H).

Ejemplo 20

Resolución enzimática del (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-hidrocloruro de éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico



Preparación de *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico 20a

El éster racémico 19f (0,200 g, 0,83 mmol) se disolvió en acetona (3 ml) y se añadió agua (7 ml). Se añadió NaOH 0,05 M (1 gota) para llevar el pH de la solución a ~8 y luego se añadió Alcalase® 2.4L (Novo Nordisk Biochem, 0,3 g en un ml de agua). La mezcla se agitó enérgicamente a la temperatura ambiente, manteniéndose el pH de la solución en 8 utilizando un valorador automático. Al comienzo de los días 4º y 5º de agitar a pH 8, se añadió una solución

ES 2 326 707 T3

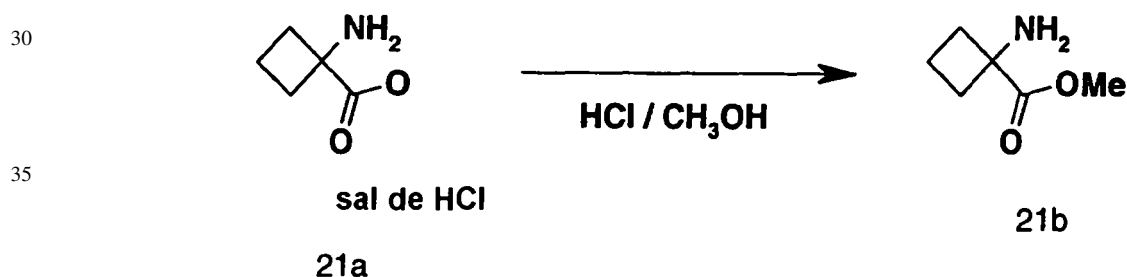
adicional de enzima (2 x 0,3 g). Después de un total de 5 días, se consumió un total de 8,3 ml de NaOH 0,05 M. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua y la fase orgánica se separó. Después de haber lavado con salmuera, el extracto orgánico se secó (sobre MgSO_4) y se concentró en vacío. El compuesto 20a (0,059 g, rendimiento 30%) se obtuvo como un aceite transparente: la ^1H NMR era idéntica a la del compuesto 19f. HPLC (Chiralcel ODH, 4,6 x 250 mm, mezcla isocrática al 1% de EtOH en hexano, caudal 0,8 ml/min): (1R,2S)-2 R_t 19,3 min (97%); (1S,2R)-2 R_t 17,0 min (3%).

Preparación del (1R,2S)-hidrocloruro de éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico 20b

El compuesto 20a (39,96 g, 165,7 mmol) se disolvió en dioxano (25 ml) y la solución se añadió gota a gota con agitación a HCl 4 N en dioxano (Aldrich, 250 ml). Después de 45 min, el análisis por TLC indicó una desprotección completa. Los materiales volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se evaporó conjuntamente dos veces con MeOH (2 x 100 ml). Se añadieron éter (300 ml) y MeOH (10 ml) al residuo oleoso de color pardo y la mezcla se agitó durante una noche a la temperatura ambiente, dando como resultado la precipitación de un material semi-sólido. Se añadió una cantidad adicional de MeOH (15 ml) y se continuó la agitación durante 6 h, en cuyo punto se recogió un sólido de color amarillento por filtración. El producto se lavó con 5% de MeOH en éter (50 ml) y con éter (2 x 50 ml), y se secó en vacío para dar el compuesto 20b como un sólido de color amarillento (22,60 g, rendimiento 76%). Los materiales filtrados (inclusive los líquidos de lavado) se evaporaron en vacío para dar una cantidad adicional del compuesto 20b como un aceite de color pardo (7,82 g, rendimiento 26%). Amas fracciones fueron suficientemente puras para utilizarse en la síntesis de inhibidores de proteasa de HCV: $[\alpha]^{25}_D +38,2^\circ$ (c 1,0, MeOH). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,15 (s ancho, 3H), 5,65 (ddd, $J = 17, 10, 9$ Hz, 1H), 5,36 (dd, $J = 17, 1,5$ Hz, 1H), 5,19 (dd, $J = 10, 1,5$ Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,50 (q, solapa con señal de DMSO, $J = 9$ Hz, 1H), 1,86 (dd, $J = 10, 6$ Hz, 1H), 1,64 (dd, $J = 8, 6$ Hz, 1H).

Ejemplo 21

Síntesis del éster metílico de ácido 1-amino-ciclobutil-carboxílico



El ácido 1,1-amino-ciclobutanocarboxílico de preparó de acuerdo con Kavin Douglas; Ramaligam Kondareddiar; Woodard Ronald, Synth. Commun. (1985), 15(4), 267-72. La sal de aminoácido (21a) (1,00 g, 6,6 mmol) se agitó en metanol seco (40 ml) a -20°C y la mezcla se saturó con cloruro de hidrógeno seco para proporcionar el compuesto (21b). Se continuó la agitación de esta mezcla durante 4 h. La solución caliente se filtró y el material filtrado se concentró (en un Rotavap, a 30°C) para dejar un residuo que después de trituración en dietil-éter proporcionó un polvo de color blanco (0,907 g, 83%) después de filtración y desecación. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ CH_3O (3H, s, 3,97 ppm); CH_2 (2H, m, 2,70-2,77 ppm); CH_2 (2H, m, 2,45-2,53 ppm) y CH_2 (2H, m, 2,14-2,29 ppm).

Tripéptidos

Ejemplo 22

Procedimiento general para reacciones de acoplamiento realizadas sobre un soporte sólido

La síntesis se llevó a cabo en un sintetizador paralelo Modelo ACT396 de Advanced Chem Tech® con el bloque de 96 pocillos. Típicamente, se sintetizaron 24 péptidos en paralelo utilizando técnicas en fase sólida normalizadas. Los conjugados de partida de (Fmoc-amino)-ácidos ciclopropano-carboxílicos (opcionalmente sustituidos) y resina de Wang se prepararon mediante el método de acoplamiento DCC/DMAP (Atherton, E; Scheppard, R.C. *Solid Phase Peptide Synthesis, a Practical Approach*; IRL Press: Oxford (1989); páginas 131-148).

Cada pocillo fue cargado con 100 mg de la resina de partida (aproximadamente 0,05 mmol). Las resinas se lavaron consecutivamente con porciones de 1,5 ml de NMP (1 vez) y DMF (3 veces). El grupo protector Fmoc se eliminó por tratamiento con 1,5 ml de una solución al 25% v/v de piperidina en DMF durante 20 minutos. Las resinas se lavaron con porciones de 1,5 ml de DMF (4 veces), MeOH (3 veces) y DMF (3 veces). El acoplamiento se realizó en DMF (350 μl), utilizando 400 μl (0,2 mmol) de una solución 0,5 M de una mezcla de Fmoc-aminoácido y HOBt hidratado en DMF, 400 μl (0,4 mmol) de una solución 1 M de DIPEA en DMF y 400 μl (0,2 mmol) de una solución 0,5 M de TBTU en DMF. Después de haber agitado durante 1 hora, los pocillos se descargaron, las resinas se lavaron con 1,5

ml de DMF y el acoplamiento se repitió una vez más en las mismas condiciones. Luego las resinas se lavaron como antes se describe y el ciclo se repitió con el aminoácido siguiente.

Los grupos rematadores se introdujeron de dos maneras:

1. En la forma de un ácido carboxílico utilizando el protocolo antes descrito (por ejemplo ácido acético) o,

2. Como un agente acilante tal como un anhídrido o un cloruro de ácido. El siguiente ejemplo ilustra el rematado con anhídrido succínico: Después de la desprotección con Fmoc y del subsiguiente protocolo de lavado, se añadió DMF (350 μ l), seguido por 400 μ l de cada una de las soluciones en DMF de anhídrido succínico (0,5 M, 0,2 mmol) y de DIPEA (1,0 M, 0,4 mmol). Las resinas fueron agitadas durante 2 h y se realizó una operación de reacoplamiento. Al final de la síntesis, cada resina fue lavada con porciones de 1,5 ml de DCM (3 veces), MeOH (3 veces), DCM (3 veces), y las resinas se secaron en vacío durante 2 h. La separación desde la resina y la concomitante desprotección de las cadenas laterales se efectuaron por la adición de 1,5 ml de una mezcla de TFA, H₂O, DTT y TIS (92,5:2,5:2,5:2,5). Después de haber agitado durante 2,5 h, la resina se filtró y se lavó con 1,5 ml de DCM. Los materiales filtrados se combinaron y concentraron por centrifugación en vacío. Cada compuesto se purificó por HPLC en fase inversa preparativa utilizando una columna de C18 (22 mm por 500 mm). Las fracciones que contenían producto se identificaron por espectrometría de masas MALDI-TOF, se combinaron y liofilizaron.

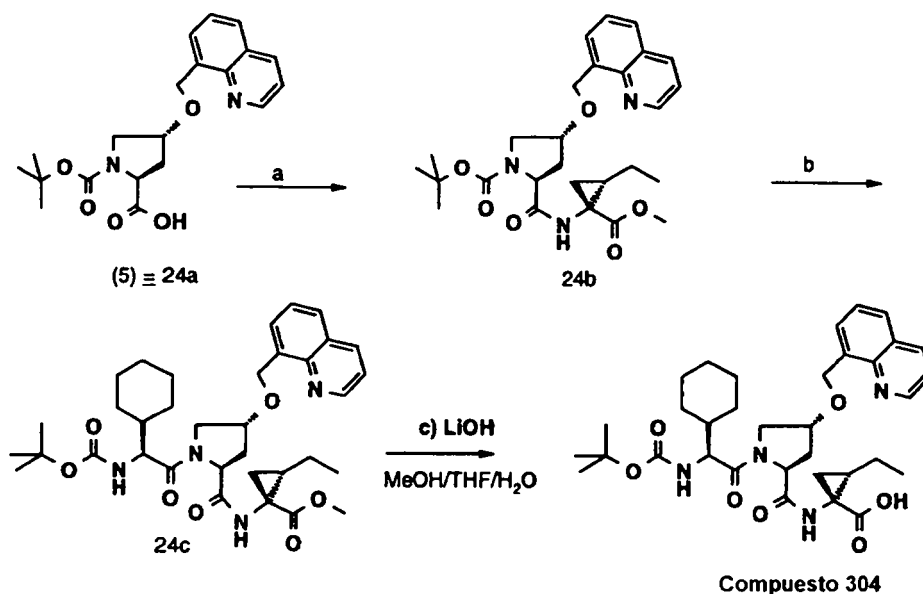
Ejemplo 23

Procedimiento general para reacciones de acoplamiento realizadas en solución [véase también R. Knorr y colaboradores, Tetrahedron Letters, (1989), 30, 1927]

Los reaccionantes, es decir una amina libre (1 eq.) (o su sal hidrocloreto) y el ácido carboxílico libre (1 eq.) se disolvieron en CH₂Cl₂, CH₃CN o DMF. Bajo una atmósfera de nitrógeno se añadieron a la solución agitada cuatro equivalentes de *N*-metil-formolina y 1,05 equivalentes del agente de acoplamiento. Después de 20 min, se añadió un equivalente del segundo reaccionante, es decir un ácido carboxílico libre. (Reactivos de acoplamiento prácticos y eficientes para esta finalidad son hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)-tris-(dimetilamino)fosfonio (HOBT) o preferiblemente tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametil-uronio (DBTU) o tetrafluoroborato de O-(7-aza-benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametil-uronio (HATU). La reacción se vigiló por TLC. Después de haberse completado la reacción, el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc. La solución se lavó consecutivamente con ácido cítrico acuoso al 10%, con NaHCO₃ acuoso saturado y con salmuera. La fase orgánica se secó (sobre MgSO₄) se filtró y se concentró bajo presión reducida. Cuando el residuo se había purificado, esto se hizo por cromatografía con resolución rápida como antes se define.

Ejemplo 24

Síntesis del compuesto 304



a) El isómero (*R,R*) de Boc-Et-Acca-OMe 13c (0,12 g, 0,49 mmol) obtenido a partir de la resolución enzimática (Ejemplo 13) se trató con una mezcla de HCl 4 N y dioxano (45 min) antes de ser concentrado en vacío para dar un sólido de color blanco. A esta sal de HCl (aproximadamente 0,49 mmol) se le añadieron TBTU (0,17 g, 0,54 mmol), la Boc-4(*R*)-(8-quinolina-metiloxi)prolina 5 (procedente del Ejemplo 5) (0,18 g, 0,49 mmol) y DIPEA (0,3 ml, 1,7 mmol)

en MeCN (10 ml). La mezcla se agitó a TA durante 3,5 h antes de ser concentrada en vacío. El material resultante se disolvió en EtOAc y se lavó consecutivamente con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y con salmuera. Luego se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se concentró para dar el compuesto 24b como un sólido de color blanco (0,122 g, 59%).

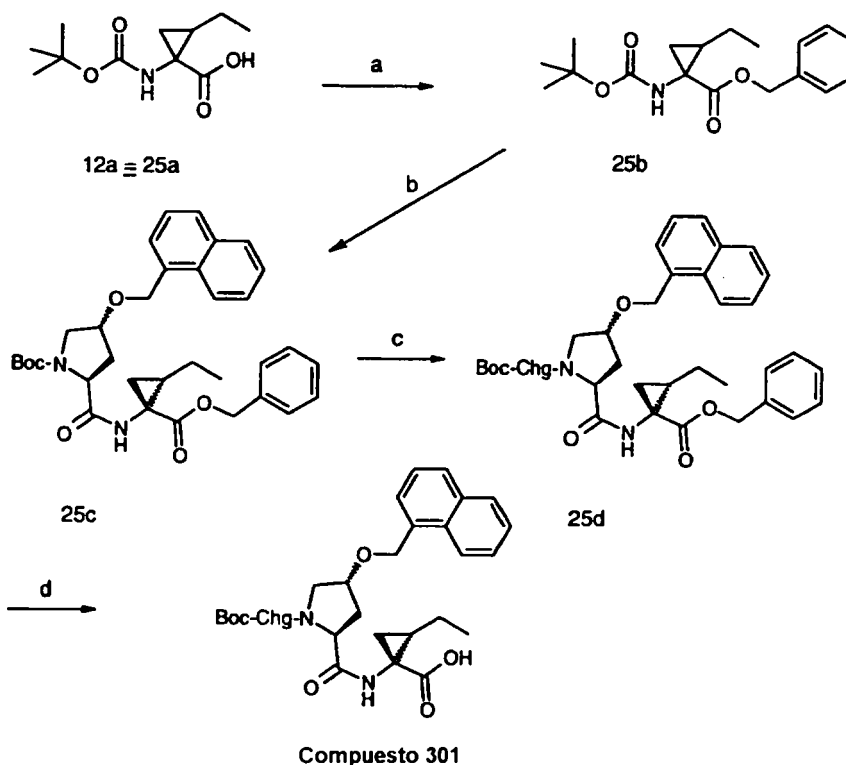
b) El compuesto 24b (0,12 g, 0,25 mmol) se trató a TA con una mezcla de HCl 4 N y dioxano (durante 30 min) antes de ser concentrado en vacío. La resultante sal hidrocioruro (aproximadamente 0,25 mmol) se trató con Boc-Chg-OH·H₂O (75 mg, 0,27 mmol), TBTU (87 mg, 0,27 mmol) en MeCN (10 ml) y finalmente a 0°C con DIPEA (0,15 ml, 0,87 mmol). El residuo se diluyó con EtOAc, se lavó consecutivamente con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y con salmuera, se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se concentró para dar el compuesto 24c como un sólido de color blancuzco (0,2 g). Este material (0,14 g) se disolvió en DMSO y se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto 24c como un sólido de color blanco después de liofilización (35 mg, 33%). HPLC (98%); MS (FAB) m/z: 637,3 (MH^+); HRMS calculado para $\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_7$ (MH^+) 637,36011; encontrado 637,36250; la ^1H NMR (DMSO-d_6) muestra una población de rotámeros de 1:1, δ 8,91 (2 x d, J = 4,1 y 4,1 Hz, 1H), 8,40-8,36 (m, 2H), 7,90 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,6-7,54 (m, 2H), 6,80 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 5,18 y 5,16 (2 x s, 2H), 4,40 (bs, 1H), 4,31 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 4,12 (d, J = 11,44 Hz, 1H), 4,03 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 3,78-3,72 (m, 1H), 3,56 (s, 3H), 2,35-2,27 (m, 1H), 2,06-1,97 (m, 1H), 1,71-1,55 (m, 10H), 1,53-1,38 (m, 2H), 1,26 (s, 9H), 1,18-1,06 (m, 2H), 1,02-0,93 (m, 2H), 0,89 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

Compuesto 304

c) Al compuesto 24c (30 mg, aproximadamente 0,047 mmol) se le añadieron MeOH (1 ml), THF (1 ml) e hidróxido de litio monohidratado (12 mg, 0,29 mmol) en H₂O (1 ml). La solución transparente se agitó rápidamente durante 48 h antes de ser concentrada en vacío. El péptido bruto se disolvió en DMSO y se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto 304 como un sólido de color blanco después de liofilización (21 mg, 72%). HPLC (99%); MS (FAB) m/z: (MH^+) 623,3; HRMS calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_7$ (MH^+) 623,34448; encontrado: 623,34630, la ^1H NMR (DMSO-d_6) muestra una población de rotámeros de 1:1, δ 8,90 (2 x d, J = 4,1 Hz, 1H), 8,37 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,89 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 7,6-7,53 (m, 2H), 6,88 y 6,79 (2 x d, J = 8,6 y 7,9 Hz, 1H), 5,17 y 5,16 (2 x s, 2H), 4,43-4,35 (bs, 1H), 4,29 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 3,82-3,71 (m, 1H), 2,35-2,27 (m, 1H), 2,06-1,97 (m, 1H), 1,72-1,53 (m, 10H), 1,52-1,44 (m, 2H), 1,37 y 1,29 (2 x s, 9H), 1,18-1,05 (m, 3H), 1,0-0,94 (m, 1H), 0,91 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

Ejemplo 25

Síntesis del compuesto 301



ES 2 326 707 T3

a) El compuesto 25a (=12a) (282 mg, 1,23 mmol) se suspendió en CH₃CN anhidro (6 ml). Se añadieron consecutivamente DBU (221 μ l, 11,48 mmol) y bromuro de bencilo (161 μ l, 1,35 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA. La mezcla se concentró, el aceite resultante se diluyó con EtOAc y ácido cítrico acuoso (aq.) al 10% y se lavó consecutivamente con ácido cítrico al 10% (2 veces) con NaHCO₃ aq. saturado (2 veces), con agua (2 veces) y con salmuera (1 vez). La capa de EtOAc se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se evaporó hasta sequedad. El aceite incoloro bruto se purificó por cromatografía con resolución rápida (eluyente-mezclas de hexano y EtOAc; de 95:5 a 90:10) para proporcionar el producto bencilado 25b como un aceite incoloro (368 mg, 93%).

MS (FAB) 318,2 MH⁻ MH⁺ 342,2 (M+Na)⁺.

¹H NMR (CDCl₃) δ 7,37-7,28 (m, 5H), 5,22-5,10 (m, 1H), 5,19 (d, J = 12 Hz, 1H), 5,16 (d, J = 12 Hz, 1H), 1,60-1,40 (m, 4H), 1,39 (s, 9H), 1,31-1,22 (m, 1H), 0,91 (t, J = 7,5, 14,5 Hz, 3H).

b) El compuesto 25b (368 mg, 1,15 mmol) se trató con una mezcla de HCl 4 N y dioxano (6 ml) como se ha descrito con anterioridad. La sal hidrocloreto bruta se acopló al compuesto 4 (procedente del Ejemplo 4) (470,8 mg, 1,27 mmol) con NMM (507 μ l, 4,61 mmol) y HATU (en lugar de TBTU, 525,6 mg, 1,38 mmol) en CH₂Cl₂ (6 ml) como se describe en el Ejemplo 22 para proporcionar el dipéptido racémico bruto como un aceite de color anaranjado. El material bruto se purificó por cromatografía con resolución rápida (eluyente - mezcla de hexano y Et₂O; 50:50) para proporcionar el dipéptido 25c puro (la mancha de elución menos polar) como una espuma de color blanco (223 mg; 68% del rendimiento teórico).

MS 571,4 MH⁻ 573,3 MH⁺ 595,3 (M+Na)⁺.

¹H NMR (CDCl₃), mezcla aproximadamente 1:1 de rotámeros, δ 8,03 (bd, J = 8 Hz, 1H), 7,86 (bd, J = 7,5 Hz, 1H), 7,82 (bd, J = 6,5 Hz, 1H), 7,61 (bs, 0,5H), 7,57-7,40 (m, 4H), 7,31-7,21 (m, 5H), 6,48 (bs, 0,5 H), 5,22-5,11 (m, 1H), 5,08-4,81 (m, 3H), 4,41-3,74 (m, 3H), 3,49-3,18 (m, 1H), 2,76-1,90 (m, 2H), 1,69-1,48 (m, 3H), 1,40 (s, 9H), 1,40-1,23 (m, 2H), 0,92 (t, J = 7,5, 15 Hz, 3H).

c) El dipéptido 25c (170,1 mg, 0,297 mmol) se trató con una mezcla de HCl 4 N y dioxano (2 ml) como antes se ha descrito. La sal hidrocloreto bruta se acopló a Boc-Chg-OH (84,1 mg, 0,327 mmol) con NMM (130,7 μ l, 1,19 mmol) y HATU (en lugar de TBTU, 135,5 mg; 0,356 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) durante 2,75 h a TA y luego se trató como se ha descrito con anterioridad para proporcionar el tripéptido 25d bruto como una espuma de color marfil (aproximadamente 211,4 mg; 100%). MS (FAB) 712,5 MH⁺.

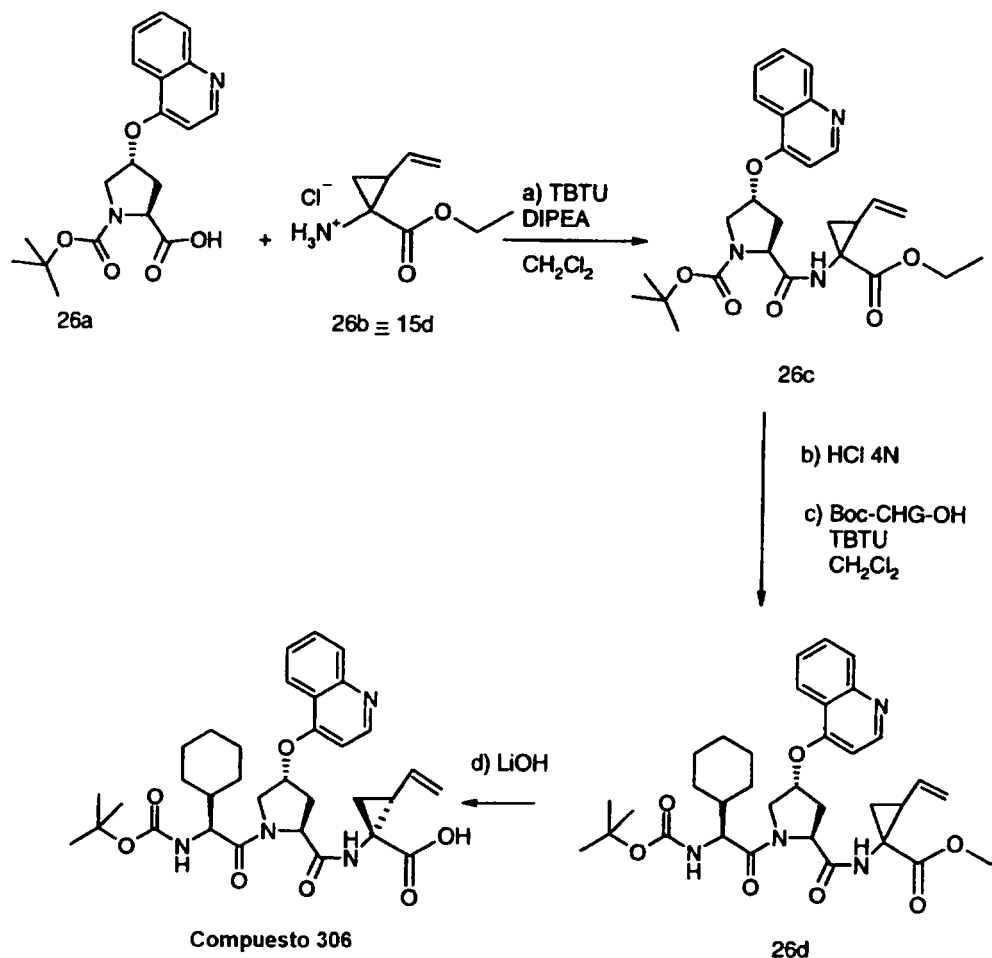
Compuesto 301

d) El tripéptido 25d bruto (aproximadamente 15,4 mg, 0,022 mmol) se disolvió en etanol absoluto (2 ml) y se añadió una cantidad estimada (punta de espátula) tanto del catalizador de Pd al 10%/C como de acetato de amonio. La mezcla se hidrogenó durante una noche bajo un globo relleno de hidrógeno a TA y a la presión atmosférica. La mezcla de reacción se filtró a través de un filtro Millex[®] 0,45 μ m, se evaporó hasta sequedad y luego se diluyó con EtOAc y ácido cítrico acuoso al 10%, y se lavó de nuevo con ácido cítrico acuoso al 10% (1 vez), con agua (2 veces) y con salmuera (1 vez). La capa orgánica se secó (sobre MgSO₄), se filtró, se evaporó hasta sequedad y se liofilizó para proporcionar el tripéptido 301 como un sólido amorfo de color blanco (11,0 mg; 82%). MS (FAB) 622,5 MH⁺ 644,5 (M+Na)⁺ ¹H NMR (DMSO) mezcla aproximadamente 1:4 de rotámeros, δ 8,54 y 8,27 (s, 1H), 8,06-7,99 (m, 1H), 7,96-7,91 (m, 1H), 7,87 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,57-7,42 (m, 4H), 6,81 (d, J = 8 Hz, 1H), 4,99 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,88 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,46-4,19 (m, 2H), 4,17-4,02 (m, 2H), 3,88-3,67 (m, 1H), 2,28-2,19 (m, 1H), 2,05-1,93 (m, 1H), 1,73-1,43 (m, 8H), 1,32-1,07 (m, 6H), 1,29 (s, 9H), 1,03-0,85 (m, 2H), 0,91 (t, J = 7,5, 15 Hz, 3H).

(Esquema pasa a página siguiente)

Ejemplo 26

Síntesis del compuesto 306



a) El ácido 26a (180 mg, 0,500 mmol) y la amina 15d (96 mg, 0,500 mmol) se acoplaron utilizando TBTU (192 mg, 0,600 mmol) y DIPEA (226 mg, 1,75 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) durante 20 h. La mezcla de reacción se concentró, se recogió en acetato de etilo, se lavó dos veces con NaHCO_3 saturado y una vez con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar el compuesto 26c como un aceite de color pardo, que se usó sin purificación en la siguiente operación.

b, c) El compuesto bruto 26c (aproximadamente 0,500 mmol) se agitó durante 30 min en una mezcla de HCl 4 N y dioxano (4 ml) y se concentró hasta sequedad. El sólido se recogió en CH_2Cl_2 (10 ml) y se añadió DIPEA (226 mg, 1,75 mmol) seguido por Boc-Chg-OH monohidratado (138 mg, 0,500 mmol) y TBTU (192 mg, 0,600 mmol). La solución se agitó a TA durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró, se recogió en acetato de etilo, se lavó dos veces con una solución saturada de NaHCO_3 y una vez con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar un aceite de color pardo, se purificó por cromatografía con resolución rápida para dar el compuesto 26d como un aceite de color amarillo, 204 mg, 64% en el transcurso de dos acoplamientos.

^1H NMR (CDCl_3), δ 8,77 - 8,74 (m, 1H), 8,14 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 9, 7$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 7,47 (dd, $J = 8, 7$ Hz, 1H), 6,78 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 5,80-5,70 (m, 1H), 5,35-5,27 (m, 2H), 5,14-5,07 (m, 2H), 4,89-4,83 (m, 1H), 4,39-4,32 (m, 1H), 4,30-4,24 (m, 1H), 4,20-4,07 (m, 2H), 4,00-3,92 (m, 1H), 3,04-2,92 (m, 1H), 2,39-2,29 (m, 1H), 2,16-2,04 (m, 1H), 1,91-1,83 (m, 1H), 1,82-1,62 (m, 7H), 1,45-1,35 (m, 9H), 1,27-1,07 (m, 8H).

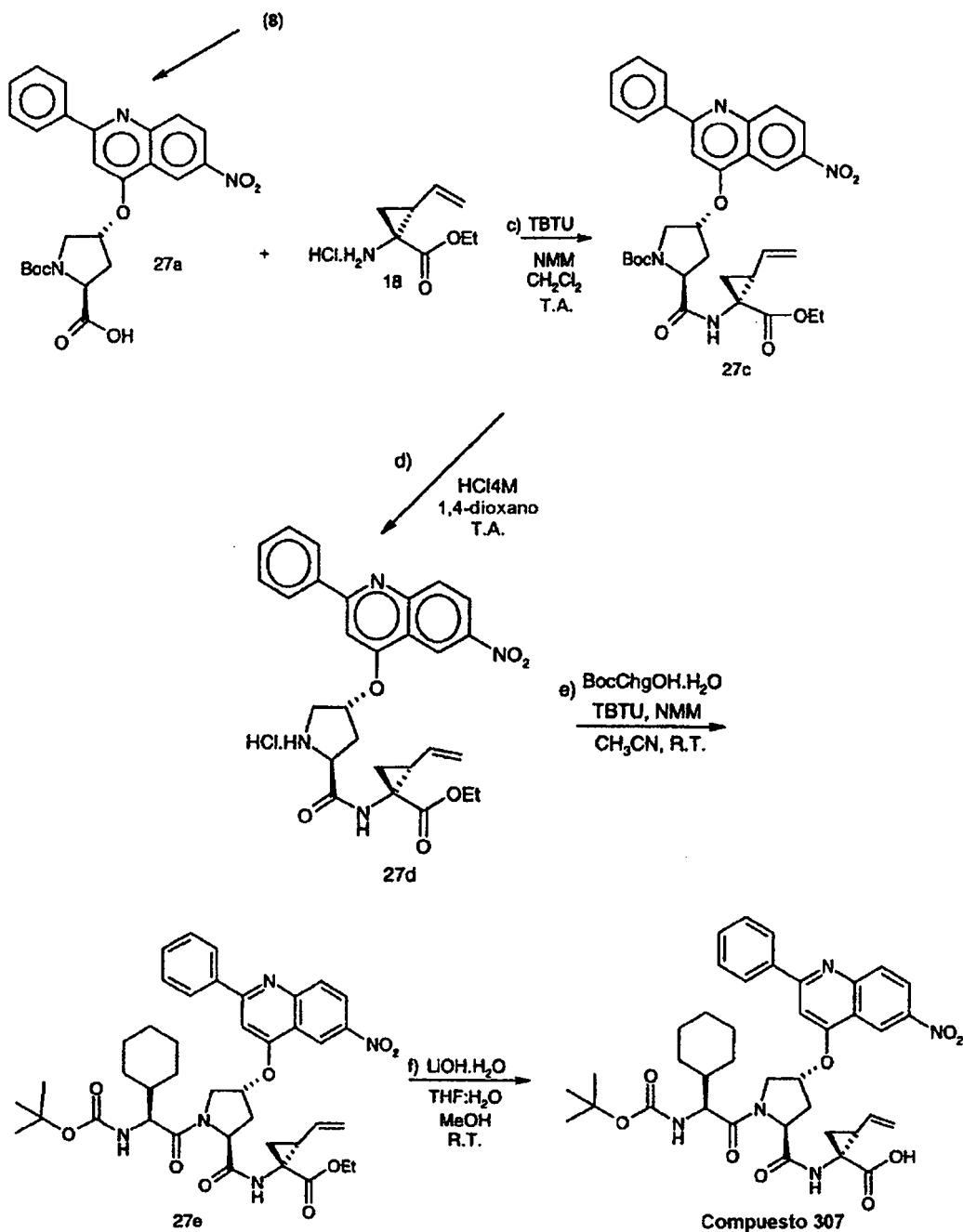
d) El compuesto 26d (136 mg, 0,214 mmol) se disolvió en THF (4 ml) y MeOH (2 ml). Se añadió una solución acuosa (2 ml) de LiOH hidratado (72 mg, 1,72 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 20 h. La solución se concentró y purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto 306 (el isómero menos polar) como un sólido de color blanco (25 mg).

Compuesto 306: MS(FAB) 607,4 (MH⁺)

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,16 (d, J = 6 Hz, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,35 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,12 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,05 (dd, J = 8, 7 Hz, 1H), 7,76 (dd, J = 8, 7 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 6 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,75-5,66 (m, 2H), 5,19 (d, J = 18 Hz, 1H), 5,07 (d, J = 10 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,43 (dd, J = 10, 8 Hz, 1H), 4,03 (d, J = 10 Hz, 1H), 3,87-3,83 (m, 1H), 2,66-2,59 (m, 1H), 2,36-2,30 (m, 1H), 1,98 (dd, J = 18, 9 Hz, 1H), 1,75-1,56 (m, 8H), 1,38-1,35 (m, 1H), 1,25-1,22 (m, 1H), 1,09 (s, 9H), 1,12-0,95 (m, 3H).

Ejemplo 27

Síntesis del compuesto 307



c) Una solución del ácido (8) procedente del Ejemplo 8 (505 mg, 105 mmol) en 5 ml de diclorometano se trató con TBTU (376 mg, 1,17 mmol). La sal con HCl del (R,S) vinil-AccaOEt (18) (procedente del Ejemplo 18) (279 mg, 1,46 mmol) en 7 ml de diclorometano, que contenía (0,60 ml, 5,46 mmol) de N-metil-morfolina, se añadió a la precedente solución del éster activado. La solución resultante se agitó a TA durante una noche. El disolvente se evaporó en vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo, se lavó dos veces con una solución saturada de hidrógeno-carbonato de

ES 2 326 707 T3

sodio y una vez con salmuera. La capa orgánica se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se evaporó en vacío. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (mezcla 60:40 v/v de hexanos y acetato de etilo) para proporcionar 173 mg (27%) del dipéptido 27c.

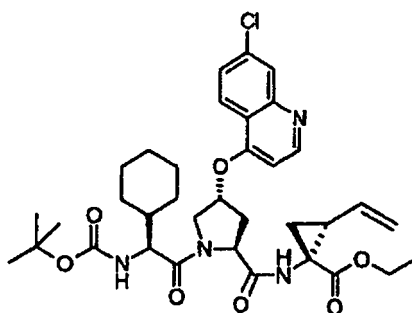
d, e) Una solución del dipéptido 27c (70 mg, 0,114 mmol) en 3 ml de una solución 4,0 M de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano se agitó a TA durante 1 h (un precipitado procedió de la reacción después de 10 min). El disolvente se eliminó en vacío. La sal hidrocloreto de amina 27d (0,114 mmol), diluida en 1,5 ml de acetonitrilo, se neutralizó por adición de 65 μl (0,591 mmol) de N-metil-morfolina. Una solución del Boc-CHgOH $\cdot$ H $_2$ O (39 mg, 0,142 mmol) en 1,5 ml de acetonitrilo se trató con TBTU (46 mg, 0,143 mmol) y luego se añadió a la solución precedente de la amina. La solución resultante se agitó a TA (durante 2 días). El disolvente se eliminó en vacío. El residuo, diluido con acetato de etilo, se lavó dos veces con una solución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y una vez con salmuera. La capa orgánica se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se evaporó en vacío. Se obtuvieron 86 mg (100%) del tripéptido 27e. Este compuesto bruto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

f) A una solución del tripéptido 27e (86 mg, 0,114 mmol) en 5 ml de una mezcla de THF y H $_2$ O (2,5:1) se le añadió hidróxido de litio monohidratado (22 mg, 0,524 mmol). Se añadieron 0,25 ml adicionales de MeOH con el fin de obtener una solución homogénea. La solución resultante se agitó a TA durante una noche antes de que el disolvente se evaporase en vacío. El residuo se repartió entre agua y EtOAc. La capa acuosa se acidificó con HCl 1 M y se extrajo luego dos veces con acetato de etilo. Se ha encontrado el compuesto deseado en el acetato de etilo que procede de la primera extracción en condiciones básicas. Esta capa orgánica se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se evaporó en vacío para proporcionar 69 mg del ácido bruto, que se purificó por HPLC preparatoria. El compuesto se disolvió en MeOH (4 ml) y se inyectó sobre una columna de fase inversa C18 Whatman Partisil 10-ODS-3 (2,2 x 50 cm). (λ = 230 nm, disolvente A = 0,06% de TFA en H $_2$ O, disolvente B = 0,06% de TFA en CH $_3$ CN). Programa de purificación: desde 20% hasta 70% del disolvente B en 60 min. Las fracciones fueron analizadas por HPLC analítica. Las apropiadas fracciones fueron recogidas y liofilizadas para proporcionar 50 mg (60%) del deseado tripéptido 307 como un sólido amorfo de color blanco.

Compuesto 307: ^1H NMR (DMSO- d_6) rotámetros - 2:8 δ 8,86 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,85 (s, 0,2H), 8,64 (s, 0,8 H), 8,49 (dd, J = 9,5, 3 Hz, 0,2H), 8,45 (dd, J = 9, 2 Hz, 0,8H), 8,30-8,33 (m, 2H), 8,20 (d, J = 9,5 Hz, 0,2H), 8,18 (d, J = 9,5 Hz, 0,8H), 7,81 (s, 0,2H), 7,78 (s, 0,8 H), 7,64-7,56 (m, 3H), 6,87 (d, J = 8 Hz, 0,8H), 6,36 (d, J = 9 Hz, 0,2H), 5,82-5,67 (m, 2H), 5,27-5,17 (m, 1H), 5,09-5,03 (m, 1H), 4,73 (t, J = 8 Hz, 0,2H), 4,55 (dd, J = 10, 7,5 Hz, 0,8H), 4,49-4,40 (m, 1H), 3,83-3,76 (m, 1H), 2,87-2,80 (m, 0,2H), 2,69-2,62 (m, 0,8 H), 2,39-2,26 (m, 1H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,75-1,41 (m, 7H), 1,37 (s, 1,8H), 1,32-1,27 (m, 1H), 1,17-0,82 (m, 5H), 0,94 (s, 7,2H).

Ejemplo 28

Síntesis del compuesto 311



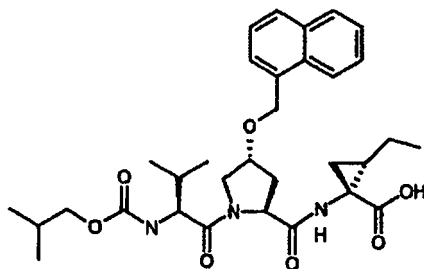
Compuesto 311

El compuesto 311 se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 24 pero utilizando los bloques de formación apropiados.

Compuesto 311

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,98 (d, J = 6 Hz, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,24 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 2 Hz, 1H), 7,63 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 6 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,75-5,66 (m, 1H), 5,57 (s ancho, 1H), 5,24-5,19 (m, 1H), 5,08-5,01 (m, 1H), 4,57-4,40 (m, 2H), 4,00-3,96 (m, 1H), 3,82 (dd, J = 9, 8 Hz, 1H), 2,59-2,54 (m, 1H), 2,32-2,26 (m, 1H), 1,99 (dd, J = 17, 9 Hz, 1H), 1,74-1,55 (m, 8H), 1,37 (s, 1H), 1,26-1,22 (m, 1H), 1,14-1,08 (m, 9H), 1,02-0,91 (m, 3H).

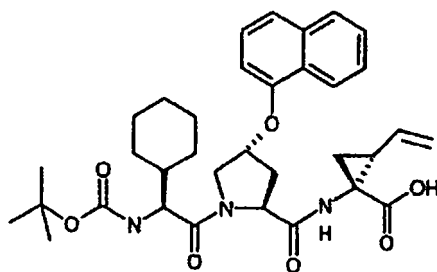
Ejemplo 29

Síntesis del compuesto 302**302**

El compuesto 302 se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 27 pero usando los bloques de formación apropiados.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,34 (s, 1H), 8,04-8,01 (m, 1H), 7,94-7,92 (m, 1H), 7,87 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,54-7,50 (m, 3H), 7,45 (dd, J = 17, 8 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 8 Hz, 1H), 4,94 (dd, J = 55, 12 Hz, 2H), 4,34 (s, 1H), 4,27 (dd, J = 8, 8 Hz, 1H), 4,16 (d, J = 11 Hz, 1H), 4,07 (dd, J = 8, 8 Hz, 1H), 3,72-3,65 (m, 2H), 3,59-3,54 (m, 1H), 2,24-2,18 (m, 1H), 2,02-1,95 (m, 2H), 1,75-1,70 (m, 1H), 1,53-1,44 (m, 2H), 1,32-1,27 (m, 1H), 1,21-1,17 (m, 1H), 0,96-0,85 (m, 10H), 0,80-0,77 (m, 5H), 0,62-0,57 (m, 1H).

Ejemplo 30

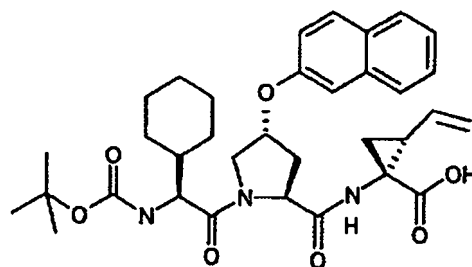
Síntesis del compuesto 308**308**

El compuesto 308 se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 27 pero utilizando los bloques de formación apropiados.

^1H NMR (DMSO- d_6) rotámeros - 2:8 δ 8,77 (s, 0,2H), 8,45 (s, 0,8H), 8,13 (d, J = 8,5 Hz, 0,8H), 8,03 (d, J = 8,5 Hz, 0,2H), 7,89-7,83 (m, 1H), 7,55-7,37 (m, 4H), 7,05-6,59 (m, 1H), 6,95 (d, J = 8 Hz, 0,8H), 6,26 (d, J = 8,5 Hz, 0,2H), 5,81-5,54 (m, 1H), 5,33-5,28 (m, 1H), 5,26-5,15 (m, 1H), 5,08-5,02 (m, 1H), 4,60 (t, J = 7,5 Hz, 0,2H), 4,38-4,27 (m, 1,8H), 4,09-3,91 (m, 1,8H), 3,74 (dd, J = 12,5, 4 Hz, 0,2H), 2,69-2,60 (m, 0,2 H), 2,50-2,40 (m, 1H), 2,36-2,28 (m, 0,2H), 2,23-2,14 (m, 0,8H), 2,05-1,97 (m, 0,8H), 1,76-1,44 (m, 7H), 1,37 (s, 1,8H), 1,29 (s, 7,2H), 1,28-1,20 (m, 1H), 1,16-0,88 (m, 5H).

Ejemplo 31

Síntesis del compuesto 309

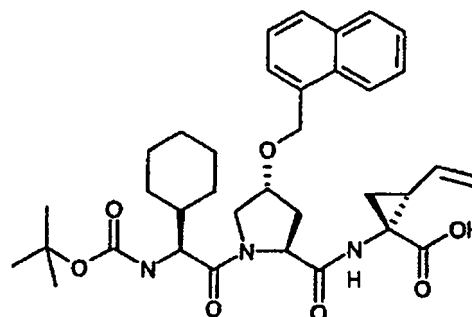
**309**

El compuesto 309 se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 27 pero utilizando los bloques de formación apropiados.

¹H NMR (DMSO-d₆) rotámetros - 2:8 δ 8,75 (s, 0,2H), 8,50 (s, 0,8H), 7,89-7,78 (m, 3H), 7,50-7,44 (m, 1H), 7,42-7,32 (m, 2H), 7,17-7,09 (m, 0,8 H), 7,08-7,03 (m, 0,2H), 6,79 (d, J = 8,5 Hz, 0,8H), 6,33 (d, J = 9 Hz, 0,2H), 5,81-5,65 (m, 1H), 5,30-5,16 (m, 2H), 5,10-5,02 (m, 1H), 4,56 (t, J = 7,5 Hz, 0,2H), 4,33 (t, J = 8 Hz, 0,8H), 4,10-3,90 (m, 2,8H), 3,74-3,68 (m, 0,2H), 2,45-2,37 (m, 1H), 2,34-2,17 (m, 1H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,75-1,48 (m, 7H), 1,37 (s, 1,8H), 1,23 (s, 7,2H), 1,21-0,88 (m, 6H).

Ejemplo 32

Síntesis del compuesto 305

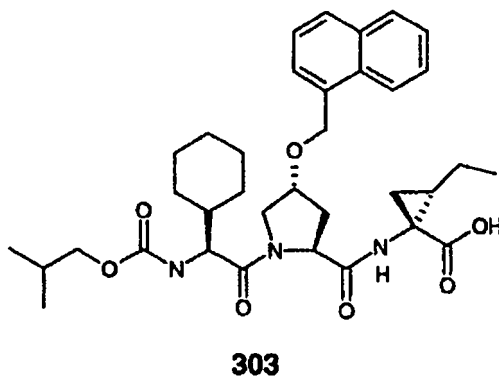
**305**

El compuesto 305 se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 27 pero utilizando los bloques de formación apropiados.

¹H NMR (DMSO-d₆) rotámetros (1;9) δ 8,68 (s, 0,1H), 8,43 (s, 0,9H), 8,04-8,00 (m, 1H), 7,95-7,91 (m, 1H), 7,87 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,75-7,49 (m, 3H), 7,47-7,42 (m, 1H), 6,82 (d, J = 8,5 Hz, 0,9H), 6,21 (d, J = 8,5 Hz, 0,1H), 5,80-5,64 (m, 1H), 5,21 (dd, J = 17, 2 Hz, 0,1H), 5,18 (dd, J = 17, 2 Hz, 0,9H), 5,06 (dd, J = 10,5, 2 Hz, 1H), 5,02-4,85 (m, 2H), 4,43 (t, J = 7,5 Hz, 0,1H), 4,34 (s ancho, 1H), 4,23 (t, J = 8,5 Hz, 0,9H), 4,16-4,05 (m, 1,8H), 3,89-3,82 (m, 0,2H), 3,74 (dd, J = 11, 3,5 Hz, 0,9H), 3,53 (dd, J = 12,5, 4 Hz, 0,1H), 2,30-2,21 (m, 1H), 2,02-1,94 (m, 2H), 1,74-1,38 (m, 7H), 1,36 (s, 0,9H), 1,28 (s, 8,1H), 1,25-0,87 (m, 6H).

Ejemplo 33

Síntesis del compuesto 303

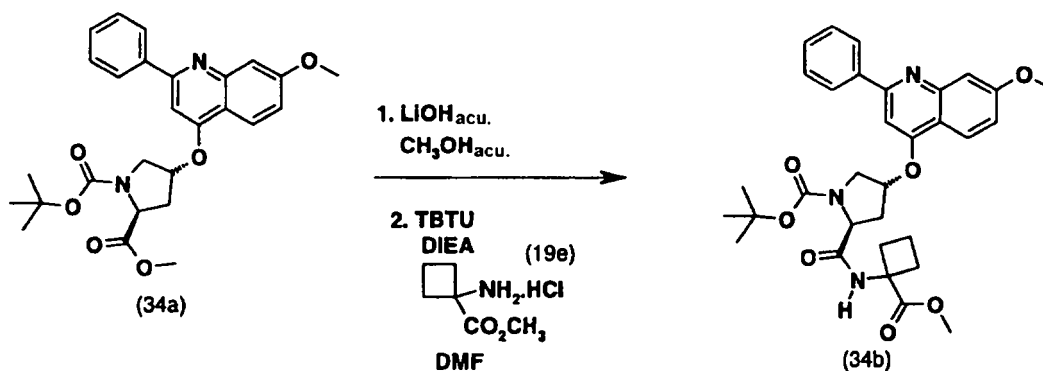


El compuesto 303 se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 27 pero utilizando los bloques de formación apropiados.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8,29 (s, 1H), 8,04-8,01 (m, 1H), 7,94-7,92 (m, 1H), 7,87 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,56-7,52 (m, 3H), 7,46 (dd, J = 8, 7 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 9 Hz, 1H), 5,01 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,86 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,34 (s ancho, 1H), 4,24 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,18-4,09 (m, 2H), 3,74-3,53 (m, 3H), 2,24-2,18 (m, 1H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,74-1,45 (m, 10H), 1,31-1,13 (m, 4H), 0,96-0,86 (m, 7H), 0,79-0,76 (m, 5H).

Ejemplo 34

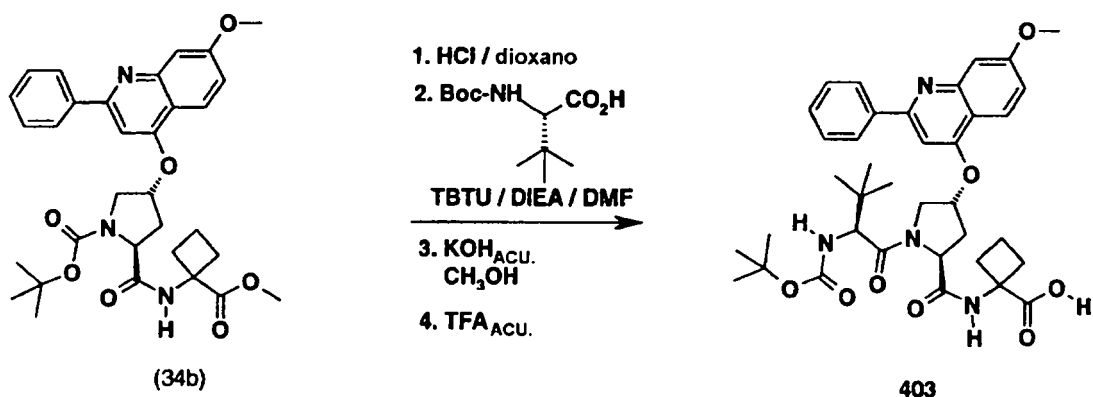
Síntesis del compuesto 403



a) Acoplamiento de P2 con P1

El derivado del éster metílico del compuesto 7 (34a) (170 mg, 0,355 mmol) se agitó en una mezcla de 50% de THF y metanol (4 ml) y LiOH acuoso (1 M, 1 ml) a TA durante 1 h. La solución se concentró (en un Rotavap, a 30°C), y luego el residuo se acidificó a pH 6 y la solución se liofilizó. El polvo resultante se agitó en DMF seca (3 ml) en presencia de DIEA (0,4 ml), seguido por la adición consecutiva del hidrocloreuro del éster metílico de ácido 1,1-amino-ciclobutil-carboxílico (34b) (140 mg, 0,845 mmol) y TBTU (134 mg, 0,417 mmol). Después de haber agitado durante 18 h a TA, la mezcla se purificó por cromatografía con resolución rápida en gel de sílice (mallas 230-400) utilizando una mezcla 1:2 de acetato de etilo y hexano para proporcionar un aceite de color anaranjado (98 mg, pureza de 90% según HPLC).

b) Acoplamiento de P1-P2 con P3



El dipéptido 34b (97 mg, 90%, 0,155 mmol) se agitó en una mezcla de HCl 4 N y dioxano (5 ml) durante 1 h a TA. La solución se concentró luego hasta sequedad (en un Rotavap, a alto vacío) para proporcionar un sólido de color beige. Este material se agitó en DMF seca (2 ml) a TA en presencia de DIEA (0,4 ml), seguido por adición de L-Boc-Tbg (80 mg, 0,35 mmol) y TBTU (112 mg, 0,35 mmol). Después de haber agitado durante 2 días a TA, la solución se vertió en acetato de etilo para generar la base libre utilizando carbonato de potasio acuoso al 5%. La fase orgánica se trató para dar un residuo oleoso de color amarillo. El material se purificó por cromatografía con resolución rápida sobre una columna de gel de sílice (mallas 230-400) utilizando mezclas 1:2 y 3:1 v/v de acetato de etilo y hexano para proporcionar 40 mg de un aceite, que es homogéneo según HPLC.

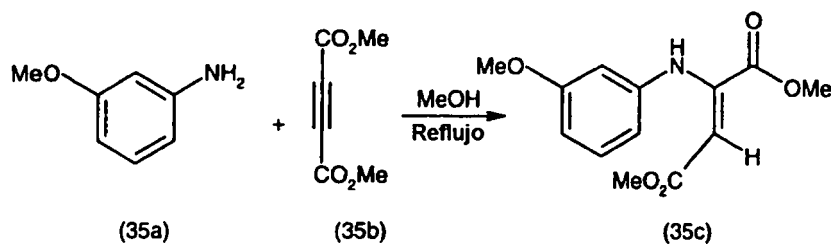
El éster metílico (40 mg) fue finalmente saponificado en hidróxido de potasio 1 N (2 ml) en metanol (4 ml) por agitación a TA durante 3 h. La mezcla se concentró (Rotavap, 30°C) y se acidificó a pH 4 con ácido clorhídrico 2 N. Esta mezcla se purificó por HPLC preparativa en una columna de C18 utilizando un gradiente de 0-50% de acetonitrilo acuoso (0,1% de TFA) a 220 nm. Las fracciones se agruparon, se concentraron hasta la mitad de volumen y se liofilizaron para proporcionar el compuesto 403 como un sólido esponjoso de color blanco (10 mg).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ mezcla de rotámetros: NH+ (1H, s, 8,6 ppm), CH (3H, m, 8,2 ppm), Ph (5H, s ancho, 7,66 y 7,53 ppm), CH (1H, ancho, 7,22 ppm), NH (1H, d, J=7,6 Hz, 6,71 ppm), CHO (1H, s ancho, 5,76 ppm), CH (2H, m, 4,58-4,49 ppm), CH (1H, m, 4,04 ppm), CH₃O (3H, s, 3,97 ppm), CH (1H, d, 3,86 ppm), CH (7H, muy ancho, 1,8-2,6 ppm), grupo Boc (9H, s, 1,25 ppm) y grupo t-butilo (9H, s, 0,97 ppm). MS manifestó M+H + a m/e 675 (100%).

Pico de HPLC 98% a 18,9 min.

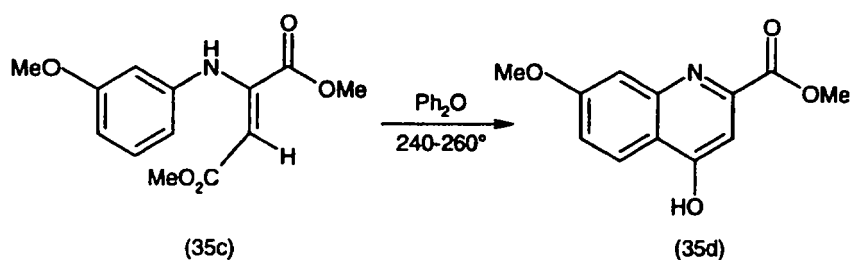
Ejemplo 35

Síntesis del compuesto 333 (Tabla 3)



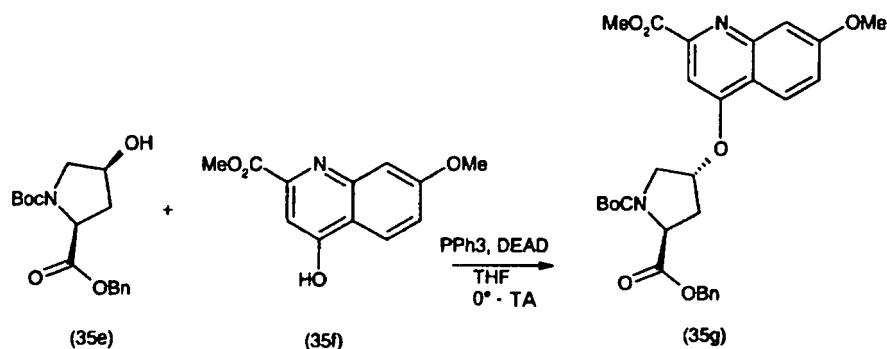
Una solución de m-anisidina (35a) (9,15 ml, 81,4 mmol) y acetileno-dicarboxilato de dimetilo (35b) (10,0 ml, 81,3 mmol) en 160 ml de metanol se calienta a reflujo durante 2 h. El disolvente se elimina en vacío y el residuo se purifica por una cromatografía en columna con resolución rápida (mezcla 90:10 de hexanos y acetato de etilo). El compuesto 35c (17,0 g, rendimiento 79%) se obtiene como un aceite de color anaranjado.

¹H NMR (CDCl₃) δ 9,62 (s ancho, 1H), 7,17 (dd, J = 7 y 8,5 Hz, 1H), 6,65-6,62 (m, 1H), 6,49-6,45 (m, 2H), 5,38 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 3,71 (s, 3H).



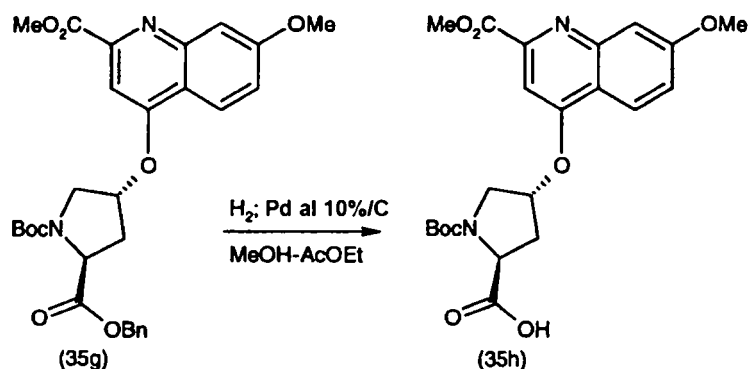
Se calienta difenil-éter (50 ml) en un baño de arena hasta una temperatura interna de $\approx 250^\circ$. El aducto de diéster (35c) (7,5 g, 28,3 mmol), disuelto en 5 ml de difenil-éter, se añade en el transcurso de 2 min al disolvente en ebullición. El calentamiento se mantiene durante 5 min y la mezcla de reacción se deja luego enfriar hasta la temperatura ambiente. Rápidamente se separa por precipitación un sólido de color beige. El sólido se filtra y luego se tritura con metanol, para proporcionar 4,1 g (rendimiento 62%) del deseado compuesto 35d.

1H NMR (DMSO- d_6) δ 7,97 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,40 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6,96 (dd, $J = 9$ y 2 Hz, 1H), 6,55 (s, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,84 (s, 3H).



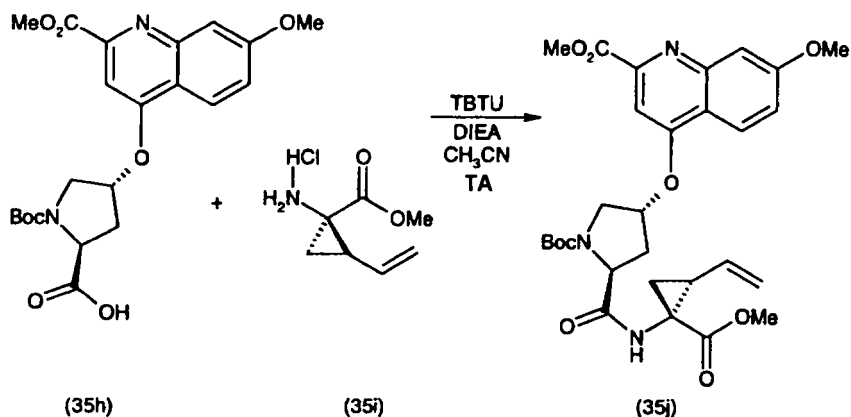
Una solución del derivado de *cis*-4-hidroxi-L-prolina (35e) (1,71 g, 5,33 mmol), del derivado de 4-hidroxi-quinolina (35f) (1,25 g, 5,36 mmol) y trifenil-fosfina (2,80 g, 10,68 mmol) en 75 ml de THF se enfría a $0^\circ C$ para la adición gota a gota (≈ 1 h) de DEAD (1,70 ml, 10,80 mmol). La mezcla de reacción se dejó luego calentar lentamente hasta la temperatura ambiente y la agitación se continuó durante una noche. El disolvente se elimina en vacío y el residuo se purifica mediante una cromatografía en columna con resolución rápida (mezcla 70:30 de acetato de etilo y hexanos). El compuesto 35 g (0,7 g del compuesto 35g puro y 1,8 g del compuesto 35g contaminado con $\approx 50\%$ de óxido de trifenil-fosfina) se obtiene como un sólido de color blanco.

1H NMR (DMSO- d_6) rotámeros (4:6) δ 8,04 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,54 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,40-7,32 (m, 6H), 7,23 (dd, $J = 9$ y 2,5 Hz, 0,1H), 5,33-5,13 (m, 3H), 4,66 (t, $J = 7,5$ Hz, 0,4H), 4,54 (t, $J = 8$ Hz, 0,6H), 4,07 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 4,04-3,80 (m, 2H), 2,78-2,65 (m, 1H), 2,47-2,34 (m, 1H), 1,45 (s, 3,6H), 1,37 (s, 5,4 H).



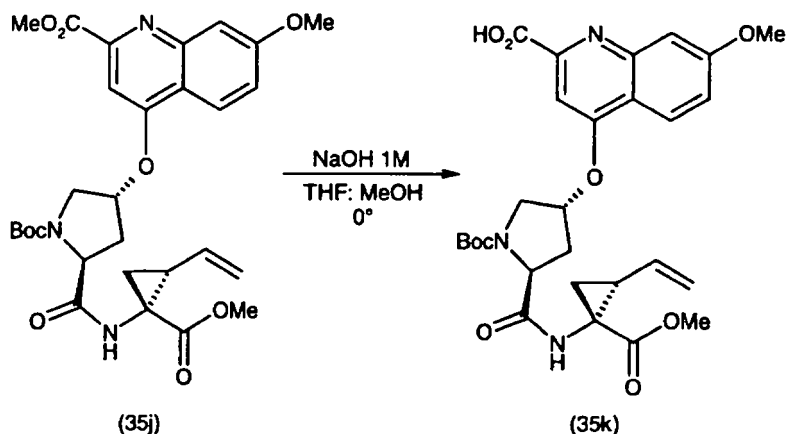
Al derivado de éster bencílico de prolina (35g) (0,70 g, 1,31 mmol) en solución en una mezcla de metanol y acetato de etilo (10 ml-10 ml) se le añaden 100 mg de Pd al 10%/C. La suspensión resultante se agita a la temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno durante 1 $\frac{1}{2}$ h. El catalizador se filtra luego sobre un filtro Millex-HV Millipore (unidad de filtro de $0,45\ \mu m$) y los disolventes se evaporan en vacío. Se obtiene un rendimiento cuantitativo del deseado ácido 35h (0,59 g).

^1H NMR (CDCl_3) rotámetros 70:30 δ 8,06 (d, $J = 9,5$ Hz, 0,3H), 8,01 (d, $J = 9$ Hz, 0,7H), 7,56 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 7,44 (s ancho, 0,7H), 7,41 (s ancho, 0,3H), 7,24 (dd, $J = 9$ y 2,5 Hz, 1H), 5,31-5,25 (m, 1H), 4,67 (t, $J = 7,5$ Hz, 0,7H), 4,55 (t, $J = 7,5$ Hz, 0,3H), 4,08 (s, 3H), 3,95 (s, 3H), 4,04-3,80 (m, 2H), 2,83-2,72 (m, 1H), 2,71-2,47 (m, 1H), 1,45 (s, 9H).

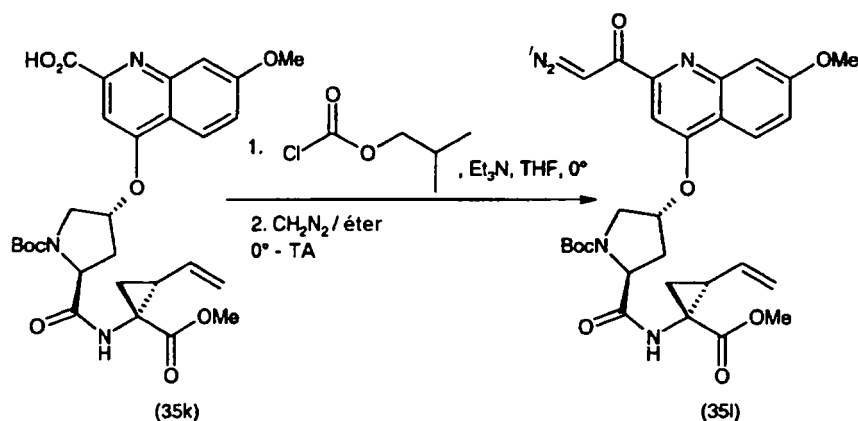


La sal de la amina 35i (215 mg, 1,21 mmol) en 7 ml de acetonitrilo se trata con 0,95 ml de DIEA (5,45 mmol). Luego esta solución se añade a una solución del ácido 35h (590 mg, 1,32 mmol) y TBTU (389 mg, 1,21 mmol) en 5 ml de CH_3CN , y la solución resultante se agita a la temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se elimina en vacío y el residuo se diluye con acetato de etilo y se lava dos veces con una solución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y una vez con salmuera y se seca sobre MgSO_4 . El disolvente se elimina en vacío y el residuo se purifica por cromatografía en columna con resolución rápida (mezcla 75:25 de AcOEt y hexanos) para proporcionar 527 mg (rendimiento 70%) del deseado dipéptido (35j).

^1H NMR (CDCl_3) δ 8,01 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,55 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,22 (dd, $J = 9$ y 2,5 Hz, 1H), 5,81-5,71 (m, 1H), 5,36-5,28 (m, 2H), 5,18-5,12 (m, 1H), 4,61-4,45 (m, 1H), 4,07 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 3,91-3,74 (m, 2H), 3,72 (s, 2H), 2,99-2,84 (m, 1H), 2,49-2,34 (m, 1H), 2,20-2,08 (m, 1H), 1,97-1,84 (m, 1H), 1,58-1,52 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

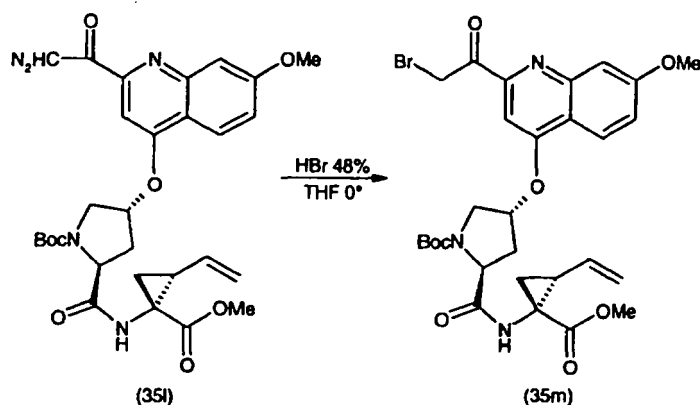


El diéster 35j (716 mg, 1,25 mmol) en solución en una mezcla de THF y MeOH (1,5 ml-1,5 ml) se enfría a 0° antes de ser tratado con una solución acuosa 1 M de NaOH (1,25 ml, 1,25 mmol). Después de agitar durante 1 h a 0°C , se añaden 3 gotas de ácido acético glacial para neutralizar el NaOH. Los disolventes se eliminan en vacío y el compuesto se seca sobre la bomba durante unas pocas horas.

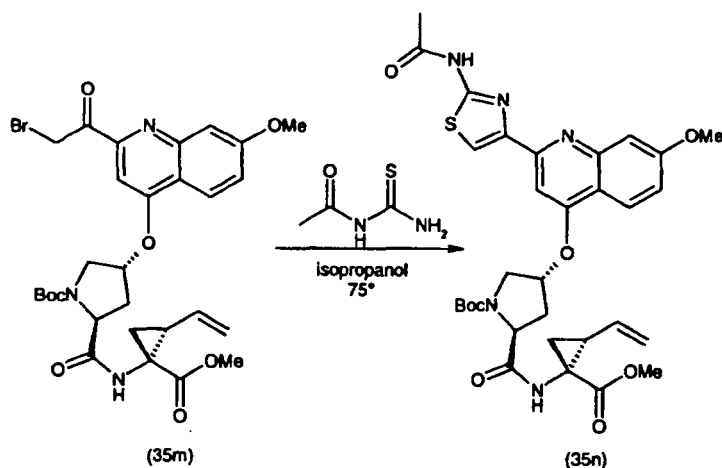


Una solución de la sal de sodio del ácido 35k (1,25 mmol) y Et_3N (0,19 ml, 1,36 mmol) en 8 ml de THF se enfría a 0°C y se añade cloroformiato de isobutilo (0,18 ml, 1,39 mmol). Después de 40 min, se añade diazometano (9 ml, 6,30 mmol) y la solución resultante se agita a 0°C durante 30 min y a temperatura ambiente durante 2 h. Los disolventes se eliminan en vacío. El residuo, diluido con acetato de etilo, se lava dos veces con una solución saturada de NaHCO_3 , una vez con salmuera y se seca sobre MgSO_4 , el disolvente se evapora en vacío y el residuo se purifica por cromatografía en columna con resolución rápida (mezcla 50:50 de hexanos y AcOEt) para proporcionar 378 mg (rendimiento 52%) de la esperada diazocetona 35l.

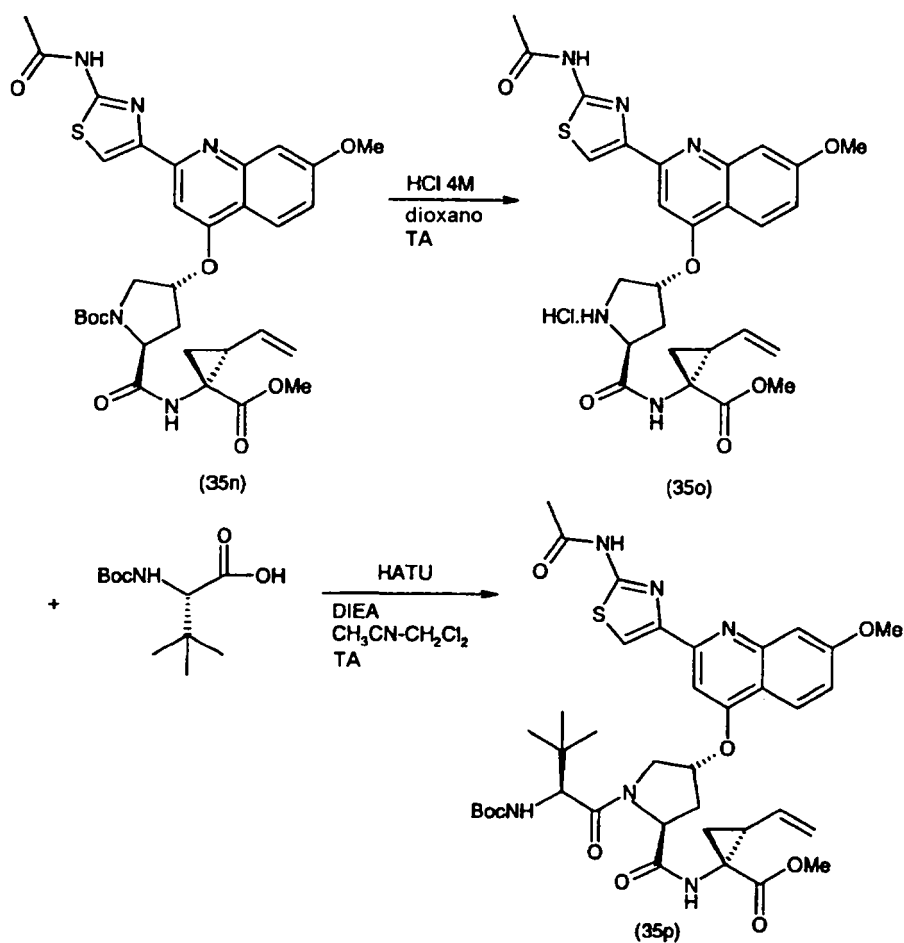
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8,00 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,35 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,20 (dd, $J = 9$ y 2,5 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 5,81-5,71 (m, 1H), 5,35-5,28 (m, 3H), 5,17-5,13 (m, 1H), 4,61-4,40 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,96-3,74 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 2,94-2,38 (m, 2H), 2,18-2,06 (m, 1H), 1,98-1,84 (m, 1H), 1,57-1,52 (m, 1H), 1,42 (s, 9H).



A una solución enfriada (a 0°C) de la diazocetona 35l (0,37 g, 0,642 mmol) en 15 ml de THF se le añaden 0,25 ml de HBr al 48%. La resultante solución de color amarillo se agita a 0°C durante 1 h. La mezcla de reacción se reparte entre acetato de etilo y una solución saturada de NaHCO_3 . La fase orgánica se lava una vez más con NaHCO_3 y se seca con NaSO_4 . Después de evaporación de los disolventes en vacío, se aíslan 0,36 g (rendimiento 90%) de la α -bromocetona 35m.



La α -bromo-cetona 35m (170 mg, 0,271 mmol) en 10 ml de isopropanol se trata con 1-acetil-2-tiourea (64 mg, 0,542 mmol). La solución resultante se calienta a 75°C durante 1 h. El disolvente se elimina en vacío. El residuo se diluye con acetato de etilo y se lava dos veces con una solución saturada de NaHCO_3 , una vez con salmuera y se seca con MgSO_4 . La evaporación del disolvente en vacío proporcionó 182 mg (>100%) del material bruto 35n.

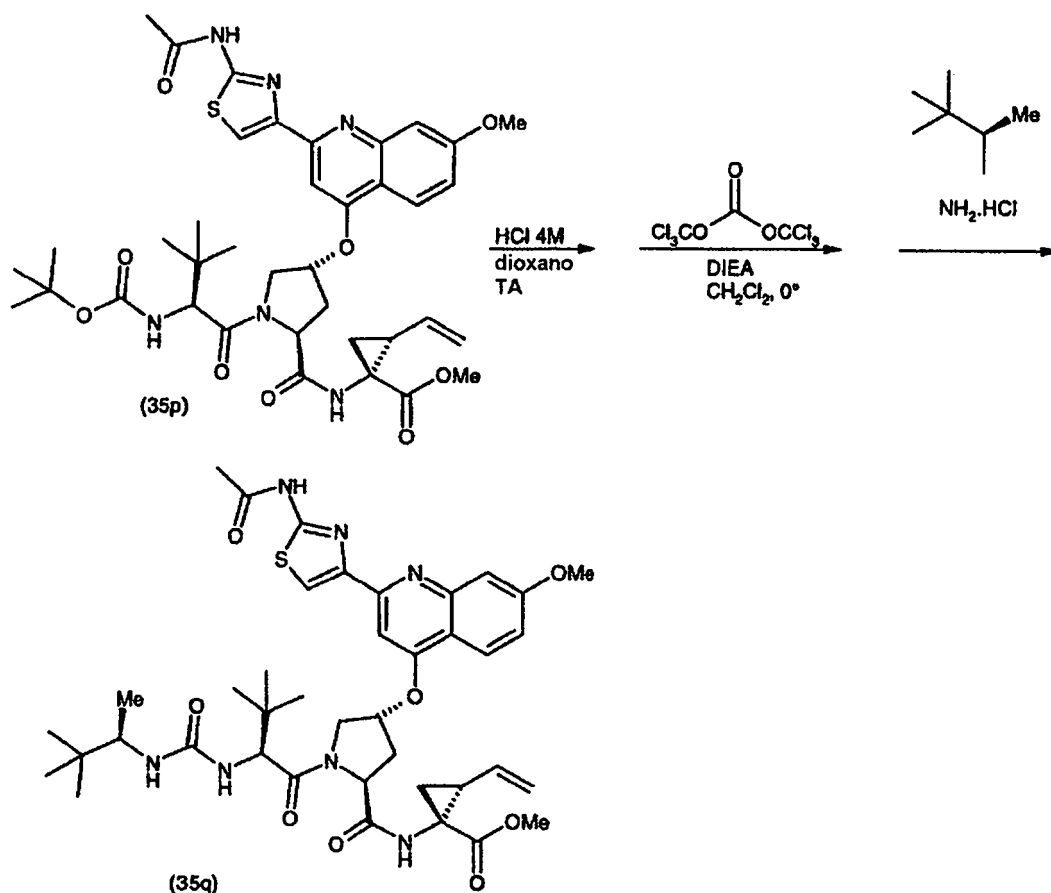


El dipéptido 35n (145 mg, 0,223 mmol) se trata con 3 ml de una solución 4 M de HCl en dioxano. La solución resultante se agita a la temperatura ambiente durante 1 h. Los disolventes se eliminan en vacío y el residuo se seca sobre la bomba.

La sal de la amina 35o en 5 ml de CH_3CN se trata con 195 μl (1,12 mmol) de DIEA. Esta solución se añade luego a la solución de la Boc-*tert*-butil-glicina (103 mg, 0,446 mmol) y HATU (186 mg, 0,489 mmol) en 3 ml de CH_3CN . La

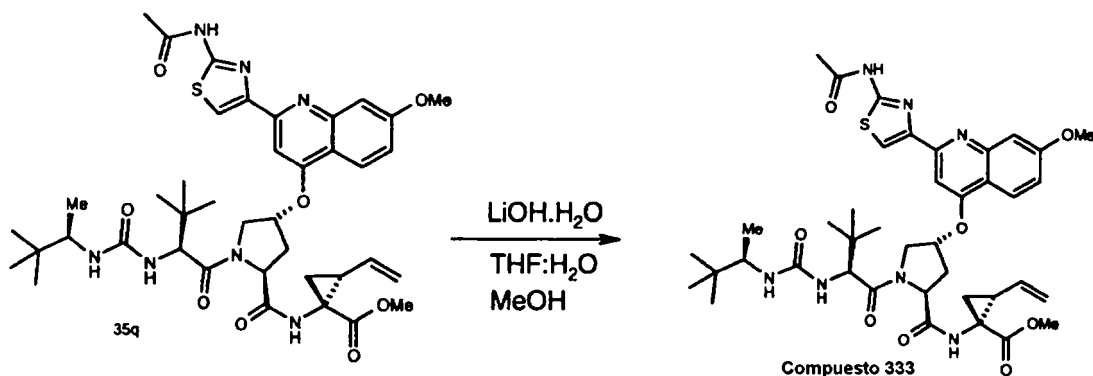
ES 2 326 707 T3

mezcla de reacción se agita a la temperatura ambiente durante una noche. El CH_3CN se evapora en vacío. El residuo se diluye con acetato de etilo, se lava dos veces con una solución saturada de NaHCO_3 , una vez con salmuera y se seca con MgSO_4 . Después de haber eliminado el disolvente, se obtienen 274 mg del tripéptido bruto 35p (> 100%).



El tripéptido 35p (56 mg, 0,0733 mmol) en 4 ml de una solución 4 M de HCl en dioxano, se agita a la temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se elimina en vacío y el residuo se seca sobre la bomba.

La sal de la amina, que se ha obtenido, se disuelve en 4 ml de CH_2Cl_2 y se trata con 0,13 ml de DIEA (0,746 mmol) seguido por 26 mg de trifosgeno (0,0876 mmol). Después de 3 h, se añade 1,2,2-trimetil-propilamina (20 mg, 0,146 mmol) (que se sintetiza tal como se ha descrito en la cita de Moss N., Gauthier J., Ferland J.M., Feb. **1995**, SynLett. (2), 142-144). El baño de hielo se retira y la mezcla de reacción se agita a la temperatura ambiente durante una noche. El CH_2Cl_2 se evapora en vacío. El residuo, diluido con acetato de etilo, se lava dos veces con una solución saturada de NaHCO_3 , una vez con salmuera y se seca con MgSO_4 para proporcionar 60 mg ($\approx 100\%$) de la deseada urea 35q.



Una solución del éster metílico 35q (57 mg, 0,0721 mmol) en una mezcla de THF y H_2O (2,5 ml:1 ml) se trata con $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ sólido (25 mg, 0,595 mmol) y se añade 1 ml de MeOH con el fin de clarificar la solución. Después de haber agitado durante 4 h a la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se neutraliza por adición de una solución

1 M de HCl. Los disolventes se eliminan en vacío y el residuo se purifica por una cromatografía preparativa. El compuesto se disuelve en 2,5 ml de MeOH, se inyecta en una columna de fase inversa C₁₈ Whatman Partisil 10-ODS-3 equilibrada (2,2 x 50 cm). Programa de purificación: gradiente lineal a 20 ml/min, λ 220 nm, se inyecta a razón de 10% de A hasta 60% de A en 60 min. A: 0,06% de TFA/CH₃CN; B: 0,06% de TFA/H₂O. Las fracciones se analizaron por HPLC analítica. El producto recogido se liofilizó para proporcionar 15 mg del compuesto 333 como un sólido de color blancuzco (rendimiento 27%).

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8,88 (s, 0,2H), 8,84 (d, J = 4,5 Hz, 0,2H), 8,68 (d, J = 8,5 Hz, 0,2H), 8,56 (s, 0,8H), 8,40-8,13 (m, 1,5H), 7,96 (d, J = 9,0 Hz, 0,2H), 7,27-7,44 (m, 2,4H), 7,35-7,09 (m, 1,2H), 6,98 (d, J = 9 Hz, 0,2H), 6,15 (d, J = 9 Hz, 0,2H), 6,06 (d, J = 9 Hz, 0,8H), 5,93 (d, J = 9,5 Hz, 0,24H), 5,86 (d, J = 9 Hz, 0,8H), 5,79-5,67 (m, 1H), 5,69-5,44 (m, 1H), 5,24-5,14 (m, 1H), 5,09-5,11 (m, 1H), 4,50-4,35 (m, 2H), 4,24 (d, J = 9,0 Hz, 0,2H), 4,20 (d, J = 9,0 Hz, 0,8H), 4,06-3,98 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,77-3,60 (m, 2H), 2,58-2,50 (m, 1H), 2,33-2,28 (m, 1H), 2,22 (s, 2,4H), 2,21 (s, 0,6H), 2,02 (q, J = 9 Hz, 1H), 1,56-1,38 (m, 1H), 0,97 (s, 9H), 0,83 (d, J = 6 Hz, 3H), 0,72 (s, 9H).

MS (FAB) 778,3 (m + H)⁺, 776,3 (M - H).

Ejemplo 36

Clonación, expresión y purificación de la proteasa de NS3 del HCV recombinante de tipo 1b

Se obtuvo suero de un paciente infectado por HCV por medio de una colaboración externa (Bernard Willems MD, Hôpital St-Luc, Montréal, Canadá y Dr. Donald Murphy, Laboratoire de Santé Publique du Québec, Ste-Anne de Bellevue, Canadá). Un molde de ADNc de plena longitud tratado por biotecnología. del genoma de HCV se construyó a partir de los fragmentos de ADN obtenidos por PCR de transcripción inversa (RT-PCR) del ARN del suero y utilizando cebadores específicos seleccionados sobre la base de homología entre otras cepas del genotipo 1b. A partir de la determinación de toda la secuencia genómica, se asignó un genotipo 1b al material aislado de HCV de acuerdo con la clasificación de Simmonds y colaboradores (J. Clin. Microbiol., (1993), 31, páginas 1.493-1.503). Se demostró que la secuencia de aminoácido de la región no estructural, NS2-NS4B, era idéntica en más de un 93% al genotipo 1b del HCV (materiales aislados de BK, JK y 483) e idéntica en un 88% al genotipo 1a del HCV (material aislado de HCV-1). Se generó por PCR un fragmento de ADN que codificaba el precursor de poliproteína (NS3/NS4A/NS4B/NS5A/NS5B) y se introdujo en vectores de expresión eucariótica. Después de transfección transitoria, el tratamiento de la poliproteína, mediado por la proteasa de NS3 del HCV se demostró por la presencia de la proteína NS3 madura utilizando un análisis por transferencia Western. La proteína NS3 madura no fue observada con la expresión de un precursor de poliproteína que contenía la mutación S1165A, que desactiva a la proteasa de NS3, confirmando la funcionalidad de la proteasa de NS3 del HCV.

El fragmento de ADN que codificaba la proteasa de NS3 del HCV recombinante (aminoácidos 1027 hasta 1206) fue clonado en el vector de expresión bacteriana pET11d. La expresión de la proteasa de NS3 en *E. coli* BL21(DE3) pLysS fue inducida por incubación con IPTG 1 mM durante 3 h a 22°C. Una fermentación típica (18 l) proporcionó aproximadamente 100 g de una pasta húmeda de células. Las células fueron vueltas a suspender en un tampón de lisis (3,0 ml/g) que constaba de fosfato de sodio 25 mM, de pH 7,5, glicerol al 10% (v/v), EDTA 1 mM, NP-40 al 0,01%, y se almacenó a -80°C. Las células se descongelaron y homogeneizaron después de la adición de DTT 5 mM. Se añadieron luego al material homogeneizado cloruro de magnesio y DNasa en concentraciones finales de 20 mM y 20 μ g/ml respectivamente. Después de una incubación durante 25 min a 4°C, el material homogeneizado fue sonificado y centrifugado a 15.000 x g durante 30 min a 4°C. El pH del material sobrenadante se ajustó luego a 6,5 utilizando una solución 1 M de fosfato de sodio.

Una operación adicional de cromatografía con filtración en gel se agregó al proceso de purificación de 2 operaciones descrito en el documento WO 95/22985 (que se incorpora a la presente por su referencia). Dicho brevemente, el material sobrenadante procedente del extracto bacteriano fue cargado sobre una columna SP HiTrap (Pharmacia) previamente equilibrada a un caudal de 2 ml/min en el tampón A (fosfato de sodio 50 mM, pH 6,5, glicerol al 10%, EDTA 1 mM, DTT 5 mM, NP-40 al 0,01%). Luego la columna se lavó con el tampón A que contenía NaCl 0,15 M y la proteasa se eluyó aplicando 10 volúmenes de columna de un gradiente lineal de NaCl desde 0,15 hasta 0,3 M. Las fracciones que contenían la proteasa de NS3 fueron agrupadas y diluidas a una concentración final de NaCl de 0,1 M. La enzima se purificó adicionalmente sobre una columna con HiTrap Heparin (Pharmacia) equilibrada en el tampón B (fosfato de sodio 25 mM, de pH 7,5, glicerol al 10%, DTT 5 mM, NP-40 al 0,01%). La muestra se cargó a un caudal de 3 ml/min. La columna se lavó luego con el tampón B que contenía NaCl 0,15 M a un caudal de 1,5 ml/min. Se realizaron lavados en dos etapas en presencia del tampón B que contenía NaCl 0,3 ó 1 M. La proteasa se recuperó en el lavado con NaCl 0,3 M, se diluyó a 3 veces con el tampón B, se volvió a aplicar sobre la columna con HiTrap Heparin y se eluyó con el tampón B que contenía NaCl 0,4 M. Finalmente, las fracciones que contenían proteasa de NS3 fueron aplicadas sobre una columna con Superdex 75 HiLoad 16/60 (Pharmacia) equilibrada en tampón B que contenía NaCl 0,3 M. Se estimó que la pureza de la proteasa de NS3 del HCV, obtenida a partir de las fracciones agrupadas era mayor que 95% según SDS-PAGE seguido por análisis mediante densitometría.

La enzima se almacenó a -80°C y se descongeló sobre hielo y se diluyó justamente antes de su uso.

Ejemplo 37

Análisis radiométrico de la mezcla de proteasa de NS3 del HCV recombinante y péptido cofactor de NS4A

- 5 La enzima se clonó, expresó y preparó de acuerdo con el protocolo descrito en el Ejemplo 36. La enzima se almacenó a -80°C , se descongeló sobre hielo y se diluyó justo antes de utilizarse en el tampón de análisis que contenía el péptido de cofactor de NS4A.

10 El sustrato utilizado para el análisis radiométrico de la proteasa de NS3 y el péptido cofactor de NS4A, DDIVPC-SMSYTW, es disociado entre los residuos de cisteína y de serina por la enzima. La secuencia DDIVPC-SMSYTW corresponde al sitio natural de disociación de NS5A/NS5B en que el residuo de cisteína en P2 ha sido reemplazado por una prolina. El sustrato de péptido DDIVPC-SMSYTW y el trazador biotina-DDIVPC-SMS[^{125}I -Y]TW se incuban con la proteasa de NS3 recombinante y con el cofactor de péptido de NS4A KKGSVVIVGRILSGRK (relación molar de enzima a cofactor 1:100) en la ausencia o presencia de inhibidores. La separación del sustrato a partir de los
15 productos se realiza añadiendo glóbulos de agarosa revestidos con avidina a la mezcla sometida a análisis, seguido por filtración. La cantidad del producto SMS[^{125}I -Y]TW encontrado en el material filtrado permite el cálculo del porcentaje de conversión del sustrato y del porcentaje de inhibición.

20 A. Reactivos

Los tampones Tris y Tris-HCl (Ultra Pure) se obtuvieron de Gibco-BRL. El glicerol (Ultra Pure) y los productos MES y BSA se adquirieron de Sigma. El TCEP se obtuvo de Pierce, el DMSO de Aldrich y el NaOH de Anachemia.

25 Tampón para análisis: Tris HCl 50 mM, de pH 7,5, glicerol al 30% (p/v), BSA 1 mg/ml, TCEP 1 mM (el TCEP se añade justamente antes del uso a partir de una solución de reserva 1 M en agua).

30 Sustrato: DDIVPCSMSYTW, concentración final 25 μM (a partir de una solución original 2 mM en DMSO, almacenada a -20°C para evitar la oxidación).

Trazador: sustrato mono-yodado reducido, biotina DDIVPC SMS[^{125}I -Y]TW (~ 1 nM).

35 Proteasa de NS3 del HCV del tipo 1b, concentración final 25 nM (a partir de una solución de reserva en fosfato de sodio 50 mM, de pH 7,5, glicerol al 10%, NaCl 300 mM, DTT 5 mM, NP-40 al 0,01%).

Péptido cofactor de NS4A: KKGSVVIVGRILSGRK, concentración final 2,5 μM (a partir de una solución de reserva 2 mM en DMSO, almacenada a -20°C).

40 B. Protocolo

El análisis se realizó en una placa de poliestireno de 96 pocillos procedente de Costar. Cada pocillo contenía:

45 20 μl de mezcla de sustrato y trazador en tampón para análisis;

10 μl de mezcla de $\pm$ inhibidor en 20% de DMSO y tampón para análisis;

50 10 μl de mezcla de proteasa de NS3 1b y péptido cofactor de NS4 (relación molar 1:100).

Una muestra en vacío (sin inhibidor y sin enzima) y una muestra testigo (sin inhibidor) se prepararon también en la misma placa para análisis.

55 La reacción enzimática fue iniciada por la adición de la solución de enzima y péptido de NS4A, y la mezcla para análisis se incubó durante 40 min a 23°C con suave agitación. Se añadieron 10 μl de NaOH 0,5 N y luego se añadieron 10 μl de MES 1 M, pH 5,8, para sofocar la reacción enzimática.

60 Se añadieron 20 μl de glóbulos de agarosa revestidos con avidina (adquiridos de Pierce) a una placa de filtración de Millipore MADP N65. La mezcla de análisis sofocada se transfirió a la placa de filtración y se incubó durante 60 min a 23°C con suave agitación.

Las placas se filtraron utilizando un aparato de Filtración Millipore MultiScreen Vacuum Manifold, y se transfirieron 40 μl del material filtrado a una placa opaca de 96 pocillos que contenía 60 μl de fluido de escintilación por pocillo.

65 Los materiales filtrados se contaron en un instrumento Packard TopCount utilizando un protocolo de ^{125}I -líquido durante 1 minuto.

El % de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

$$100 - [(c\acute{o}mputos_{inh} - c\acute{o}mputos_{vac\acute{i}o}) / (c\acute{o}mputos_{test} - c\acute{o}mputos_{vac\acute{i}o}) \times 100]$$

5

Un ajuste de curva no lineal con el modelo de Hill se aplicó a los datos de inhibición y concentración y la concentración efectiva de 50% (CI₅₀) se calculó por el uso de programa lógico SAS (Statistical Software System; SAS Institute, Inc. Cary, N.C.).

10

Ejemplo 38

Análisis de la proteína heterodímera NS3-NS4A de plena longitud

15 La región no codificadora de NS2-NS5B-3' fue clonada mediante RT-PCR (reacción en cadena de polimerasa de fase inversa) en el vector pCR[®]3 (Invitrogen) utilizando el ARN extraído del suero de un individuo infectado por HCV del genotipo 1b (proporcionado por el Dr. Bernard Willems, Hôpital St-Luc, Montréal, Québec, Canadá). Luego la región de ADN de NS3-NS4A fue subclonada por PCR en el vector de expresión de baculovirus HTa pFastBac[®] (Gibco/BRL). La secuencia del vector incluye una región que codifica una secuencia terminal en N de 28 residuos, 20 que contiene una marca de hexahistidina. El sistema de expresión de baculovirus Bac-to-Bac[®] (Gibco/BRL) se utilizó para producir el baculovirus recombinante. La proteína heterodímera NS3 y NS4 madura de plena longitud (His-NS3-NS4AFL) fue expresada infectando 10⁶ células Sf21/ml con el baculovirus recombinante a una multiplicidad de infección de 0,1-0,2 a 27°C. El cultivo infectado se cosechó a las 48 hasta 64 h más tarde por centrifugación a 4°C. El sedimento celular se homogeneizó en NaPO₄ 50 mM, pH 7,5, glicerol al 40% (p/v), β-mercaptoetanol 2 mM, en 25 presencia de un cóctel de inhibidores de proteasas. Luego la His-NS3-NS4AFL fue extraída a partir del material lisado celular con NP-40 al 1,5%, Triton X-100 al 0,5%, NaCl 0,5 M, y un tratamiento con DNasa. Después de ultracentrifugación, el extracto soluble se diluyó a 4 veces y se fijó a una columna con Ni-quelante Hi-Trap de Pharmacia. La His-NS3-NS4AFL fue eluida en una forma pura en >90% (según se estima por SDS-PAGE), utilizando un gradiente de imidazol desde 50 a 400 mM. La His-NS3-NS4AFL se almacenó a -80°C en fosfato de sodio 50 mM, de pH 7,5, glicerol al 10% (p/v), NaCl 0,5 M, imidazol 0,25 M, NP-40 0,1%. Ésta se descongeló sobre hielo y se diluyó justamente 30 antes de su uso.

La actividad de proteasa de la His-NS3-NS4AFL se analizó en Tris-HCl 50 mM, de pH 8,0, citrato de sodio 0,25 M, n-dodecil-β-D-maltosido 0,01% (p/v), TCEP 1 mM. Cinco (5) μM del sustrato sofocado internamente antranilil-DDIVPAbu[C(O)-O]-AMY(3-NO₂)TW-OH en presencia de diversas concentraciones del inhibidor se incubaron con 35 1,5 nM de His-NS3-NS4AFL durante 45 min a 23°C. La concentración final de DMSO no supera el 5,25%. La reacción se terminó con la adición de MES 1 M, de pH 5,8. La fluorescencia del producto terminal de N se vigiló en un fluorómetro Perkin-Elmer LS-50B equipado con un lector de placas de 96 pocillos (longitud de onda de excitación: 325 nm; longitud de onda de emisión: 423 nm).

40

El % de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

$$100 - [(c\acute{o}mputos_{inh} - c\acute{o}mputos_{vac\acute{i}o}) / (c\acute{o}mputos_{test} - c\acute{o}mputos_{vac\acute{i}o}) \times 100]$$

45

Un ajuste de curva no lineal con el modelo de Hill se aplicó a los datos de inhibición y concentración y la concentración efectiva de 50% (CI₅₀) se calculó mediante el uso del sistema lógico SAS (Statistical Software System; SAS Institute, Inc. Cary, N.C.).

50

Ejemplo 39

Análisis basado en células de proteasa NS3

55 Este análisis se realizó con células Huh-7, una línea celular humana derivada de un hepatoma, co-transfectada con 2 estructuras artificiales de ADN.

- una, que expresaba una poliproteína que comprendía las proteínas no estructurales del HCV fusionadas a tTA en el siguiente orden: NS3-NS4A-NS4B-NS5B-tTA (denominada NS3);

60

- otra, que expresaba la proteína reportera, fosfatasa alcalina secretada bajo el control de tTA (denominada SEAP).

La poliproteína debe de ser disociada por la proteasa de NS3 para que las proteínas maduras sean liberadas. Después de la liberación de las proteínas maduras, se cree que las proteínas víricas formarán un complejo junto a la membrana del retículo endoplásmico mientras que la tTA migrará hacia el núcleo y transactivará el gen de SEAP. Por 65 lo tanto, la reducción de la actividad proteolítica de NS3 deberá conducir a la reducción de los niveles de tTA madura y a la disminución concomitante en la actividad de SEAP.

ES 2 326 707 T3

Para controlar otros efectos de los compuestos, se realizó una transfección paralela en la que una estructura artificial que expresaba tTA a solas (denominada tTA) fue co-transfectada con la estructura artificial SEAP de manera tal que la actividad de SEAP sea independiente de la actividad proteolítica de NS3.

5 Protocolo del análisis: células Huh-7, que crecían en CHO-SFMII + 10% de FCS (suero de ternero fetal), fueron co-transfectadas o bien con NS3 y SEAP o con tTA y SEAP, utilizando el protocolo FuGene (de Boehringer Mannheim). Después de 5 h a 37°C, las células fueron lavadas, tripsinizadas y sembradas en placas (a razón de 80.000 células/pocillo) en placas de 96 pocillos que contenían una gama de concentraciones de los compuestos que se habían de ensayar. Después de un período de incubación de 24 h, se extrajo una parte alícuota del medio y la actividad de
10 SEAP en esta parte alícuota se midió con el estuche Phospha-Light (de Tropix).

El análisis de la inhibición porcentual de la actividad de SEAP con respecto a la concentración del compuesto se realizó con el programa lógico SAS para obtener la CE_{50} .

15 La toxicidad del compuesto (CT_{50}) se averiguó luego utilizando el análisis MTT de la siguiente manera:

Se añadieron 20 μ l de una solución de MTT (5 mg/ml de medio) por pocillo y se incubaron a 37°C durante 4 h; el medio se retiró y se añadieron 50 μ l de HCl 0,01 N + Triton X-100 al 10%; después de agitar a TA durante al menos 1 h, se leyó la densidad óptica (DO) de cada pocillo con una longitud de onda de 595 nm.

20 La CT_{50} se calculó de la misma manera que la CE_{50} .

Ejemplo 40

25 *Análisis de especificidad*

La especificidad de los compuestos se determinó frente a una diversidad de proteasas de serina: la elastasa de leucocitos humanos, la elastasa pancreática porcina y la α -quimotripsina pancreática bovina y una proteasa de cistina: cathepsina B de hígado humano. En todos los casos se utilizó un protocolo con el formato de placa de 96 pocillos
30 utilizando un sustrato de p-nitroanilida (pNA) colorimétrico, que era específico para cada enzima. Cada análisis incluía una pre-incubación a 30°C durante 1 h con inhibidor de enzima seguido por la adición del sustrato e hidrólisis hasta una conversión $\approx 30\%$, como se mide en un lector de microplacas UV Thermomax[®]. Las concentraciones del sustrato se mantuvieron lo más bajas que fuera posible en comparación con la K_M para reducir la competencia por el sustrato. Las concentraciones del compuesto variaron entre 300 y 0,06 μ M dependiendo de su potencia.

35 Las condiciones finales para cada análisis fueron las siguientes:

- Tris-HCl 50 mM de pH 8, Na_2SO_4 0,5 M, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, DMSO al 3%, Tween-20 al 0,01% con:
- 40 • [Succ-AAPF-pNA 100 μ M y α -quimotripsina 250 pM], [Succ-AAA-pNa 133 μ M y elastasa porcina 8 nM], [Succ-AAV-pNa 133 μ M y elastasa de leucocitos 8 nM]; o
- 45 • [NaHPO₄ 100 mM de pH 6, EDTA 0,1 mM, DMSO al 3%, TCEP 1 mM, Tween-20 al 0,01%, Z-FR-pNA 30 μ M y cathepsina B 5 nM (la enzima de reserva se activó en tampón que contenía TCEP 20 mM antes del uso)].

Un ejemplo representativo se resume seguidamente para elastasa pancreática de porcino.

50 A una placa de 96 pocillos de fondo plano de poliestireno se le añadieron, utilizando un manipulador de líquido Biomek (de Beckman):

- 40 μ l de tampón para análisis (Tris-HCl 50 mM, de pH 8, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM);
- 55 • 20 μ l de una solución de enzima (Tris-HCl 50 mM, de pH 8, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, Tween-20 al 0,02%, elastasa pancreática porcina 40 nM); y
- 60 • 20 μ l de solución de inhibidor (Tris-HCl 50 mM, de pH 8, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, Tween-20 al 0,02%, inhibidor 1,5 mM-0,3 μ M, DMSO al 15% v/v).

Después de pre-incubación durante 60 min a 30°C, se añadieron a cada pocillo 20 μ l de una solución de sustrato (Tris-HCl 50 mM, de pH 8, Na_2SO_4 0,5 M, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, Succ-AAA-pNA 665 μ M) y la mezcla de
65 reacción se incubó adicionalmente a 30°C durante 60 min, después de cuyo período de tiempo se leyó la absorbancia en el lector de placas UV Thermomax[®]. Se asignaron filas de pocillos para las muestras testigos (sin inhibidor) y para las muestras en vacío (sin inhibidor y sin enzima).

ES 2 326 707 T3

Las diluciones a 2 veces consecutivas de la solución de inhibidor se realizaron en una placa dispuesta por separado por el manipulador de líquidos utilizando Tris-HCl 50 mM de pH 8, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, Tween-20 al 0,02%, DMSO al 15%. Todos los otros análisis de la especificidad se realizaron de una manera similar.

5 El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la fórmula:

$$[1 - ((UV_{inh} - UV_{vacío}) / (UV_{tst} - UV_{vacío}))] \times 100$$

10 Un ajuste de curva no lineal con el modelo de Hill fue aplicado a los datos de inhibición y concentración, y la concentración efectiva de 50% (CI_{50}) se calculó por el uso del sistema lógico de SAS (Statistical Software System; SAS Institute, Inc. Cary, N.C.).

Tablas de compuestos

15 Las siguientes Tablas enumeran compuestos representativos del invento. Los compuestos de este invento se analizaron o bien en uno o en ambos de los análisis de los Ejemplos 37 y 38 y se encontró que eran activos con valores de CI_{50} por debajo de 50 μ M (A); por debajo de 5 μ M (B) o por debajo de 0,5 μ M (C).

Actividad en células y especificidad

20 Compuestos representativos del invento se ensayaron también en el análisis basado en células subrogadas del Ejemplo 39, y en uno o varios análisis del Ejemplo 40. Por ejemplo, se encontró que el compuesto 601 procedente de la Tabla 6 tenía una CI_{50} de 50 nM en el análisis del Ejemplo 37 y de 30 nM en el análisis del Ejemplo 38. La CE_{50} , que se determinó por el análisis del Ejemplo 39, es de 8,2 μ M. En los análisis de especificidad del Ejemplo 40 se encontró que el mismo compuesto tenía la siguiente actividad: HLE >75 μ M, PPE >75 μ M, α -Chym >75 μ M; Cat. B >75 μ M. Estos resultados indican que esta familia de compuestos es muy específica para proteasa de NS3 y al menos ciertos miembros de esta familia son activos en un análisis basados en células subrogadas.

30 Las siguientes abreviaturas se utilizan dentro de las presentes tablas:

MS: datos de espectrometría de masas; Ac: acetilo; Bn: bencilo; Boc: *terc.*-butiloxicarbonilo; cHex: ciclohexilo; Chg: ciclohexilglicina (ácido 2-amino-2-ciclohexil-acético); iPr: isopropilo; O-Bn: benciloxi; Ph: fenilo; t-Bu: *terc.*-butilo; Tbg: *terc.*-butil-glicina; 1- ó 2-Np: 1- ó 2-naftilo; 1- ó 2-NpCH₂O: 1- ó 2-naftilmetoxi.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 1

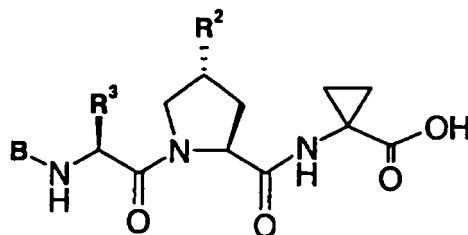


Tabla 1 Comp N°	B	R ₃	R ₂	MS	margen de actividad
101	Boc	cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	594	A
102		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	632	A
103		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	642	A
104		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	728	A
105		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	619	A
106	Boc	cHex		702	B
107		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	720 M+Na ⁺	A
108	Boc	iPr		662	A

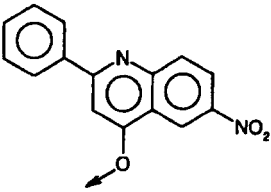
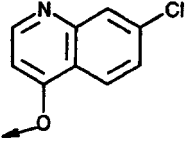
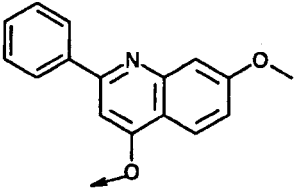
Tabla 1 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	MS	margen de actividad
109	acetilo	cHex		644	A
110	Boc	<i>i</i> -Pr		575.1	A
111	Boc	<i>t</i> -Bu		661.3	C

TABLA 2

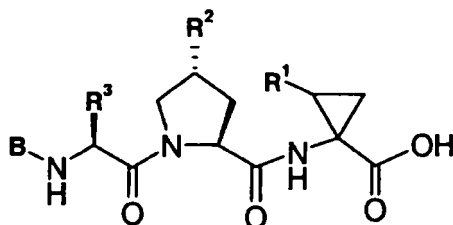


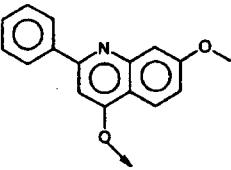
Tabla 2 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ anti para carboxi	MS	Margen de actividad
201	Boc	ciclohexilo	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo (un isómero)	622	A
202	Boc	ciclohexilo	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo (otro isómero)	622	A
203	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo 1 <i>R</i> , 2 <i>R</i>	687.5	C

TABLA 3

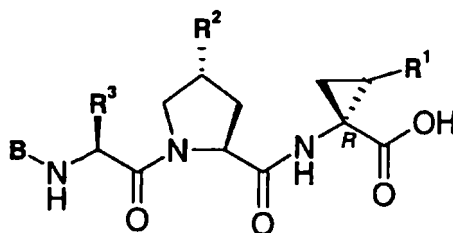


Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ <i>sin para carboxi</i>	MS	Margen de activ.
301	Boc	cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo	622	A
302		iPr	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo	582	A
303		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo	622	A
304	Boc	cHex		etilo	623	A
305	Boc	cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	vinilo	620	B
306	Boc	cHex		vinilo	607	B
307	Boc	cHex		vinilo	728	C
308	Boc	cHex		vinilo	606	B
309	Boc	cHex		vinilo	606	B
310	Boc	cHex		vinilo	607	B

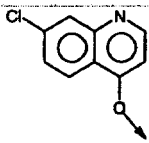
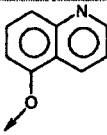
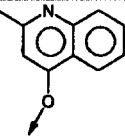
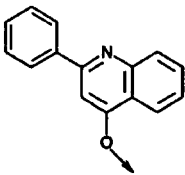
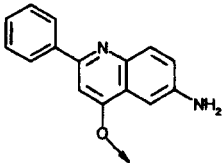
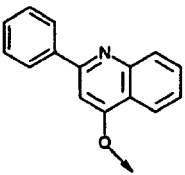
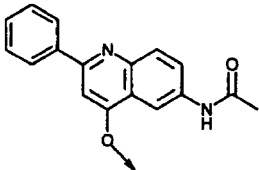
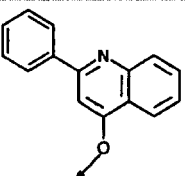
Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ sin para carboxi vinilo	MS	Margen de activ.
311	Boc	cHex		vinilo	641	B
312	Boc	cHex		vinilo	607	A
313	Boc	cHex		vinilo	621	B
314	Boc	cHex		vinilo	683	C
315	Boc	cHex		vinilo	698	B
316	Acetilo	cHex		vinilo	625	B
317	Boc	cHex		vinilo	740	C
318	CF ₃ -C(O)-	i-Pr		vinilo	639.3	B

Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ sin para carboxi	MS	Margen de activ.
319		cHex		vinilo	732.3	C
320		cHex		vinilo	704.3	B
321	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	658.7	C
322	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	717.6	B
323	Boc	<i>t</i> -Bu			672.4	B
324	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	727.5	C
325	Boc	<i>t</i> -Bu			701.4	C
326	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	708.3	C

Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ sin para carboxi	MS	Margen de activ.
327		<i>t</i> -Bu		vinilo	610.3	C
328	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	615.3	B
329	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	685.3	C
330	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	627.5	A
331		<i>t</i> -Bu		vinilo	656.5	C
332	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	689.3	C
333		<i>t</i> -Bu		vinilo	778.3	C
334		<i>t</i> -Bu		vinilo	764.4	C

TABLA 4

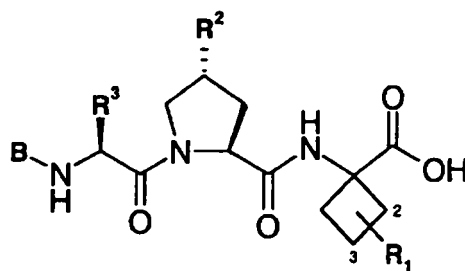


Tabla 4 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁	MS	margen de activ.
401	Boc	<i>i</i> -Pr		H	589.1	A
402	Boc	<i>t</i> -Bu		H	603.6	A
403	Boc	<i>t</i> -Bu		H	675.4	C
404	Boc	<i>t</i> -Bu		3-(=CH ₂)	687.1	B
405	Boc	<i>t</i> -Bu		2-vinilo	702.3	C
406	Boc	<i>t</i> -Bu		2-Et	703.3	C

TABLA 5

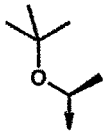
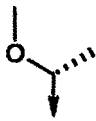
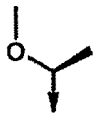
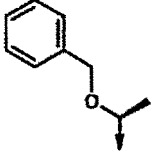
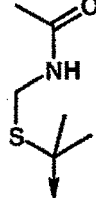
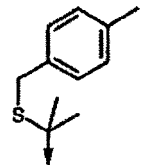
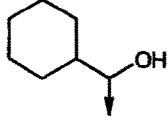
Tabla 5 Comp. N°	R ₃	MS	Margen de actividad
501	<i>t</i> -Bu	581.3	<i>C</i>
502	<i>H</i>	539.2	<i>A</i>
503		625.3	<i>B</i>
504		582.6	<i>B</i>
505		583.2	<i>B</i>
506		659.2	<i>B</i>
507		670.2	<i>B</i>
508		703.3	<i>B</i>
509		581.3	<i>C</i>
510		581.2	<i>C</i>
511		637.2	<i>B</i>

TABLA 6

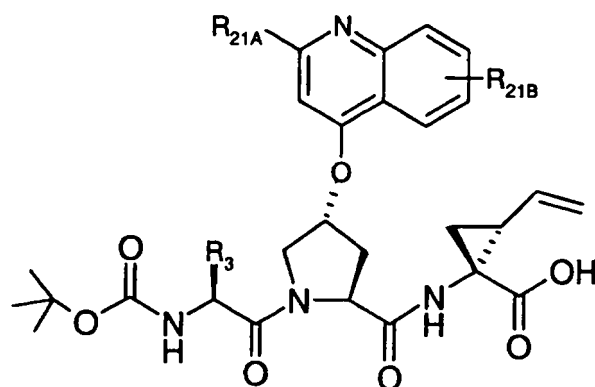


Tabla 6 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	R _{21B}	MS	Margen de actividad
601	<i>i</i> -Pr	Ph	7-OMe	673.3	C
602	<i>t</i> -Bu	Ph	8-OMe, 7-OMe	717.2	C
603	<i>i</i> -Pr	Ph	7-etilo	671.2	C
604	<i>t</i> -Bu	--	7-OMe	611.2	C
605	<i>t</i> -Bu	Ph	7-O- <i>i</i> Pr	715.3	C
606	<i>t</i> -Bu	--	7-Cl	615.2	C
607	<i>i</i> Pr	--	7-Cl	601.2	C
608	CH ₂ - <i>i</i> Pr	--	7-Cl	615.3	B
609	<i>t</i> -Bu		--	680.2	B
610	<i>t</i> -Bu	Cl	--	613.3	C
611	<i>t</i> -Bu	Ph	7-N(Me) ₂	700.5	C
612	<i>t</i> -Bu		--	666.4	C
613	<i>t</i> -Bu		--	650.4	B
614	<i>t</i> -Bu		--	664.5	B
615	<i>t</i> -Bu	--	7-N(Me) ₂	624.5	C

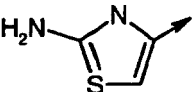
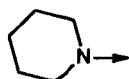
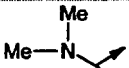
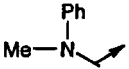
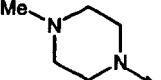
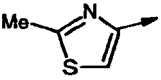
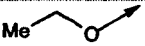
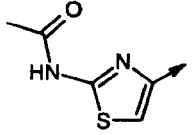
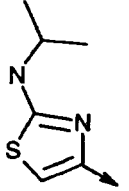
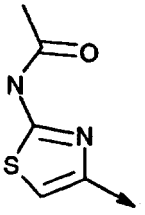
Tabla 6 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	R _{21B}	MS	Margen de actividad
616	<i>t</i> -Bu		--	678.4 (M-H) ⁺	C
617	<i>t</i> -Bu		--	664.5	C
618	<i>t</i> -Bu		--	638.5	B
619	<i>t</i> -Bu		--	700.5	B
620	<i>t</i> -Bu		--	679.5	C
621	<i>t</i> -Bu		--	678.3	C
622	<i>t</i> -Bu		--	625.4	C
623	<i>t</i> -Bu	MeO-	--	611.3	C
624	<i>t</i> -Bu	(Me) ₂ N-	--	624.4	B
625	<i>t</i> -Bu	Ph	7-S(Me)	703.4	C
626	<i>t</i> -Bu	Ph	7-Br	737.3	C
627	<i>t</i> -Bu	Ph	7-F	675.3	C
628	<i>t</i> -Bu		7-N(Me) ₂	764.2	C
629	<i>t</i> -Bu		7-N(Me) ₂	764.3	C
630	<i>t</i> -Bu		7-N(Et) ₂	792.3	C

TABLA 7

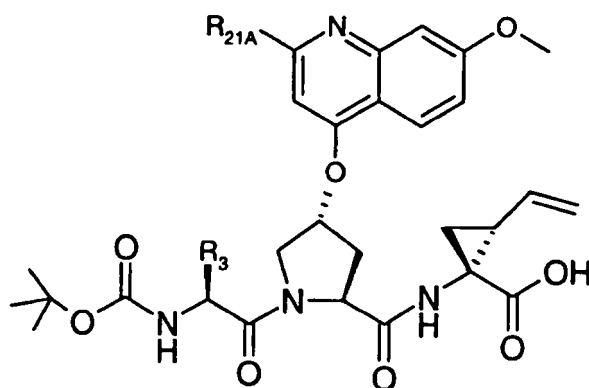


Tabla 7 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	MS	Margen de actividad
701	<i>t</i> -Bu		691.3	C
702	<i>t</i> -Bu		713.4	C
703	<i>t</i> -Bu		655.3	C
704	<i>t</i> -Bu		728.4	C
705	<i>t</i> -Bu		696.4	C
706	<i>t</i> -Bu		693.3	C
707	<i>t</i> -Bu		694.3	C
708	<i>t</i> -Bu	Ph-N(Me)-	716.4	C
709	<i>t</i> -Bu		709.2	C
710	<i>t</i> -Bu	HOOC-	655.3	B
711	<i>t</i> -Bu		708.2	C
712	<i>t</i> -Bu	(Me) ₂ N-	654.3	C
713	<i>t</i> -Bu		692.3 (M-H) ⁺	C

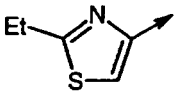
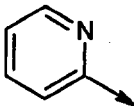
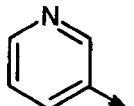
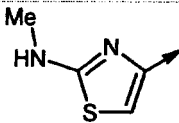
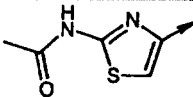
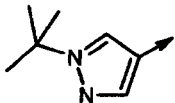
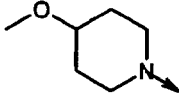
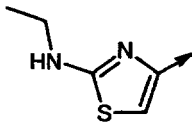
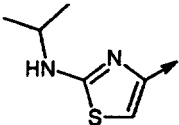
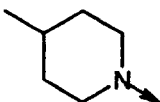
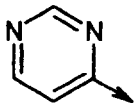
Tabla 7 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	MS	Margen de actividad
714	<i>t</i> -Bu		722.3	C
715	<i>t</i> -Bu		688.3	C
716	<i>t</i> -Bu		688.3	C
717	<i>t</i> -Bu		723.3	C
718	<i>t</i> -Bu	NH ₂	626.3	C
719	<i>t</i> -Bu		751.2	C
720	<i>t</i> -Bu		733.4	C
721	<i>t</i> -Bu		724.1	C
722	<i>t</i> -Bu		737.3	C
723	<i>t</i> -Bu		751.4	C
724	<i>t</i> -Bu		708.4	C
725	<i>t</i> -Bu		689.4	C
726	<i>t</i> -Bu	<i>i</i> -Pr	653.3	C

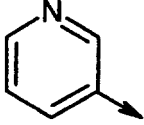
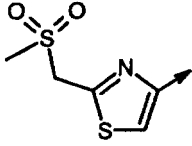
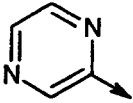
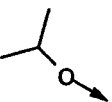
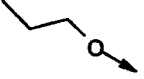
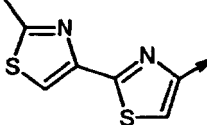
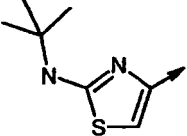
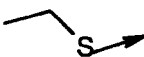
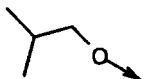
Tabla 7 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	MS	Margen de actividad
727	<i>t</i> -Bu		688.3	C
728	<i>t</i> -Bu		786.1	C
729	<i>t</i> -Bu		689.3	C
730	<i>t</i> -Bu		669.2	C
731	<i>t</i> -Bu		669.2	C
732	<i>t</i> -Bu		791.0	C
733	<i>t</i> -Bu		765.3	C
734	<i>t</i> -Bu		671.3	C
735	<i>t</i> -Bu		683.3	C
736	<i>t</i> -Bu	<i>t</i> -Bu	667.4	C
737	<i>t</i> -Bu	CHex	693.4	C

TABLA 8

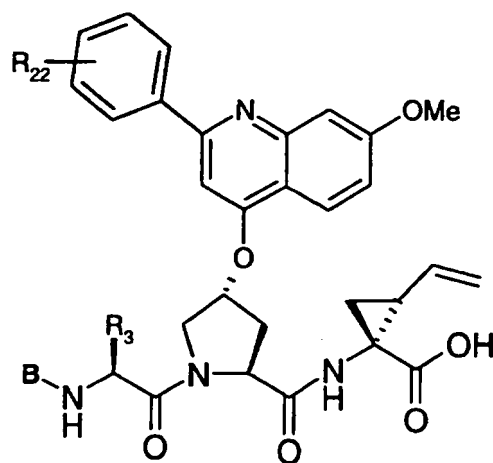


Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	MS	Margen de actividad
801		<i>t</i> -Bu	--	686.7	C
802		<i>t</i> -Bu	--	727.7	C
803		<i>t</i> -Bu	--	685.7	C
804		<i>t</i> -Bu	--	711.7	C
805	Ac	<i>t</i> -Bu	--	629.6	C
806		<i>t</i> -Bu	--	725.7	C
807		<i>t</i> -Bu	--	672.4	C
808		<i>t</i> -Bu	--	712.4	C

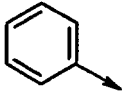
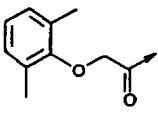
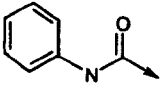
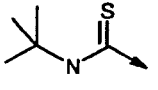
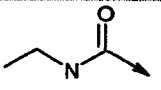
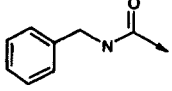
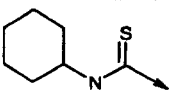
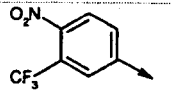
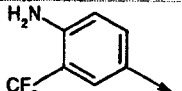
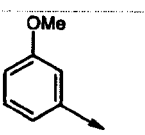
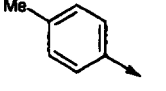
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	MS	Margen de actividad
809		<i>i</i> -Pr	--	649.3	C
810		<i>t</i> -Bu	--	749.3	C
811	Boc	<i>t</i> -Bu	4-Cl	721.3	C
812		<i>t</i> -Bu	--	706.2	C
813		<i>t</i> -Bu	--	702.2	C
814	Boc	<i>t</i> -Bu	2-Cl	721.3	C
815	Boc	<i>t</i> -Bu	3-Cl	721.3	C
816		<i>t</i> -Bu	--	658.3	C
817		<i>t</i> -Bu	--	720.2	C
818		<i>t</i> -Bu	--	728.3	C
819		<i>i</i> -Pr	--	762.3	C
820		<i>i</i> -Pr	--	732.2	C
821		<i>i</i> -Pr	--	679.1	C
822		<i>i</i> -Pr	--	663.3	C
823	Boc	<i>t</i> -Bu	2-OMe	717.2	C
824	Boc	<i>t</i> -Bu	3-OMe	719.2	C
825	Boc	<i>t</i> -Bu	4-OMe	719.2	C

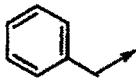
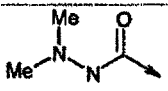
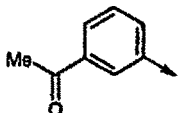
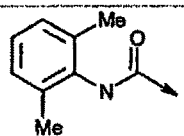
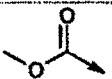
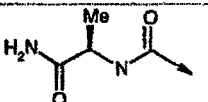
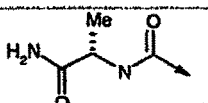
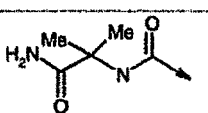
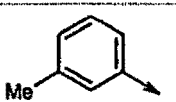
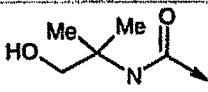
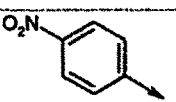
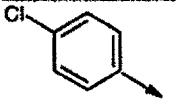
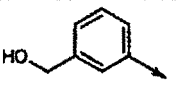
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	MS	Margen de actividad
826		<i>i</i> -Pr	--	663.3	B
827		<i>t</i> -Bu	--	673.2	C
828		<i>i</i> -Pr	--	691.3	C
829		<i>t</i> -Bu	--	734.3	C
830		<i>t</i> -Bu	--	645.3	C
831		<i>t</i> -Bu	--	701.3	C
832		<i>t</i> -Bu	--	701.3	C
833		<i>t</i> -Bu	--	715.2	C
834		<i>i</i> -Pr	--	663.3	C
835		<i>t</i> -Bu	--	702.5	C
836		<i>i</i> -Pr	--	694.4	C
837		<i>i</i> -Pr	--	683.3	C
838		<i>i</i> -Pr	--	679.1	C

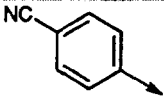
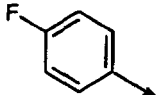
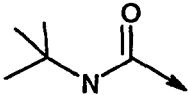
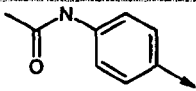
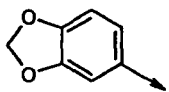
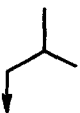
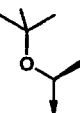
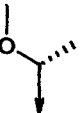
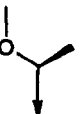
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	MS	Margen de actividad
839		<i>i</i> -Pr	--	674.5	C
840		<i>i</i> -Pr	--	667.4	C
841	Boc	<i>t</i> -Bu	2-Me	701.5	C
842	Boc	<i>t</i> -Bu	3-Me	701.5	C
843	Boc	<i>t</i> -Bu	4-Me	701.5	C
844		<i>t</i> -Bu	4-OMe	716.6	C
845		<i>i</i> -Pr	--	706.9	C
846		<i>i</i> -Pr	--	693.4	C
847	Boc	cHex	--	713.4	C
848	Boc		--	687.5	C
849	Boc		--	701.5	C
850	Boc		--	731.5	C
851	Boc		--	689.5	C
852	Boc		--	689.5	C

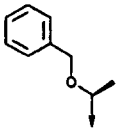
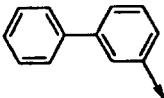
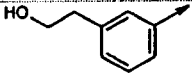
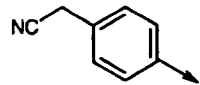
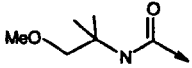
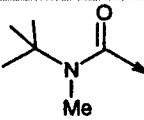
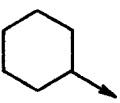
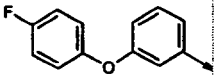
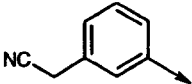
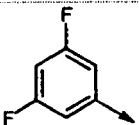
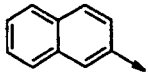
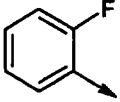
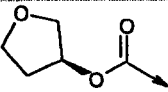
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	MS	Margen de actividad
853	Boc		--	765.5	C
854		<i>i</i> -Pr	--	723.4 (M-H) ⁺	C
855		<i>i</i> -Pr	--	693.3	C
856		<i>i</i> -Pr	--	688.3	C
857		<i>t</i> -Bu	--	716.4	C
858		<i>t</i> -Bu	--	700.4	C
859		<i>i</i> -Pr	--	655.4	B
860		<i>i</i> -Pr	--	759.3	C
861		<i>i</i> -Pr	--	688.3	C
862		<i>i</i> -Pr	--	685.3	C
863		<i>i</i> -Pr	--	699.4	C
864		<i>i</i> -Pr	--	667.3	C
865		<i>t</i> -Bu	--	701.4	C

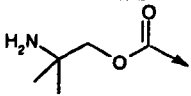
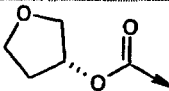
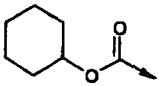
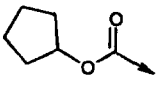
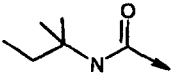
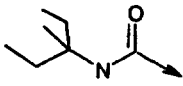
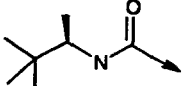
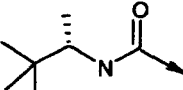
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	MS	Margen de actividad
866		<i>t</i> -Bu	--	702.4	C
867		<i>t</i> -Bu	--	701.3	C
868		<i>t</i> -Bu	--	713.3	C
869		<i>t</i> -Bu	--	699.4	C
870		<i>t</i> -Bu	--	700.4	C
871		<i>t</i> -Bu	--	714.3	C
872		<i>t</i> -Bu	--	714.4	C
873		<i>t</i> -Bu	--	714.3	C

TABLA 9

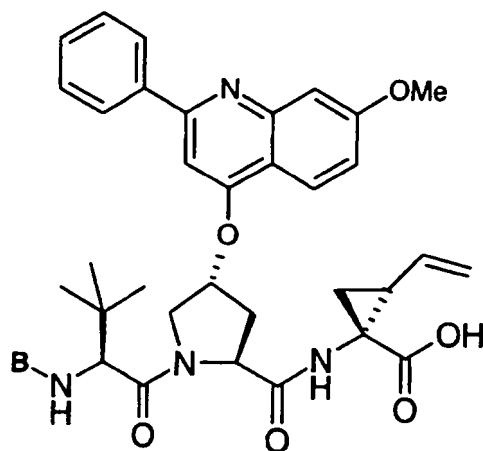


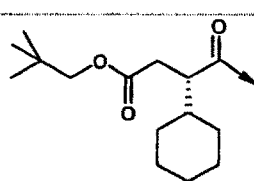
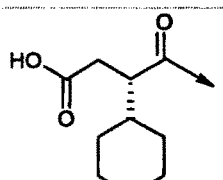
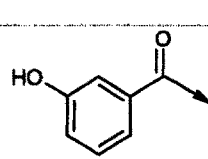
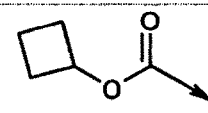
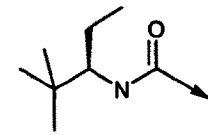
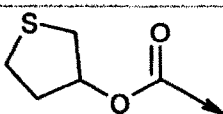
Tabla 9 Comp. N°	B	MS	Margen de actividad
901	Boc	685.3	C
902		825.4	C
903		769.3	C
904		707.3	C
905		685.2	C
906		728.2	C
907		717.2	C

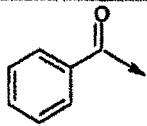
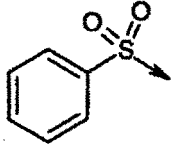
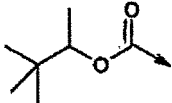
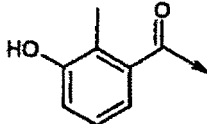
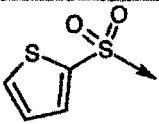
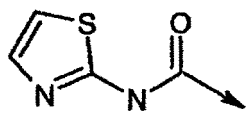
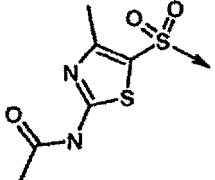
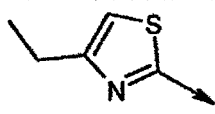
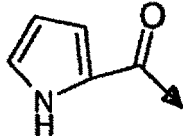
Tabla 9 Comp. N°	B	MS	Margen de actividad
908		691.2	C
909		727.2	C
910		715.3	C
911		721.3	C
912		733.2	C
913		713.3	C
914		805.3	C
915		692.2	C
916		680.3	C

TABLA 10

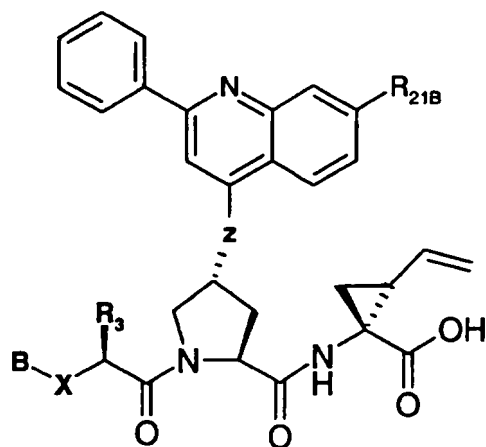
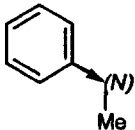
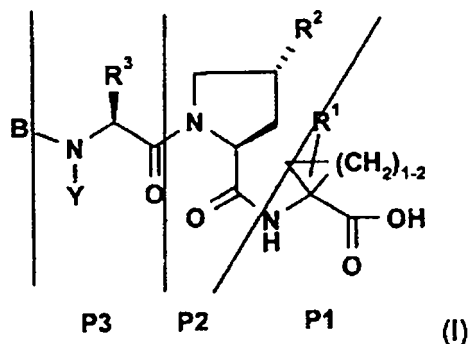


Tabla 10 Comp. N°	B-X-	R ₃	Z	R _{21B}	MS	Margen de actividad
1001	Ph-N(Me)-	<i>i</i> -Pr	O	H	663.3	C
1002	Boc-NH-	<i>t</i> -Bu	S	OMe	703.4	C
1003		<i>i</i> -Pr	O	---	663.3	C

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I) o un racemato, diastereoisómero o isómero óptico del mismo



en la que B es H, un arilo C_6 o C_{10} , arilalquilo C_{7-16} ; Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} ; alcanoílo C_{1-6} ; hidroxilo; hidroalquilo; halo; haloalquilo; nitro; ciano; cianoalquilo; amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; amido; o (alquil inferior)amida;

o B es un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$; una amida de fórmula $R_4-NH-C(O)-$; una tioamida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(S)-$; o un sulfonilo de fórmula R_4-SO_2 en que

R_4 es (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoílo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)-amida;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} , cicloalcoxi C_{3-7} o alquil-cicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)-amida;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; amido; o (alquil inferior)amida;

(iv) arilo C_6 o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

R_5 es H o alquilo C_{1-6} ;

o B es un derivado de acilo de la fórmula $R_4-C(O)-$; en que

R_4 es (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoílo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} , cicloalcoxi C_{3-7} o alquil-cicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

(iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

con la condición de que cuando B es una amida o una tioamida, R_4 no ha de ser un cicloalcoxi;

Y es H o alquilo C_{1-6} ;

R^3 es alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , tioalquilo C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amido, arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} ;

ES 2 326 707 T3

R₂ es CH₂-R₂₀, NH-R₂₀, O-R₂₀ o S-R₂₀, en que R₂₀ es un cicloalquilo C₃₋₇ o (alquilcicloalquilo) C₄₋₁₀ saturado o insaturado, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁,

o R₂₀ es un arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₄, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁,

o R₂₀ es Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁,

en que cada R₂₁ es independientemente alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; sulfonilo; NO₂; OH; SH; halo; haloalquilo; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀,

arilalquilo C₇₋₁₄, Het o (alquil inferior)-Het;

amido opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄, Het o (alquil inferior)-Het; carboxilo; carboxi(alquilo inferior); arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄ o Het, estando dichos arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituidos con R₂₂;

en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; sulfonilo; (alquil inferior)sulfonilo; NO₂; OH; SH; halo; haloalquilo; carboxilo; amido; (alquil inferior)amida; o Het opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;

R¹ es H; alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇ o alqueno C₂₋₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno;

en que

alquilo(inferior), solo o en combinación con otro sustituyente, significa sustituyentes alquilo acíclicos, de cadena lineal o ramificada que contienen de 1 a seis átomos de carbono;

aminoarilalquilo, solo o en combinación con otro radical, significa un grupo amino sustituido con un grupo arilalquilo C₇₋₁₆;

(alquil inferior)amido, solo o en combinación con otro radical, significa una amida sustituida con un alquilo C₁₋₆;

carboxilalquilo(inferior), solo o en combinación con otro radical, significa un grupo carboxilo (COOH) enlazado a través de un grupo alquilo(inferior) según se define antes;

Het es un radical monovalente derivado de la separación de un hidrógeno de un heterociclo de cinco, seis o siete miembros, saturado o insaturado (incluido aromático) que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, o un heterociclo según se define antes condensado a uno o más de otros ciclos; y

(alquil inferior)-Het es un radical heterocíclico según se define antes para Het, enlazado a través de un grupo alquilo de cadena lineal o ramificado, en que alquilo es como se define antes, que contiene de 1 a 6 átomos de carbono;

o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que

B es un arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; o

B es Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆.

3. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es R₄-SO₂, en que R₄ es amido; (alquil inferior)amida; arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄ o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆.

4. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es un derivado de acilo de fórmula R₄-C(O)- en el que R₄ es

(i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C₁₋₆ o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

(ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilcicloalquilo C₄₋₁₀, ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;

- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} .

5. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$, en el que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amida;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} , alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amida;
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior) amido, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amido.

6. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es una amida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(O)-$ en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} ;
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amida; y

R_5 es H o metilo.

7. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es una tioamida de fórmula $R_4-NH-C(S)-$; en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amino o amido.

8. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 2 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es un arilo C_6 o C_{10} opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amida, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} .

9. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 2 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, halo, amido, (alquil inferior)amida, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} .

10. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 4 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es un derivado de acilo de fórmula $R_4-C(O)-$, en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C_{1-6} ; o
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, o

ES 2 326 707 T3

- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo; o
- (v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino.

5

11. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 5 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$, en que R_4 es

10

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} o amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} , alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , o
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, o amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} .

20

12. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 6 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es una amida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(O)-$, en que R_4 es

25

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} ; o
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido; y

35

R_5 es H.

40

13. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 7 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es una tioamida de fórmula $R_4-NH-C(S)-$; en que R_4 es (i) alquilo C_{1-10} ; o (ii) cicloalquilo C_{3-7} .

45

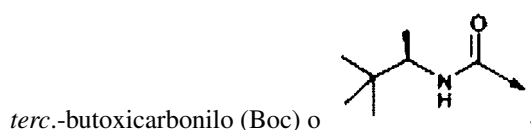
14. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 12 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es una amida de fórmula $R_4-NH-C(O)-$, en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido.

55

15. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es

60



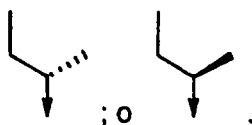
65

16. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que Y es H o metilo.

17. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 16 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que Y es H.

18. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R³ es alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, tioalquilo C₁₋₆, acetamido, arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆.

19. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 18 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R³ es la cadena lateral de *tert*.-butilglicina (Tbg), Ile, Val Chg o:



20. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 19 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R³ es la cadena lateral de Tbg, Chg o Val.

21. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂ es S-R₂₀ u O-R₂₀, en que R₂₀ es un arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, Het o -CH₂-Het, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R₂₁, en que

R₂₁ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; amino o amido opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, Het o (alquil inferior)-Het; NO₂; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo; arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆ o Het, estando dicho arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituido con R₂₂, en que:

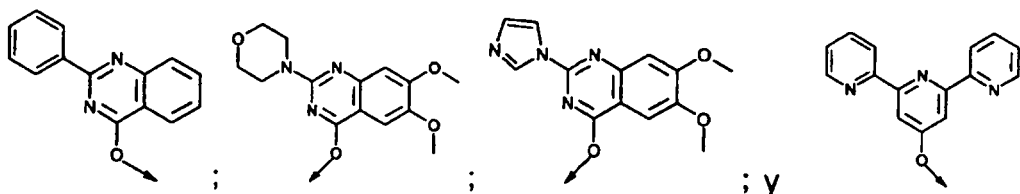
R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino; mono- o di-(alquil inferior)amino; (alquil inferior)amida; sulfonilalquilo; NO₂; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo o Het.

22. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 21 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂₁ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; amino; di-(alquil inferior)amino; (alquil inferior)amida; arilo C₆ o C₁₀, o Het, estando dichos arilo o Het opcionalmente sustituidos con R₂₂, en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino; mono- o di-(alquil inferior)amino; amido; (alquil inferior)amido; halo; trifluorometilo o Het.

23. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 22 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂₂ es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; halo; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo inferior; amido; (alquil inferior)amida; o Het.

24. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂₂ es metilo; etilo; isopropilo; *tert*.-butilo; metoxi; cloro; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo inferior; amido, (alquil inferior)amida; o (alquil inferior)-2-tiazol.

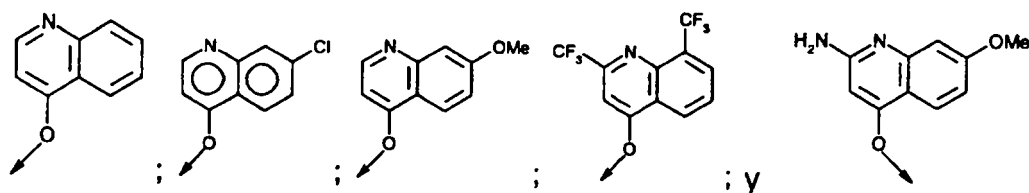
25. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 21 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂ se selecciona entre el grupo que consiste en:



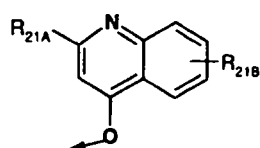
26. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 21 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂ es 1-naftilmetoxi; 2-naftilmetoxi; benciloxi; 1-naftiloxi; 2-naftiloxi; o quinolinoxio sin sustituir, mono- o di-sustituido con R₂₁ como se define en la reivindicación 21.

27. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 26 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂ es 1-naftilmetoxi; o quinolinoxio sin sustituir, mono- o di-sustituido con R₂₁ como se define en la reivindicación 26.

28. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 27 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂ se selecciona entre el grupo que consiste en:



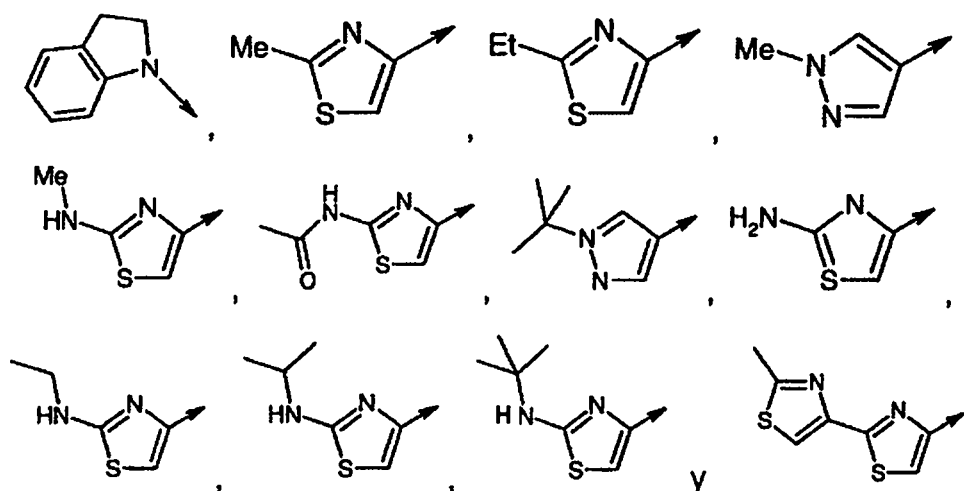
29. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 26 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R₂ es:



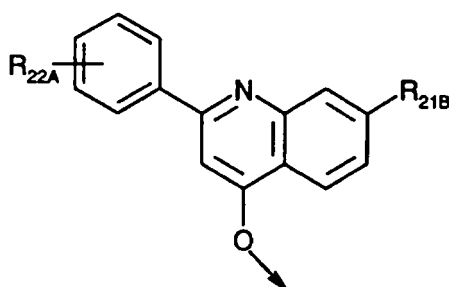
en que R_{21A} es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; halo; amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆; o arilo C₆, C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆, o Het, estando dicho arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituido con R₂₂, en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, o Het.

30. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 29 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R_{21A} es arilo C₆, C₁₀ o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con R₂₂ como se define en la reivindicación 29.

31. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 30 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R_{21A} se selecciona entre el grupo que consta de:

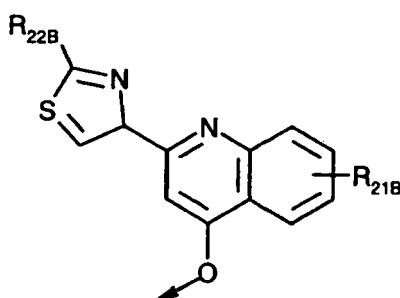


32. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 29 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R_2 es:



en que R_{22A} es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , o halo; y R_{21B} es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)amida, NO_2 , OH, halo, trifluorometilo, o carboxilo.

33. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 29 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R_2 es:



en que R_{22B} es alquilo C_{1-6} , amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)amido; y R_{21B} es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)amida, NO_2 , OH, halo, trifluorometilo o carboxilo.

34. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 32 ó 33 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R_{21B} es alcoxi C_{1-6} o di(alquil inferior)amino.

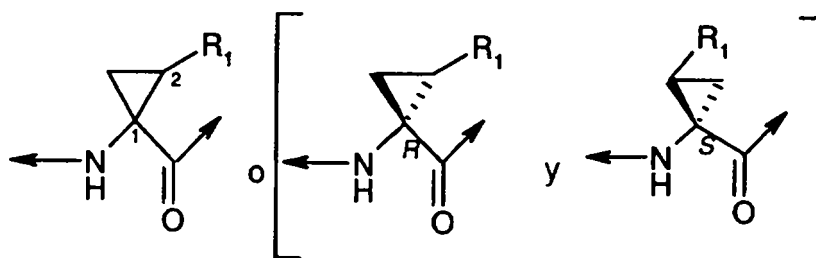
35. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 32 ó 33 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R_{21B} es metoxi.

36. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que P1 es un anillo de ciclobutilo o ciclopropilo, ambos opcionalmente sustituidos con R_1 , en que R_1 es H, alquilo C_{1-3} , cicloalquilo C_{3-5} o alqueno C_{2-4} , todos ellos opcionalmente sustituidos con halo.

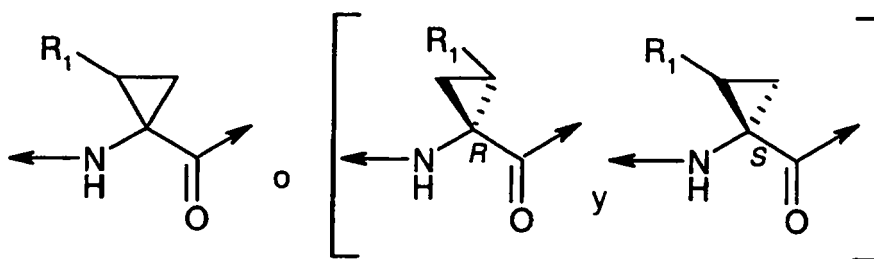
37. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 36 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que P1 es ciclopropilo y R^1 es etilo, vinilo, ciclopropilo, 1- ó 2-bromo-etilo ó 1- ó 2-bromo-vinilo.

38. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 37 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R^1 es vinilo.

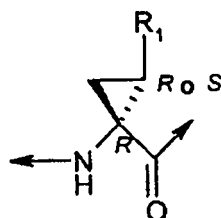
39. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 37 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R^1 en el carbono 2 está orientado en “sin” con respecto al carbonilo en la posición 1, representado por el radical:



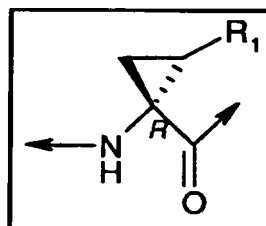
40. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 37 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R^1 en la posición 2 está orientado en “anti” con relación al carbonilo en posición 1, representado por el radical:



41. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 37 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que el carbono 1 tiene la configuración *R*:



42. Un isómero óptico de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 41 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que dicho sustituyente R^1 y el carbonilo están en una orientación “sin” en la siguiente configuración absoluta:



43. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 42 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R^1 es etilo, y por lo tanto los átomos de carbono asimétricos en las posiciones 1 y 2 tienen la configuración *R,R*.

44. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 42 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que R¹ es vinilo, y por lo tanto los átomos de carbono asimétricos en las posiciones 1 y 2 tienen la configuración *R,S*.

5 45. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que

B es un arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanoílo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; o

Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcanoílo C₁₋₆, hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; o

15 B es R₄-SO₂, en que R₄ es preferiblemente amido; (alquil inferior)amido; arilo C₆ o C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₄ o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆; o

20 B es un derivado de acilo de fórmula R₄-C(O)-, en que R₄ es

- (i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C₁₋₆ o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;
- (ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;
- (iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;
- 30 (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, o

35 B es un carboxilo de fórmula R₄-O-C(O)-, en que R₄ es

- (i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoílo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida;
- (ii) cicloalquilo C₃₋₇, alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida;
- 40 (iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o
- 45 (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amido; o

50 B es una amida de fórmula R₄-N(R₅)-C(O)-, en que R₄ es

- (i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanoílo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;
- (ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilocicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, amido, (alquil inferior)amido, o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;
- 55 (iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₃;
- 60 (iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida, o amino opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆; o
- (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida; y

65 R₅ es H o metilo; o

B es una tioamida de fórmula $R_4\text{-NH-C(S)-}$; en que R_4 es

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} ;

(ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, amino o amido;

Y es H o metilo;

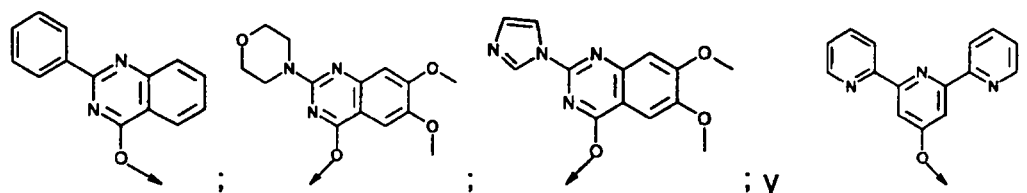
R^3 es alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , tioalquilo C_{1-6} , acetamido, arilo C_6 o C_{10} , o arilalquilo C_{7-10} ;

R_2 es $S\text{-}R_{20}$ u $O\text{-}R_{20}$, en que R_{20} es preferiblemente un arilo C_6 o C_{10} , arilalquilo C_{7-16} , Het o $-\text{CH}_2\text{-Het}$, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con R_{21} , en que

R_{21} es alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} ; tioalquilo inferior; amino o amido opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , arilo C_6 o C_{10} , arilalquilo C_{7-16} , Het o (alquil inferior)-Het; NO_2 ; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo; arilo C_6 o C_{10} , arilalquilo C_{7-16} , o Het, estando dichos arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituidos con R_{22} , en que

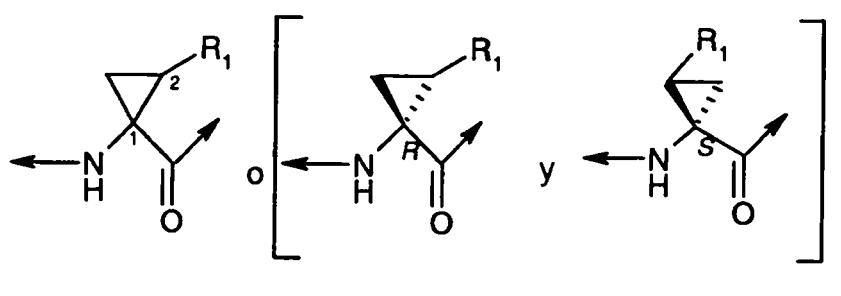
R_{22} es alquilo C_{1-6} ; cicloalquilo C_{3-7} ; alcoxi C_{1-6} ; amino; mono- o di-(alquil inferior)amino; (alquil inferior)amida; sulfonilalquilo; NO_2 ; OH; halo; trifluorometilo; carboxilo o Het; o

R_2 se selecciona entre el grupo que consta de:



o R_2 es 1-naftilmetoxi; 2-naftilmetoxi; benciloxi; 1-naftiloxi; 2-naftiloxi; o quinolinoxio sin sustituir, mono- o di-sustituido con R_{21} tal como se ha definido anteriormente; y

el segmento P1 es un anillo de ciclopropilo, opcionalmente sustituido con R^1 , en que R^1 es alquilo C_{1-3} , cicloalquilo C_{3-5} o alquencilo C_{2-4} opcionalmente sustituido con halo, y dicho R^1 en el carbono 2 está orientado en "sin" con respecto al carbonilo en posición 1, representado por el radical:



o una sal farmacéuticamente aceptable o éster de éste.

46. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 45 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que B es un arilo C_6 o C_{10} opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, hidroxialquilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, cianoalquilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o B es Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, halo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

B es $R_4\text{-SO}_2$, en que R_4 es arilo C_6 o C_{10} , un arilalquilo C_{7-14} o Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} ; amido, (alquil inferior)amida; B es un derivado de acilo de fórmula $R_4\text{-C(O)-}$, en que R_4 es

(i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, hidroxilo o alcoxi C_{1-6} ; o

ES 2 326 707 T3

- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , ambos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo; o
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo; o
- (v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo o amino;

o B es un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$, en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , o amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} , alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6}) carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido o amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

o B es una amida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(O)-$, en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;
- (ii) cicloalquilo C_{3-7} o alquilocicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C_{1-6})carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; y R_5 es H o metilo; o

R_4 es (iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-3} ; o

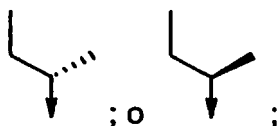
- (iv) arilo C_6 o C_{10} o arilalquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; o
- (v) Het opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amino o amido; o

B es una tioamida de fórmula $R_4-NH-C(S)-$; en que R_4 es

- (i) alquilo C_{1-10} ; o (ii) cicloalquilo C_{3-7} ; o

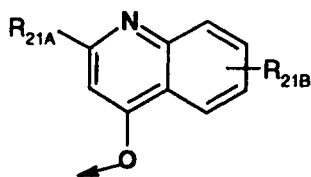
Y es H;

R^3 es la cadena lateral de *terc.*-butilglicina (Tbg), Ile, Val, Chg o:



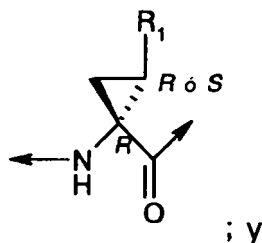
R_2 es 1-naftilmetoxi; o quinolinoxilo sin sustituir, mono- o di-sustituido con R_{21} tal como se ha definido anteriormente; o

R₂ es:



en que R_{21A} es alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; arilo C₆, C₁₀ o Het; tioalquilo inferior; halo; amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆; o arilo C₆, C₁₀, arilalquilo C₇₋₁₆ o Het, opcionalmente sustituido con R₂₂, en que R₂₂ es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; o Het;

P1 es un anillo de ciclopropilo en el que el carbono 1 tiene la configuración *R*,



R¹ es etilo, vinilo, ciclopropilo, 1- ó 2-bromo-etilo o 1- ó 2-bromo-vinilo.

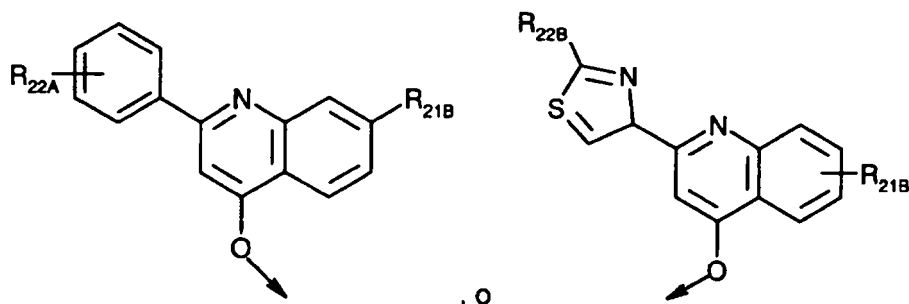
47. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 46 o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables, en el que

B es una amida de fórmula R₄-NH-C(O)-, en que R₄ es

- (i) alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanofilo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;
- (ii) cicloalquilo C₃₋₇ o alquilcicloalquilo C₄₋₁₀, todos ellos opcionalmente sustituidos con carboxilo, (alcoxi C₁₋₆)carbonilo, amido, (alquil inferior)amida, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆;
- (iv) arilo C₆ o C₁₀ o arilalquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆, hidroxilo, amino o amido;

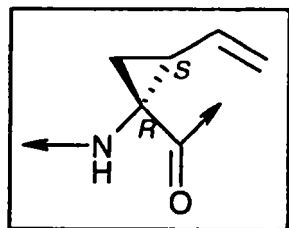
R³ es la cadena lateral de Tbg, Chg o Val;

R₂ es:

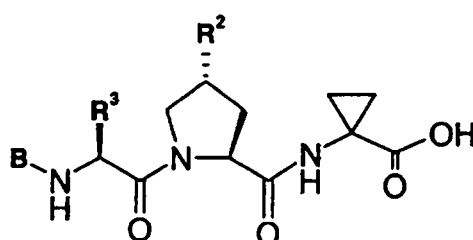


en que R_{22A} es alquilo C₁₋₆ (tal como metilo); alcoxi C₁₋₆ (tal como metoxi); o halo (tal como cloro); R_{22B} es alquilo C₁₋₆, amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆, amido o (alquil inferior)amida; y R_{21B} es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)-amida, NO₂, OH, halo, trifluorometilo, o carboxilo;

y P1 es:



48. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:



en la que B, R₃ y R₂ son como se definen seguidamente:

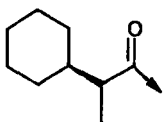
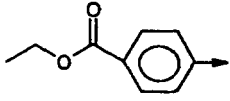
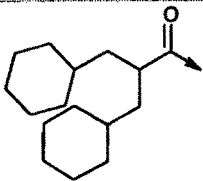
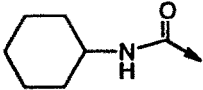
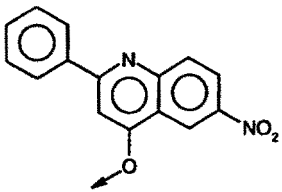
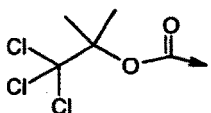
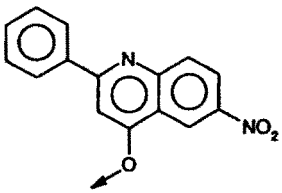
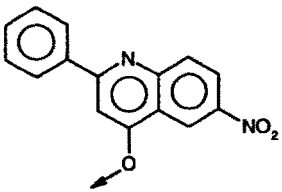
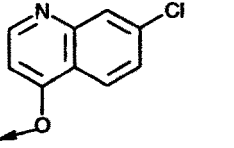
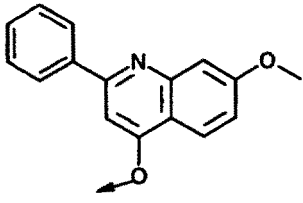
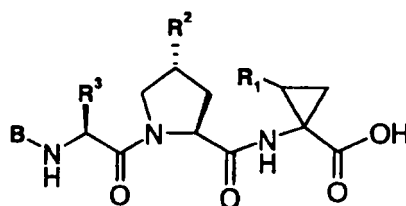
Tabla 1 Comp N°	B	R ₃	R ₂	
101	Boc	cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	;
102		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	;
103		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	;

Tabla 1 Comp N°	B	R ₃	R ₂	
104		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	;
105		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	;
106	Boc	cHex		;
107		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	;
108	Boc	iPr		;
109	acetilo	cHex		;
110	Boc	i-Pr		;
y 111	Boc	t-Bu		.

49. Compuesto N° 111 de acuerdo con la reivindicación 48.

50. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:

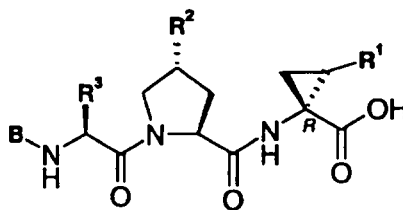


en la que B, R₃, R₂ y R₁ son como se definen seguidamente:

Tabla 2 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ <i>anti</i> para carboxi
201	Boc	ciclohexilo	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo (un isómero)
202	Boc	ciclohexilo	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo (otro isómero)
y 203	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo 1 <i>R</i> , 2 <i>R</i>

51. Compuesto N° 203 de acuerdo con la reivindicación 49.

52. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:



en la que B, R₃, R₂ y R₁ son como se definen seguidamente:

Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ <i>sin</i> para carboxi
301	Boc	cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo
302		iPr	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo
303		cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	etilo

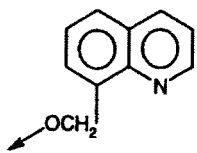
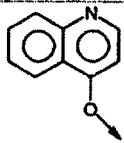
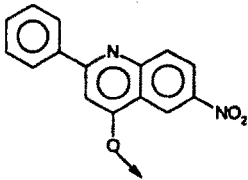
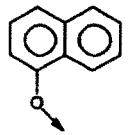
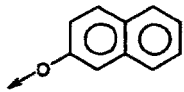
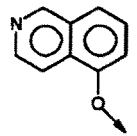
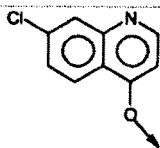
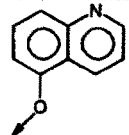
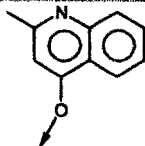
Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ sin para carboxi etilo	
304	Boc	cHex		etilo	;
305	Boc	cHex	-O-CH ₂ -1-naftilo	vinilo	;
306	Boc	cHex		vinilo	;
307	Boc	cHex		vinilo	;
308	Boc	cHex		vinilo	;
309	Boc	cHex		vinilo	;
310	Boc	cHex		vinilo	;
311	Boc	cHex		vinilo	;
312	Boc	cHex		vinilo	;
313	Boc	cHex		vinilo	;

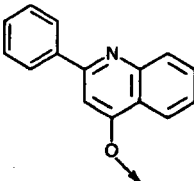
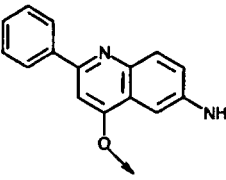
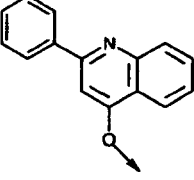
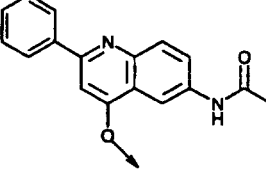
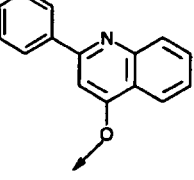
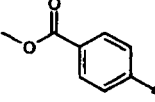
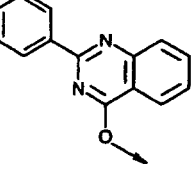
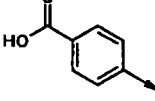
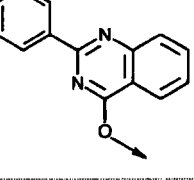
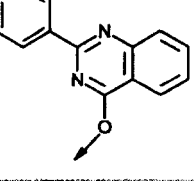
Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ <i>sin para</i> <i>carboxi</i>	
314	Boc	cHex		vinilo	;
315	Boc	cHex		vinilo	;
316	Acetilo	cHex		vinilo	;
317	Boc	cHex		vinilo	;
318	CF ₃ -C(O)-	<i>i</i> -Pr		vinilo	;
319		cHex		vinilo	;
320		cHex		vinilo	;
321	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	;

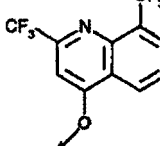
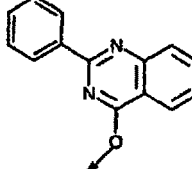
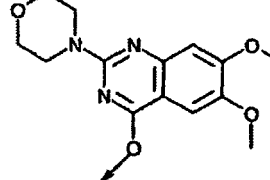
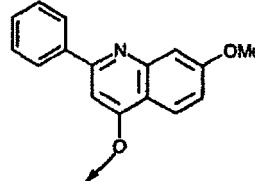
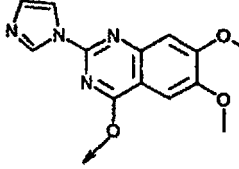
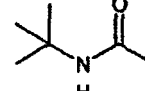
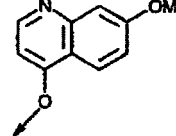
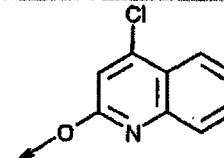
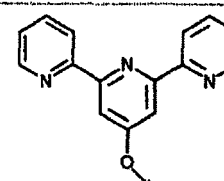
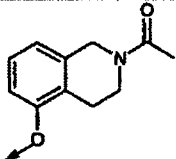
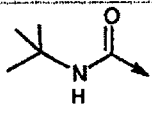
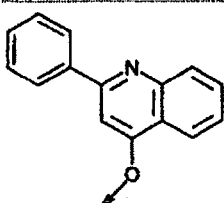
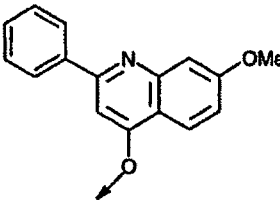
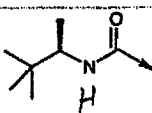
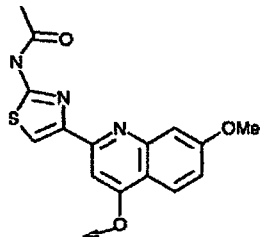
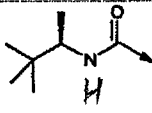
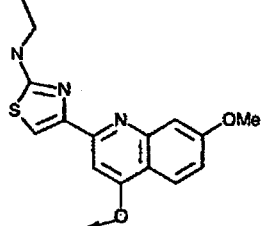
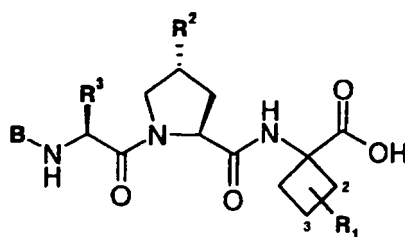
Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ sin para carboxi vinilo	
322	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	;
323	Boc	<i>t</i> -Bu			;
324	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	;
325	Boc	<i>t</i> -Bu			;
326	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	;
327		<i>t</i> -Bu		vinilo	;
328	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	;
329	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo	;

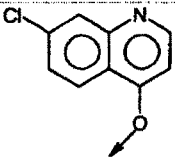
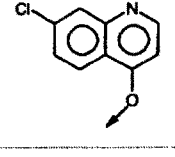
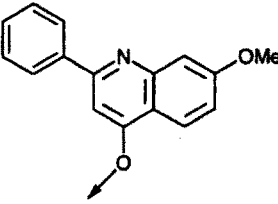
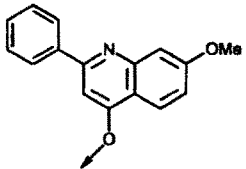
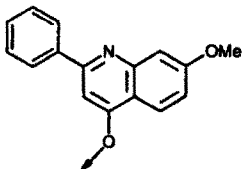
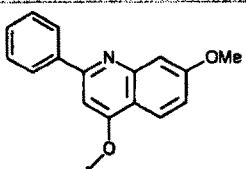
Tabla 3 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁ sin para carboxi
330	Boc	<i>t</i> -Bu		vinilo ;
331		<i>t</i> -Bu		vinilo ;
332	Boc	<i>t</i> -Bu		etilo ;
333		<i>t</i> -Bu		vinilo ;
y 334		<i>t</i> -Bu		vinilo .

53. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 52, seleccionado entre el grupo que consta de los compuestos N^{os} 307, 314, 317, 319, 321, 324, 325, 326, 327, 329, 331, 332, 333 y 334.

54. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, representado por la fórmula:

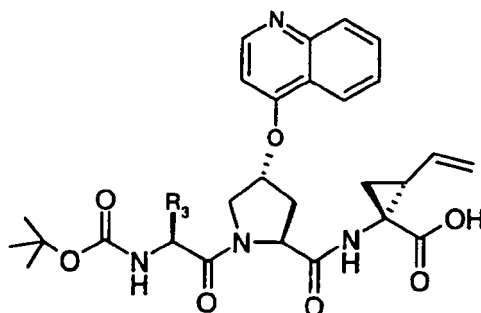


en la que B, R₃, R₂ y R₁ son como se definen seguidamente:

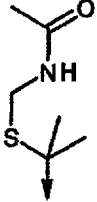
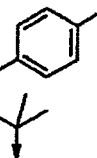
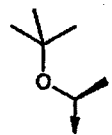
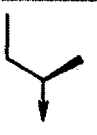
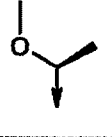
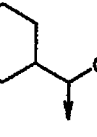
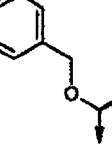
Tabla 4 Comp. N°	B	R ₃	R ₂	R ₁
401	Boc	<i>i</i> -Pr		H ;
402	Boc	<i>t</i> -Bu		H ;
403	Boc	<i>t</i> -Bu		H ;
404	Boc	<i>t</i> -Bu		3-(=CH ₂) ;
405	Boc	<i>t</i> -Bu		2-vinilo ;
y 406	Boc	<i>t</i> -Bu		2-Et .

55. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 54, seleccionado entre el grupo que consta de los compuestos N°s 403, 405 y 406.

56. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:

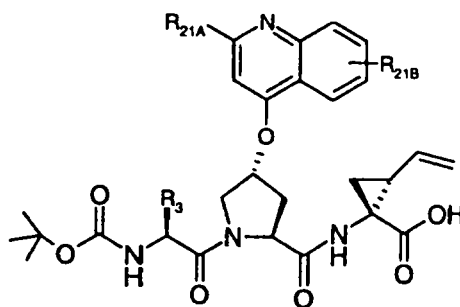


cen la que R₃ es como se define seguidamente:

Tabla 5 Comp. N°	R ₃	;	Tabla 5 Comp. N°	R ₃	;
501	<i>t</i> -Bu		507		
502	H		508		
503			509		
504			510		
505			y 511		
506					

57. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 56, seleccionado entre el grupo que consta de los compuestos N°s 501, 509 y 510.

58. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 46, representado por la fórmula:



en la que R_3 , R_{21A} y R_{21B} son como se definen seguidamente:

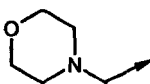
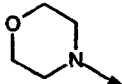
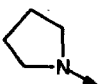
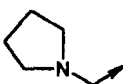
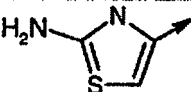
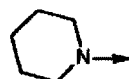
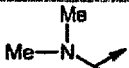
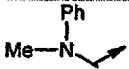
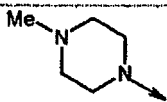
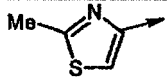
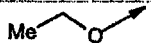
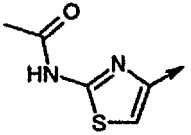
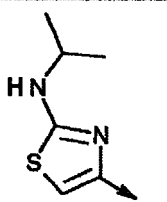
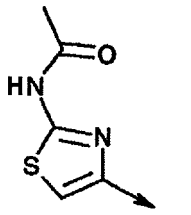
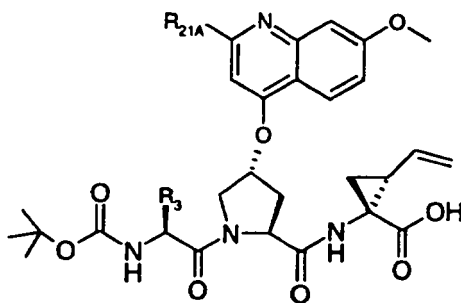
Tabla 6 Comp. N°	R_3	R_{21A}	R_{21B}	
601	<i>i</i> -Pr	Ph	7-OMe	;
602	<i>t</i> -Bu	Ph	8-OMe, 7-OMe	;
603	<i>i</i> -Pr	Ph	7-etilo	;
604	<i>t</i> -Bu	--	7-OMe	;
605	<i>t</i> -Bu	Ph	7-O- <i>i</i> Pr	;
606	<i>t</i> -Bu	--	7-Cl	;
607	<i>i</i> Pr	--	7-Cl	;
608	CH ₂ - <i>i</i> Pr	--	7-Cl	;
609	<i>t</i> -Bu		--	;
610	<i>t</i> -Bu	Cl	--	;
611	<i>t</i> -Bu	Ph	7-N(Me) ₂	;
612	<i>t</i> -Bu		--	;
613	<i>t</i> -Bu		--	;
614	<i>t</i> -Bu		--	;
615	<i>t</i> -Bu	--	7-N(Me) ₂	;

Tabla 6 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	R _{21B}
616	<i>t</i> -Bu		--
617	<i>t</i> -Bu		--
618	<i>t</i> -Bu		--
619	<i>t</i> -Bu		--
620	<i>t</i> -Bu		--
621	<i>t</i> -Bu		--
622	<i>t</i> -Bu		--
623	<i>t</i> -Bu	MeO-	--
624	<i>t</i> -Bu	(Me) ₂ N-	--
625	<i>t</i> -Bu	Ph	7-S(Me)
626	<i>t</i> -Bu	Ph	7-Br
627	<i>t</i> -Bu	Ph	7-F
628	<i>t</i> -Bu		7-N(Me) ₂
629	<i>t</i> -Bu		7-N(Me) ₂
y 630	<i>t</i> -Bu		7-N(Et) ₂

59. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 58, seleccionado entre el grupo que consta de los compuestos N°s: 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 610, 611, 612, 615, 616, 617, 620, 621, 622, 625, 626, 627, 628, 629 y 630.

60. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 46, representado por la fórmula:



en la que R_3 y R_{21A} son como se definen seguidamente:

Tabla 7 Comp. N°	R_3	R_{21A}	
701	<i>t</i> -Bu		;
702	<i>t</i> -Bu		;
703	<i>t</i> -Bu		;
704	<i>t</i> -Bu		;
705	<i>t</i> -Bu		;
706	<i>t</i> -Bu		;
707	<i>t</i> -Bu		;
708	<i>t</i> -Bu	Ph-N(Me)-	;
709	<i>t</i> -Bu		;
710	<i>t</i> -Bu	HOOC-	;
711	<i>t</i> -Bu		;

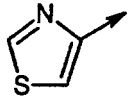
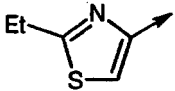
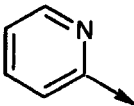
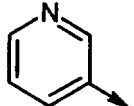
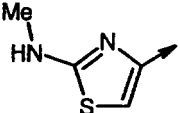
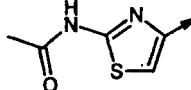
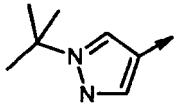
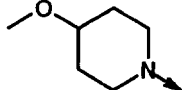
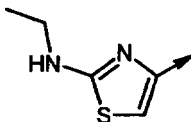
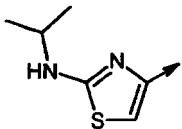
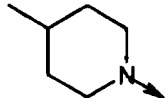
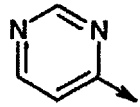
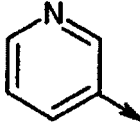
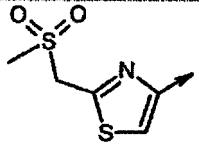
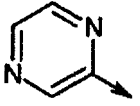
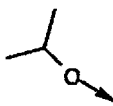
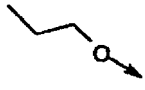
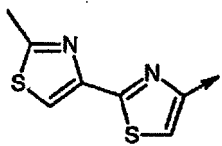
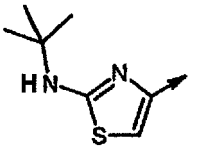
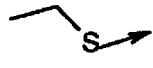
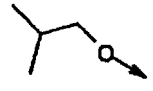
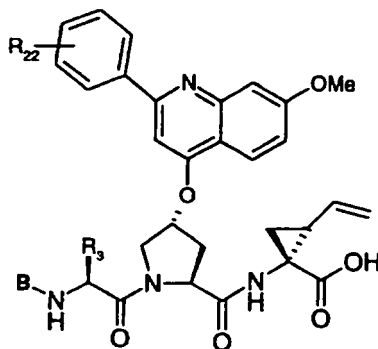
Tabla 7 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	
712	<i>t</i> -Bu	(Me) ₂ N-	;
713	<i>t</i> -Bu		;
714	<i>t</i> -Bu	Et 	;
715	<i>t</i> -Bu		;
716	<i>t</i> -Bu		;
717	<i>t</i> -Bu	Me HN 	;
718	<i>t</i> -Bu	NH ₂	;
719	<i>t</i> -Bu		;
720	<i>t</i> -Bu		;
721	<i>t</i> -Bu		;
722	<i>t</i> -Bu	HN 	;
723	<i>t</i> -Bu	HN 	;
724	<i>t</i> -Bu		;

Tabla 7 Comp. N°	R ₃	R _{21A}	
725	<i>t</i> -Bu		;
726	<i>t</i> -Bu	<i>i</i> -Pr	;
727	<i>t</i> -Bu		;
728	<i>t</i> -Bu		;
729	<i>t</i> -Bu		;
730	<i>t</i> -Bu		;
731	<i>t</i> -Bu		;
732	<i>t</i> -Bu		;
733	<i>t</i> -Bu		;
734	<i>t</i> -Bu		;
735	<i>t</i> -Bu		;
736	<i>t</i> -Bu	<i>t</i> -Bu	;
y 737	<i>t</i> -Bu	CHex	.

61. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 60, seleccionado entre el grupo que consta de los compuestos N°s 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709 y 711 hasta 737.

62. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:



en la que B, R₃ y R₂₂ son como se definen seguidamente:

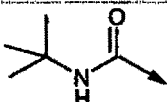
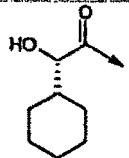
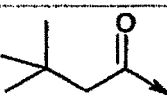
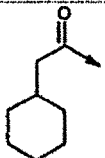
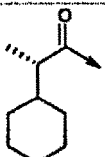
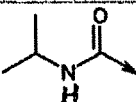
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	
801		<i>t</i> -Bu	--	;
802		<i>t</i> -Bu	--	;
803		<i>t</i> -Bu	--	;
804		<i>t</i> -Bu	--	;
805	Ac	<i>t</i> -Bu	--	;
806		<i>t</i> -Bu	--	;
807		<i>t</i> -Bu	--	;

Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	
808		<i>t</i> -Bu	--	;
809		<i>i</i> -Pr	--	;
810		<i>t</i> -Bu	--	;
811	Boc	<i>t</i> -Bu	4-Cl	;
812		<i>t</i> -Bu	--	;
813		<i>t</i> -Bu	--	;
814	Boc	<i>t</i> -Bu	2-Cl	;
815	Boc	<i>t</i> -Bu	3-Cl	;
816		<i>t</i> -Bu	--	;
817		<i>t</i> -Bu	--	;
818		<i>t</i> -Bu	--	;
819		<i>i</i> -Pr	--	;
820		<i>i</i> -Pr	--	;
821		<i>i</i> -Pr	--	;
822		<i>i</i> -Pr	--	;
823	Boc	<i>t</i> -Bu	2-OMe	;

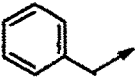
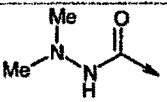
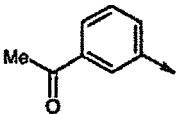
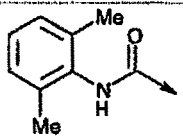
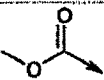
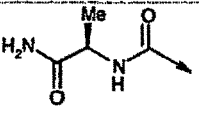
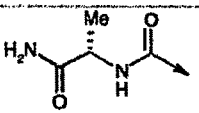
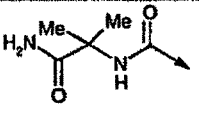
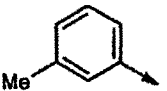
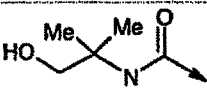
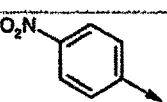
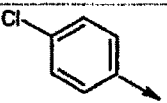
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	
824	Boc	<i>t</i> -Bu	3-OMe	;
825	Boc	<i>t</i> -Bu	4-OMe	;
826		<i>i</i> -Pr	--	;
827		<i>t</i> -Bu	--	;
828		<i>i</i> -Pr	--	;
829		<i>t</i> -Bu	--	;
830		<i>t</i> -Bu	--	;
831		<i>t</i> -Bu	--	;
832		<i>t</i> -Bu	--	;
833		<i>t</i> -Bu	--	;
834		<i>i</i> -Pr	--	;
835		<i>t</i> -Bu	--	;
836		<i>i</i> -Pr	--	;
837		<i>i</i> -Pr	--	;

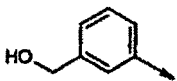
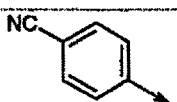
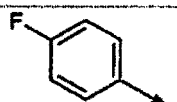
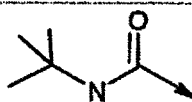
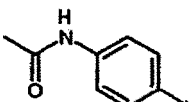
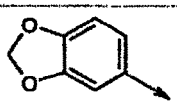
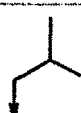
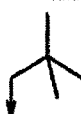
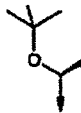
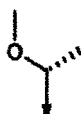
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	
838		<i>i</i> -Pr	--	;
839		<i>i</i> -Pr	--	;
840		<i>i</i> -Pr	--	;
841	Boc	<i>t</i> -Bu	2-Me	;
842	Boc	<i>t</i> -Bu	3-Me	;
843	Boc	<i>t</i> -Bu	4-Me	;
844		<i>t</i> -Bu	4-OMe	;
845		<i>i</i> -Pr	--	;
846		<i>i</i> -Pr	--	;
847	Boc	cHex	--	;
848	Boc		--	;
849	Boc		--	;
850	Boc		--	;
851	Boc		--	;

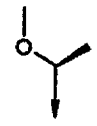
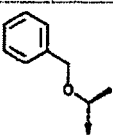
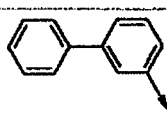
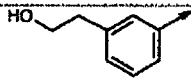
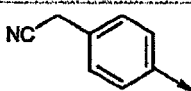
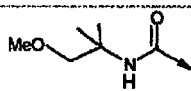
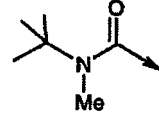
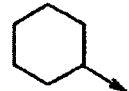
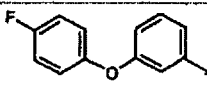
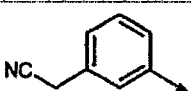
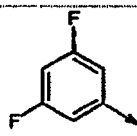
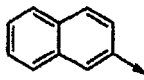
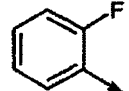
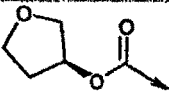
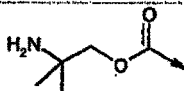
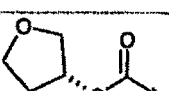
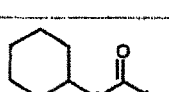
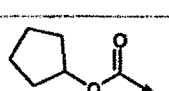
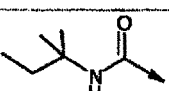
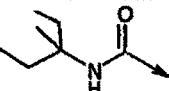
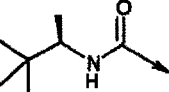
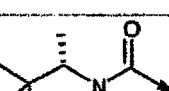
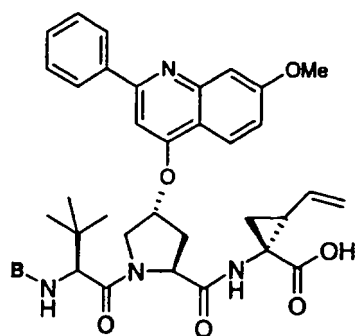
Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂	
852	Boc		--	;
853	Boc		--	;
854		<i>i</i> -Pr	--	;
855		<i>i</i> -Pr	--	;
856		<i>i</i> -Pr	--	;
857		<i>t</i> -Bu	--	;
858		<i>t</i> -Bu	--	;
859		<i>i</i> -Pr	--	;
860		<i>i</i> -Pr	--	;
861		<i>i</i> -Pr	--	;
862		<i>i</i> -Pr	--	;
863		<i>i</i> -Pr	--	;
864		<i>i</i> -Pr	--	;

Tabla 8 Comp. N°	B	R ₃	R ₂₂
865		<i>t</i> -Bu	--
866		<i>t</i> -Bu	--
867		<i>t</i> -Bu	--
868		<i>t</i> -Bu	--
869		<i>t</i> -Bu	--
870		<i>t</i> -Bu	--
871		<i>t</i> -Bu	--
872		<i>t</i> -Bu	--
y 873		<i>t</i> -Bu	--

63. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 62, seleccionado entre el grupo que consta de los compuestos N°s 801 hasta 825, 827 hasta 858 y 860 hasta 873.

64. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:



en la que B es como se define seguidamente:

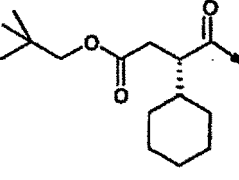
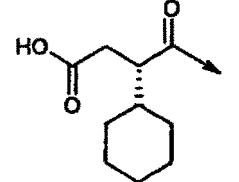
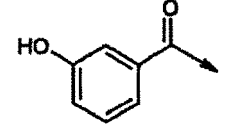
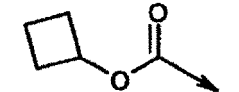
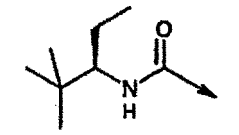
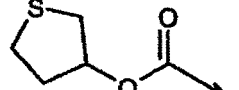
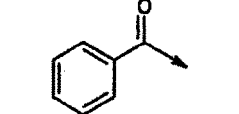
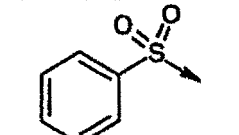
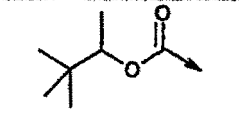
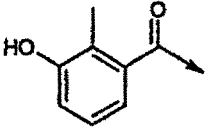
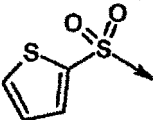
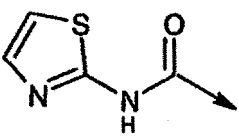
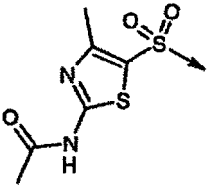
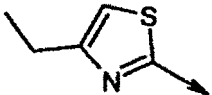
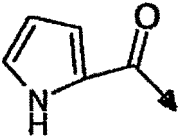
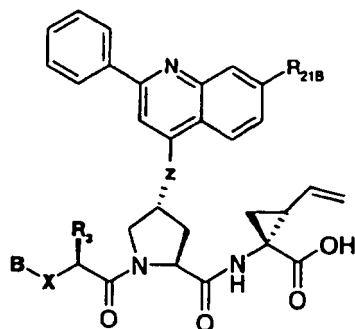
Tabla 9 Comp. Nº	B
901	Boc ;
902	 ;
903	 ;
904	 ;
905	 ;
906	 ;
907	 ;
908	 ;
909	 ;
910	 ;

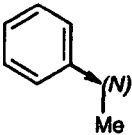
Tabla 9 Comp. N°	B
911	
912	
913	
914	
915	
y 916	

65. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 45, representado por la fórmula:



en la que B, X, R₃, z y R_{21B} son como se definen seguidamente:

Tabla 10 Comp. N°	B-X-	R ₃	Z	R _{21B}
1001	Ph-N(Me)-	i-Pr	O	H;

Tabla 10 Comp. N°	B-X-	R ₃	Z	R _{21B}
1002	Boc-NH-	<i>t</i> -Bu	S	OMe;
y 1003		<i>i</i> -Pr	O	---

66. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz contra el virus de la hepatitis C de un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal terapéuticamente aceptable o éster de éste, en mezcla con un medio de vehículo o agente auxiliar farmacéuticamente aceptable.

67. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 65 en calidad de un medicamento.

68. El uso de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable o éster de éste, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 66 para la preparación de un medicamento para tratar una infección causada por el virus de la hepatitis C en un mamífero.

69. El uso de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable o éster de éste, para la preparación de una composición farmacéutica para inhibir la replicación del virus de la hepatitis C.

70. El uso de una combinación de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal terapéuticamente aceptable o éster de éste, con otro agente anti-HCV, para la preparación de un medicamento para tratar una infección causada por el virus de la hepatitis C en un mamífero.

71. El uso de acuerdo con la reivindicación 70, en que dicho otro agente anti-HCV es un interferón.

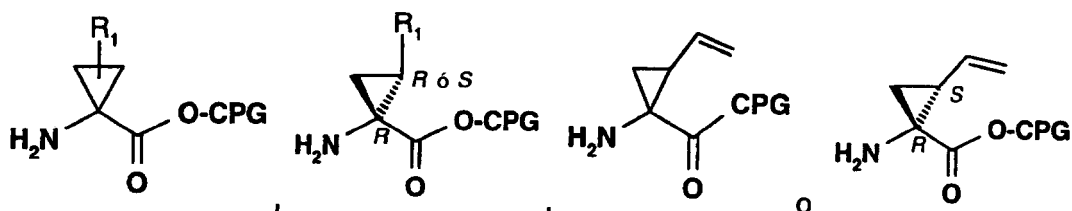
72. El uso de acuerdo con la reivindicación 70 ó 71, en el que dicho otro agente anti-HCV se selecciona entre el grupo que consta de: interferón- α ó - β , ribavirina y amantadina.

73. El uso de acuerdo con la reivindicación 70, en el que dicho otro agente anti-HCV comprende un inhibidor de otras dianas en el ciclo de vida del HCV, seleccionado entre: helicasa, polimerasa, metaloproteasa o IRES.

74. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de la reivindicación 1, en el que P1 es un residuo de ácido amino-ciclopropil-carboxílico sustituido, que comprende la operación de:

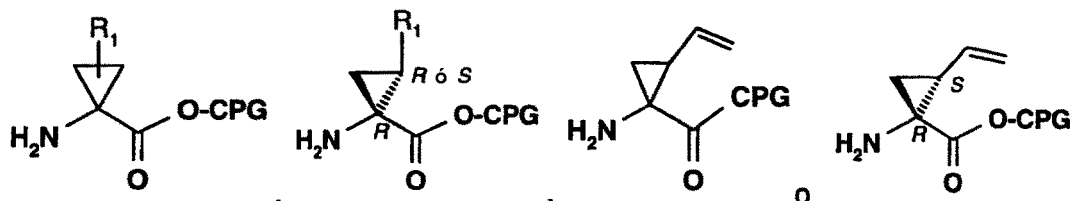
acoplar un péptido seleccionado entre el grupo que consta de: APG-P3-P2; o APG-P2;

con un compuesto intermedio de P1 de fórmula:



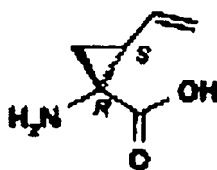
en el que R₁ es alquilo C₁₋₆, cicloalquilo o alqueno C₂₋₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno, CPG es un grupo protector de carboxilo y APG es un grupo protector de amino y P3 y P2 son como antes se definen.

75. Uso de un compuesto intermedio de P1 de fórmula:



en que R_1 es alquilo C_{1-6} , cicloalquilo o alqueno C_{2-6} , todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno, y CPG es un grupo protector de carboxilo, para la preparación de un compuesto de fórmula I como antes se define.

76. Un compuesto análogo a un aminoácido de fórmula:



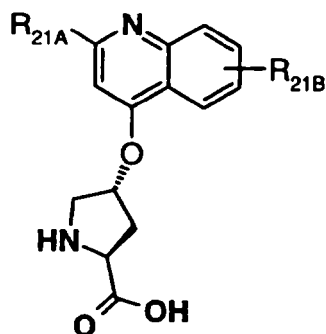
77. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 74, en el que dicho grupo protector de carboxilo (CPG) se selecciona entre el grupo que consta de:

ésteres de alquilo, ésteres de arilalquilo y ésteres que son disociables por tratamiento con una base débil o por medios reductores débiles.

78. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 74, en el que dicho grupo protector de amino (APG) se selecciona entre el grupo que consta de:

grupos acilo, grupos carbamato aromáticos, grupos carbamato alifáticos, grupos alquil-carbamato cíclicos, grupos alquilo, trialkil-sililo y grupos que contienen diol.

79. Uso de un análogo a prolina de fórmula:



en el que R_{21A} es alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} ; tioalquilo inferior; halo; amino opcionalmente mono-sustituido con alquilo C_{1-6} ; arilo C_6 , C_{10} , arilalquilo C_{7-16} o Het, estando dichos arilo, arilalquilo o Het opcionalmente sustituidos con R_{22} , en que R_{22} es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amido o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , o Het;

y

R_{21B} es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , amino, di(alquil inferior)amino, (alquil inferior)amido, NO_2 , OH, halo; trifluorometilo o carbonilo,

para la síntesis de análogo a un péptido de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 29.