



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 336 009**

51 Int. Cl.:

C07K 5/02 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 245/04 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05704765 .6**

96 Fecha de presentación : **28.01.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1713823**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.10.2006**

54 Título: **Inhibidores de la NS3 serina proteasa del VHC.**

30 Prioridad: **30.01.2004 SE 2004100199**
19.05.2004 SE 2004101288
22.10.2004 SE 2004102562

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.04.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.04.2010

73 Titular/es: **Medivir AB.**
P.O. Box 1086
141 22 Huddinge, SE
Tibotec Pharmaceuticals

72 Inventor/es: **Rosenquist, Asa;**
Thorstensson, Fredrik;
Johansson, Per-Ola;
Kvarnström, Ingemar;
Samuelsson, Bertil y
Wallberg, Hans

74 Agente: **Martín Santos, Victoria Sofía**

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de la NS3 serina proteasa del VHC.

5 **Campo técnico**

Esta invención se refiere a nuevos inhibidores de la NS3 serina proteasa del flavivirus VHC y a métodos para su uso en el tratamiento o profilaxis del VHC.

10 **Técnica anterior**

La NS3 serina proteasa del VHC es una proteína multifuncional que contiene un dominio serina proteasa y un dominio ARN helicasa. El cofactor de proteasa NS4A, que es una proteína relativamente pequeña, es absolutamente necesario para potenciar la actividad serina proteasa. La NS3 serina proteasa es esencial en el ciclo de vida viral. A partir del análisis del sitio de unión al sustrato como se revela por la estructura cristalina de rayos X, se ha demostrado que el sitio de unión de la NS3 proteasa es muy superficial y expuesta al disolvente hace que el diseño de la pequeña molécula inhibidora sea un desafío.

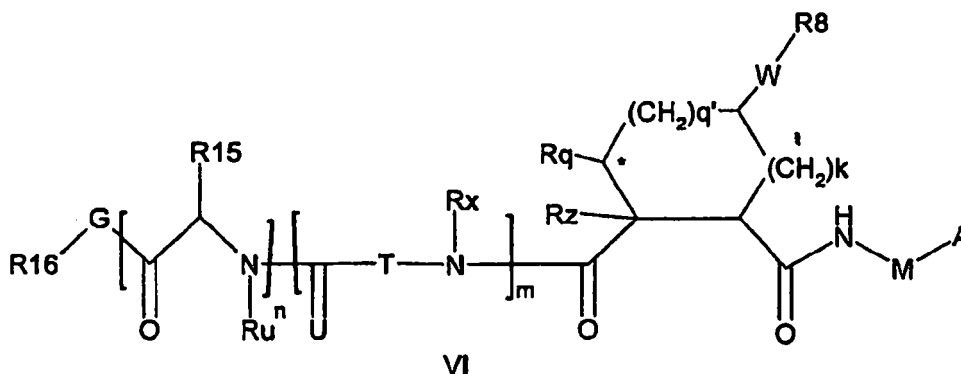
Se piensa que dos inhibidores de proteasa del VHC han entrado en ensayos clínicos, particularmente BILN-2061 de Boehringer Ingelheim descrito en el documento WO 0059929 y el VX-950 de Vertex descrito en el documento WO 0387092. Una serie de inhibidores de proteasa del VHC peptidomiméticos similares también se han propuesto en la bibliografía académica y de patentes. En la inmensa mayoría de dichos peptidomiméticos de la técnica de anterior es común la presencia de un derivado de L-prolina en la posición P2 del inhibidor y la interacción con el subsidio S2 de la enzima proteasa del VHC. En el caso de BILN-2061, la L-prolina se sustituye en la posición 4 por un éter de quinolina, mientras que VX-950 tiene un anillo carbocíclico fusionado al anillo de L-prolina. La mayoría de los peptidomiméticos comprenden adicionalmente péptidos derivados de aminoácidos L adicionales unidos en la posición P3, con muchos inhibidores propuestos que también incluyen derivados de aminoácidos L adicionales que se extienden en P4, P5 y P6.

Ya se ha puesto de manifiesto que la administración prolongada de BILN-2061 o VX-950 selecciona mutantes del VHC que son resistentes al fármaco respectivo, denominados mutantes de escape a fármacos. Estos mutantes de escape a fármacos tienen mutaciones características en el genoma de la proteasa del VHC, en particular D168V, D168Y y/o A165S. Los paradigmas del tratamiento para el VHC tendrán que parecerse por tanto al tratamiento del VIH, donde las mutaciones de escape a fármacos también surgen fácilmente. Por consiguiente, siempre serán necesarios sistemáticamente fármacos adicionales con patrones de resistencia diferentes para proporcionar a los pacientes opciones de tratamiento y terapia de combinación con fármacos múltiples lo que es probable que sea la norma en el futuro, incluso para tratamiento de primera línea.

La experiencia con fármacos del VIH y en particular con inhibidores de proteasa del VIH, han destacado además que la farmacocinética subóptima y los regímenes de dosificación complejos dan lugar rápidamente a fallos de cumplimiento inadvertidos. Esto a su vez significa que la concentración mínima en 24 horas (concentración en plasma mínima) para los fármacos respectivos en un régimen del VIH frecuentemente se encuentra por debajo del umbral de CI_{90} o DE_{90} durante la mayor parte del día. Se considera que un nivel mínimo de 24 horas de al menos la CI_{50} , y de manera más realista, la CI_{90} o DE_{90} es esencial para retardar el desarrollo de mutantes de escape a fármaco y conseguir la farmacocinética necesaria y el metabolismo del fármaco para permitir que dichos niveles mínimos proporcionen un desafío riguroso para el diseño del fármaco. La fuerte naturaleza peptidomimética de los inhibidores de proteasa del VHC anteriores, con enlaces peptídicos múltiples en configuraciones nativas planteen dificultades farmacocinéticas para regímenes de dosificación eficaces.

50 **Breve descripción de la invención**

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporcionan compuestos de la fórmula VI:



ES 2 336 009 T3

en la que

A es $C(=O)OR^1$ o $C(=O)NHSO_2R^2$, en la que;

R^1 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 ;

R^2 es alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 ; donde

R^2 está opcionalmente sustituido por 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , $NH_2C(=O)-$, $Y-NRaRb$, $Y-OR_b$, $Y-C(=O)Rb$, $Y-C(=O)NRaRb$, $Y-NRaC(=O)Rb$, $Y-NHSO_pRb$, $Y-S(=O)_pRb$, $Y-S(=O)_pNRaRb$, $Y-C(=O)ORb$ e $Y-NRaC(=O)ORb$;

Y es independientemente un enlace o alquileo C_1-C_3 ;

Ra es independientemente H o alquilo C_1-C_3 ;

Rb es independientemente H, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 o alquilheterociclilo C_0-C_3 ;

p es independientemente 1 ó 2;

M es $CR^7R^{7'}$;

Ru es H o alquilo C_1-C_3 ;

R^7 es alquilo C_1-C_6 , alquil C_0-C_3 -cicloalquilo C_3-C_7 o alquileo C_2-C_6 , cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por 1-3 halo átomos, o un grupo amino, -SH o alquilocicloalquilo C_0-C_3 , o R^7 es J;

$R^{7'}$ es H o tomado junto con R^7 forma un anillo cicloalquilo C_3-C_6 opcionalmente sustituido por $R^{7'a}$ donde;

$R^{7'a}$ es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_5 , alquileo C_2-C_8 cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido por halo; o $R^{7'a}$ es J;

q' es 0 ó 1 y k es de 0 a 3;

Rz es H, o junto con átomo de carbono señalado con un asterisco forma un enlace olefínico;

Rq es H o alquilo C_1-C_6 ;

W es $-CH_2-$, $-O-$, $-OC(=O)NH-$, $-OC(=O)-$, $-S-$, $-NH-$, $-NRa$, $-NHSO_2-$, $-NHC(=O)NH-$ o $-NHC(=O)-$, $-NHC(=S)NH-$ o un enlace;

R^8 es un sistema de anillo que contiene 1 ó 2 anillos saturados, parcialmente saturados o insaturados cada uno de los cuales tiene 4-7 átomos en el anillo y cada uno de los cuales tiene de 0 a 4 heteroátomos seleccionados entre S, O y N, estando el sistema de anillo opcionalmente separado de W por un grupo alquilo C_1-C_3 ; cualquiera de los grupos R^8 puede estar opcionalmente mono-, di- o tri-sustituido por R^9 , donde R^9 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , NH_2CO- , $Y-NRa'Rb$, $Y-O-Rb$, $Y-C(=O)Rb$, $Y-C(=O)NRa'Rb$, $Y-NRaC(=O)Rb$, $Y-NHSO_pRb$, $Y-S(=O)_pRb$, $Y-S(=O)_pNRaRb$, $Y-C(=O)ORb$ e $Y-NRaC(=O)ORb$; donde Ra' es Ra , con la condición de que cuando W sea $-S-$ o $-O-$, R^8 sea alquilarilo C_0-C_3 o alquilheteroarilo C_0-C_3 , Y sea un enlace y Rb sea H o alquilo C_1-C_6 , entonces Ra' sea Ra o alquilo C_1-C_6 ; y donde dicho resto carbociclilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido por R^{10} ; donde

R^{10} es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , alcoxi C_1-C_6 , amino, sulfonilo, (alquil C_1-C_3)sulfonilo; NO_2 , OH, SH, halo, haloalquilo, carboxilo, amido,

Rx es H o C_1-C_5 alquilo; o Rx es J;

T es $-CHR^{11}-$ o $-NRd-$, donde Rd es H, alquilo C_1-C_3 ; o Rd es J;

R^{11} es H, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , cualquiera de los cuales puede estar sustituido por halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , NH_2CO- , $Y-NRaRb$, $Y-O-Rb$, $Y-C(=O)Rb$, $Y-C(=O)NRaRb$, $Y-NRaC(=O)Rb$, $Y-NHSO_pRb$, $Y-S(=O)_pRb$, $Y-S(=O)_pNRaRb$, $Y-C(=O)ORb$, $Y-NRaC(=O)ORb$; o R^{11} es J;

J, si está presente, es una cadena alquileo saturada o parcialmente insaturada de 3 a 10 miembros que se extiende desde el cicloalquilo $R^7/R^{7'}$, o desde el átomo de carbono al que R^7 está unido hasta uno de Rd, Rj, Rx, Ry o R^{11} para formar un macrociclo, cuya cadena está opcionalmente interrumpida por uno a tres heteroátomos independientemente seleccionados entre: $-O-$, $-S-$ o $-NR^{12}-$, y donde de 0 a 3 átomos de carbono en la cadena están opcionalmente sustituidos por R^{14} ; donde;

ES 2 336 009 T3

R¹² es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o C(=O)R¹³;

R¹³ es alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃;

R¹⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, halo, amino, oxo, tio y tioalquilo C₁-C₆; m es 0 ó 1; n es 0 ó 1; U es =O o está ausente;

R¹⁵ es H, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales puede estar sustituido por halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, C₁-C₆ alquilo, alquilheterociclilo C₀-C₃, alquilcarbociclilo C₀-C₃, NH₂CO-, Y-NRaRb, Y-O-Rb, Y-C(=O)Rb, Y-(C=O)NRaRb, Y-NRaC(=O)Rb, Y-NHS(=O)_pRb, Y-S(=O)_pRb, Y-S(=O)_pNRaRb, Y-C(=O)ORb, Y-NRaC(=O)ORb;

G es -O-, -NRy-, -NRjNRj-;

Ry es H, C₁-C₃ alquilo; o Ry es J;

Un Rj es H y el otro Rj es H o J;

R¹⁶ es H; o R¹⁶ es alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales puede estar sustituido por halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, NH₂CO-, Y-NRaRb, Y-O-Rb, Y-C(=O)Rb, Y-(C=O)NRaRb, Y-NRaC(=O)Rb, Y-NHSO_pRb, Y-S(=O)_pRb, Y-S(=O)_pNRaRb, Y-C(=O)ORb, Y-NRaC(=O)ORb;

en el que cualquier átomo C en alquilo C₁-C₆ y alquilo C₁-C₃, a menos que se indique otra cosa, puede estar opcionalmente sustituido por uno, dos o, cuando la valencia lo permite tres halógenos; cada resto arilo y cicloalquilo en alquilarilo C₀-C₃ y alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₇, a menos que se indique otra cosa, está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxilo, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcanofilo C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto y alquilheterociclilo C₀-C₃; cada resto carbociclilo y heterociclilo en alquilcarbociclilo C₀-C₃ y alquilheterociclilo C₀-C₃, a menos que se indique otra cosa, está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxilo, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcanofilo C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto, alquilcarbociclilo C₀-C₃ y alquilheterociclilo C₀-C₃;

cada grupo amino se selecciona entre NH₂, NHalquilo C₁-C₆ y N(alquilo C₁-C₆)₂; y cada grupo amido se selecciona entre C(=O)NH₂, C(=O)NHalquilo C₁-C₆, C(=O)N(alquilo C₁-C₆)₂ y -NH(C=O)alquilo C₁-C₆; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Sin querer de modo alguno ceñirse a la teoría o a la atribución de modos de unión tentativos para variables específicas, los conceptos teóricos P1, P2, P3 y P4 como se usa en este documento se proporcionan únicamente por comodidad y tienen sus significados convencionales de manera sustancial, como se ilustra por Schechter & Berger, (1976) Biochem Biophys Res Comm 27 157-162, y designan aquellas partes del inhibidor que se piensa que ocupan los subsidios S1, S2, S3 y S4 respectivamente de la enzima, en el que S1 es adyacente al sitio de escisión y S4 distante del sitio de escisión. Independientemente del modo de unión, los componentes definidos por la Fórmula VI etc pretenden estar dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, se espera que el grupo de terminación R¹⁶-G pueda interactuar con los subsitios S3 y S4 especialmente cuando m y/o n es 0.

Las diversas realizaciones de la presente invención pueden representarse teóricamente como R¹⁶-G-P4-P3-P2-P1, donde P3 y/o P4 pueden estar ausentes. P1, P3 y P4 cada uno representa un bloque de construcción constituido por un derivado de un aminoácido natural o no natural, P2 es un resto carbocíclico sustituido y G-R¹⁶ es un grupo de terminación. Los bloques de construcción están típicamente unidos por enlaces amida que se encuentran invertidos uno con respecto al otro en cada lado del bloque de construcción P2 en los compuestos de la invención.

Otros aspectos de la invención incluyen una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención como se define anteriormente y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos y composiciones de la invención tienen utilidad en los métodos del tratamiento médico o profilaxis de las infecciones por el VHC en los seres humanos. Por consiguiente, otro aspecto adicional de la invención es el uso de un compuesto como se define anteriormente en la terapia tal como en la preparación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de infecciones por flavivirus en seres humanos o animales. Los flavivirus ejemplares incluyen el VDVB, el dengue y especialmente el VHC.

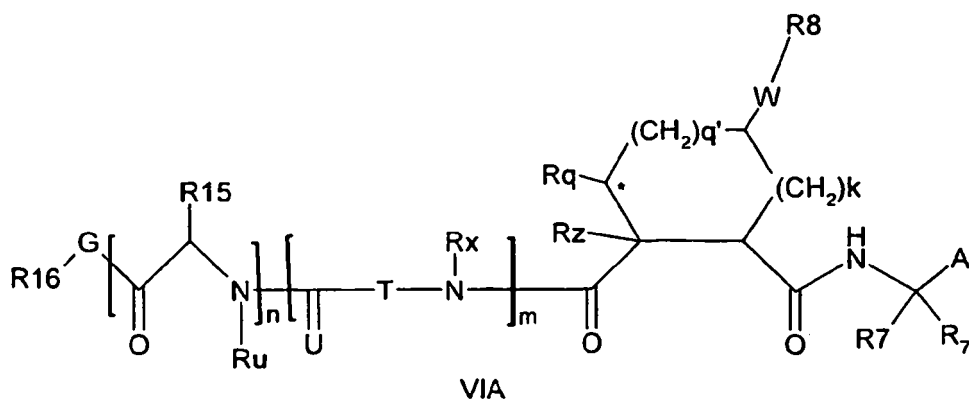
En los compuestos de la invención el enlace amida que une P2 y P3 entre sí es inverso con respecto al enlace amida que une P1 y P2, es decir, los derivados de aminoácidos, P1 y P3 en cada lado del armazón de P2 se encuentran ambos acoplados a través de sus funciones amino para los grupos ácido en cada lado del armazón de P2. Esto significa que las cadenas laterales de P3 y P4 (incluyendo el extremo R¹⁶ en la medida en que interacciona con S3 o S4) apunta en la dirección opuesta comparado con un sustrato de péptido nativo. Otra consecuencia de los aminoácidos P3 y P4 inversos es que las cadenas laterales de estos aminoácidos se encuentran desplazadas un átomo por fuera con respecto a un sustrato de péptido nativo.

Podría esperarse que el cambio de dirección de las cadenas laterales de P3 y P4 de esta manera favorezca la estereoquímica D no natural para los grupos de ocupación de bolsillos (por ejemplo cadenas laterales) de P3 y/o P4 y/o R¹⁶. En efecto, dichos compuestos son típicamente muy activos y se encuentran dentro del alcance de la invención. Sin embargo, se ha encontrado de manera sorprendente que incluso los compuestos de la invención portadores de cadenas laterales de aminoácidos L en P3 y/o P4 muestran buena actividad, a pesar de que la entidad respectiva debe aproximar el bolsillo S3 o S4 desde un ángulo diferente con respecto a un sustrato de péptido nativo. Por consiguiente, la estereoquímica-L en R¹¹ y/o R¹⁵ y/o la configuración correspondiente en R¹⁶ para mimetizar la estereoquímica L representa un aspecto favorecido de la invención.

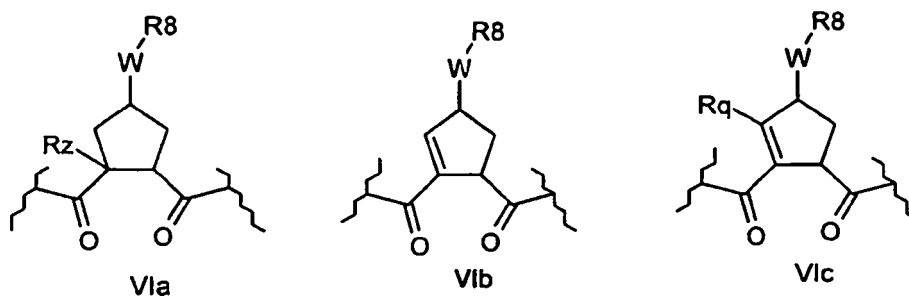
El ángulo de aproximación diferente para las bolsas S3 y/o S4 también tiene implicaciones para la capacidad de los compuestos de la invención para evitar los patrones de resistencia mostrados por los inhibidores de proteasa del VHC de la técnica anterior que hasta ahora todos tenían una estructura de péptido convencional de restos de aminoácidos L no naturales o naturales. Como en el caso de la transcriptasa inversa del VIH conocida por la generación rápida de mutantes de escape a fármacos bajo la presión selectiva de terapia antiviral, la ARN polimerasa NS5A dependiente de ARN del VHC tiene una capacidad de corrección de errores muy pobre. Esto a su vez significa que la polimerasa del VHC es muy propensa a errores y es probable que surjan patrones de resistencia característicos cuando se administren antivirales del VHC durante largos periodos de tiempo. Incluso antes del lanzamiento, es evidente que el BILN 2061 con una estructura sustancialmente peptídica (aunque macrociclizada) y el inhibidor de la proteasa NS3 Vertex VX-950 con una estructura peptídica lineal en P3 y P4 rápidamente den lugar a mutaciones de resistencia características en las posiciones 155, 156 ó 168 de la NS-proteasa (Lin *et al* J Biol Chem 2004 279 (17): 17808-17).

Un grupo preferido de compuestos de la invención comprende aquellos en los que P1 representa un derivado de hidrazina, es decir M es NRu donde Ru es típicamente H o alquilo C₁-C₃. Los compuestos en los que M es CR⁷R^{7'} constituyen un aspecto más preferido de la invención.

Las realizaciones preferidas en las que M es CR⁷R^{7'} en las fórmulas VI incluyen la fórmula VIA a continuación:

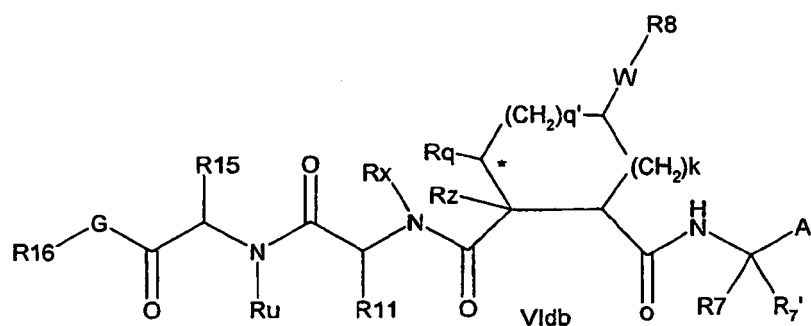
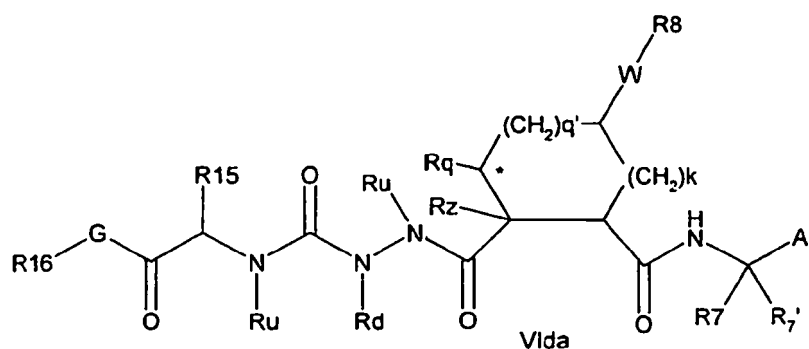


Los valores preferidos para q' y k en la formula VI incluyen 1:1, 1:2, 1:3, 2:2, 2:3, más preferiblemente 0:2 y 0:0; y mucho mas preferiblemente 0:1, en cuyo caso los compuestos preferidos tienen una de las estructurales parciales:



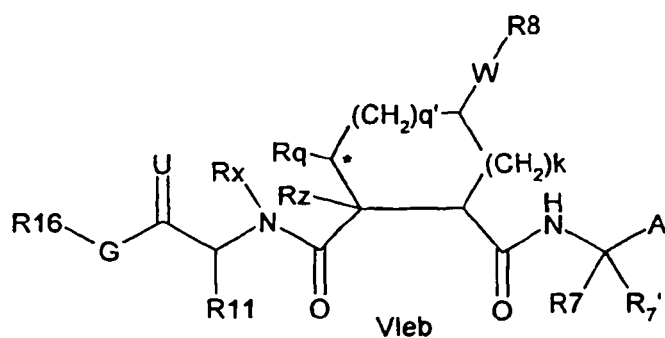
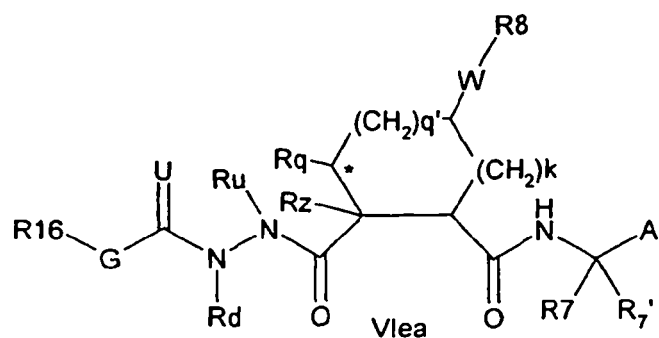
especialmente donde Rz es H o Rq es H o metilo.

Los compuestos de la invención pueden comprender tanto una función P3 como una función P4, por ejemplo, cada uno de m y n es 1. Las realizaciones preferidas de la Fórmula VI que comprenden tanto una función P3 como una función P4 incluyen las fórmulas VIa-VIdb a continuación:



Las realizaciones alternativas incluyen las estructuras que corresponden a VIa y VIdb en las que M es NRu.

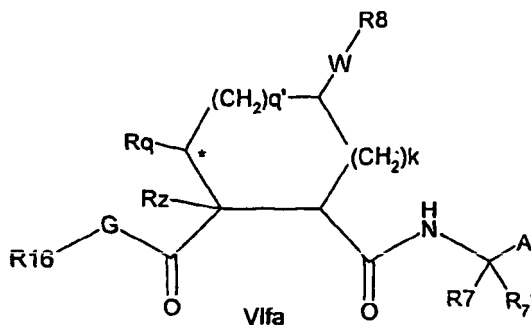
Las configuraciones alternativas de los compuestos de la invención comprenden una función P3, pero no una función P4, por ejemplo, m es 1 y n es cero. Las realizaciones preferidas de la Fórmula VI que comprenden una función P3, pero no P4 incluyen las fórmulas VIea-VIeb a continuación:



Las realizaciones alternativas incluyen las estructuras que corresponden a VIea y VIeb en las que M es NRu.

Las configuraciones aún más alternativas de los compuestos de la invención incluyen aquellas en las que m y n son cero y por tanto el grupo R¹⁶-G contiguo a P2, pero como se ha mencionado anteriormente, el grupo de terminación R16-G puede interactuar favorablemente con S3 y/o S4.

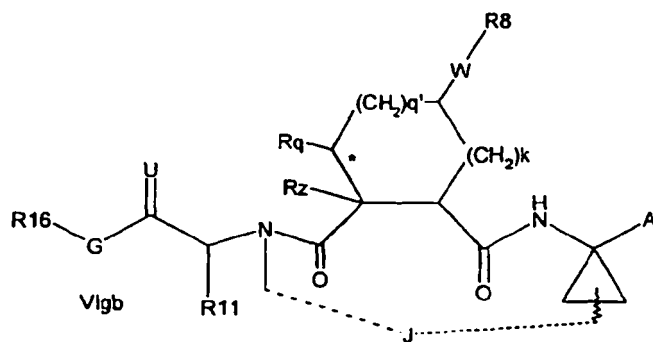
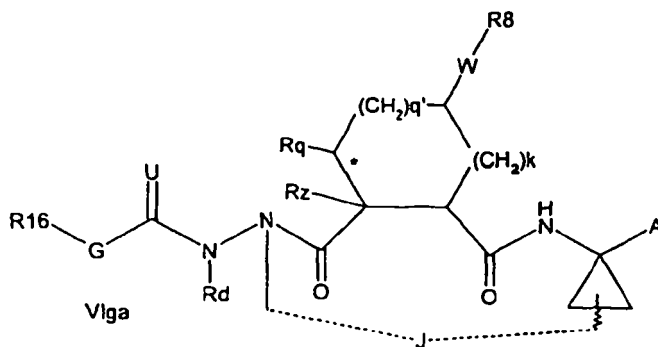
Las realizaciones preferidas de la Fórmula VI en la que m y n son cero incluyen las de fórmula VIfa a continuación:

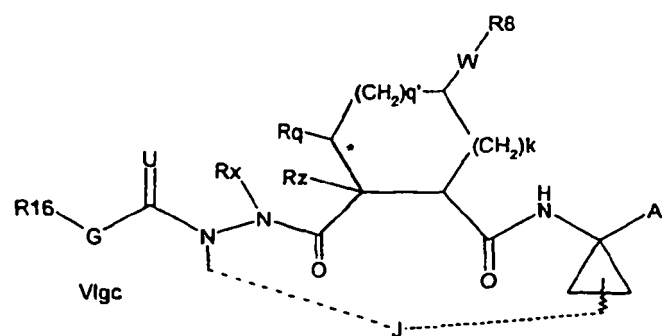


Las realizaciones alternativas incluyen las estructuras que corresponden a VIfa, en la que M es NRu.

Los compuestos de la invención pueden comprender moléculas lineales, como se ha representado anteriormente. Como alternativa, en las realizaciones en las que R⁷ y R^{7'} juntas definen un grupo espiro-cicloalquilo, tal como espiro-ciclopropilo, los compuestos de la invención pueden configurarse como macrociclos, en los que un grupo de unión J se extiende entre uno de R_j, R_x, R_y, R_d o R¹¹ de Fórmula VI. Como alternativa el macrociclo J puede extenderse desde el carbono adyacente R⁷ a uno de R_j, R_x, R_y, R_d o Ru.

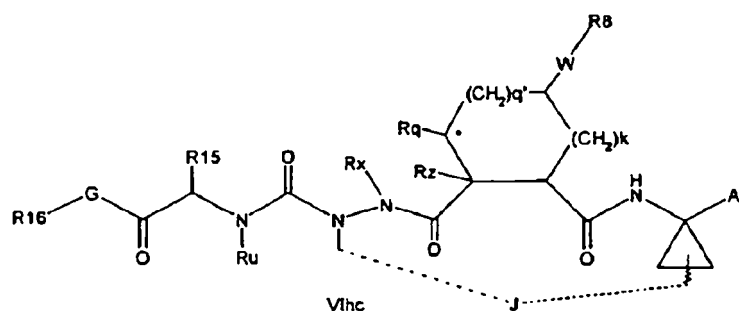
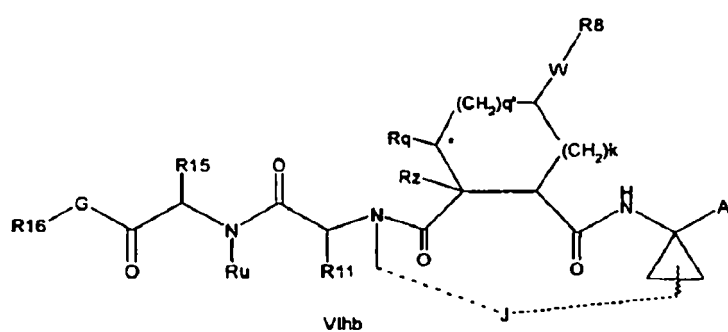
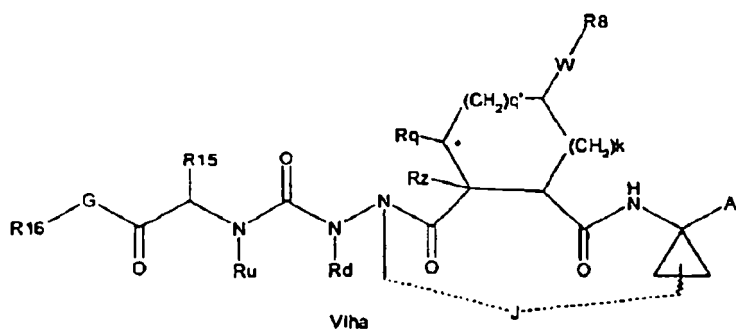
Las realizaciones preferidas de tales estructurales macrocíclicas de la fórmula VI en las que m es 0 y n es 1 incluyen las de las fórmulas VIga-VIgc a continuación:





También se prefieren las estructuras correspondientes en las que la cadena J enlaza al carbono adyacente R⁷.

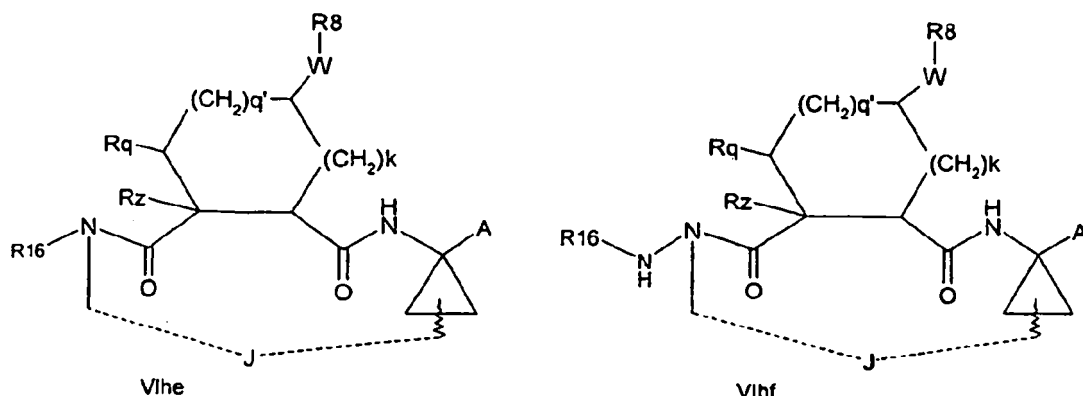
Las realizaciones preferidas de estructuras macrocíclicas de la fórmula VI que comprenden funciones P3 y P4, es decir en las que tanto m como n son 1, incluyen las de las fórmulas VIha-VIhc a continuación:



También se prefieren las estructuras correspondientes en las que la cadena J se enlaza al carbono adyacente R⁷.

ES 2 336 009 T3

Las estructuras macrocíclicas preferidas de la Fórmula VI, en la que las funciones P3 y P4 están ausentes, es decir en las que cada uno de m y n son 0, incluyen las de las fórmulas VIhe-VIhf a continuación.



También se prefieren las estructuras correspondientes en las que la cadena J se enlaza al carbono adyacente R⁷.

En general, en las estructuras macrocíclicas, tales como las que se han ilustrado anteriormente, opcionalmente el enlazador J es una cadena de 3 a 10 átomos, preferiblemente una cadena de 4 a 7 átomos, tal como una cadena de alqueno saturada o parcialmente insaturada de 5 ó 6 átomos en la cadena, que es una cadena alqueno que tiene de 1 a 3 enlaces insaturados entre carbonos adyacentes, típicamente una insaturación. La longitud de la cadena, por supuesto, dependerá de si J se extiende desde Rd, Rj, Rx, Ry, R¹¹ o desde el carbono adyacente R⁷. Se describen en detalle en el documento WO 00/59929. Típicamente J se dimensionará para proporcionar un macrociclo de 13 a 16 átomos en el anillo (incluyendo los átomos en los grupos P1, P2 y si está presente P3 que contribuyen al anillo). J se dimensiona convenientemente para proporcionar un macrociclo de 14 ó 15 átomos en el anillo.

De manera práctica, la cadena J contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre: O, S, NH, NC₁-C₆ alquilo o N-C(=O)-alquilo C₁-C₆. Más preferiblemente, la cadena J contiene opcionalmente un heteroátomo seleccionado entre: NH o N-C(=O)-alquilo C₁-C₆, más preferiblemente N(Ac). Más preferiblemente, la cadena que contiene un átomo de nitrógeno está saturada. En una realización alternativa, J contiene un heteroátomo seleccionado entre O o S. La cadena puede estar sustituida por R¹⁴, tal como H o metilo.

Típicamente la estructura enlazadora J está saturada. Como alternativa, J contiene de 1 a 3, preferiblemente un doble enlace, típicamente un carbono separado de la función cicloalquilo R⁷, si está presente. El doble enlace puede ser *cis* o *trans*.

Por tanto, los ejemplos representativos de J incluyen pentileno, hexileno, heptileno, cualquiera de los cuales está sustituido por alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, halo, amino, oxo, tio o tioalquilo C₁-C₆; penten-3-ilo, hexen-4-ilo, hepten-5-ilo, donde 3, 4 ó 5 se refieren a un doble enlace entre átomos de carbono 3 y 4, 4 y 5, etc.

Los grupos R⁷ y R^{7'} convenientes incluyen aquellos en los que R^{7'} es H y R⁷ es n-etilo, n-propilo, ciclopropilo, ciclo-propilmetilo, ciclobutilo, ciclobutilmetilo, 2,2-difluoroetilo o mercaptometilo. Las realizaciones preferidas incluyen aquellas en las que R⁷ es n-propilo o 2,2-difluoroetilo.

Las configuraciones alternativas preferidas para R⁷ y R^{7'} incluyen aquellas en las que R^{7'} es H y R⁷ es cicloalquilo C₃-C₇ o alquil C₁-C₃-cicloalquilo C₃-C₇.

Las configuraciones aún más preferidas para R⁷ y R^{7'} incluyen aquellas en las que R^{7'} es H y R⁷ es J.

Como alternativa, R⁷ y R^{7'} juntas definen una función espiro-cicloalquilo, tal como un anillo espiro-ciclobutilo, y más preferiblemente un anillo espiro-ciclopropilo. "Espiro" en este contexto significa simplemente que el anillo cicloalquilo comparte un único átomo de carbono con la estructura peptídica del compuesto. El anillo está sustituido o sin sustituir. Los sustituyentes preferidos incluyen mono o di-sustituciones con R^{7'a} donde R^{7'a} es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₅ o alqueno C₂-C₆, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por halo.

Como alternativa el sustituyente puede ser un enlazador J como se ha descrito anteriormente. A continuación se definen estereoquímicas preferidas actualmente para un anillo espiro-ciclopropilo.

Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen R^{7'a} como etilo, vinilo, ciclopropilo (es decir, un sustituyente espiro-ciclopropilo para el anillo "espiro" cicloalquilo de R⁷/R^{7'}), 1- o 2-bromoetilo, 1- o 2-fluoroetilo, 2-bromovinilo o 2-fluoretilo.

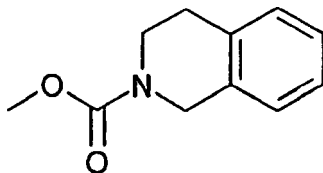
ES 2 336 009 T3

Una configuración alternativa preferida para A es $C(=O)OR^1$, especialmente cuando R^1 es alquilo C_1-C_6 , tal como metilo, etilo o *terc*-butilo y más preferiblemente hidrógeno.

Una configuración particularmente preferida para A es $C(=O)NHSO_2R^2$, especialmente cuando R^2 es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, preferiblemente metilo, o cicloalquilo C_3-C_7 opcionalmente sustituido, preferiblemente ciclopropilo, o alquilarilo C_0-C_6 opcionalmente sustituido, preferiblemente fenilo opcionalmente sustituido. Los sustituyentes apropiados aparecen en la sección de definiciones a continuación.

El sustituyente -W-R⁸ en el grupo P2 cíclico puede emplear cualquiera de los sustituyentes de prolina que se describen de forma exhaustiva en los documentos WO 00/59929, WO 00/09543, WO 00/09558, WO 99/07734, WO 99/07733, WO 02/60926, WO 03/35060, WO 03/53349, WO 03/064416, WO 03/166103, WO 03/064455, WO 03/064456, WO 03/62265, WO 03/062228, WO 03/87092, WO 03/99274, WO 03/99316, WO 03/99274, WO 04/03670, WO 04/032827, WO 04/037855, WO 04/43339, WO 04/92161, WO 04/72243, WO 04/93798, WO 04/93915, WO 04/94452, WO 04/101505, WO 04/101602, WO 04/103996, WO 04/113365 y similares.

Las funciones W preferidas incluyen W como -OC(=O)NH-, -OC(=O)-, -NH-, -NR^{8*}-, -NHS(O)₂- o -NHC(=O)-, especialmente -OC(=O)NH- o -NH-. Los grupos R⁸ preferidos para dichas funciones W incluyen alquilcarbociclilo C_0-C_3 opcionalmente sustituido o alquilheterociclilo C_0-C_3 , incluyendo los que se describen en los documentos WO 00/09543, WO 00/09558 y WO 00/174768. Por ejemplo los sustituyentes éster, -W-R⁸, en el grupo P2 cíclico, incluyen los que se describen en el documento WO 01/74768 tales como alcanoiloxi C_1-C_6 , alquilariloiloxi C_0-C_3 , particularmente benzoiloxi (opcionalmente sustituido) o alquilheterocicloiloxi C_0-C_3 , especialmente



Esta publicación también describe posibilidades de -W-R⁸ alternativas, por ejemplo, alquilo C_1-C_6 , tales como etilo, isopropilo, alquilcarbociclilo C_0-C_3 tales como ciclohexilo, 2,2-difluoroetilo, -C(=O)NRc, donde Rc es alquilo C_1-C_6 , alquilciclopropilo C_0-C_3 , alquilarilo C_0-C_3 o alquilheterociclilo C_0-C_3 .

Actualmente las funciones W preferidas incluyen -S- y especialmente -O-. Los valores convenientes para R⁸ en dichas realizaciones incluyen alquilarilo C_0-C_3 o alquilheteroarilo C_0-C_3 que están opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos por R⁹, donde;

R⁹ es alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , NO₂, OH, halo, trifluorometilo, amino o amido (tales como amino o amido opcionalmente mono- o di-sustituidos por alquilo C_1-C_6), alquilarilo C_0-C_3 , alquilheteroarilo C_0-C_3 , carboxilo, arilo o heteroarilo estando opcionalmente sustituidos por R¹⁰; donde

R¹⁰ es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , alcoxi C_1-C_6 , amino (tal como amino mono- o di-sustituido por alquilo C_1-C_6), amido (tal como alquilamida C_1-C_3), sulfonilalquilo C_1-C_3 , NO₂, OH, halo, trifluorometilo, carboxilo o heteroarilo.

Típicamente, el componente alquilo C_0-C_3 de R⁸ tal como alquilarilo C_0-C_3 o alquilheteroarilo C_0-C_3 es metilo y está especialmente ausente, es decir C₀. El componente arilo o heteroarilo es como se ilustra de forma exhaustiva en la sección de definiciones a continuación.

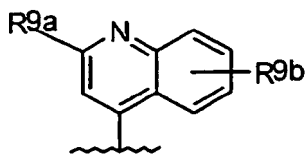
Los R⁹ preferidos incluyen alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino (tal como di-(alquil C_1-C_3)amino), amido (tales como -NHC(O)-alquilo C_1-C_6 o C(=O)NHalquilo C_1-C_3), arilo o heteroarilo, estando el resto arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido por R¹⁰; donde R¹⁰ es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , alcoxi C_1-C_6 , amino (tal como mono- o di-alquilamino C_1-C_3), amido (tales como -NHC(O)-alquilo C_1-C_3 o C(=O)NHalquilo C_1-C_6), halo, trifluorometilo o heteroarilo.

Los R¹⁰ preferidos incluyen alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino, amido (tal como -NHC(O)-alquilo C_1-C_6 o C(=O)NHalquilo C_1-C_6) halo o heteroarilo.

Los R¹⁰ particularmente preferidos incluyen metilo, etilo, isopropilo, *terc*-butilo, metoxi, cloro, amino, amido (tales como -NHC(O)-alquilo C_1-C_3 o C(=O)NHalquilo C_1-C_6) o alquilo C_1-C_3 tiazol.

Las realizaciones favoritas de R⁸ incluyen 1-naftilmetilo, 2-naftilmetilo, bencilo, 1-naftilo, 2-naftilo, o quinolinilo, cualquiera de los cuales está sin sustituir, o mono- o di-sustituido por R⁹ como se define, en particular 1-naftilmetilo, o quinolinilo sin sustituir, mono o di-sustituido por R⁹ como se define.

Un R⁸ actualmente preferido es:

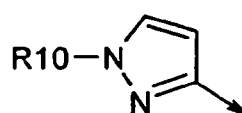
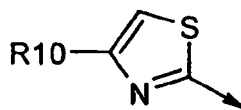
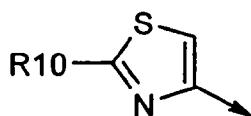


donde R^{9a} es alquilo C₁-C₆; alcoxi C₁-C₆; tioalquilo C₁-C₃; amino opcionalmente sustituido por alquilo C₁-C₆; alquilarilo C₀-C₃; o alquilheteroarilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, estando dicho arilo, heteroarilo o heterociclo opcionalmente sustituido por R¹⁰

donde R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, alcoxi C₁-C₆, amino, amido, heteroarilo o heterociclilo; y

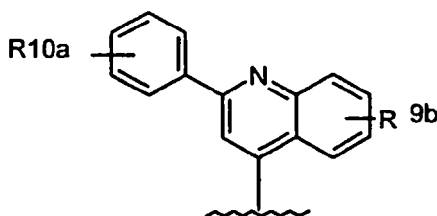
R^{9b} es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, amido, NO₂, OH, halo, trifluorometilo, carboxilo.

Los R^{9a} convenientes incluyen arilo o heteroarilo, todos opcionalmente sustituidos por R¹⁰ como se define, especialmente cuando R^{9a} se selecciona entre el grupo que consiste en:



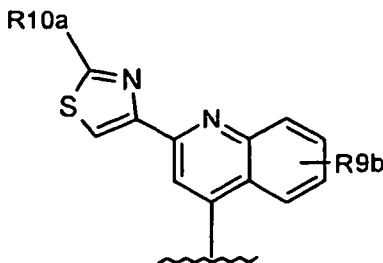
donde R¹⁰ es H, alquilo C₁-C₆ o alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₆, amino (tal como amino mono- o di-sustituido por alquilo C₁-C₆), amido (tal como -NHC(O)-alquilo C₁-C₆ o C(=O)NHalquilo C₁-C₆), heteroarilo o heterociclilo.

R^{9a} es convenientemente fenilo y por tanto R⁸ es:



donde R^{10a} es H, alquilo C₁-C₆; alcoxi C₁-C₆; o halo; y R^{9b} es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino (tal como alquilamino C₁-C₃), amido (tal como -NHC(O)-alquilo C₁-C₆ o C(=O)NHalquilo C₁-C₃), NO₂, OH, halo, trifluorometilo o carboxilo.

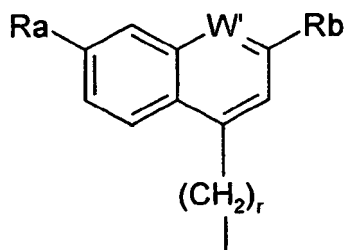
Un R⁸ preferido alternativo es:



donde R^{10a} es H, alquilo C₁-C₆ o alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₆, amino (tal como amino opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C₁-C₆), amido (tal como -NHC(O)-alquilo C₁-C₆ o C(=O)NHalquilo C₁-C₃ o C(=O)N(alquilo C₁-C₃)₂), heteroarilo o heterociclilo; y R^{9b} es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C₁-C₆, amido (tal como -NHC(O)-alquilo C₁-C₆ o C(=O)NHalquilo C₁-C₃ o C(=O)N(alquilo C₁-C₃)₂), NO₂, OH, halo, trifluorometilo o carboxilo.

En las realizaciones que se han descrito justo anteriormente R^{9b} es convenientemente alcoxi C_1-C_6 , preferiblemente metoxi.

Un grupo R^8 adicional, por ejemplo cuando W es un éter, tiene la fórmula



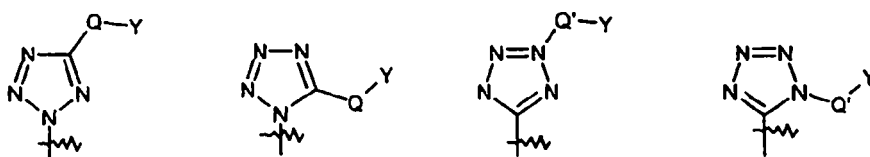
en la que W es N o CH, r es 0 ó 1, Ra' es H, alquilo C_1-C_6 , alquilocicloalquilo C_0-C_3 , alquiloxi C_1-C_6 , hidroxi o amina y Rb' es H, halo, alquilo C_1-C_6 , alquilocicloalquilo C_0-C_3 , alquiloxi C_1-C_6 , tioalquilo C_1-C_6 , cicloalquil alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 -alquilo C_1-C_3 , alquilarilo C_0-C_3 o alquilheterociclilo C_0-C_3 . Un sustituyente de éter particularmente preferido es 7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-il oxi.

Cuando W es un enlace entonces R^8 es preferiblemente un sistema de anillo heterocíclico sustituido o sin sustituir como se describe en el documento WO2004/072243 o el documento WO2004/113665.

Los ejemplos representativos de R^8 cuando W es un enlace incluyen los siguientes aromáticos que pueden estar opcionalmente sustituidos: 1H-pirrol, 1H-imidazol, 1H-pirazol, furano, tiofeno, oxazol, tiazol, isoxazol, isotiazol, piridina, pindazina, pirimidina, pirazina, ftalazina, quinoxalina, quinazolina, quinolina, cinnolina, 1H-pirrol[2,3-b]piridina, 1H-indol, 1H-benzoimidazol, 1H-indazol, 7H-purina, benzotiazol, benzooxazol, 1H-imidazo[4,5-c]piridina, 1H-imidazo[4,5-b]piridina, 1, 3-dihidro-benzoimidazol-2-ona, 1, 3-dihidro-benzoimidazol-2-tiona, 2, 3-dihidro-1H-indol, 1,3-dihidro-indol-2-ona, 1H-indolo-2,3-diona, 1,3-dihidro-benzoimidazol-2-ona, 1H, 1H-pirrol [2,3-c]piridina, benzofurano, benzo[b]tiofeno, benzo[d]isoxazol, benzo[d]isotiazol, 1H-quinotín-2-ona, 1H-quinolin-4-ona, 1H-quinazolin-4-ona, 9H-carbazol, 1H-quinazolin-2-ona.

Los ejemplos representativos adicionales de R^8 cuando W es un enlace, incluyen los siguientes no aromáticos, que pueden estar opcionalmente sustituidos: aziridina, azetidina, pirrolidina, 4,5-dihidro-1H-pirazol, pirazolidina, imidazolidin-2-ona, imidazolidina-2-tiona, pirrolidin-2-ona, pirolidina-2,5-diona, piperidina-2,6-diona, piperidin-2-ona, piperazina-2,6-di-ona, piperazin-2-ona, piperazina, morfolina, tiomorfolina-1,1-dióxido, pirazolidin-3-ona, imidazolidina-2,4-diona, piperidina, tetrahydrofurano, tetrahidropirano, [1,4]dioxano, 1,2,3,6-tetrahidropiridina.

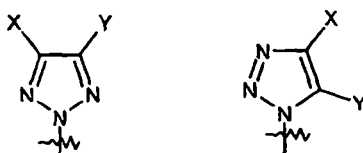
Los valores preferidos para R^8 cuando W es un enlace, incluyen tetrazol y derivados del mismo. El resto tetrazol está unido a la estructura P2 cíclica y está opcionalmente sustituido como se muestra a continuación:



en la que Q^* se selecciona entre el grupo que consiste en ausente, $-CH_2-$, $-O-$, $-NH-$, $-N(R^{1*})-$, $-S-$, $-S(=O)_2-$ y $-(C=O)-$; Q^* se selecciona entre el grupo que consiste en: ausente, $-CH_2-$ y $-NH-$; Y^* se selecciona entre el grupo que consiste en: H, alquilo C_1-C_6 , arilo C_0-C_3 , heterociclilo C_0-C_3 y R^{1*} se selecciona entre el grupo que consiste en: H, alquilo C_1-C_6 , carbociclilo, arilo C_0-C_3 , heterociclilo C_0-C_3 .

Los ejemplos representativos de tetrazoles sustituidos son como se describen en la Tabla 1 del documento WO2004/072243 y las estructuras inmediatamente posteriores, o en el documento WO2004/113665.

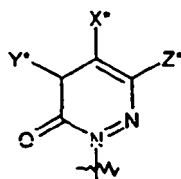
Los valores adicionales preferidos para R^8 cuando W es un enlace, incluyen triazol y derivados del mismo. El resto triazol está unido a la estructura P2 cíclica y está opcionalmente sustituido como se muestra a continuación:



en las que X* e Y* se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en: H, halógeno, alquilo C₁-C₆, carbociclilo C₀-C₃, -CH₂-amino, -CH₂-arilamino, -CH₂-diarilamino, -(C=O)-amino, -(C=O)-arilamino, -(C=O)-diarilamino, arilo C₀-C₃, heterociclilo C₀-C₃ o como alternativa, X* e Y* tomados junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un resto cíclico seleccionado entre el grupo que consiste en arilo y heteroarilo.

Los ejemplos representativos de triazoles sustituidos son como se describen en la tabla 2 del documento WO2004/072243 y las estructuras inmediatamente posteriores, o en el documento WO2004/113665.

Los valores adicionales preferidos para R⁸ cuando W es un enlace, incluyen piridazinona y derivados del mismo. El resto piridazinona está unido a la estructura P2 cíclica y está opcionalmente sustituido como se muestra a continuación:



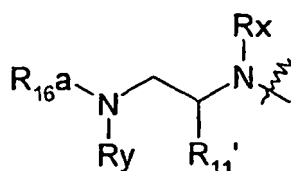
en la que X*, Y* y Z* se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en: H, N₃, halógeno, alquilo C₁-C₆, carbociclilo, amino, arilo C₀-C₃, -S-arilo, -O-arilo, -NH-arilo, diarilamino, diheteroarilamino, heterociclilo C₀-C₃, -S-heteroarilo, -O-heteroarilo, NH-heteroarilo o, como alternativa, X e Y o Y y Z tomados junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un resto arilo o heteroarilo cíclico.

Los ejemplos representativos de piridazinonas sustituidas son como se describe en la tabla 3 del documento WO2004/07224 y las estructuras inmediatamente posteriores, o en el documento WO2004/113665.

Los grupos P3 preferidos, es decir cuando m es 1 se parecen a aminoácidos naturales o no naturales, especialmente aminoácidos alifáticos, tales como L-valilo, L-leucilo, L-isoleucilo o L-t-leucilo. Los grupos P3 más preferidos, como se muestran en el documento WO 02/01898 incluyen alquilocicloalquilalanina C₀-C₃, especialmente ciclohexilalanina, opcionalmente sustituido por CO₂Rg, donde Rg es H, es alquilo C₁-C₆, alquilarilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, alquilocicloalquilo C₀-C₃ o amina; o N-acetilpiperidina o tetrahidropirano. Por tanto, los grupos R¹¹ preferidos incluyen alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃ por ejemplo alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₇, alquilarilo C₀-C₃ o alquilheteroarilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por hidroxilo, halo, amino, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo C₁-C₆, C(=O)OR¹⁴, carboxilo, (alcoxi C₁-C₆)carbonilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo, especialmente cuando el sustituyente es hidroxilo o C(=O)OR¹⁴.

Los R¹¹ particularmente preferidos incluyen *terc*-butilo, iso-butilo, ciclohexilo, feniletilo, 2,2-dimetil-propilo, ciclohexilmetilo, fenilmetilo, 2-piridilmetilo, 4-hidroxifenilmetilo o carboxilpropilo. Los valores de R¹¹ más preferidos actualmente son *terc*-butilo, isobutilo o ciclohexilo.

Una realización de la invención incluye compuestos en los que P4 está ausente (es decir, n es 0) y en los que la función P3 carece de un carbonilo, es decir U está ausente. Las subestructuras representativas incluyen las de la fórmula I a continuación:



Ii

en la que Rx y Ry son como se han definido anteriormente, preferiblemente H,

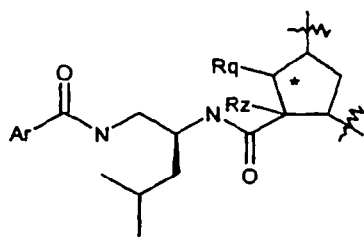
R^{11'} es alquilo C₁-C₆, preferiblemente alquilo C₃-C₅ ramificado tal como las cadenas laterales de L-valilo, L-leucilo, L-isoleucilo, L-t-leucilo; o alquil C₀-C₂-cicloalquilo C₃-C₇ tal como ciclohexilo o ciclohexilmetilo;

R^{16a} es -Rba, -S(=O)pRba, -C(=O)Rba;

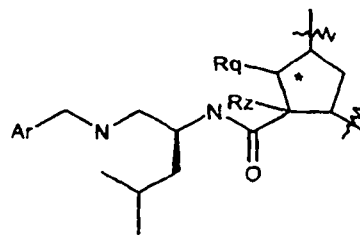
Rba es alquilo C_1-C_6 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 .

5 Como alternativa, los compuestos de estructura parcial Ii pueden macrociclarse entre un valor apropiado de R^7 y uno de R_x , R_y o $R^{11'}$.

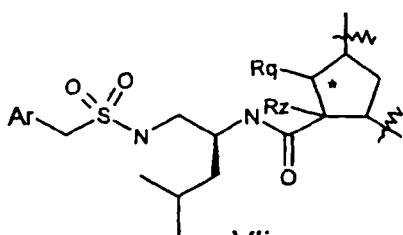
10 Las realizaciones representativas de grupos P3 que carecen de una función carboxi (es decir, la variable U está ausente) incluyen las de las fórmulas VIia-VIid a continuación:



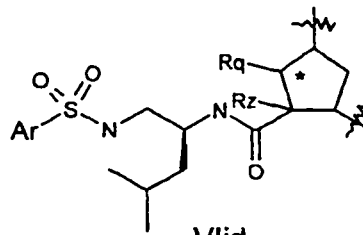
VIia



VIib



VIic



VIid

40 en las que Ar es carbociclilo o heterociclilo, especialmente arilo o heteroarilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por R^9 . Aunque las estructuras parciales de las Fórmulas VIia-VIid se han ilustrado en el contexto de un compuesto en el que k es 1 y q' es 0, será evidente que dichas configuraciones de Fórmula VIi también se aplican a otros valores de q' y k. De forma análoga, aunque las estructuras parciales de las fórmulas VIic y VIid muestran un grupo R^{11} que corresponde a leucina, será evidente que estas configuraciones serán aplicables a otros grupos R^{11} , especialmente los que se parecen a las cadenas laterales de L-aminoácidos naturales y no naturales, por ejemplo t-butil alanina/t-leucina.

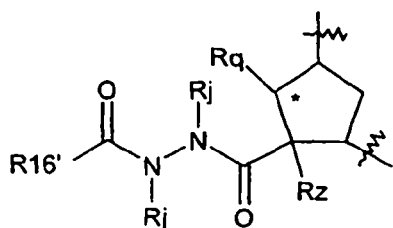
50 R^{15} en los compuestos de la invención en los que n es 1, es preferiblemente alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido o alquilcarbociclilo C_0-C_3 por ejemplo alquil C_0-C_3 -cicloalquilo C_3-C_7 , cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. Los grupos P4 preferidos son típicamente análogos de aminoácidos naturales y no naturales, especialmente aminoácidos alifáticos tales como L-valilo, L-leucilo, L-isoleucilo, L-t-lucilo o L-ciclohexilalanina y por tanto grupos R^{15} preferidos incluyen ciclohexilo, ciclohexilmetilo, *terc*-butilo, iso-propilo o iso-butilo.

55 Los valores de G preferidos incluyen -NRy-, especialmente donde Ry es metilo o preferiblemente H, o hidrazina.

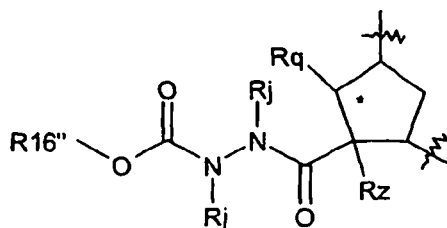
60 Un valor de G más preferido es O que define de este modo un éster con el carbonilo de P4 (si está presente) o el carbonilo de P3 (si está presente) o un éter en el caso de variantes en las que el grupo U está ausente. Los grupos de protección de éteres o ésteres farmacéuticamente aceptables convencionales para R^{16} incluyen alquilo C_1-C_6 (especialmente metilo o t-butilo), alquilheterociclilo C_0-C_3 (especialmente piridilo, benzoimidazolilo, piperidilo, morfolinilo, piperazinilo) o alquilcarbociclilo C_0-C_3 (especialmente fenilo, bencilo, indanilo) cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por hidroxilo, halo, amino o alcoxi C_1-C_6 .

65 Los compuestos preferidos de la invención pueden comprender una funcionalidad hidrazina, por ejemplo cuando T es -NRd- y m es 1; siendo n cero o 1. Como alternativa, especialmente cuando m es cero, G puede ser -NRjNRj- tal como -NHNH-. En general, los compuestos no comprenden una hidrazina ni en G ni en T. Las hidrazinas preferidas

de la Fórmula VI, en la que m y n son cero incluyen compuestos de las estructuras parciales VIja-VIjb a continuación:



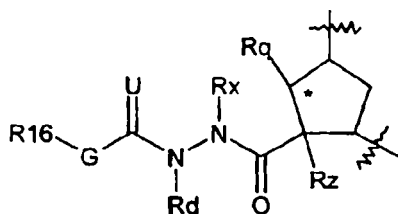
VIja



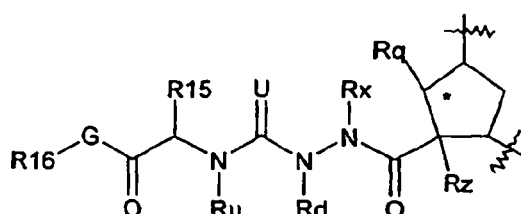
VIjb

R^{16'} en la fórmula VIja y VIjb puede considerarse como un alquilo (o alquilheterociclilo C₁-C₃ o alquilcarbociclilo C₁-C₃) en las que el primer carbono de alquilo está sustituido por un grupo oxo para definir la función ceto y R^{16'} es el resto restante del alquilo, el alquilheterociclilo o el alquilcarbociclilo. La Fórmula VIjb representa una variante en la que R¹⁶ es un grupo metileno cuyo carbono está sustituido por un sustituyente de oxo y también por -OR_b, donde R_b es como se ha definido anteriormente, típicamente, alquilo C₁-C₆, tal como t-butilo, alquilheterociclilo C₀-C₃ tal como piridilo o alquilcarbociclilo C₀-C₃, tal como bencilo o fenilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido como se ha definido anteriormente. Los compuestos de estructuras parciales VIja y VIjb pueden ser moléculas lineales como se muestra (ambos R_j son H), o preferiblemente uno de los grupos R_j representados pueden macrocyclizarse a partir de J para dar un grupo R⁷ apropiado.

Las hidrazinas alternativas de Fórmula VI en la que m es 1, incluyen las estructuras parciales VIjc y VIjd a continuación:



VIjc

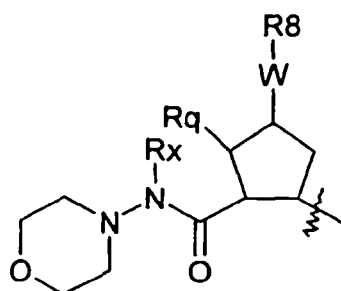


VIjd

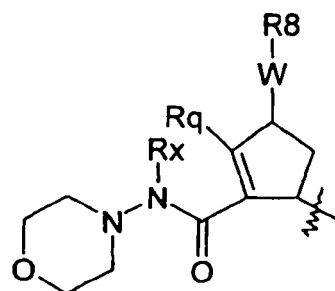
en las que G, R¹⁵, R¹⁶, Rx, Rd, Rq, RZ y Ru son como se han definido para la fórmula VI anterior. Los compuestos de estructuras parciales VIjc y VIjd pueden ser moléculas lineales como se muestra (tanto Rx como Rd son H), o preferiblemente uno de los grupos Rx o Rd que se representan puede macrocyclizarse a partir de un grupo R⁷ apropiado.

Aunque las fórmulas VIja-VIjd se representan con un anillo carbocíclico de cinco miembros según la estructura P2, será evidente que este aspecto de la invención se adapta igualmente a otras configuraciones de q' y k. Las realizaciones preferidas de las fórmulas VIja-VIjd incluyen aquellas en las que Rq y RZ son H, o aquellas en las que RZ es un enlace olefínico y Rq es alquilo C₁-C₃.

Se encuentran configuraciones alternativas semejantes a hidrazina cuando G es amino, y m y n son 0, y R¹⁶ es un heterociclo insaturado enlazado a N como se define a continuación, por ejemplo piridilo o pirimidilo o un heterociclo saturado como se define a continuación, tal como piperazinilo, piperidinilo y especialmente morfolinilo. Los ejemplos de dichas realizaciones incluyen las de las fórmulas VIjc y VIjd:



VIjc



VIjd

Los compuestos de las estructuras parciales VIjc y VIjd pueden ser moléculas lineales como se muestra o Rx puede macrociclarse preferiblemente a partir de J en un grupo R⁷ apropiado. Aunque estas estructurales parciales se representan con un anillo de cinco miembros según la estructura P2, será evidente que esta configuración se extiende a otros valores de q' y k. De forma análoga, estas configuraciones se aplicarán a otros heterociclos enlazados a N como R¹⁶.

Volviendo ahora a la Fórmula VI en general, los grupos R¹⁶ preferidos para los compuestos de la invención incluyen 2-indanol, indanilo, 2-hidroxi-1-fenil-etilo, 2-tiofenometilo, ciclohexilmetilo, 2,3-metilenodioxibencilo, ciclohexilo, fenilo, bencilo, 2-piridilmetilo, ciclobutilo, iso-butilo, n-propilo, metilo o 4-metoxifeniletilo. Los grupos R¹⁶ preferidos actualmente incluyen 2-indanol, indano, 2-hidroxi-1-fenil-etilo, 2-tiofenometilo, 2,3-metilenodioxibencilo o ciclohexilmetilo.

Los aminoácidos no naturales incluyen L-aminoácidos en los que la cadena lateral no es uno de los 20 aminoácidos naturales que aparecen. Los ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen L-beta-metilsulfonilmetilalanina, L-ciclohexilalanina, L-terciario-leucina, L-norleucina, L-norvalina, L-ornitina, L-sarcosina, L-citurlina, L-homofenilalanina, L-homoserina, L-beta-(1-naftil)alanina, L-beta-(2-naftil)alanina, etc. Los aminoácidos no naturales también incluyen los D-aminoácidos que corresponden a los 20 aminoácidos naturales y D-aminoácidos que tienen otras cadenas laterales, tales como las que se han enumerado anteriormente.

“Alquilo C₁-C₆” (también abreviado como alq. C₁-C₆, o usado en expresiones de compuesto tal como alquiloxi C₁-C₆, etc.) como se emplea en este documento se refiere a que incluye cadenas de carbono alifáticas lineales y ramificadas tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, hexilo, e isómeros simples de los mismos. Además, cualquier átomo de C en alquilo C₁-C₆ puede estar opcionalmente sustituido por uno, dos o, cuando la valencia lo permite, tres halógenos. Alquilo C₁-C₄ y alquilo C₁-C₅ tienen el significado correspondiente a alquilo C₁-C₆ ajustado según sea necesario para el número de carbonos.

“Alquilo C₁-C₃” como se emplea en este documento incluye metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido como se ha descrito en el párrafo anterior.

“Alquilenos C₁-C₃” como se emplea en este documento describe un resto de alquidiilo divalente, incluyendo propileno, etileno y especialmente metileno.

“Amino” incluye NH₂, NHalquilo C₁-C₆ o N(alquilo C₁-C₆)₂, especialmente variantes de alquilo C₁-C₃.

“Amido” incluye C(=O)NH₂ y alquilamido tal como C(=O)NHalquilo C₁-C₆, C(=O)N(alquilo C₁-C₆)₂ especialmente C(=O)NHalquilo C₁-C₃, C(=O)N(alquilo C₁-C₃)₂ o -NH(C=O)-alquilo C₁-C₆, incluyendo -NH(C=O)-alquilo C₁-C₃.

“Halo” o halógeno como se emplea en este documento se refiere a que incluye F, Cl, Br, I, particularmente cloro y preferiblemente fluoro.

“Alquilarilo C₀-C₃” como se emplea en este documento se refiere a que incluye un resto arilo tal como un fenilo, naftilo o fenilo condensado a un cicloalquilo C₃-C₇ por ejemplo indanilo, cuyo arilo está enlazado directamente (es decir C₀) o a través de un grupo intermedio de metilo, etilo, propilo o isopropilo como se ha definido para el alquilenos C₁-C₃ anteriormente. A menos que se indique otra cosa, el arilo y/o su resto cicloalquilo condensado está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxi, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcóxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcóxi C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto, alquilheterociclilo C₀-C₃. “Arilo” tiene el significado correspondiente, es decir cuando el enlace alquilo C₀-C₃ está ausente.

“Alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₇” como se emplea en este documento se refiere a que incluye un grupo cicloalquilo C₃-C₇ tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo, cuyo cicloalquilo está enlazado directamente (es decir, alquilo C₀) o a través de un grupo intermedio de metilo, etilo o propilo como se ha definido para el alquilenos C₁-C₃ anteriormente. El grupo cicloalquilo puede contener un enlace insaturado. A menos que se indique otra cosa, el resto cicloalquilo está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxi, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcóxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcóxi C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto, alquilheterociclilo C₀-C₃.

“Alquilcarbociclilo C₀-C₃” como se emplea en este documento se refiere a que incluye alquilarilo C₀-C₃ y alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₇. A menos que se indique otra cosa, el grupo arilo o cicloalquilo está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxi, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcóxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcóxi C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto, nitro, alquilcarbociclilo C₀-C₃ y/o alquilheterociclilo C₀-C₃. “Carbociclilo” tiene el significado correspondiente, es decir, cuando el enlace alquilo C₀-C₃ está ausente.

“Alquilheterociclilo C₀-C₃” como se emplea en este documento se refiere a que incluye un anillo monocíclico, saturado o insaturado que contiene un heteroátomo tal como piperidinilo, morfolinilo, piperazinilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazinilo, isotiazinilo, tiazolilo, oxadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, tetrazolilo, furanilo, tienilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazolilo o cualquiera de dichos grupos condensados a un anillo fenilo, tales como quinolinilo, benzoimidazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzotiazinilo, benzoisotiazino-

lilo, benzotiazolilo, benzoxadiazolilo, benzo-1,2,3-triazolilo, benzo-1,2,4-triazolilo, benzotetrazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzopiridilo, benzopirimidilo, benzopiridazinilo, benzopirazolilo, etc., cuyo anillo está enlazado directamente es decir (C_0), o a través de un grupo intermedio de metilo, etilo, propilo o isopropilo como se ha definido para alquilenos C_1 - C_3 anteriormente. Cualquiera de dichos anillos no saturados que tiene un carácter no aromático puede hacerse referencia como heteroarilo en este documento. A menos que se indique otra cosa, el anillo hetero- y/o su resto fenilo condensado está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxilo, nitro, ciano, carboxi, alquilo C_1 - C_6 , alcoxi C_1 - C_6 , alcoxi C_1 - C_6 -alquilo C_1 - C_6 , alcanóilo C_1 - C_6 , amino, azido, oxo, mercapto, nitro, alquilcarbociclilo C_0 - C_3 , alquilheterociclilo C_0 - C_3 . “Heterociclilo” y “Heteroarilo” tienen el significado correspondiente, es decir, cuando el enlace alquilo C_0 - C_3 está ausente.

Típicamente, los restos heterociclilo y carbociclilo dentro del alcance de las definiciones anteriores son de este modo un anillo monocíclico con 5 o especialmente 6 átomos en el anillo, o una estructura de anillo bicíclica que comprende un anillo de 6 miembros condensado a un anillo de 4, 5 ó 6 miembros.

Dichos grupos típicos incluyen cicloalquilo C_3 - C_8 , fenilo, bencilo, tetrahidronaftilo, indenilo, indanilo, heterociclilo tales como azepanilo, azocanilo, pirrolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperazinilo, indolinilo, piranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, tiopiranilo, furanilo, tetrahidrofuranilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tetrazolilo, pirazolilo, indolilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, quinolinilo, tetrahidroquinolinilo, isoquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, quinazolinilo, tetrahidroquinazolinilo y quinoxalinilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido como se define en este documento.

Por tanto, el resto heterociclo saturado incluye radicales tales como pirrolinilo, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piranilo, tiopiranilo, piperazinilo, indolinilo, azetidino, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidrofuranilo, hexahidropirimidinilo, hexahidropiridazinilo, 1,4,5,6-tetrahidropirimidinilamina, dihidro-oxazolilo, 1,2-1,1-dióxido de tiazinano, 1,1-dióxido de 1,2,6-tiadiazinano, 1,1-dióxido de isotiazolidinilo y imidazolidinil-2,4-diona, mientras que el heterociclo insaturado incluye radicales con un carácter aromático tales como furanilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizino, indolilo, isoindolilo. En cada caso, el heterociclo puede condensarse a un anillo fenilo para formar un sistema de anillo bicíclico.

Síntesis

La síntesis de los compuestos de la presente invención puede realizarse por diferentes estrategias químicas en fase de solución o sólida o una combinación de ambas. Primero, pueden prepararse los componentes básicos individuales adecuadamente protegidos y posteriormente acoplarse juntos, es decir $P2+P1 \rightarrow P2-P1$. Como alternativa, los precursores de los componentes básicos pueden acoplarse juntos y modificarse en una etapa posterior de la síntesis de la secuencia del inhibidor. Además, después, los componentes básicos, los precursores de componentes básicos o fragmentos más grandes prefabricados de la estructura deseada, pueden acoplarse a la cadena creciente, por ejemplo $R^{16}-G-P3+C(=O)-P2-P1 \rightarrow R^{16}-G-P3-C(=O)-P2-P1$ o $R^{16}-G-P4-P3+C(=O)-P2-P1 \rightarrow R^{16}-G-P4-P3-C(=O)-P2-P1$.

El acoplamiento entre dos aminoácidos, un aminoácido y un péptido, o dos fragmentos de péptidos puede realizarse usando procedimientos de acoplamiento convencionales tales como el método azida, el método anhídrido de ácido carbónico-carboxílico mezclados (cloroformiato de isobutilo), el método carbodiimida (diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbodiimida soluble en agua), el método de éster activo (p-nitrofenil éster, imido éster N-hidroxisuccínico), el método K del reactivo de Woodward, método del carbonildiimidazol y los métodos de reactivos de fósforo o reducción por oxidación. Algunos de estos métodos (especialmente el método carbodiimida) pueden potenciarse añadiendo 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Estas reacciones de acoplamiento pueden realizarse en fase de solución (fase líquida) o fase sólida.

Más explícitamente, el paso del acoplamiento implica el acoplamiento deshidratado de un carboxilo libre de un reactivo con el grupo amino libre del otro reactivo en presencia de un agente de acoplamiento para formar un enlace de amida de unión. Las descripciones de dichos agentes de acoplamiento se encuentran en libros de textos generales sobre química de péptidos, por ejemplo, M. Bodanszky, “Peptide Chemistry”, 2ª ed. rev., Springer-Verlag, Berlin, Alemania, (1993), en lo sucesivo simplemente referido como Bodanszky, cuyos contenidos se incorporan en este documento como referencia. Los ejemplos de agentes de acoplamiento adecuados son N,N' -diciclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazol en presencia de N,N' -diciclohexilcarbodiimida o N -etil- N' -[(3-dimetilamino)propil]carbodiimida. Un agente de acoplamiento útil y práctico es el hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris-(dimetilamino)fosfonio disponible en el mercado, solo o en presencia de 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Está disponible en el mercado un agente de acoplamiento útil y práctico más, tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)- N,N,N',N' -tetrametiluronio. Está disponible en el mercado otro agente de acoplamiento útil y práctico más, hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)- N,N,N',N' -tetrametiluronio.

La reacción de acoplamiento se lleva a cabo en un disolvente inerte, por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo o dimetilformamida. Se añade un exceso de una amina terciaria, por ejemplo diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, N-metilpirrolidina o 4-DMAP para mantener la mezcla de reacción en un pH de aproximadamente 8. La temperatura de reacción normalmente varía entre 0°C y 50°C y el tiempo de reacción normalmente varía entre 15 min y 24 h.

Los grupos funcionales de los aminoácidos constituyentes generalmente deben protegerse durante las reacciones de acoplamiento para evitar la formación de enlaces indeseados. Los grupos protectores que pueden usarse se enumeran en Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, Nueva York (1981) y "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", Vol. 3, Academic Press, Nueva York (1981), de aquí en adelante referido como Greene, 5 cuyas descripciones se incorporan en este documento como referencia.

El grupo α -carboxilo del residuo C-terminal se protege normalmente como un éster que puede escindirse para dar el ácido carboxílico. Los grupos protectores que pueden usarse incluyen: 1) ésteres de alquilo tales como metilo, trimetilsililo y t-butilo, 2) ésteres de aralquilo tales como bencilo y bencilo sustituido o 3) ésteres que pueden escindirse 10 mediante una base moderada o medios reductores moderados tales como ésteres de tricloroetilo y fenacilo.

El grupo α -amino de cada aminoácido que está acoplado está típicamente protegido. Puede usarse cualquier grupo protector conocido en la técnica. Los ejemplos de dichos grupos incluyen: 1) grupos acilo tales como formilo, tri-fluoroacetilo, ftalilo y p-toluenosulfonilo; 2) grupos carbamato aromáticos tales como benciloxycarbonilo (Cbz o Z) 15 y benciloxycarbonilos sustituidos y 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc); 3) grupos carbamato alifáticos tales como *tert*-butiloxycarbonilo (Boc), etoxycarbonilo, diisopropilmetoxycarbonilo y aliloxycarbonilo; 4) grupos alquilo carba-mato cíclicos tales como ciclopentiloxycarbonilo y adamantiloxycarbonilo; 5) grupos alquilo tales como trifenilmetilo y bencilo; 6) trialkilsililo tales como trimetilsililo; y 7) grupos que contienen tiol tales como feniltiocarbonilo y ditia-succinilo. El grupo protector α -amino preferido es Boc o Fmoc. Están disponibles en el mercado muchos derivados 20 de aminoácidos adecuadamente protegidos para la síntesis de péptidos.

El grupo protector α -amino se escinde antes del siguiente paso del acoplamiento. Cuando el grupo Boc se usa, los métodos elegidos son ácido trifluoroacético, puro o en diclorometano, o HCl en dioxano o en acetato de etilo. Después, la sal de amonio resultante se neutraliza antes del acoplamiento o *in situ* con soluciones básicas tales como 25 tampones acuosos o aminas terciarias en diclorometano o acetonitrilo o dimetilformamida. Cuando el grupo Fmoc se usa, los reactivos elegidos son piperidina o piperidina sustituida en dimetilformamida, pero puede usarse cualquier amina secundaria. La desprotección se realiza a una temperatura entre 0°C y temperatura ambiente normalmente a 20-22°C.

Cualquiera de los aminoácidos naturales o no naturales que tienen funcionalidades de cadena lateral se protegerán típicamente durante la preparación del péptido usando cualquiera de los grupos que se han descrito anteriormente. Los especialistas en la técnica apreciarán que la selección y el uso de grupos protectores apropiados para estas funcio- 30 nalidades de cadena lateral dependerá del aminoácido y la presencia de otros grupos protectores en el péptido. En la selección de dichos grupos protectores es deseable que el grupo no se retire durante la desprotección y el acoplamiento del grupo α -amino. 35

Por ejemplo, cuando se usa Boc se usa como el grupo protector α -amino, son adecuados los siguientes grupos protectores de cadena lateral: pueden usarse restos p-toluenosulfonilo (tosilo) para proteger la cadena lateral amino de aminoácidos tales como Lys y Arg; pueden usarse restos acetamidometilo, bencilo (Bn) o *tert*-butilsulfonilo para 40 proteger el sulfuro que contiene la cadena lateral de cisteína; pueden usarse éteres de bencilo (Bn) para proteger el hidroxilo que contiene cadenas laterales de serina, treonina o hidroxiprolina; y pueden usarse ésteres bencílicos para proteger el carboxi que contiene cadenas laterales de ácido aspártico y ácido glutámico.

Cuando se elige Fmoc para la protección α -amino, normalmente son aceptables grupos protectores basados en *tert*-butilo. Por ejemplo, Boc puede usarse para lisina y arginina, éter *tert*-butilico para serina, treonina e hidroxiprolina, y éster *tert*-butilico para ácido aspártico y ácido glutámico. Puede usarse un resto trifenilmetilo (Tritilo) para proteger 45 el azufre que contiene una cadena lateral de cisteína.

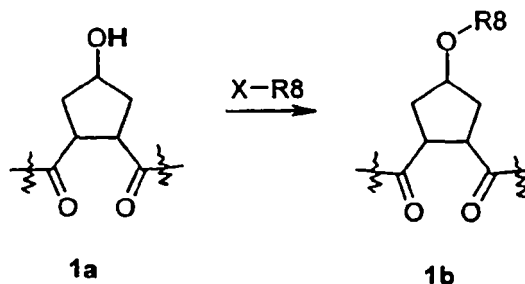
Una vez que la secuencia de inhibidor se completa, todos los grupos protectores se retiran de la manera se ordena 50 por la elección de grupos protectores. Estos procedimientos son bien conocidos por los especialistas en la técnica.

Introducción del sustituyente de P2

El grupo R⁸ puede acoplarse a la estructura P2 en cualquier etapa conveniente de la síntesis de compuestos de acuerdo con la presente invención. Un enfoque es acoplar primero el grupo R⁸ a la estructura P2 y posteriormen- 55 te añadir los otros componentes básicos deseados, es decir P1 y opcionalmente P3 y P4. Otro enfoque es acoplar los restos de P1, P2 y si están presentes P3 y P4 usando una estructura P2 sin sustituir y añadir el grupo R⁸ más tarde. 60

Los compuestos en los que W es O y R⁸ es alquilo, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃ pueden prepararse de acuerdo con el procedimiento que se describe en E. M. Smith *et al.* (J. Med. Chem. (1988), 31, 875-885), como se describe en el Esquema 1, que ilustra la técnica con una estructura P2 saturada en la que q' es 0 y 65 k es 1.

Esquema 1



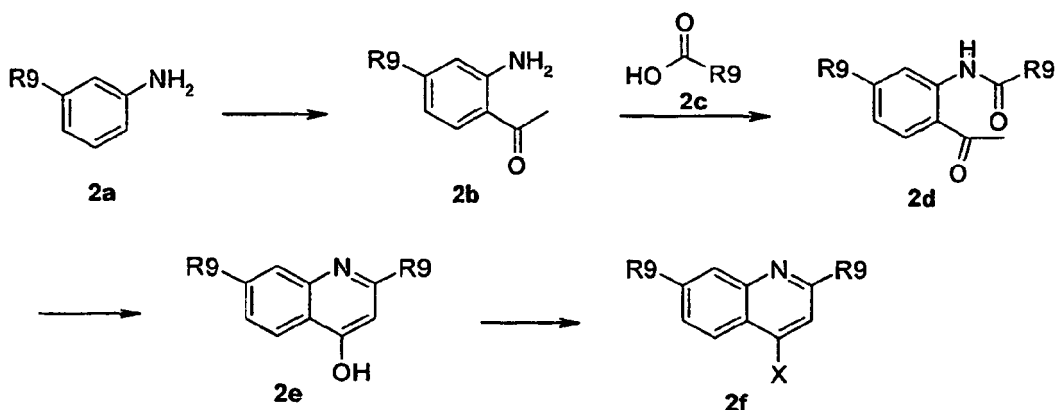
El tratamiento de un compuesto que contiene una estructura P2 sin sustituir (1a), que puede prepararse como se describe en este documento a continuación con una base tal como hidruro sódico o t-butoxido potásico en un disolvente tal como dimetilformamida seguido de la reacción del alcóxido resultante con un agente alquilante, $\text{R}^8\text{-X}$, donde X es un grupo saliente adecuado tal como un haluro, mesilato, triflato o tosilato, proporciona el derivado sustituido deseado (1b).

Como alternativa, si X es OH o SH, el sustituyente de P2 puede introducirse por una reacción de Mitsunobu haciendo reaccionar el grupo hidroxilo del compuesto 1a con el alcohol o el tiol deseado en presencia de trifenilfosfina y un agente de activación tal como azodicarboxilato de dietilo (DEAD), azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) o similares. (Mitsunobu, 1981, *Synthesis*, Enero, 1-28; Rano *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 22, 3779-3792; Krchnak *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 5, 6193-6196; Richter *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1994, 35, 27, 4705-4706).

Como alternativa, el alcohol (1a) puede tratarse con fosgeno, proporcionando de este modo el cloroformiato correspondiente que tras la reacción con una amina, R^8NH_2 , en presencia de una base tal como hidrogenocarbonato sódico o trietilamina, proporciona carbamatos, es decir W es $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}-$, mientras que la reacción del alcohol (1a) puede tratarse con un agente de acilación, $\text{R}^8\text{-CO-X}$, tal como un anhídrido de ácido o haluro de ácido, por ejemplo el cloruro de ácido, para proporcionar ésteres, es decir W es $-\text{OC}(=\text{O})-$.

Se describen diversos alcoholes $\text{R}^b\text{-OH}$ y agentes $\text{R}^3\text{-X}$ alquilantes en los documentos WO 00/09543 y WO00/59929. Se muestra un ejemplo de la síntesis donde R^8 es un derivado de quinolina sustituido en el Esquema 2.

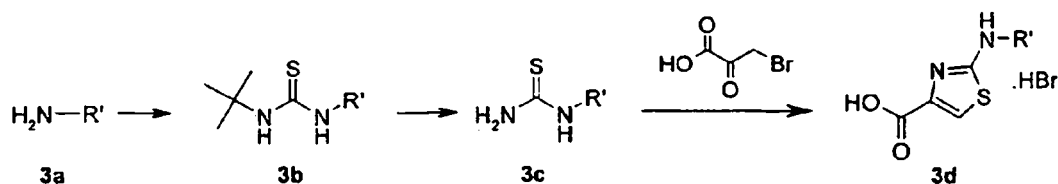
Esquema 2



La acilación de Friedel-Craft de una anilina sustituida adecuada (2a), disponible en el mercado o en la bibliografía, usando un agente de acilación como cloruro de acetilo o similar en presencia de tricloruro de boro y tricloruro de aluminio en un disolvente tal como diclorometano proporciona (2b). El acoplamiento de (2b) a un ácido carboxílico heterocíclico (2c) en condiciones básicas, tales como en piridina, en presencia de un agente de activación para el grupo carboxilato, por ejemplo POCl_3 , seguido de cierre de anillo y deshidratación en condiciones básicas tales como *tert*-butoxido potásico en *tert*-butanol proporciona el derivado de quinolina (2e). El derivado de quinolina (2e) puede acoplarse en una reacción de Mitsunobu a un alcohol como se ha descrito anteriormente, o el grupo hidroxilo puede desplazarse por un grupo saliente adecuado tal como un haluro, tal como cloruro, bromuro o yoduro, por tratamiento de la quinolina (2e) con un agente de halogenación apropiado, por ejemplo cloruro de fosforilo o similares.

Pueden usarse una diversidad de ácidos carboxílicos con la estructura general (2c) en el Esquema 2. Estos ácidos están disponibles en el mercado o en la bibliografía. En el esquema 3 proporcionado a continuación se muestra un ejemplo de la preparación de derivados de 2-(sustituido)-amino-carboxi-aminotiazol siguiendo el procedimiento de Berdikhina *et al.* Chem. Heterocycl. Compd. (Engl. Transl.) (1991), 427-433.

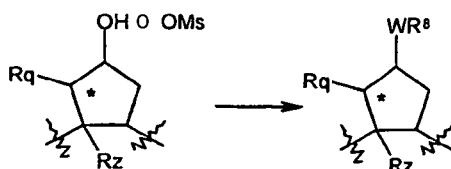
Esquema 3



La tiourea (3c) con diferentes sustituyentes de alquilo R' puede formarse por reacción de la amina apropiada (3a) con isotiocianato de *tert*-butilo en presencia de una base como diisopropiletilamina en un disolvente como diclorometano seguido de la retirada del grupo *tert*-butilo en condiciones ácidas. La condensación posterior del derivado de tiourea (3c) con ácido 3-bromopirúvico proporciona el ácido (3d).

Los componentes básicos P2 en los que el sustituyente R⁸ está unido por una amina, amida, urea o sulfonamida, pueden prepararse a partir de carbociclos amino sustituidos que se consiguen, por ejemplo, transformando el grupo hidroxil del derivado de hidroxil correspondiente en un grupo azida, por ejemplo transformando el grupo hidroxil en un grupo saliente adecuado como un mesilato o un halógeno como cloruro, seguido de la sustitución del grupo saliente con azida o mediante el uso de un agente de transferencia azida tal como difenilfosforil azida (DPPA). La reducción de la azida por hidrogenación catalítica o cualquier otro método de reducción adecuado proporciona la amina. El derivado de amino puede hacerse reaccionar en una reacción de desplazamiento con un agente de alquilación de la fórmula general R⁸-X, en la que R⁸ y X son como se han descrito para el esquema 1, para formar componentes básicos P2 para uso en la preparación de compuestos de fórmula general VI, en la que W es -NH-. La reacción del carbociclo sustituido con amino con un ácido de fórmula general R⁸-COOH en condiciones de acoplamiento a amida convencionales proporciona compuestos en los que el sustituyente R⁸ está unido por un enlace amida, mientras que la reacción del carbociclo sustituido con amino con un derivado apropiado de ácido sulfónico, R⁸-S(O)₂-X donde X es un grupo saliente por ejemplo cloruro, en presencia de una base, proporciona sulfonamidas. Los compuestos en los que el enlace entre la estructura cíclica y el sustituyente R⁸ se constituye por un grupo urea puede, por ejemplo, conseguirse por tratamiento del carbociclo sustituido con amino con fosgeno para producir el clorocarbamato correspondiente seguido de reacción con la amina deseada. Como alternativa, el carbociclo sustituido con amino puede hacerse reaccionar con el cloruro o isocianato de carbamilo del sustituyente R⁸ deseado para la formación del enlace de urea. Será evidente que se dispondrá de reacciones correspondientes para grupos P2 con otros tamaños de anillo y patrones de sustitución.

Los compuestos en los que un grupo heterocíclico R⁸ está unido directamente a la estructura P2 cíclica, es decir W es un enlace en la fórmula general VI, pueden prepararse, por ejemplo, usando una reacción de reemplazo donde un grupo saliente adecuado tal como haluro o un mesilato o similares en la estructura P2, se reemplaza por el grupo R⁸ deseado tal como un grupo heterocíclico. Como alternativa, el grupo R⁸ puede introducirse por medio de una reacción de Mitsunobu en la que el grupo hidroxil del precursor de P2 se hace reaccionar con un átomo de nitrógeno en el grupo heterocíclico R⁸.



Rq, R_Z y * son como se han descrito anteriormente
W es un enlace

Los compuestos en los que un derivado de tetrazol está unido a uno de sus carbonos en el anillo se preparan convenientemente construyendo el resto tetrazol directamente en el precursor de P2. Esto puede conseguirse, por ejemplo, transformando el grupo hidroxil del precursor de P2 en un grupo ciano seguido de la reacción con un reactivo azida tal como azida sódica. También pueden construirse los derivados de triazol directamente en el precursor de P2, por ejemplo, transformando el grupo hidroxil del precursor de P2 en un grupo azida seguido de una reacción de cicloadición 3+2 de la azida producida y un derivado de alquino adecuado.

Pueden prepararse tetrazoles estructuralmente diversos para uso en las reacciones de sustitución o de Mitsunobu que se han descrito anteriormente haciendo reaccionar compuestos de nitrilo disponibles en el mercado con azida sódica. Los derivados de triazol pueden prepararse por reacción de un compuesto alquino y trimetilsilil azida. Los compuestos alquino útiles están disponibles en el mercado o pueden prepararse, por ejemplo, de acuerdo con la reacción de Sonogashira, es decir, la reacción de un alquino primario, un haluro de arilo y trietilamina en presencia de

$\text{PdCl}_2(\text{PPh})_3$ y CuI como se describe, por ejemplo, en A. Elangovan, Y.-H. Wang, T.-I. Ho, *Org. Lett.*, 2003, 5, 1841-1844. El sustituyente heterocíclico también puede modificarse cuando se une al componente básico P2 antes o después del acoplamiento del componente básico P2 a los otros componentes básicos.

Estos métodos y alternativas adicionales para la preparación de compuestos en los que W es un enlace y R^8 es un heterociclo opcionalmente sustituido se describen de forma exhaustiva en el documento WO2004/072243.

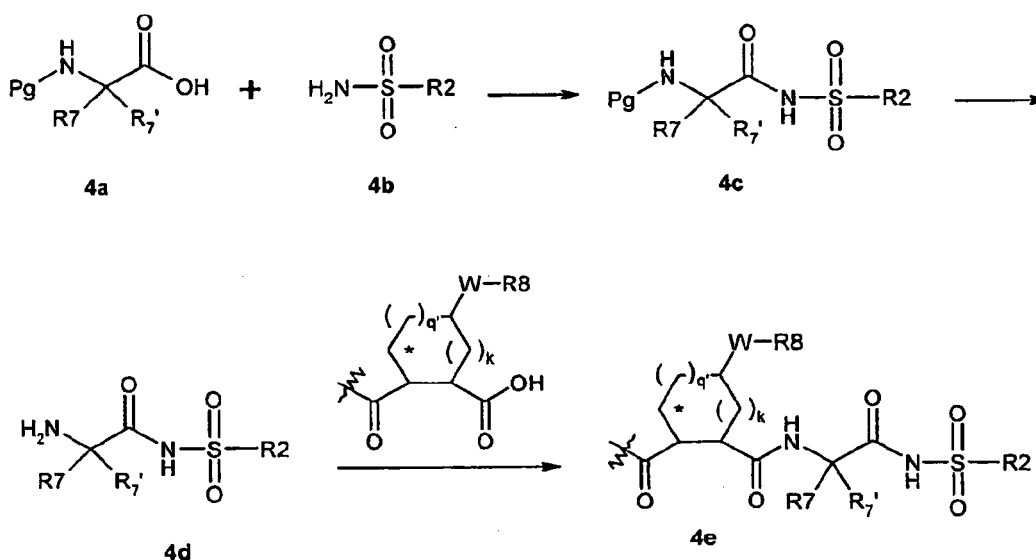
Los compuestos que tienen un tamaño de anillo y/o posición del sustituyente W- R^8 del derivado carbocíclico alternativo en el esquema 1 también pueden usarse en la preparación de compuestos de acuerdo con la presente invención.

Síntesis e introducción de componentes básicos de P1

Los aminoácidos que se usan en la preparación de fragmentos de P1 están disponibles en mercado o en la bibliografía, véanse, por ejemplo, los documentos WO 00/09543 y WO00/59929 de Boehringer-Ingelheim o el documento US2004/0048802 de BMS.

El Esquema 4 muestra un ejemplo de la preparación de un derivado sulfonamida para usarse como un componente básico P1 y el posterior acoplamiento a un componente básico P2.

Esquema 4

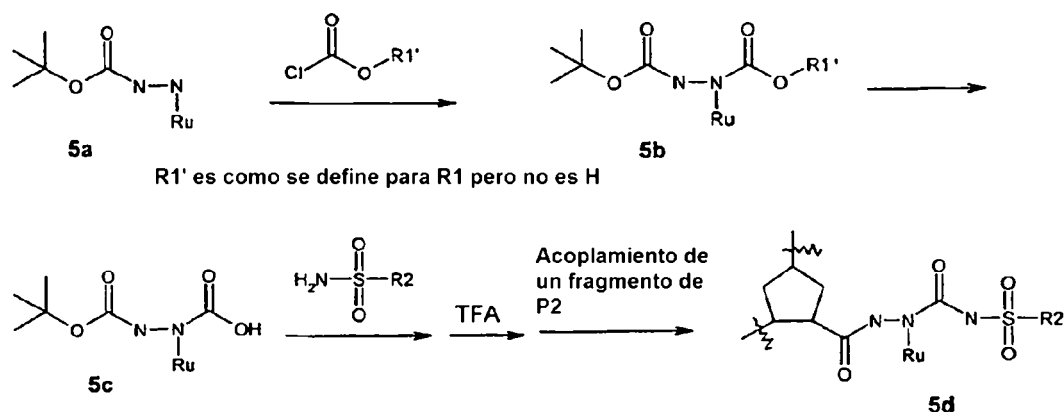


El grupo sulfonamida puede introducirse en un aminoácido adecuadamente protegido (4a) por tratamiento del aminoácido con un agente de acoplamiento, por ejemplo N,N'-carbonildiimidazol (CDI) o similares, en un disolvente tal como THF seguido de la reacción con la sulfonamida deseada (4b) en presencia de una base fuerte tal como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU). Como alternativa, el aminoácido puede tratarse con la sulfonamida deseada (4b) en presencia de una base tal como diisopropil etilamina seguido del tratamiento con un agente de acoplamiento tal como PyBOP® para efectuar la introducción del grupo sulfonamida. La retirada del grupo protector amino mediante métodos convencionales y el acoplamiento posterior a un componente básico P2 usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales, usando métodos convencionales para la formación de enlaces amida, tal como usando un agente de acoplamiento tal como hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) en presencia de una base tal como diisopropilamina en un disolvente tal como dimetilformamida, da 4e. Como alternativa, el grupo sulfonamida puede introducirse en un paso posterior de la síntesis, por ejemplo como el último paso. En este caso, un aminoácido con el patrón de protección invertido, es decir con una función amino sin proteger y una función ácida protegida, se acopla a la función ácida del componente básico P2 usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales, por ejemplo como se ha descrito anteriormente. Después, la retirada del grupo de protección de ácido, usando las condiciones apropiadas para el presente grupo de protección, seguida del acoplamiento de la sulfonamida como se ha descrito anteriormente, produce el compuesto 4e.

Los componentes básicos P1 para la preparación de compuestos de acuerdo con la fórmula general VI en la que A es un éster o una amida pueden prepararse haciendo reaccionar el aminoácido (4a) con la amina o el alcohol apropiado respectivamente en condiciones convencionales para la formación de amida o éster. Los compuestos de acuerdo con la fórmula general I en la que A es $\text{CR}^4\text{R}^{4'}$ pueden prepararse acoplando el componente básico P1 apropiado al componente básico P2 como se describe en Oscarsson *et al* *Bioorg Med Chem* 2003 11(13) 2955-2963 y en el documento PCT/EP03/10595 presentado el 23.09.2003, cuyo contenido se incorpora como referencia.

Los compuestos que comprenden un residuo azapéptido de P1, es decir, M es NRu en la fórmula general VI, pueden prepararse usando un resto aza-amino acilo de P1 adecuado en el acoplamiento al fragmento de P2. La preparación de restos de aza-amino acilo se describe en M. D. Bailey *et al.* en J. Med. Chem., 47, (2004), 3788-3799, y se muestra un ejemplo en el esquema 5.

Esquema 5

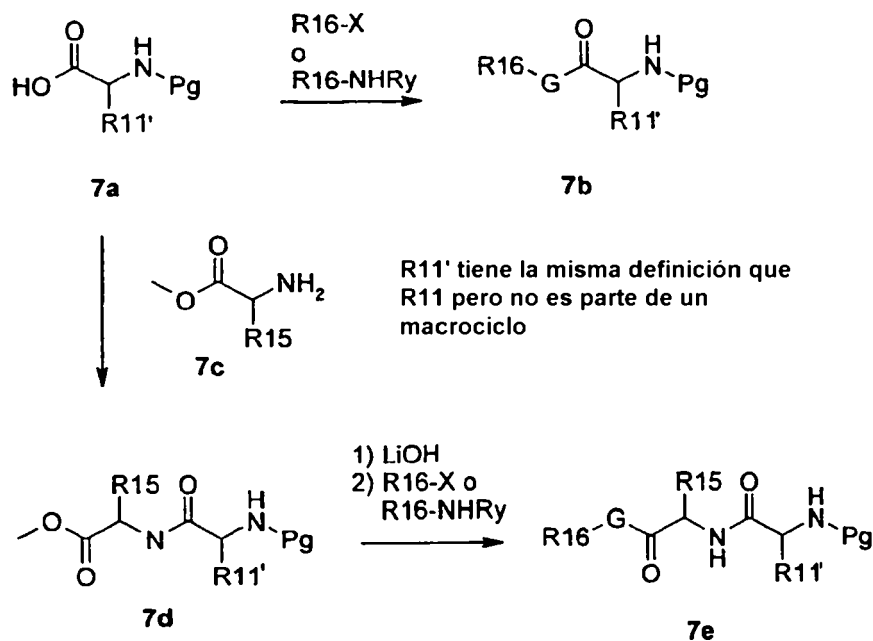


La incorporación de la cadena lateral enlazada a N apropiada, Ru, en *tert*-butilhidrazina disponible en el mercado puede realizarse, por ejemplo, mediante una reacción de aminación reductora con el aldehído o cetona apropiados como se describe en el esquema 19 presentado a continuación que produce el carbazato N-alquilado (5a). La condensación de 5a con un cloroformiato deseado en presencia de una base como trietilamina o diisopropiletilamina en un disolvente como THF proporciona 5b. Después, el resto R1' puede retirarse opcionalmente usando las condiciones apropiadas dependiendo del R1' específico, tal como hidrogenación catalítica para R1' que es bencilo, que da los ácidos correspondientes. La reacción posterior del ácido producido con un derivado de sulfonamida deseado como se ha descrito en el esquema 4 proporciona componentes básicos protegidos de sulfonamida. Como alternativa, la reacción del carbazato 5a con un isocianato, R3-N=C=O, proporciona componentes básicos para la preparación de compuestos de acuerdo con la fórmula general VI en la que M es NRu y A es CONHR³.

Síntesis de componentes básicos protegidos de P3 y P4-P3

Los componentes básicos R¹⁶-G-P3 y R¹⁶-G-P4-P3 en general pueden prepararse como se representa en el esquema 6.

Esquema 6

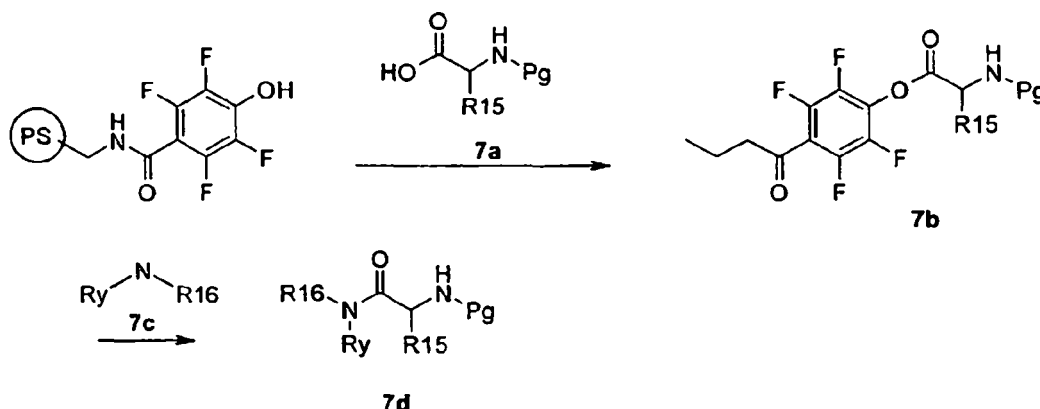


Un aminoácido N-prottegido adecuado (6a) puede acoplarse a un grupo de protección de amino (R¹⁶-NHRy) usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales como con agentes de acoplamiento tales como HATU, DCC,

HOBt o similares en presencia de una base tal como DIEA o DMAP en un disolvente como diclorometano, cloroformo o dimetilformamida o una mezcla de los mismos y condiciones de formación de ésteres como las que proporcionan amidas, es decir G es NHRy (6b). Como alternativa, la reacción del aminoácido (6a) con un compuesto de fórmula general R¹⁶-X en la que R¹⁶ es como se ha definido anteriormente y X es un grupo saliente tal como un haluro, en presencia de una base como carbonato de cesio u óxido de plata (I) proporciona ésteres, es decir G es O (6b). Por otro lado, el aminoácido (6a) puede acoplarse a un segundo aminoácido adecuadamente O-prottegido (6d) usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales como se ha descrito anteriormente, proporcionando (6e). El desplazamiento del grupo éster con un grupo de protección adecuado (6b) proporciona el fragmento (6f) útil para la preparación de compuestos de acuerdo con la presente invención, en los que m y n son 1.

Cuando G es N-Ry, el componente básico protegido P3 o P2 también puede prepararse sobre un soporte sólido como se ilustra en el Esquema 7.

Esquema 7

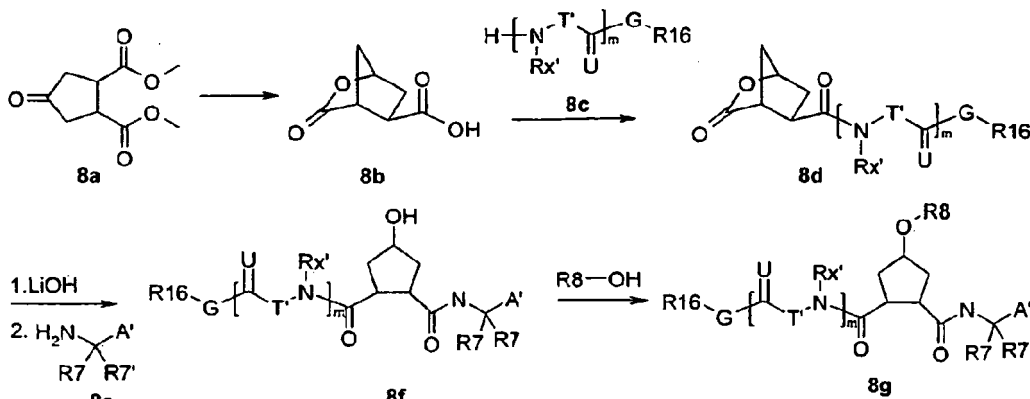


Un aminoácido N-prottegido apropiado (7a), por ejemplo Boc protegido, puede inmovilizarse sobre un soporte sólido, ilustrado en este documento por resina PS-TFP de Agronaut, haciendo reaccionar el aminoácido con el soporte sólido deseado en presencia de un reactivo de acoplamiento como N,N'-diisopropilcarbodiimida y una base como DMAP en un disolvente como diclorometano y dimetilformamida. Después, el aminoácido inmovilizado (7b) puede escindirse del soporte con un grupo de protección adecuado (7c) dando de este modo los fragmentos (7d) útiles para la preparación de compuestos de acuerdo con la presente invención en los que m o n es 1. Opcionalmente, el grupo protector amino puede retirarse seguido del acoplamiento de un aminoácido apropiado usando métodos convencionales proporcionando de este modo fragmentos útiles para la preparación de compuestos de acuerdo con la presente invención en los que m y n son 1.

Preparación e incorporación de componentes básicos de P2

Se muestra una ruta típica para los compuestos que contienen una estructura P2 saturada de 5 miembros en el Esquema 8.

Esquema 8



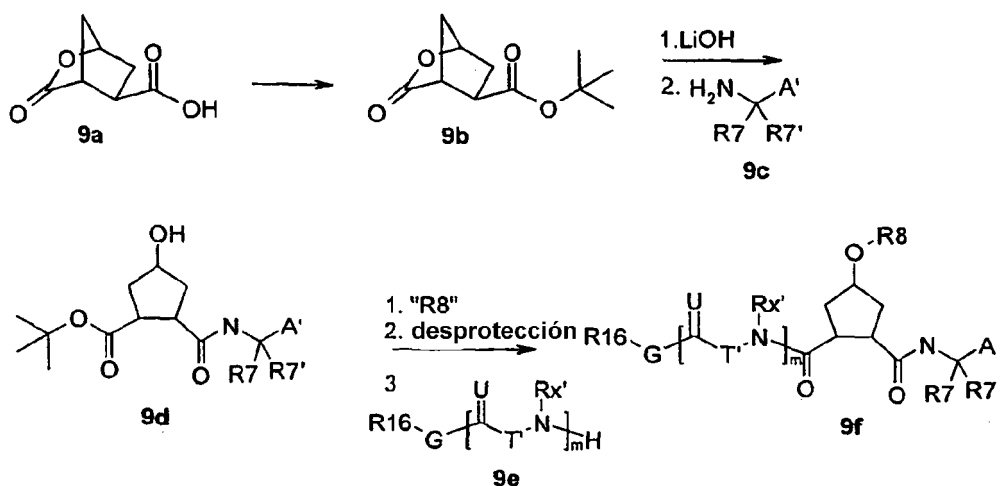
Rx' y T' tienen las mismas definiciones que Rx y T respectivamente pero no son parte de un macrociclo.

A' es un ácido carboxílico protegido, una amida o sulfona amida sustituida o CR₄R₄'.

La estructura cíclica (8b) puede prepararse, por ejemplo, a partir de 3,4-bis(metoxicarbonil)ciclopentanona (8a), como se describe en Rosenquist *et al.* en Acta Chem. Scand. 46 (1992) 1127-1129 mediante la reducción del grupo ceto con un agente de reducción como borohidruro sódico en un disolvente como metanol seguido de hidrólisis de los ésteres y finalmente cierre de anillo en anhídrido acético en presencia de piridina. Después, el ácido bicíclico proporcionado (8b) puede acoplarse a la función amina del fragmento de P3 deseado (8c), el fragmento de P3-P4 o el grupo de protección R¹⁶-NHRy, usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales como con HATU y diisopropil amina en un disolvente como dimetil formamida, dando (8d). La apertura por lactona de (8d) con, por ejemplo, hidróxido de litio proporciona el ácido que posteriormente puede acoplarse al grupo amino de un componente básico P1 o un precursor de un fragmento de P1 deseado (8e), usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales. El sustituyente R⁸ del carbociclo puede introducirse, por ejemplo, por una reacción de Mitsunobu con el alcohol apropiado como se ha descrito anteriormente o por cualquier otro método adecuado descrito anteriormente. Cuando R⁷, R^{7'} y A' contienen grupos funcionales, éstos están opcionalmente protegidos adecuadamente por métodos que se reconocen por los especialistas en la técnica, véase por ejemplo Bodanzky o Greene citados anteriormente.

El Esquema 9 muestra una ruta alternativa para los compuestos de fórmula VI que contienen una estructura P2 saturada, donde los componentes básicos se introducen en orden inverso, es decir el fragmento de P1 se introduce antes del grupo de protección, el componente básico P3 o el componente básico P3-P4.

Esquema 9



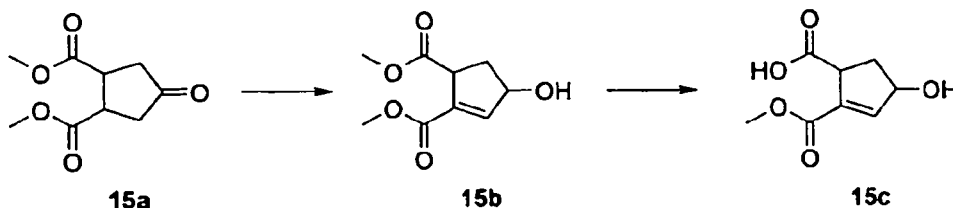
Rx' y T' tienen las mismas definiciones que Rx y T respectivamente pero no son parte de un macrociclo
A' es un ácido carboxílico protegido, una amida o sulfona amida sustituida o CR₄R₄'.

La protección del grupo ácido de (9a), por ejemplo como el éster *tert*-butilico por tratamiento con dicarbonato de di-*tert*-butilo en presencia de una base como dimetilaminopiridina y trietilamina en un disolvente como diclorometano proporciona el éster (9b). La apertura por lactona y el acoplamiento de un componente básico P1 (9c) como se describe en el esquema 13 o directamente por el grupo amina del fragmento de P1 proporciona (9d). La introducción del sustituyente R⁸ como se ha descrito anteriormente seguido de la retirada del grupo de protección de ácido sometiendo el éster a condiciones ácidas como ácido trifluoroacético y trietilsilano en un disolvente como cloruro de metileno y finalmente el acoplamiento del componente básico P3 (9e), el componente básico P3-P4 o el grupo de protección R¹⁶-NHRy, como se ha descrito anteriormente, proporciona (9f). Cuando R⁷, R^{7'} y A' contienen grupos funcionales, éstos están opcionalmente adecuadamente protegidos por métodos que se reconocen por especialistas en la técnica, véase por ejemplo Bodanzky o Greene citados anteriormente.

Una estructura P2 insaturada para usarse en la preparación de compuestos de fórmula VI puede prepararse como se ilustra con ciclopenteno a continuación.

La estructura de ciclopenteno se prepara típicamente como se describe en el esquema 10.

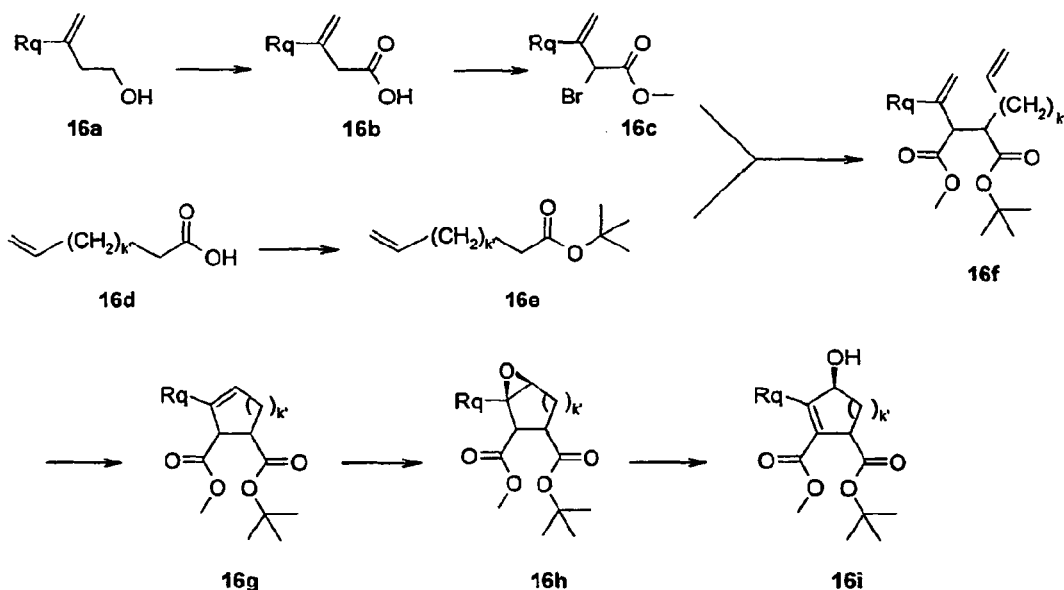
Esquema 10



Una reacción de bromación-eliminación de la 3,4-bis(metoxicarbonil)ciclopentanona (10a) como se describe en Dolby *et al.* en J. Org. Chem. 36 (1971) 1277-1285 seguido de la reducción de la funcionalidad ceto con un agente de reducción como borohidruro sódico proporciona el compuesto hidroxil insaturado (10b). La hidrólisis selectiva del éster usando, por ejemplo, hidróxido de litio en un disolvente como una mezcla de dioxano y agua proporciona el derivado monoéster hidroxil sustituido (10c).

Puede prepararse una estructura básica P2 insaturada en la que Rq es distinto de hidrógeno, tal como una estructura de ciclopenteno metilada, como se muestra en el esquema 11.

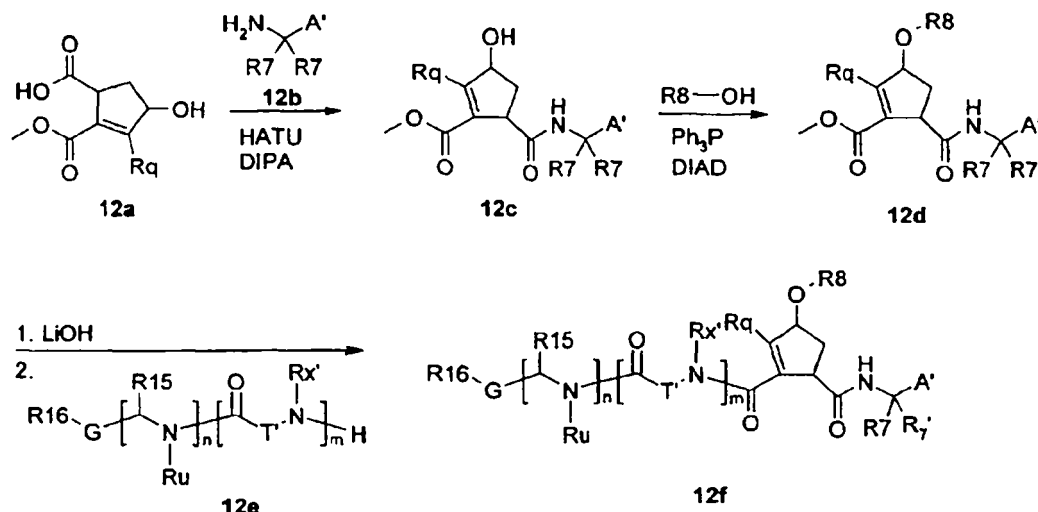
Esquema 11



La oxidación del 3-metil-3-buten-1-ol (11a) disponible en el mercado por el uso de un agente de oxidación como clorocromato de piridinio seguido de tratamiento con cloruro de acetilo, bromo y metanol proporciona el α -bromo éster (11c). Después, el éster producido (11c) puede hacerse reaccionar con el enolato (11e), que se consigue por ejemplo por tratamiento del éster *tert*-butilico correspondiente con una base tal como diisopropil amida de litio en un disolvente como tetrahidrofurano, para dar el compuesto alquilado (11f). El éster *tert*-butilico (11e) puede prepararse por tratamiento del ácido disponible en el mercado correspondiente (11d) en el que k' es de 1 a 3 con dicarbonato de di-*tert*-butilo en presencia de una base como dimetilaminopiridina. La ciclación de (11f) por una reacción de metátesis de olefina realizada como se ha descrito anteriormente proporciona el derivado de ciclopenteno (11g). La epoxidación estereoselectiva de (11g) puede realizarse usando el método de epoxidación asimétrica de Jacobsen para formar el epóxido (11h). Finalmente, la adición de una base como DBN (1,5-diazabicyclo-[4,3,0]non-5-eno) produce el alcohol (11i). Opcionalmente, el doble enlace del compuesto (11i) puede reducirse por ejemplo por hidrogenación catalítica usando un catalizador como paladio sobre carbono que proporciona el compuesto saturado correspondiente.

Después, la estructura cíclica producida puede usarse, como se ha descrito anteriormente, para completar la secuencia inhibidora. Un ejemplo se muestra en el esquema 12.

Esquema 12

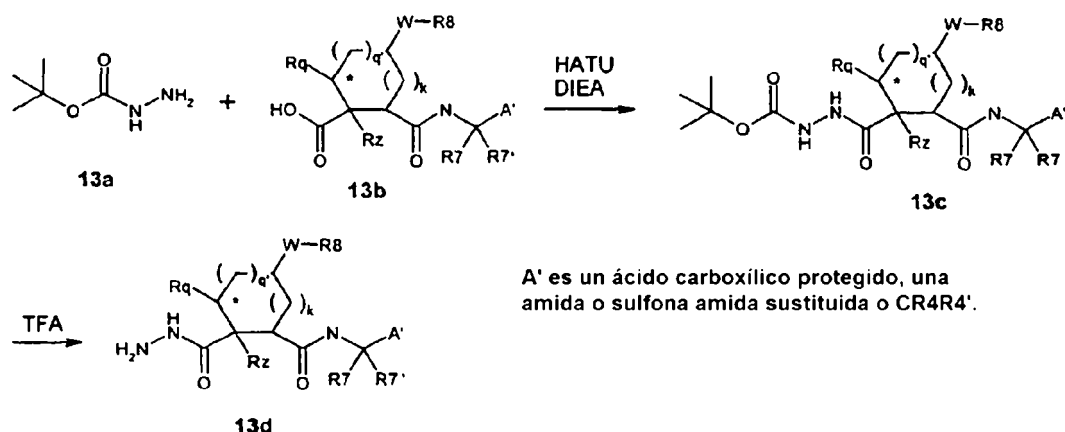


Rx' y T' tienen las mismas definiciones que Rx y T respectivamente pero no son parte de un macrociclo.
A' es un ácido carboxílico protegido, una amida o sulfona amida sustituida o CR₄R₄'.

El grupo amino de un componente básico P1 o un precursor adecuado del mismo (12b) puede acoplarse al ácido del derivado de ciclopenteno (12a) usando condiciones de acoplamiento de amida convencionales tales como usando HATU en presencia de una diisopropil fenilamina o similar seguido de la introducción del sustituyente R⁸, por ejemplo, por condiciones de Mitsunobu como se ha descrito anteriormente para proporcionar (12d). La hidrólisis del éster restante y el acoplamiento de amida posterior de un componente básico P3 o P3-P4 (12e) opcionalmente seguido de manipulaciones de la parte P1 proporcionan compuestos que contienen ciclopenteno (12f) de acuerdo con la fórmula general VI. Cuando R⁷, R^{7'} y A' contienen grupos funcionales, éstos están opcionalmente protegidos adecuadamente por métodos que se reconocen por los especialistas en la técnica, véase, por ejemplo Bodanzky o Greene citados anteriormente.

Los compuestos que tienen un grupo de protección que contiene hidrazina unido directamente al resto P2, es decir P3 y P4 están ausentes y G es NR_jNR_j, pueden prepararse como se representa en el Esquema 13.

Esquema 13



A' es un ácido carboxílico protegido, una amida o sulfona amida sustituida o CR₄R₄'.

La reacción de carbazato de *tert*-butilo (13a), opcionalmente alquilo sustituido en uno o ambos nitrógenos, con el ácido (13b) en condiciones de acoplamiento de péptidos como HATU y DIEA en un disolvente como DMF proporciona 9Ac. La retirada opcional del grupo boc por procedimientos convencionales como tratamiento ácido con, por ejemplo, TFA en un disolvente adecuado tal como diclorometano, proporciona el derivado que contiene hidrazina (13d). Como alternativa, cualquier derivado de hidrazina apropiado, tal como morfolin-1-ilamina, piperidin-1-ilamina o similares puede enlazarse al ácido (13b) en lugar del derivado de carbazato de *tert*-butilo.

10

15



30

35

40

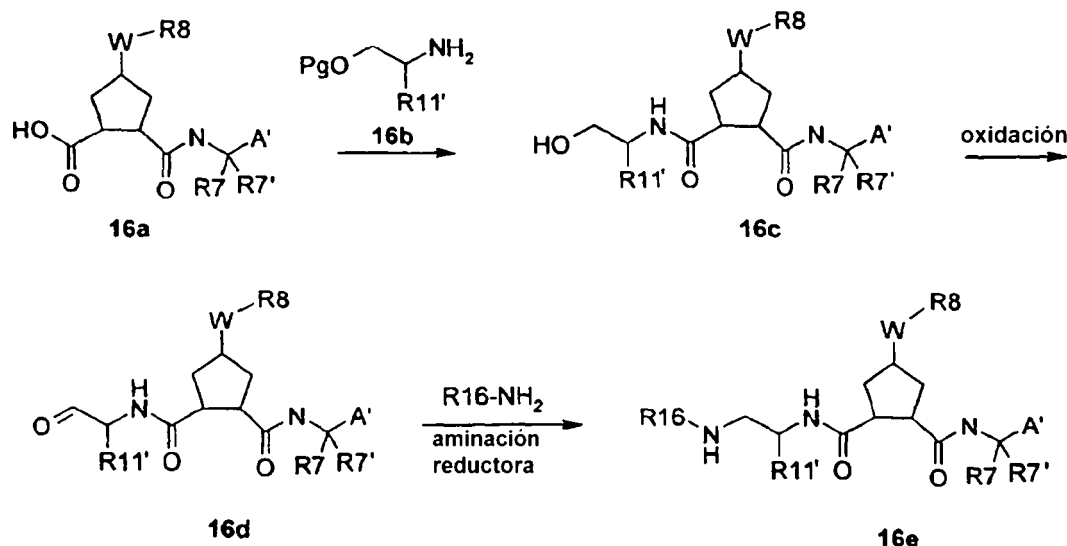


60

65

El esquema 16 muestra una ruta alternativa con respecto a los compuestos que carecen de un grupo carboxi en la unidad P3

Esquema 16



R11' tiene la misma definición que R11 pero no es parte de un macrociclo.

A' es un ácido carboxílico protegido, una amida o sulfona amida sustituida o CR₄R₄'.

En lugar de usar el derivado de azida (15b) en el esquema 15, puede usarse el derivado de hidroxilo opcionalmente protegido (16b) correspondiente en el acoplamiento con el ácido (16a) y de este modo introducir un alcohol primario. Después, el alcohol (16c) puede, después de la desprotección opcional, oxidarse con un agente oxidante adecuado como por ejemplo peryodinano de Dess-Martin para formar el aldehído correspondiente. La reacción del aldehído con una amina deseada en una reacción de aminación reductora usando un reactivo como por ejemplo cianoborohidruro unido a poliestireno en un disolvente como THF proporciona los derivados de amina (16e).

Como alternativa, el alcohol (16c) puede hacerse reaccionar con un agente acilante o de alquilación adecuado en las condiciones apropiadas para proporcionar compuestos éster y éter respectivamente, es decir G es O en la fórmula general VI.

La reacción posterior del alcohol formado con un agente de acilación o de alquilación adecuado usando las condiciones apropiadas proporciona los compuestos de éster y éter respectivamente, es decir G es O en la fórmula general VI.

Aunque los esquemas 15 y 16 se han descrito con referencia a un derivado de ciclopentano, es decir q' es 0 y k es 1 en la Fórmula VI, será fácilmente evidente que la metodología correspondiente es aplicable para otros compuestos de la Fórmula VI.

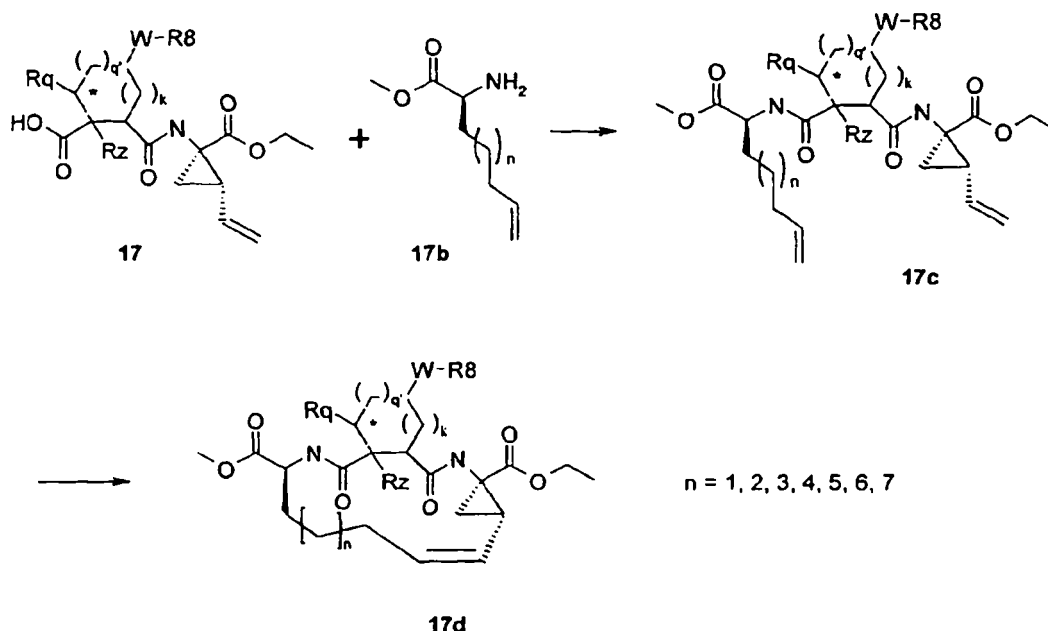
Cuando R⁷, R^{7'} y A' contienen grupos funcionales, éstos están adecuadamente protegidos mediante métodos que se reconocen por los especialistas en la técnica, véase por ejemplo Bodanzky o Greene citados anteriormente.

Formación de compuestos macrocíclicos

Los compuestos de acuerdo con la presente invención en los que una cadena alquileo se extiende desde el cicloalquilo R⁷/R^{7'} hasta Rx, Rd o R¹¹ formando de este modo un macrociclo, pueden prepararse como se describe a continuación. Los componentes básicos P1, P2 y P3 adecuados, o precursores de los mismos, se acoplan juntos usando las estrategias que se han descrito anteriormente seguido de una reacción de cierre de anillo (macro ciclación). El sustituyente W-R⁸ del componente básico P2 puede incorporarse por una reacción de Mitsunobu como se ha descrito anteriormente, antes o después de la formación del macrociclo, o el conjunto puede realizarse con el análogo de prolina o carbociclo sustituido que se requiere. Para las estructuras macrocíclicas que se extienden desde el cicloalquilo R⁷/R^{7'} hasta R¹¹, pueden prepararse aminoácidos P3 que contienen la cadena lateral apropiada como se describe en el documento WO00/59929.

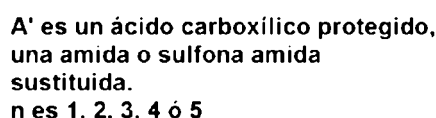
Se muestra una ruta típica para dar compuestos macrocíclicos en el Esquema 17, que ilustra la técnica que se aplica a un compuesto que tiene un P1 espiro-ciclopropilo, donde el macrociclo incorpora la cadena lateral P3.

Esquema 17



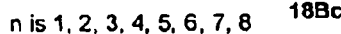
El acoplamiento del derivado de ácido (17a) con el aminoácido protegido por ácido apropiado (17b) usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales como se ha descrito anteriormente, proporciona (17c). Después, la formación del macrociclo puede realizarse por una reacción de metátesis de olefina usando un catalizador basado en Ru tal como el indicado en Miller, S.J., Blackwell, H.E.; Grubbs, R.H. J. Am. Chem. Soc. 118, (1996), 9606-9614, Kingsbury, J. S., Harrity, J. P. A., Bonitatebus, P. J., Hoveyda, A. H., J. Am. Chem. Soc. 121, (1999), 791-799 y Huang *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 121, (1999), 2674-2678. También se reconocerá que los catalizadores que contienen otros metales de transición tales como Mo pueden usarse para esta reacción. Opcionalmente, el doble enlace se reduce y/o el éster etílico se hidroliza por métodos convencionales de hidrogenación y/o de hidrolización, respectivamente, bien conocidos en la técnica. Como alternativa, éster metílico puede hidrolizarse selectivamente seguido de acoplamiento de un componente básico R¹⁶-G-P4 por condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales. El paso de macrociclación que se ha descrito en el Esquema 17 también puede aplicarse a los análogos carbocíclicos correspondientes que se han descrito anteriormente. Cuando el enlazador contiene un átomo de nitrógeno, el cierre de anillo puede realizarse por aminación reductora como se describe en el documento WO00/59929.

Los compuestos macrocíclicos sin el resto ciclopropilo en la parte P1, es decir, el anillo macrocíclico se extiende directamente desde la estructura peptídica al carbono adyacente R⁷, pueden prepararse usando los métodos que se describen en este documento. Se muestra un ejemplo en el que un derivado cicloalquilo de 5 miembros se usa como la estructura P2 en el esquema 18.



Los componentes básicos que se usan en la preparación de compuestos en los que el macrociclo se extiende desde el nitrógeno amida en el fragmento de P3, es decir, Rx es J en la fórmula general VI, o en la preparación de compuestos en los que los fragmentos de P3 y P4 están ausentes, es decir, m y n son 0 y G es NRj en la fórmula general VI, pueden prepararse típicamente como se describe en el esquema 18B.

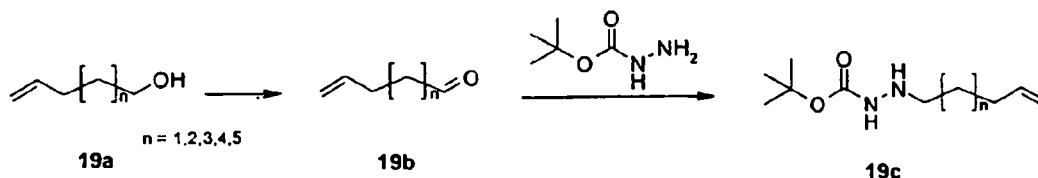
Esquema 18B



30

Pueden prepararse estructuras macrocíclicas que contienen un grupo hidrazina, es decir T es NRd o m y n son 0 y G es NRjNRj, en general de fórmula VI, por unión de un derivado carbazato N-alquilado adecuadamente al fragmento de P2. Pueden prepararse derivados de carbazato alquilado, por ejemplo, como se describe en el Esquema 19.

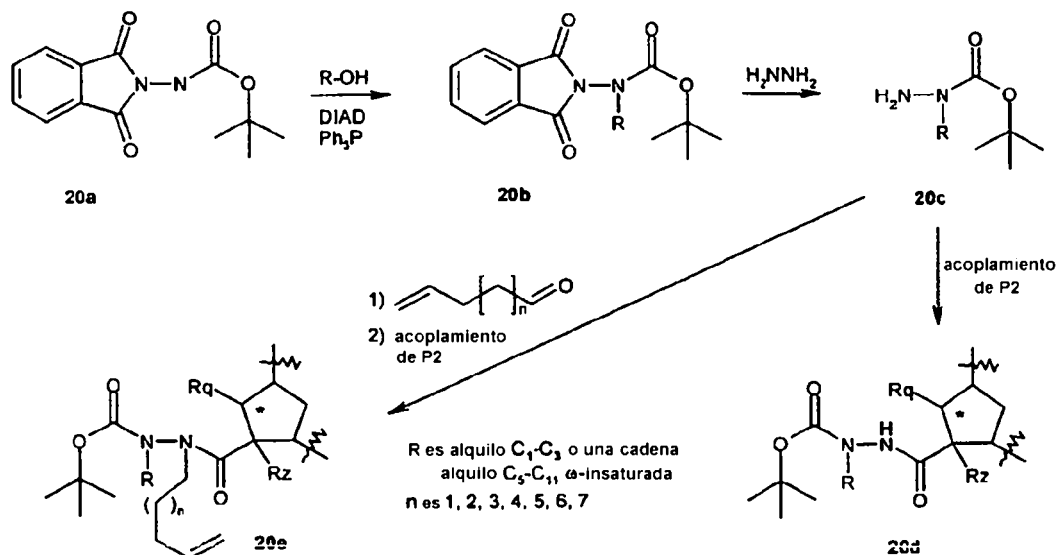
Esquema 19



La oxidación del alcohol apropiado (19a) que se efectúa por un método de oxidación adecuado como, por ejemplo, con óxido de N-metil morfolina y perrutenato de tetrapropilamonio en un disolvente como diclorometano, proporciona el aldehído (19b). La alquilación reductora de carbazato de *tert*-butilo con el aldehído producido da el componente básico N-alquilado deseado (19c). Como alternativa, puede usarse cualquier derivado de hidrazina deseado tal como morfolin-1-ilamina, piperidin-1-ilamina o similares en lugar de carbazato de *tert*-butilo en la reacción con el aldehído 19b.

El Esquema 20 ilustra secuencias sintéticas para dar componentes básicos adecuados para la preparación de compuestos en los que el nitrógeno “exterior” del grupo hidrazina está alquilado, con una cadena alquilo ω -insaturada apropiada para la formación posterior de un macrociclo o con cualquier otro grupo alquilo adecuado.

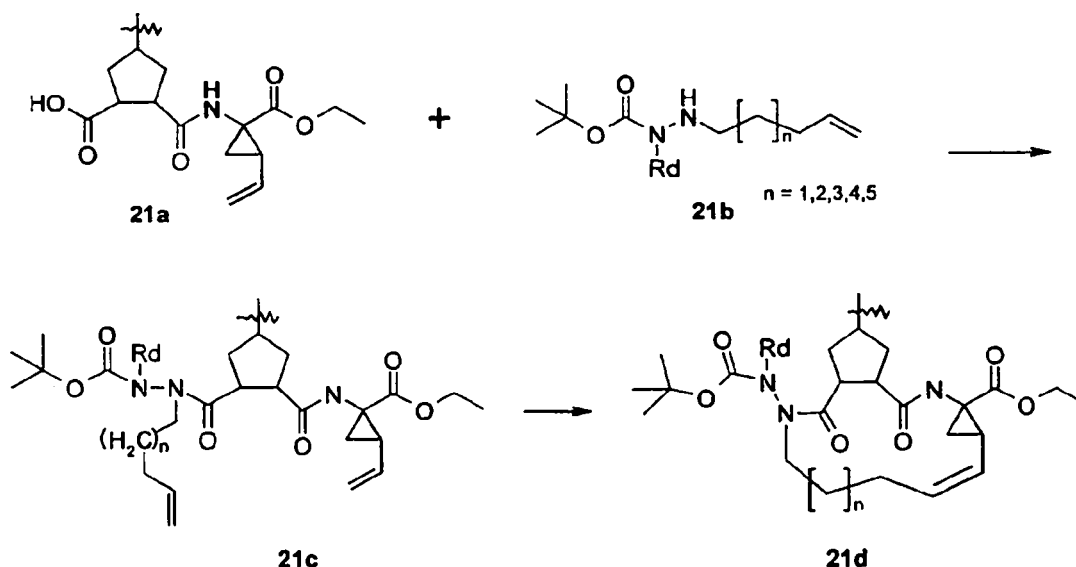
Esquema 20



La reacción de un derivado de hidrazina adecuadamente protegido, por ejemplo éster *tert*-butílico del ácido (1,3-dioxo-1,3-dihidro-isonidol-2-il)-carbámico (20a), que puede prepararse fácilmente por un especialista en la técnica, con un alcohol deseado, R-OH, en condiciones de Mitsunobu proporciona el compuesto de hidrazina N-alquilado (20b). La retirada del grupo ftalimido efectuada por tratamiento con hidrazina o un derivado de la misma tal como hidrato de hidrazina o acetato de hidrazina proporciona el carbazato (20c). Después, la amina primaria producida puede acoplarse a cualquier fragmento de P2 deseado usando cualquiera de los métodos que se han descrito anteriormente para dar 20d o, como alternativa, puede alquilarse adicionalmente usando, por ejemplo, el método de aminación reductora que se ha descrito en el esquema 19 seguido de acoplamiento a un fragmento de P2 como se ha descrito anteriormente para dar 20e.

El Esquema 21 ilustra el acoplamiento de un componente básico P3 que contiene hidrazina en una estructura de ciclopentano seguido de macrociclación.

Esquema 21



El acoplamiento del derivado de carbazato (21b) al componente básico P2-P1 (21a) usando condiciones de acoplamiento de péptidos convencionales proporciona el intermedio (21c). El cierre de anillo de (21c) por una reacción de metátesis de olefina como se describe en el esquema 18 da el compuesto macrocíclico (21d).

El término “grupo protector de N” o “N-prottegido”, como se usa en este documento, se refiere a los grupos que pretenden proteger el extremo N de un aminoácido o péptido o proteger un grupo amino frente a reacciones indeseables durante procedimientos sintéticos. Los grupos protectores de N usados comúnmente se describen en Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis” (John Wiley and Sons, Nueva York, 1981), los cuales se incorporan en este documento como referencia. Los grupos protectores de N incluyen grupos acilo tales como formilo, acetilo, propionilo, pivaloilo, t-butilacetilo, 2-cloroacetilo, 2-bromoacetilo, trifluoracetilo, tricloro-acetilo, ftalilo o-nitrofenoxiacetilo, α -clorobutirilo, benzoilo, 4-clorobenzoilo, 4-bromobenzoilo, 4-nitrobenzoilo y similares; grupos sulfonilo tales como bencenosulfonilo, p-toluenosulfonilo y similares, grupos que forman carbamato tales como benciloxicarbonilo, p-clorobenciloxicarbonilo, p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo, p-bromobenciloxicarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 2-nitro-4,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, 3,4,5-trimetoxibenciloxicarbonilo, 1-(p-bifenilil)-1-metiletoxicarbonilo, α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, benzhidriloxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, diisopropilmetoxicarbonilo, isopropiloxicarbonilo, etoxicarbonilo, metoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, fenoxicarbonilo, 4-nitrofenoxicarbonilo, fluorenil-9-metoxicarbonilo, ciclopentiloxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, ciclohexiloxicarbonilo, feniltiocarbonilo y similares; grupos alquilo tales como bencilo, trifenilmetilo, benciloximetilo y similares; y grupos sililo tales como trimetilsililo y similares. Los grupos protectores de N preferidos incluyen Fmoc, formilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo, t-butilacetilo, fenilsulfonilo, bencilo, t-butoxicarbonilo (BOC) y benciloxicarbonilo (Cbz).

El grupo protector de hidroxilo, como se usa en la presente memoria, se refiere a un sustituyente que protege los grupos hidroxilo frente a reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos tales como los de los grupos O-protectores que se describen en Greene, “Protective Groups In Organic Synthesis,” (John Wiley and Sons, Nueva York (1981)). Los grupos protectores de hidroxilo comprenden éteres metílicos sustituidos, por ejemplo, metoximetilo, benciloximetilo, 2-metoxietoximetilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo, t-butilo y otros éteres de alquilo inferior, tales como isopropilo, etilo y especialmente metilo, bencilo y trifenilmetilo; éteres de tetrahidropirano; éteres etílicos sustituidos, por ejemplo, 2,2,2-tricloroetilo; éteres de sililo, por ejemplo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo y t-butildifenilsililo; y éteres preparados haciendo reaccionar el grupo hidroxilo con un ácido carboxílico, por ejemplo, acetato, propionato, benzoato y similares.

En condiciones de tratamiento causadas por flavivirus tales como el VHC, los compuestos de fórmula VI se administran típicamente en una cantidad para conseguir el nivel en plasma de aproximadamente 100 a 5000 nM, tal como de 300 a 2000 nM. Esto corresponde a una velocidad de dosificación, dependiendo de la biodisponibilidad de la formulación, del orden de 0,01 a 10 mg/kg/día, preferiblemente de 0,1 a 2 mg/kg/día. Una velocidad de dosificación típica para un adulto normal será de aproximadamente 0,05 a 5 g por día, preferiblemente de 0,1 a 2 g tal como 500-750 mg, en una a cuatro unidades de dosificación por día. Como con todas las composiciones farmacéuticas, la velocidad de dosificación variará con el tamaño y la condición metabólica del paciente así como con la gravedad de la infección y puede ser necesario el ajuste para medicaciones concomitantes.

Como es buena práctica en la prescripción con terapia antiviral, los compuestos de fórmula I se coadministran típicamente con otras terapias del VHC para evitar la generación de mutantes de escape a fármacos. Los ejemplos de dichas terapias antivirales del VHC adicionales incluyen ribavirina, interferones, incluyendo los interferones pegilados. Adicionalmente una cantidad de nucleósidos análogos e inhibidores de proteasa se encuentran en desarrollo clínico o preclínico y podrán coadministrarse con los compuestos de la invención.

Por consiguiente un aspecto adicional de la invención proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula I y al menos un antiviral del VHC adicional en una unidad de dosificación común, tal como cualquiera de las formas de dosificación descritas a continuación, pero especialmente un comprimido o cápsula administrado por vía oral o una suspensión o solución líquida para uso oral o por inyección. Un aspecto adicional de la invención proporciona un método para el tratamiento o profilaxis de la infección por flavivirus, tal como el VHC, que comprende la administración simultánea o secuencia de un compuesto de fórmula I y al menos un antiviral del VHC adicional. Un aspecto relacionado de la invención proporciona un envase para el paciente que comprende una primera composición farmacéutica, preferiblemente en forma de dosificación unitaria, del compuesto de fórmula I y una segunda composición farmacéutica de un segundo antiviral del VHC, típicamente también en forma de dosificación unitaria y generalmente en un recipiente separado dentro del envase para el paciente. Un envase para el paciente se proporcionará convenientemente también con instrucciones impresas en el envasado o en un recipiente en su interior o en un prospecto, para la administración simultánea o secuencial de las composiciones farmacéuticas respectivas.

Muchos pacientes con VHC se encuentran co-infectados, o son propensos a la superinfección con otras enfermedades infecciosas. Por consiguiente, un aspecto adicional de la invención proporciona terapias de combinación que comprenden el compuesto de la invención co-formulado en la misma unidad de dosificación o co-envasado con al menos un compuesto farmacéutico antiinfeccioso adicional. El compuesto de la infección y el al menos un compuesto antiinfeccioso adicional se administran de manera simultánea o secuencial, típicamente a dosis que se corresponden con la dosis de monoterapia para el agente en cuestión. Sin embargo, determinados compuestos antiinfecciosos pueden inducir una respuesta sinérgica, que permite que uno o ambos de los ingredientes activos se administre a una dosis inferior a la de la monoterapia correspondiente. Por ejemplo, en fármacos con tendencia a un metabolismo rápido por Cyp3A4, la co-dosificación con ritonavir inhibidor de la proteasa del VIH ritonavir puede permitir la administración de regímenes de dosificación mas bajos.

Las coinfecciones o superinfecciones típicas con el VHC incluyen el virus de la hepatitis B o el VIH. Por consiguiente el compuesto de la invención se co-administra ventajosamente (en la misma unidad de dosificación, unidad de dosificación prescrita por separado o co-envasada) con al menos un antiviral del VIH y/o al menos un antiviral del VHB.

Los antivirales del VIH representativos incluyen NRTI tales como alovudina (FLT), zudovudina (AZT, ZDV), stavudina (d4T, Zerit), zalcitabina (ddC), didanosina (ddl, Videx), abacavir, (ABC, Ziagen), lamivudina (3TC, Epivir), emtricitabina (FTC, Emtriva), raltegravir (FTC racémico), adefovir (ADV), entacavir (BMS 200475), alovudina (FLT), tenofovir disoproxil fumarato (TNF, Viread), amdoxavir (DAPD), D-d4FC (DPC-817), - dOTC (Shire SPD754), elvucitabina (Achlorion ACH-126443), BCH 10681 (Shire) SPD-756, raltegravir, D-FDOC, GS7340, INK-20 (tioéter fosfolípido AZT, Kucera), 2',3'-dideoxi-3'-fluoroguanosina (FLG) y sus profármacos tales como MIV-210, reverset (RVT, D-D4FC, Pharmasset DPC-817).

Los NNRTI representativos incluyen delavirdina (Rescriptor), efavirenz (DMP-266, Sustiva), nevirapina (BIRG-587, Viramune), (+)calanolide A y B (Advanced Life Sciences), capravirina (AG1549f S-1153; Pfizer), GW-695634 (GW-8248; GSK), MIV-150 (Medivir), MV026048 (R-1495; Medivir AB/Roche), NV-05 2 2 (Idenix Pharm.), R-278474 (Johnson & Johnson), RS-1588 (Idenix Pharm.), TMC-120/125 (Johnson & Johnson), TMC-125 (R-165335; Johnson & Johnson), UC-781 (Biosyn Inc.) e YM215389 (Yamanoushi).

Los inhibidores de proteasa de VIH representativos incluyen PA-457 (Panacos), KPC-2 (Kucera Pharm.), 5 HGTV-43 (Enzo Biochem), amprenavir (VX-478, Agenerasa), atazanavir (Reyataz), indinavir sulfato (MK-639, Crixivan), Lexiva (fosamprenavir cálcico, GW - 433908 ó 908, VX-175), ritonavir (Norvir), lopinavir + ritonavir (ABT-378, Kaletra), tipranavir, nelfinavir mesilato (Viracept), saquinavir (Invirasa, Fortovasa), AG1776 (JE-2147, KNI-764; Nippon Mining Holdings), AG-1859 (Pfizer), DPC-681/684 (BMS), GS224338; Gilead Sciences), KNI-272 (Nippon Mining Holdings), Nar-DG-35(Narhex), P (PL)- 100 (P-1946; Procyon Biopharma), P-1946 (Procyon Biopharma), R-944 (Hoffmann-LaRoche), RO-0334649 (Hoffmann-LaRoche), TMC-114 (Johnson & Johnson), VX-385 (GW640385; GSK/Vertex), VX-478 (Vertex/GSK).

Otros antivirales del VIH incluyen inhibidores de entrada, que incluyen inhibidores de fusión, inhibidores del receptor de CD4, inhibidores del co-receptor de CCR5 e inhibidores del co-receptor de CXCR4 o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptables de los mismos. Son ejemplos de inhibidores de entrada AMD-070 (AMD11070; AnorMed), BlockAide/CR (ADVENTRX Pharm.), BMS 806 (BMS-378806; BMS), Enfuvirtide (T-20, R698, Fuzeon), KHR1636 (Kureha Pharmaceuticals), ONO-4128 (GW-873140, AK-602, E-913; ONO Pharmaceuticals), Pro-140 (Progenics Pharm), PRO542 (Progenics Pharm.), SCH-D (SCH-417690; Schering-Plough), T-1249 (R724; Roche/Trimeris), TAK-220 (Takeda Chem. Ind.), TNX-355 (Tanox) y UK-427,857 (Pfizer). Ejemplos de inhibidores de integrasa son L-870810 (Merck & Co.), c-2507 (Merck & Co.) y S(RSC)-1838 (shionogi/GSK).

Los ejemplos de antivirales del VHB incluyen adefovir dipivoxil (Hepsera), y especialmente lamivudina y 2'3'-dideoxi-3'-fluoroguanosina (FLG) y sus profármacos tales como MIV-210, el profármaco 5'-O-valil-L-lactil de FLG. Estos últimos antivirales del VHB son particularmente convenientes ya que también son activos frente al VIH.

Aunque es posible que el agente activo se administre en solitario, es preferible presentarlo como una parte de una formulación farmacéutica. Dicha formulación comprenderá el agente activo definido anteriormente junto con uno o más vehículos o excipientes aceptables y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El vehículo (o vehículos) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor.

Las formulaciones incluyen las que son adecuadas para la administración rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual) vaginal o parenteral, (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradermal), pero preferiblemente la formulación es una formulación administrada por vía oral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en formas de dosificación unitaria, por ejemplo comprimidos y cápsulas de liberación prolongada, y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica.

Dichos métodos incluyen la etapa de asociar el agente activo definido anteriormente con el vehículo. En general, las formulaciones se preparan para asociar de manera uniforme e íntima el agente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después si es necesario dar forma al producto. La invención se amplía a métodos para preparar una composición farmacéutica que comprende poner en contacto o asociar un compuesto de Fórmula VI o sus sales farmacéuticamente aceptables con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Si la preparación de las formulaciones farmacéuticas implica la mezcla íntima de los excipientes farmacéuticos y el ingrediente activo es en forma de sal, entonces a menudo se prefiere usar excipientes que por naturaleza no son básicos, es decir neutros o ácidos. Las formulaciones para la administración en la presente invención pueden presentarse como unidades separadas tales como cápsulas, obleas o comprimidos que contiene cada una, una cantidad predeterminada del agente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión del agente activo en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de agua en aceite o una emulsión líquida de aceite en agua y como un bolo, etc.

Con respecto a las composiciones para la administración oral (por ejemplo, comprimidos y cápsulas), el término portador adecuado incluye vehículos tales como excipientes comunes por ejemplo agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, polivinilpirrolidona (Povidona), metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa, sacarosa y almidón; rellenos y vehículos, por ejemplo, almidón de maíz, gelatina, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro de sodio y ácido algínico; y lubricantes tales como estearato de magnesio, estearato sódico y otros estearatos metálicos, ácido esteárico, glicerol estearato, silicona líquida, ceras de talco, aceites y sílice coloidal. También pueden usarse agentes saporíferos tales como menta, aceite de gaulteria, saporífero de cereza o similares. Puede desearse añadir un agente colorante para que la forma de dosificación sea fácilmente identificable. Los comprimidos también pueden recubrirse por métodos bien conocidos en la técnica.

Un comprimido puede prepararse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos preparados por compresión pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el agente activo en una forma fluida tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla de un compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden recubrirse opcionalmente o ranurarse y pueden formularse para proporcionar la liberación retardada o controlada del agente activo.

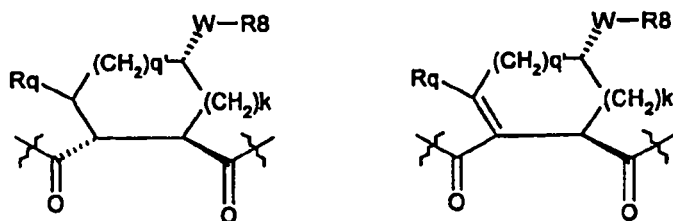
Otras formulaciones adecuadas para la administración oral incluyen grageas que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el agente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia; y elixires bucales que comprenden el agente activo en un vehículo líquido adecuado.

Los compuestos de fórmula VI pueden formar sales que forman un aspecto adicional de la invención. Las sales farmacéuticamente aceptables apropiadas de los compuestos de fórmula I incluyen sales de ácidos orgánicos, especialmente ácidos carboxílicos, incluyendo pero sin limitación acetato, trifluoroacetato, lactato, gluconato, citrato, tartrato, maleato, malato, pantotenato, isetionato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, butirato, digluconato, ciclopentanato, glucoheptanato, glicerofosfato, oxalato, heptanoato, hexanoato, fumarato, nicotinato, palmoato, pectinato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, tartrato, lactobionato, pivolato, canforato, undecanoato y succinato, ácidos sulfónicos orgánicos tales como metanosulfonato, etanosulfonato, 2-hidroxietano sulfonato, canforsulfonato, 2-naftalenosulfonato, bencenosulfonato, p-clorobencenosulfonato y p-toluenosulfonato; y ácidos inorgánicos, tales como clorhidrato, bromhidrato yodhidrato, sulfato, bisulfato, hemisulfato, tiocianato, persulfato, fosfórico y ácido sulfónicos. La invención se extiende adicionalmente a sales de los compuestos de fórmula I que pueden o no ser farmacéuticamente aceptables, pero que son útiles como intermedios sintéticos, desplazándose o reemplazándose el resto de sal si es necesario.

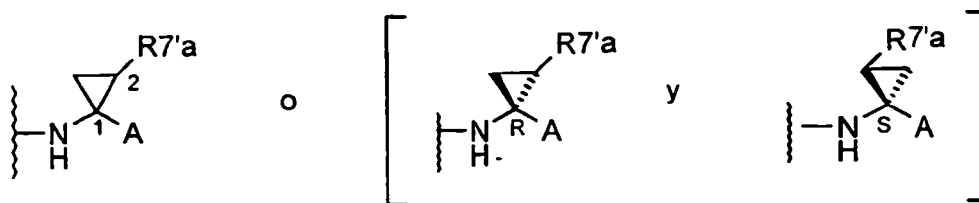
Los compuestos de la invención tienen diversos centros estéricos y la invención se extiende a racematos y enantiómeros de cada uno de estos centros estéricos.

Típicamente, la estereoquímica de los grupos que corresponden a las cadenas laterales P3 y P4 (es decir, R¹⁵ y/o R¹¹) corresponderá a una configuración L-aminoácido, aunque la invención también se extiende a D-isómeros en uno o ambos de estos centros. Es digno de mención que la configuración L es activa independientemente de que la naturaleza del resto E significa que P3 y P4 están trasladados típicamente un átomo con respecto a un polipéptido convencional y el hecho de que la inversión de un residuo peptídico, como se prevé para P3 y P4 entonces lanza la cadena lateral de aminoácido al lado opuesto en comparación con un sustrato de péptido convencional.

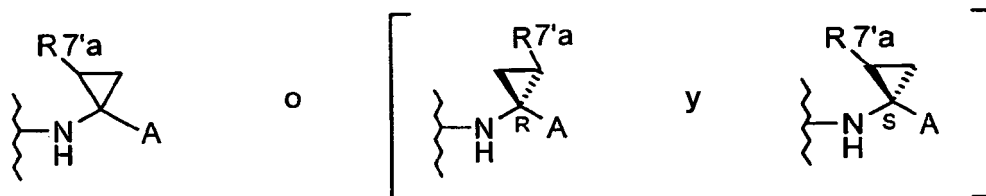
La estereoquímica del componente de cadena principal del grupo P2 cíclico (es decir, que abarca el carbonilo del enlace amida de P1 y el carbonilo que se extiende de P3) típicamente corresponderá a L-prolina. La estereoquímica del átomo en el anillo de P2 al que está unido W es típicamente como se muestra:



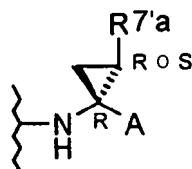
Los compuestos de la invención en los que R⁷ y R^{7'} juntos definen un grupo espiro-alquilo, tal como un espiro-cicloalquilo, típicamente comprenderán un sustituyente R^{7'a} en el anillo espiro-ciclopropilo que está orientado syn con respecto a A:



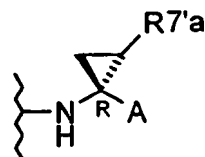
o anti con respecto a A:



De manera conveniente, el carbono espiro de dicho un anillo espiro-ciclopropilo tiene la configuración R:



De manera conveniente, un sustituyente de R^{7'a} en un anillo espiro-ciclopropilo adyacente a A está en una orientación syn en la siguiente configuración absoluta:



Las variantes particularmente preferidas que tienen R^{7a} incluyen etilo, por lo tanto los átomos de carbono asimétricos en la posición 1 y 2 tienen la configuración R, R. Como alternativa, un R^{7a} preferido incluye vinilo, por lo tanto los átomos de carbono asimétricos en la posición 1 y 2 tienen la configuración R, S.

- 5 Cuando el compuesto de la invención es un macrociclo que comprende un grupo J, J es preferiblemente un diastereómero que se representa por estructuras parciales (i) o (ii):



especialmente cuando J es syn con respecto a A.

20 Descripción detallada de las realizaciones

Ahora se describirán diversas realizaciones de la invención únicamente a modo de ilustración con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

25 Ejemplo 1

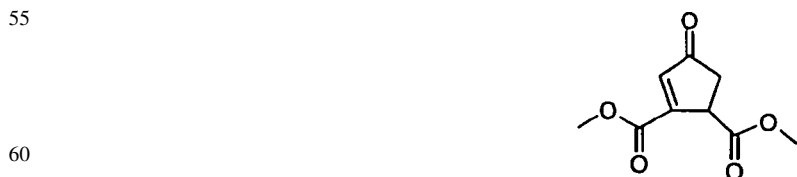


7-Metoxi-2-fenil-quinolin-4-ol (1)

40 A un matraz de vidrio redondo en agitación con tolueno (100 ml) se le añadieron acetato de benzoilo (18,7 g, 97 mmol) y *m*-anisidina (12 g, 97 mmol). Se añadió HCl 4 M en dioxano (0,5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 6 h (140°C). La mezcla se co-evaporó con tolueno. A la mezcla en bruto se le añadió difenil éter (50 ml) y la mezcla se calentó a 280°C durante 2 h. Cuando la cantidad teórica de etanol (6 ml) se recogió en un purgador Dean Stark el calentamiento se detuvo y la mezcla se enfrió a ta. La mezcla en bruto se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml) y se agitó durante 30 min. El precipitado formado se retiró por filtración y se secó, el cual dio 1 (4,12 g, 16,4 mmol, al

45 17%): polvo de color amarillo pálido.
¹H (300 MHz, DMSO-D₆): δ 3,8 (s, 3H), 6,24 (s, 1H), 6,88-6,96 (dd, 1H, *J* = 9,07 Hz, *J* = 2,47 Hz), 7,19 (d, 1H, *J* = 2,19 Hz), 7,56 (t, 3H, *J* = 2,19 Hz), 7,8 (dd, 2H, *J* = 7,14 Hz, *J* = 2,19 Hz), 8,0 (d, 1H, *J* = 9,06 Hz); ¹³C (75,5 MHz, DMSO-D₆): δ 55,3, 99,6, 106,9, 113,1, 119,1, 126,4, 127,5, 128,8, 130,2, 134,1, 142,2, 149,4, 161,8, 176,4.

50 Ejemplo 2



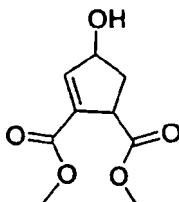
Dimetil éster del ácido (rac)-4-oxociclopent-2-eno-1,2-dicarboxílico (2)

65 Se disolvieron dimetil éster del ácido (1*R*, 2*S*)-4-oxo-ciclopentano-1,2-dicarboxílico (4,8 g, 23,8 mmol) y CuBr₂ (11,9 g, 53,2 mmol) en THF seco (70 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante dos horas a 90°C. El CuBr formado se retiró por filtración y la fase orgánica se concentró. Se añadieron CaCO₃ (2,7 g, 27,2 mmol) y DMF (70 ml) y

ES 2 336 009 T3

la mezcla se mantuvo a 100°C durante una hora. La mezcla de color pardo oscuro se vertió sobre hielo (35 g) y el precipitado formado se retiró por filtración. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (1 x 300 ml + 3 x 150 ml). Las fases orgánicas se secaron, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía ultrarrápida (9:1 de tolueno/EtOAc) dio 2 (2,1 g, al 45%) en forma de cristales de color amarillo.

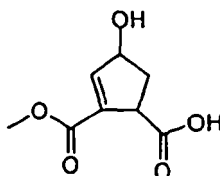
Ejemplo 3



Dimetil éster del ácido ((1S,4R) y (1R,4S))-4-hidroxi-ciclopent-2-eno-1,2-dicarboxílico (3)

A una solución fría (-30°C) de 2 (3,18 g, 16,1 mmol) disuelta en MeOH (23 ml) se le añadió NaBH₄ (0,66 g, 17,5 mmol). Después de nueve minutos, el exceso de NaBH₄ se destruyó añadiendo salmuera (80 ml). La mezcla se concentró y se extrajo con acetato de etilo (4 x 80 ml). Las fases orgánicas se secaron, se filtraron, se concentraron y dieron 3 (3,0 g, al 92%) en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 4

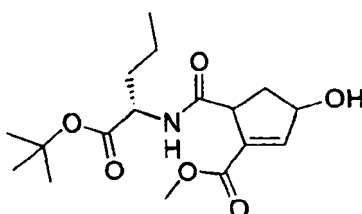


2-Metil éster del ácido (1S,4R) y (1R,4S)-4-hidroxi-ciclopent-2-eno-1,2-dicarboxílico (4)

A una solución enfriada con hielo de 3 (3,4 g, 22 mmol) disuelta en dioxano y agua (1:1, 110 ml) se le añadió LiOH (0,52 g, 22 mmol). Después de dos horas y media, la mezcla se co-evaporó con tolueno y metanol. La purificación por cromatografía ultrarrápida (3:1 de tolueno/acetato de etilo + HOAc al 1%) dio el compuesto del título (1,0 g, al 27%) en forma de cristales de color amarillo-blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 1,78-1,89 (m, 1H), 2,70-2,84 (m, 1H), 3,56-3,71 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 4,81-4,90 (m, 1H), 6,76-6,81 (m, 1H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 38,0, 48,0, 52,4, 75,7, 137,0, 146,2, 165,0 178,4.

Ejemplo 5



Éster metílico del ácido ((3S,5R) y (3R,5S))-5-((S)-1-*tert*-butoxicarbonil-butilcarbamoyl)-3-hidroxi-ciclopent-1-eno-carboxílico (5)

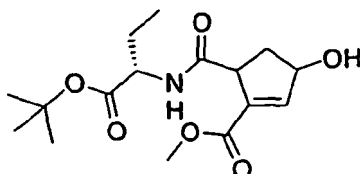
A una solución enfriada con hielo de 4 (0,20 g, 1,1 mmol) y éster *tert*-bútilico del ácido 2-amino-pentanoico (0,24 g, 1,4 mmol) en DMF (7 ml) se le añadieron DIPEA (0,18 g, 1,4 mmol) y HATU (0,53 g, 1,4 mmol). Después de dos

ES 2 336 009 T3

horas, la solución se concentró y se purificó usando cromatografía en columna (3:1 de tolueno/acetato de etilo). Esto dio el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (0,22 g, al 63%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,84-0,96 (m, 3H), 1,14-1,39 (m, 2H), [(1,44 y 1,49) s, 9H], 1,50-1,60 (m, 1H), 1,61-1,85 (m, 1H), 1,97-2,10 (m, 1H), 2,11-2,28 (m, 1H), 3,57-3,68 (m, 1H), [(3,73 y 3,76) s, 3H], 4,30-4,50 (m, 1H), 4,63-4,73 (m, 1H), 6,80-6,95 (m, 1H), 6,95-7,00 (m, 1H).

Ejemplo 6

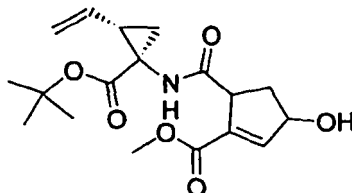


Éster metílico del ácido ((3S,5R) y (3R,5S))-5-((S)-1-terc-butoxicarbonil-propilcarbamoil)-3-hidroxi-ciclopent-1-eno-carboxílico (6)

La reacción de 4 (141 mg, 76 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 5 usando éster *terc*-butílico del ácido L-2-amino-N-butírico en lugar de éster *terc*-butílico del ácido 2-amino-pentanoico dio el compuesto del título en forma de un aceite de color ligeramente amarillo (171 mg, al 69%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,89-0,98 (m, 3H), [(1,42 y 1,44) s, 9H], 1,60-1,78 (m, 1H), 1,79-1,95 (m, 1H), 1,99-2,11 (m, 1H), 2,18-2,30 (m, 1H), 3,58-3,65 (m, 1H), [(3,75 y 3,78) s, 3 H], 4,22-4,39 (m, 1H), 4,61-4,66 (m, 1H), 6,77-6,90 (m, 1H), 6,91-6,92 (m, 1H).

Ejemplo 7

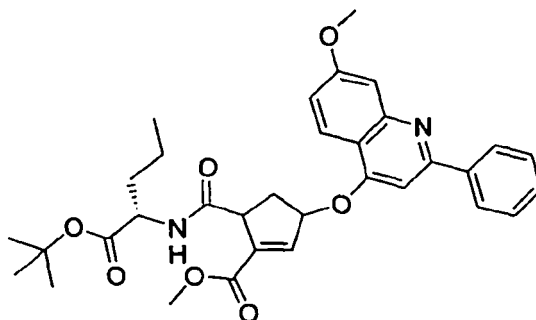


Éster metílico del ácido ((3S,5R) y (3R,5S))-5-((1R,2S)-1-terc-butoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-3-hidroxi-ciclopent-1-enocarboxílico (7)

La reacción de 4 (50 mg, 37 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 5 usando éster *terc*-butílico del ácido (1R,2S)-1-amino-2-vinil-ciclopropano carboxílico en lugar de éster *terc*-butílico del ácido 2-amino-pentanoico proporcionó el compuesto del título en forma de un aceite de color ligeramente amarillo (50 mg, al 38%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ [(1,38 y 1,42) s, 9H], 1,75-1,83 (m, 1H), 2,00-2,21 (m, 3H), 3,55-3,63 (m, 1H), [(3,77 y 3,82) s, 3H], 4,20-4,38 (m, 1H), 4,65-4,80 (m, 1H), 5,13-5,20 (m, 1H), 5,22-5,38 (m, 1H), 5,60-5,82 (m, 1H), 6,95-6,96 (m, 2H).

Ejemplo 8

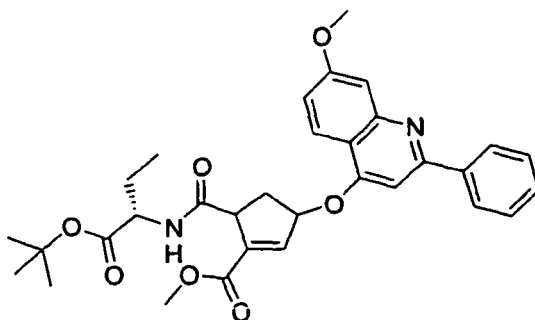


Éster metílico del ácido ((3R,5R) y (3S,5S))-5-((S)-1-terc-butoxicarbonil-butylcarbamoil)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarboxílico (8)

A una solución enfriada con hielo de 5 (0,23 g, 0,67 mmol) en THF seco se le añadieron 7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-ol (0,22 g, 0,88 mmol) y trifenilfosfina (0,23 g, 0,88 mmol). Después, se disolvió DIAD (0,19 g, 0,92 mmol) en THF (2 ml) y se añadió gota a gota a la solución. Después de una hora, la mezcla se concentró y se purificó usando cromatografía ultrarrápida (2:1 de tolueno/acetato de etilo). Esto dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco (0,30 g, al 77%).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,88-1,00 (m, 3H), 1,18-1,43 (m, 2H), [(1,45 y 1,50) s, 9H], 1,53-1,65 (m, 1H), 1,66-1,85 (m, 1H), 2,29-2,43 (m, 1H), 3,10-3,25 (m, 1H), [(3,79 y 3,83) s, 3H], 3,97 (s, 3H), 4,05-4,20 (m, 1H), 4,38-4,50 (m, 1H), 6,03-6,13 (m, 1H), 6,65-6,90 (m, 1H), 7,04-7,18 (m, 3H), 7,40-7,56 (m, 4H), 8,00-8,12 (m, 3H).

Ejemplo 9

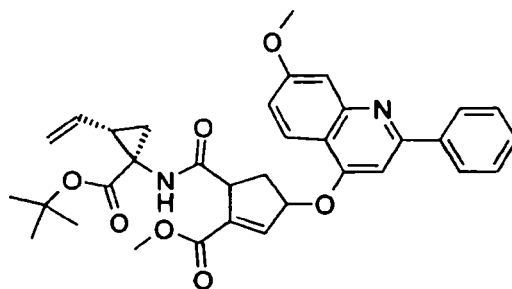


Éster metílico del ácido ((3R,5R) y (3S,5S))-5-((S)-1-terc-butoxicarbonil-propilcarbamoil)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarboxílico (9)

La reacción de 6 (132 mg, 40 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 8 dio el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (137 mg, al 61%).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,83-0,98 (m, 3H), [(1,42 y 1,44) s, 9H], 1,65-1,78 (m, 1H), 1,80-1,97 (m, 1H), 2,30-2,40 (m, 1H), 3,05-3,20 (m, 1H), [(3,78 y 3,80) s, 3H], 3,94 (s, 3H), 3,95-4,01 (m, 1H), 4,38-4,44 (s, 1H), 6,05-6,15 (m, 1H), 6,80-6,94 (m, 1H), 7,02-7,15 (m, 3H), 7,38-7,55 (m, 4H), 7,97-8,18 (m, 3H).

Ejemplo 10

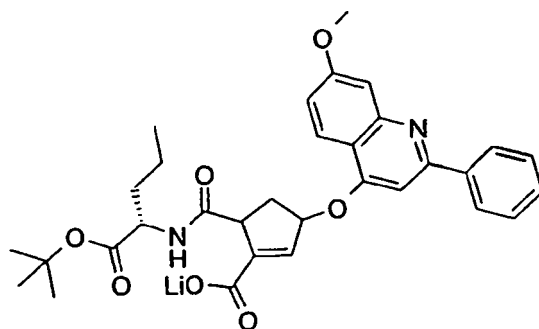


Éster metílico del ácido ((3R,5R) y (3S,5S))-5-((1R,2S)-1-*tert*-butoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoyl)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarboxílico (10)

La reacción de 7 (41 mg, 116 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 8 proporcionó el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,52-1,57 (m, 1H), 1,58 (m, 9H), 1,80-1,83 (m, 1H), 2,00-2,17 (m, 1H), 2,20-2,38 (m, 1H), 3,20-3,37 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,81-3-3,98 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 5,12-5,20 (m, 1H), 5,22-5,40 (m, 1H), 5,63-5,80 (m, 1H), 6,05-6-20 (m, 1H), 7,00-7,21 (m, 4H), 7,40-7,58 (m, 4H), 8,02-8,18 (m, 3H).

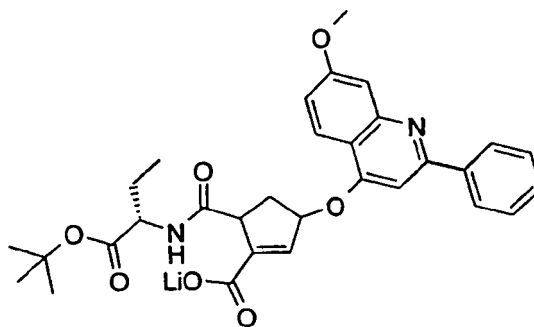
Ejemplo 11



Ácido ((3R,5R) y (3S,5S))-5-((S)-1-*tert*-butoxicarbonil-butylcarbamoyl)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarboxílico (11)

El éster metílico 8 (0,35 g, 0,61 mmol) se disolvió en dioxano/agua (1:1, 7 ml) y se añadió LiOH (0,031 g, 1,3 mmol). La reacción se agitó durante una noche y después se co-concentró. Esto dio la sal litio de 11 (0,32 g, al 90%) en forma de un polvo de color pardo.

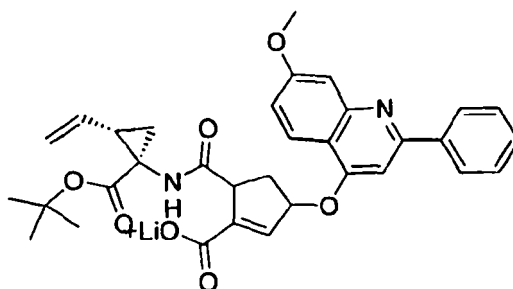
Ejemplo 12



Ácido ((3R,5R) y (3S,5S))-5-((S)-1-*tert*-butoxicarbonil-propylcarbamoyl)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarboxílico (12)

La reacción de 9 (225 mg, 40 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 11 proporcionó el compuesto del título en forma de una sal de color amarillo (157 mg, al 72%).

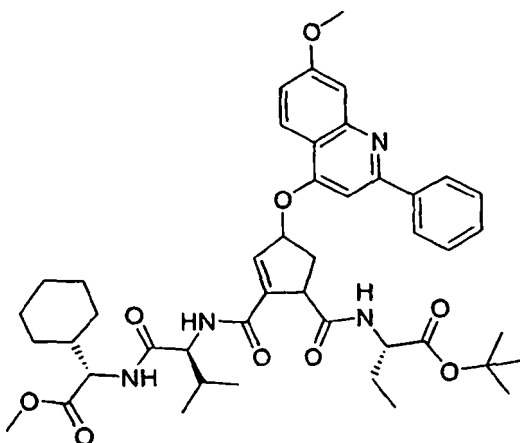
Ejemplo 13



Ácido ((3R,5R) y (3S,5S))-5-((1R,2S)-1-terc-butoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarboxílico (13)

La reacción de 10 (35 mg, 59 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 11 (33 mg, al 97%) proporcionó el compuesto del título en forma de una sal de color amarillo.

Ejemplo 14

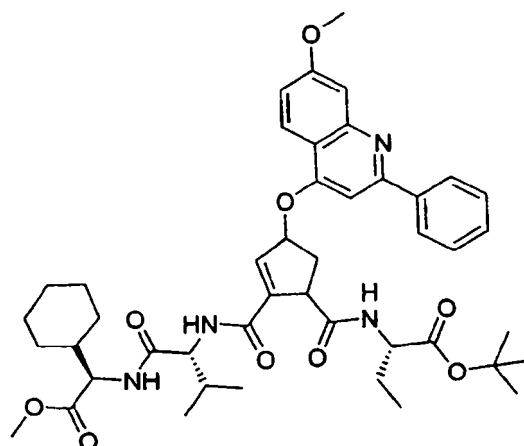


Éster terc-butílico del ácido (S)-2-[[[(1S,4S) y (1R,4R))-2-[(S)-1-[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarboxil]-amino}-butírico (14)

El ácido 12 (38,4 mg, 0,070 mmol) y el éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)-ciclohexil acético (26,6 mg, 0,098 mmol) se disolvieron en DMF (1,5 ml) y se enfriaron en un baño de hielo. Se añadieron DIPEA (17,1 μ l, 0,098 mmol) y HATU (37,4 mg, 0,098 mmol). Después de noventa minutos, la mezcla se co-concentró con tolueno y metanol y después se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (6:1 de tolueno/acetato de etilo). La purificación adicional se realizó por HPLC (MeOH al 90% + TEA al 0,2%). La mezcla diastereomérica 14 se concentró y dio un sólido de color ligeramente amarillo (20,6 mg, al 37%). Después de la liofilización, se recogió 14 en forma de un polvo de color blanco.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,93-1,02 (m, 9H), 1,03-1,25 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,65-1,86 (m, 9H), 2,05-2,10 (m, 1H), 2,22-2,40 (m, 1H), 3,05-3,20 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 4,18-4,22 (m, 1H), 4,38-4,60 (m, 3H), 6,01-6,10 (m, 1H), 6,61-6,70 (m, 2H), 6,80-6,85 (m, 1H), 7,05-7,18 (m, 2H), 7,40-7,58 (m, 5H), 8,00-8,13 (m, 3H). ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ 9,7, 18,4, 19,2, [25,9 y 26,1], [28,2 y 28,5], 29,6, 32,0, 37,3, 41,0, 46,2, 50,7, 52,4, 54,4, 55,8, 57,2, 58,5, 82,0, 82,8, 98,4, 110,2, 118,4, 120,1, 123,2, 127,9, 128,2, 128,9, 129,5, 131,2, 135,1, 135,2, 142,7, 144,2, 161,6, 164,3, 164,7, 170,9, 171,4, 172,4. MALDI-TOF m/z 821,56 [(M + Na) $^+$ calc. para $\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{NaO}_9^+$ 821,41].

Ejemplo 15

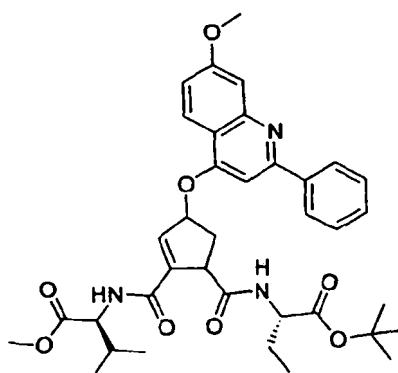


Éster *terc*-butílico del ácido (*S*)-2-[[[(*1R,4R*) y (*1S,4S*))-2-[(*R*)-1-[(*R*)-ciclohexil-metoxycarbonil-metil)-carbamoyl]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-butírico (15)

La reacción de 12 (20 mg, 37 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 14 usando éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)-(R)-ciclohexil acético en lugar de éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)-(S)-ciclohexil acético, dio el compuesto del título (19 mg, al 66%) en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,91-0,98 (m, 3H), 0,99-1,10 (m, 6H), 1,11-1,38 (m, 4H), [(1,43 y 1,45) s, 9H], 1,45-1,94 (m, 9H), 2,05-2,18 (m, 1H), 2,22-2,40 (m, 1H), 3,16-3,24 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 4,04-4,18 (m, 1H), 4,36-4,57 (m, 3H), 6,00-6,08 (m, 1 H), 6,13-6,21 (m, 1H), 6,62-6,70 (m, 1H), 6,81-6,85 (m, 1 H), 7,05-7,18 (m, 3H), 7,41-7,57 (m, 4H), 8,02-8,13 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 9,3, 18,2, 19,0, [25,5 y 25,9], [28,0 y 28,3], 29,4, 31,4, 32,1, 35,7, 40,7, 50,4, 52,2, 54,2, 55,5, 57,0, 58,2, 81,8, 82,4, 98,2, 107,5, 115,0, 118,1, 122,9, 127,6, 128,7, 128,8, 128,9, 129,2, 135,1, 140,4, 142,2, 151,4, 161,3, 163,9, 170,4, 170,9, 171,2, 172,0. MALDI-TOF *m/z* 821,60 [(M + Na)⁺ calc. para C₄₅H₅₈N₄NaO₉⁺ 821,41].

Ejemplo 16

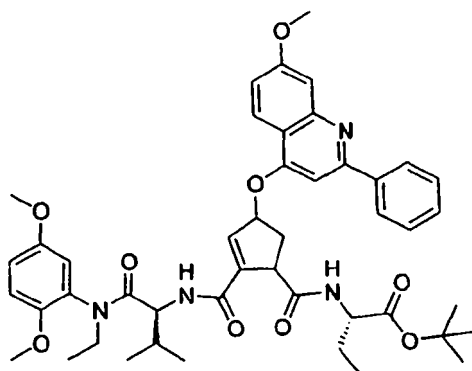


Éster metílico del ácido (*S*)-2-[[[(*3R,5R*) y (*3S,5S*))-5-[(*S*)-1-*terc*-butoxycarbonil-propilcarbamoil]-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarbonil]-amino]-3-metil-butírico (16)

La reacción de 12 (24 mg, 44 mmol) de acuerdo con el método que se ha descrito para la preparación de 14 usando D-valina metil éster en lugar de éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)ciclohexil acético, dio el compuesto del título (27 mg, al 97%) en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,82-0,99 (m, 9H), [(1,42 y 1,44) s, 9H] 1,65-1,95 (m, 2H), 2,18-2,25 (m, 1H), 2,26-2,40 (m, 1H), 3,20-3,25 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,15-4,19 (m, 1H), 4,36-4,43 (m, 1H), 4,64-4,75 (m, 1H), 6,03-6,15 (m, 1H), 6,80-6,85 (m, 2H), 7,10-7,20 (m, 3H), 7,42-7,58 (m, 4H), 8,0-8,10 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 9,7, [18,2 y 19,1], 25,7, [28,1 y 28,2], 32,0, 35,6, 50,4, 52,4, 54,5, 55,7, 57,6, 81,7, 82,7, 98,4, 107,7, 115,2, 118,4, 123,2, 127,8, 129,0, 129,2, 129,5, 134,8, 135,0, 140,4, 142,5, 151,6, 159,6, [161,1 y 161,5], 164,6, 171,1, 172,2. MALDI-TOF *m/z* 682,51 [(M + Na)⁺ calc. para C₃₇H₄₅N₃NaO₈⁺ 682,31].

Ejemplo 17

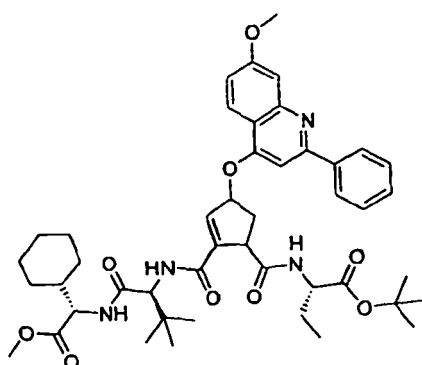


Éster *tert*-butílico del ácido (*S*)-2-[[[(*1R,4R*) y (*1S,4S*)]-2-[(*S*)-1-[(2,5-dimetoxi-fenil)-etil-carbamoyl]-2-metil-propil-carbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-butírico (17)

El compuesto 17 (28,6 mg, al 59%) se preparó a partir de 12 (33 mg, 60 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 14 usando 2-amino-N-(2,5-dimetoxi-fenil)-N-etil-3-metil butiramida en lugar de éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)-ciclohexil acético. Esto dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,75-0,95 (m, 9H) 1,05-1,18 (m, 3H), [(1,42 y 1,44) s, 9H], 1,60-1,95 (m, 3H), 2,20-2,40 (m, 1H), 3,20-3,34 (m, 1H), 3,60-3,80 (m, 2H), [3,62-3,65 (m, 3H)], [3,79-3,82 (m, 3H)], 3,98 (s, 3H), 4,02-4-18 (m, 1H), 4,30-4,44 (m, 2H), 6,05-6,18 (m, 1H), 6,60-6,63 (m, 1H), 6,77-6,80 (m, 2H), 6,85-6,93 (m, 2H), 7,12-7,20 (m, 2H), 7,35-7,60 (m, 5H), 8,02-8,20 (m, 3H). ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ [9,6 y 9,7], [12,5 y 12,8], [17,1 y 17,5], [19,4 y 19,5], 25,6, [28,0 y 28,1], 32,4, 35,8, 43,0, 44,3, [50,2 y 50,3], 54,3, [54,8 y 55,0 y 55,2 y 55,5], [55,6 y 55,7 y 55,9 y 56,0], 81,7, 82,8; 98,4, 106,9, [112,4 y 112,5], 113,7, 115,0, 115,2, 115,9, 116,3, 118,4, [123,0 y 123,1], [127,7 y 127,8], 128,8, 128,9, 129,5, 130,1, [134,1 y 134,2], 142,6, 149,1, 149,4, 153,4, 158,9, [161,4 y 161,6], [163,2 y 163,5], 170,9, [171,3 y 171,5], 172,3. MALDI-TOF m/z 831,62 [(M + Na) $^+$ calc. para $\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{NaO}_9$ $^+$ 831,39].

Ejemplo 18

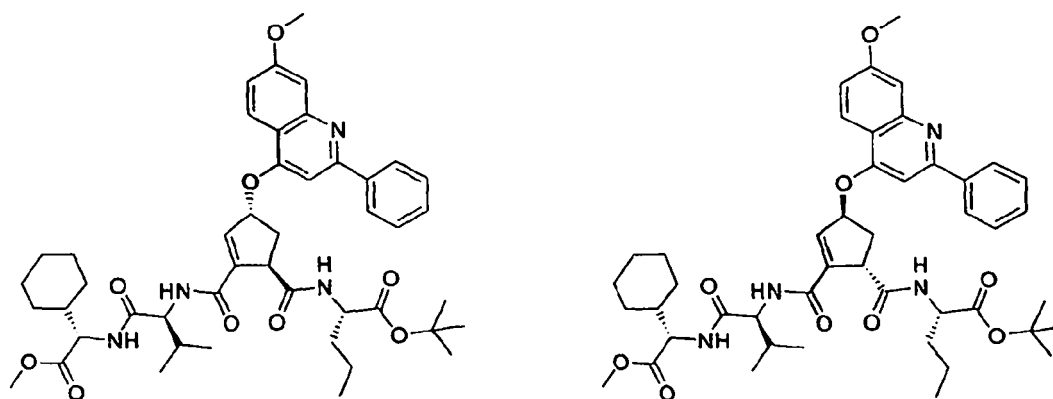


Éster *tert*-butílico del ácido (*S*)-2-[[[(*1R,4R*) y (*1S,4S*)]-2-[(*S*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metoxycarbonil-metil)-carbamoyl]-2,2-dimetil-propylcarbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-butírico (18)

El compuesto 18 (16,1 mg, al 26%) se preparó a partir de 12 (43,2 mg, 0,077 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 14 usando éster metílico del ácido (2-amino-3,3-dimetil-butirilamino)-ciclohexil-acético en lugar de éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)-ciclohexil acético. La cromatografía en columna ultrarrápida se realizó en 3:1 de tolueno/acetato de etilo en lugar de 6:1. Esto dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,77-0,83 (m, 3H), [(0,92 y 0,93) s, 9H] 0,94-1,20 (m, 4 H), [(1,36 y 1,38) s, 9H], 1,42-1,76 (m, 8H), 2,20-2,38 (m, 1 H), 2,81-2,96 (m, 1 H), 3,20-3,22 (m, 1 H), 2,78 (s, 3H), [(3,83 y 3,85) s, 3H], 3,97-4,02 (m, 1H), 4,17-4,21 (m, 1 H), 4,22-4,37 (m, 2H), 5,85-5,97 (m, 1 H), [6,76-6,78 (m, 0,5H)], [6,80-6,82 (m, 0,5H)], 6,98-7,05 (m, 3H), 7,23-7,41 (m, 6H), 7,82-7,99 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ [9,4 y 9,5], [25,4 y 25,5], 25,8, [26,5 y 26,6], [27,9 y 28,0], [28,4 y 28,5], 29,3, [35,4 y 35,7], [36,0 y 36,4], [40,5 y 40,7], [50,2 y 50,5], [52,1 y 52,2], [54,1 y 54,3], 55,5, [57,0 y 57,3], [60,4 y 60,7], [81,8 y 82,0], [82,4 y 82,5] 98,1, 107,5, 115,0, 118,1, 123,0, 127,5, 128,7, 128,8, 129,2, 134,9, 135,8, 141,9, 142,5, 151,3, 159,4, [160,9 y 161,3], [163,7 y 163,9], [169,9 y 170,0] [170,0 y 171,3], [172,5 y 172,4]. MALDI-TOF *m/z* 835,68 [(M + Na)⁺ calc. para C₄₆H₆₀N₄NaO₉⁺ 835,43].

Ejemplo 19

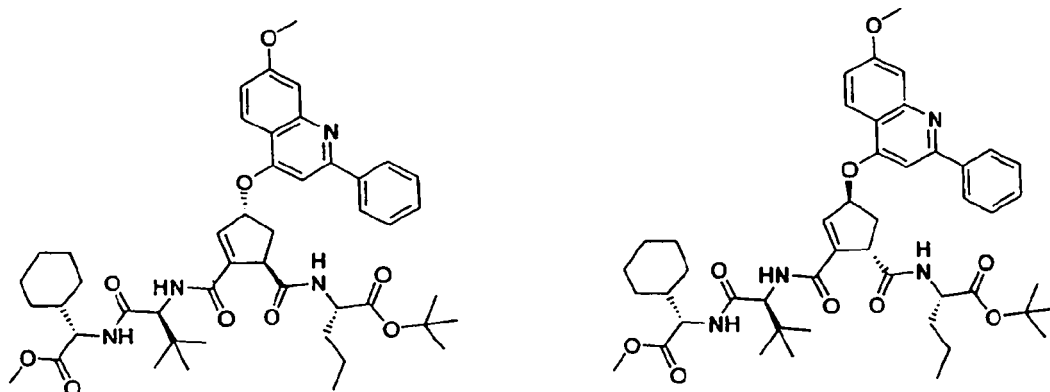


Éster *terc*-butílico del ácido (S)-2-[[1*R*,4*R*]-2-[(S)-1-[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-pentanoico (19a) y éster *terc*-butílico del ácido (S)-2-[[1*S*,4*S*]-2-[(S)-1-[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-pentanoico (19b)

El ácido 11 (0,051 g, 0,087 mmol) y el éster metílico del ácido (2-amino-3-metil-butirilamino)-ciclohexil-acético (0,054 g, 0,21 mmol) se disolvieron en DMF (1,5 ml) y se enfriaron en un baño de hielo. Se añadieron DIPEA (16 mg, 0,12 mmol) y HATU (47 mg, 0,13 mmol). Después de dos horas y media, la mezcla se co-concentró con tolueno y metanol y después se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (3:1 de tolueno/acetato de etilo). La purificación adicional se realizó por HPLC (MeOH al 90% + TEA al 0,2%). Esto dio después de la concentración, los dos diastereómeros 19a (9,4 mg, al 13%) y 19b (5,3 mg, al 7%) en forma de jarabes de color ligeramente amarillo. Después de la liofilización, se recogieron 19a y 19b en forma de polvos de color blanco:

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,86-0,93 (m, 3H), 0,94-1,00 (m, 6H), 1,00-1,41 (m, 7H), 1,46 (s, 9H), 1,50-1,88 (m, 8H), 2,05-2,20 (m, 1H), 2,20-2,37 (m, 1H), 3,12-3,25 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,05-4,20 (m, 1 H), 4,40-4,55 (m, 3H), 6,02-6,18 (m, 1 H), 6,30 (d, *J* = 8,52 Hz, 1H), 6,63 (s, 1 H), 6,76 (d, *J* = 8,51 Hz, 1 H), 7,06-7,16 (m, 2H), 7,42-7,56 (m, 5H), 8,00-8,12 (m, 3H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 14,0, 18,4, 19,3, 26,1, 28,3, 28,5, 29,7, 31,9, 34,9, 36,0, 41,0, 50,7, 52,4, 53,3, 55,7, 57,2, 58,6, 82,0, 82,7, 98,4, 105,7, 107,7, 115,2, 118,4, 123,2, 125,3, 127,9, 129,0, 129,1, 135,1, 138,0, 142,4, 151,6, 159,4, 161,6, 164,3, 170,7, 171,2, 172,3. 19b: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,90-1,04 (m, 9H), 1,04-1,43 (m, 7H), 1,47 (s, 9H), 1,50-1,87 (m, 8H), 2,10-2,27 (m, 1H), 2,33-2,45 (m, 1 H), 3,10-3,20 (m, 1 H), 3,73 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 4,02-4,10 (m, 1H), 4,36-4,53 (m, 3H), 6,00-6,16 (m, 1 H), 6,30 (d, *J* = 8,52 Hz, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 7,96 Hz, 1H), 7,08-7,16 (m, 2H), 7,36-7,56 (m, 5H), 8,03-8,11 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 14,0, 18,6, 19,2, 26,1, 28,2, 28,7, 29,7, 34,5, 36,1, 36,6, 40,8, 50,5, 52,4, 53,4, 55,7, 57,3, 59,1, 64,8, 82,3, 98,4, 105,8, 107,8, 115,3, 118,4, 123,2, 127,8, 129,0, 129,4, 135,2, 142,2, 144,9, 151,0, 151,6, 159,2, 164,3, 164,3, 170,2, 171,6, 171,9.

Ejemplo 20



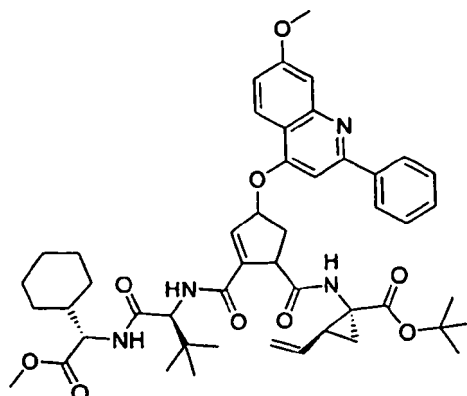
Éster *terc*-butílico del ácido (*S*)-2-[[*(1R,4R)*-2-[[*(R)*-1-[[*(S)*-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoyl]-2,2-dimetil-propilcarbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-pentanoico (20a) y éster *terc*-butílico del ácido (*S*)-2-[[*(1S,4S)*-2-[[*(R)*-1-[[*(S)*-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoyl]-2,2-dimetil-propilcarbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-pentanoico (20b)

Método A: El ácido carboxílico 11 (57 mg, 0,10 mmol) se disolvió en THF seco caliente (50°C) (2 ml). Se añadieron éster metílico del ácido (2-amino-3,3-dimetil-butirilamino)-ciclohexil-acético (50 mg, 0,12 mmol), DIPEA (30 mg, 0,23 mmol), DCC (25 mg, 0,12 mmol) y HOBt (17 mg, 0,13 mmol). Después de dos horas, la mezcla se concentró y se añadió a una columna corta (1:3 de tolueno/acetato de etilo + AcOH al 3%). Después, se purificó adicionalmente por HPLC usando MeOH al 90% + TEA al 0,2%. Los productos diastereoméricos no se separaron. Después de la HPLC, la solución se co-concentró con tolueno y metanol para dar 20 (28 mg, al 34%).

Método B: A una solución enfriada con hielo de 11 (60 mg, 0,10 mmol) y éster metílico del ácido (2-amino-3,3-dimetil-butirilamino)-ciclohexil-acético (42 mg, 0,15 mmol) se le añadieron DIPEA (19 mg, 0,15 mmol) y HATU (62 mg, 0,16 mmol). Después de dos horas y media, la mezcla se concentró y se purificó usando cromatografía en columna (3:1 de tolueno/acetato de etilo). La mezcla diastereomérica se separó usando HPLC (MeOH al 90% + TEA al 0,2%). Esto dio 20a (6 mg, al 6%) y 20b (9 mg, al 10%).

20a: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,82-0,90 (m, 3H), 1,01 (s, 9H), 1,05-1,40 (m, 7H), 1,46 (s, 9H), 1,50-1,80 (m, 8H); 2,20-2,35 (m, 1H), 3,07-3,25 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,11 (d, *J* = 7,96 Hz, 1 H), 4,38-4,52 (m, 3H), 6,03-6,12 (m, 1 H), 6,24 (d, *J* = 8,79 Hz, 1H), 6,63 (s, 1 H), 6,82 (d, *J* = 9,06 Hz, 1 H), 7,07-7,27 (m, 2H), 7,36 (d, *J* = 7,96 Hz, 1H), 7,41-7,55 (m, 4H), 8,01-8,10 (m, 3H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 14,0, 18,8, 26,1, 26,8, 28,2, 28,6, 29,6, 34,9, 35,6, 36,2, 40,9, 50,7, 52,4, 53,3, 55,7, 57,3, 60,8, 82,0, 82,7, 98,4, 105,2, 107,7, 115,2, 118,4, 123,2, 127,9, 129,0, 129,4, 131,1, 135,1, 138,4, 142,4, 153,3, 159,6, 161,6, 164,2, 170,1, 171,3, 172,2. 20b: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,90-0,98 (m, 3H), 1,04 (s, 9H), 1,08-1,40 (m, 7H), 1,44 (s, 9H), 1,55-1,90 (m, 8H), 2,20-2,38 (m, 1H), 3,10-3,22 (m, 1 H); 3,73 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,02-4,15 (m, 1H), 4,35-4,48 (m, 3H), 6,00-6,08 (m, 1 H), 6,72 (s, 1H), 6,90 (d, *J* = 9,06 Hz, 1 H), 7,09-7,20 (m, 3H), 7,44-7,55 (m, 5H), 8,03-8,11 (m, 3H).

Ejemplo 21

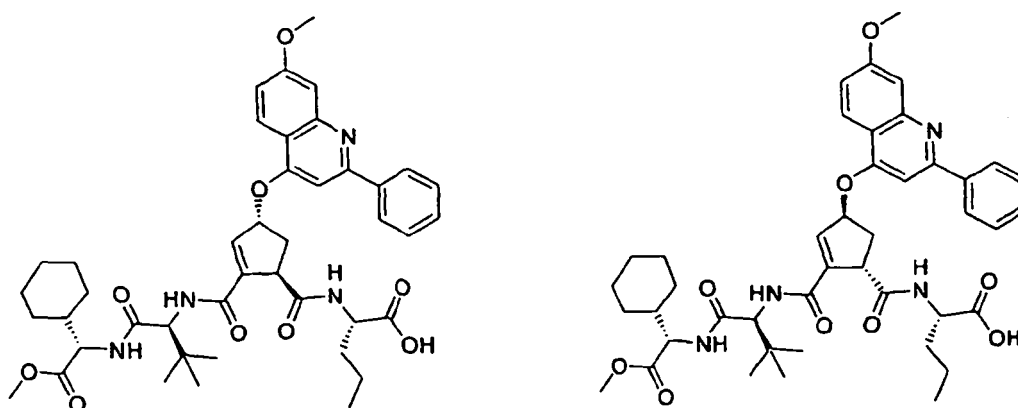


Éster *terc*-butílico del ácido (1*R*,2*S*)-1-[[[(1*R*,4*R*) y (1*S*,4*S*))-2-[(*S*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2,2-dimetil-propil-carbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (21)

El ácido 13 (35 mg, 0,060 mmol) y éster metílico del ácido (2-amino-3,3-dimetil-butilamino)-ciclohexil-acético (22 mg, 0,080 mmol) se disolvieron en THF seco (1,5 ml) y se calentaron a 50°C. Se añadieron HOBt (11 mg, 0,080 mmol) y DCC (31 mg, 0,15 mmol). Después de una hora, la mezcla se co-concentró con tolueno y metanol y después se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (1:1 de tolueno/acetato de etilo). La purificación adicional se realizó por HPLC (MeOH al 80% + TEA al 0,2%). La mezcla diastereomérica 21 se concentró y dio un aceite de color ligeramente amarillo (26,4 mg, al 53%). Después de la liofilización, se recogió 21 en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ [(0,98 y 1,00), s, 9H], 1,01-1,38 (m, 5H), [(1,39 y 1,40) s, 9H], 1,52-1,63 (m, 4H), 1,65-1,80 (m, 4H), 1,90-2,05 (m, 1 H), 2,20-2,40 (m, 1H), 3,02-3,20 (m, 1H), [(3,66 y 3,67) s, 3H], 3,98 (s, 3H), 3,99-4,02 (m, 1 H), 4,30-4,45 (m, 2H), 5,05-5,11 (m, 1 H), 5,20-5,30 (m, 1 H), 5,60-5,81 (m, 1H), 6,03-6,17 (m, 1 H), 6,77-6,82 (m, 1H), 6,95-7,22 (m, 5H), 7,40-7,50 (m, 4H), 8,01-8,10 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 22,3, [25,7 y 25,8], [26,4 y 26,5], [28,0 y 28,4] 29,2, 32,7, 33,3, [35,3 y 35,4], 36,0, [40,2 y 40,3], 40,7, 52,0, 55,4, [57,2 y 57,4] [60,4 y 60,5], [87,6 y 87,7], [82,3 y 82,5], 98,4, 107,0, 114,9, [117,4 y 117,5], 118,1, 122,9, 127,6, 128,6, 128,9, 129,2, [133,6 y 133,8], 135,9, 136,9, 140,1, [141,4 y 141,6], 151,1, 159,6, [160,9 y 161,3], [164,2 y 164,6], 168,9, 170,3, [172,1 y 172,6]. MALDI-TOF *m/z* 859,77 [(M+Na)⁺ calc. para C₄₈H₆₀N₄NaO₉⁺ 859,43].

Ejemplo 22



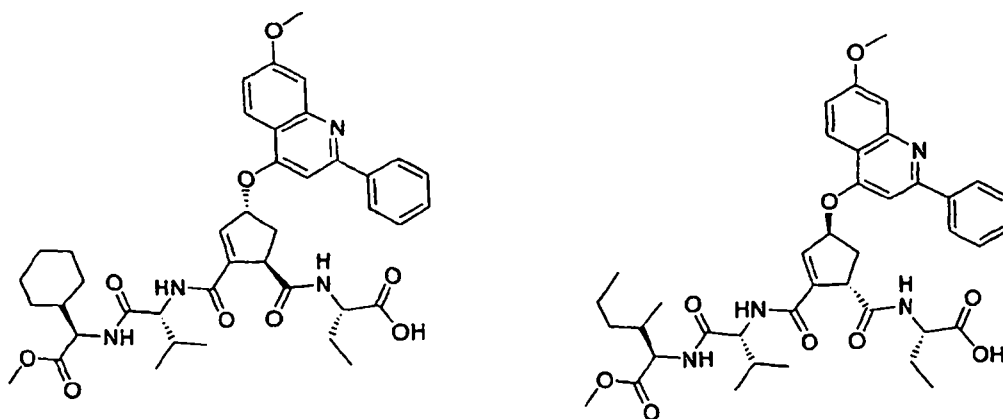
Ácido (*S*)-2-[[[(1*R*,4*R*)-2-[(*R*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-pentanoico (22a) y ácido (*S*)-2-[[[(1*S*,4*S*)-2-[(*R*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino}-pentanoico (22b)

El éster *terc*-butílico 20 (28 mg, 0,034 mmol), TES (8,7 mg, 0,075 mmol), DCM (1 ml) y TFA (1 ml) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. Dos horas más tarde, la mezcla se concentró y los diastereómeros se separaron por

HPLC usando MeOH al 65% + TEA al 0,2% como fase móvil. Esto dio 22a (15 mg, al 55%) y 22b (12 mg, al 45%) en forma de jarabes de color ligeramente amarillo. Después de la liofilización, los compuestos del título se recogieron en forma de polvos de color blanco.

22a: $[\alpha]^{22}_D + 155,8$; ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,90-0,97 (m, 3H), 1,03 (s, 9H), 1,05-1,50 (m, 7H), 1,50-1,80 (m, 8H), 2,43-2,55 (m, 1 H), 2,77-2,90 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 4,20-4,30 (m, 2H), 4,31-4,40 (m, 1 H), 4,45-4,50 (m, 1H), 6,03-6,11 (m, 1 H), 6,98 (s, 1 H), 7,12-7,19 (m, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,41 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 7,50-7,60 (m, 3H), 8,03-8,10 (m, 3H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 13,1, 19,1, 26,1, 28,7, 28,9, 29,5, 34,3, 34,8, 35,9, 40,1, 50,8, 51,2, 54,8, 55,0, 57,9, 60,7, 83,5, 99,1, 106,0, 115,2, 118,2, 123,3, 127,8, 128,0, 128,7, 128,8, 129,7, 135,2, 139,8, 143,7, 150,6, 160,1, 162,2, 165,2, 171,7, 172,2, 173,4. 22b: $[\alpha]^{22}_D - 72,3$; ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,90-0,97 (m, 3H), 1,02 (s, 9H), 1,07-1,35 (m, 7H), 1,53-1,90 (m, 8H), 2,46-2,61 (m, 1H), 2,76-2,88 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 4,15-4,35 (m, 2H), 4,37-4,41 (m, 1H), 4,42-4,47 (m, 1H), 6,02-6,12 (m, 1H), 7,02 (s, 1H), 7,16 (dd, $J = 2,47, 9,34$ Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,40 (d, $J = 2,47$ Hz, 1H), 7,48-7,58 (m, 3H), 8,03-8,12 (m, 3H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 13,0, 18,8, 25,9, 26,0, 28,8, 29,4, 34,2, 34,8, 36,3, 39,9, 48,8, 50,5, 51,1, 54,8, 57,9, 60,5, 82,8, 99,0, 106,0, 115,1, 118,2, 123,1, 127,8, 127,9, 128,7, 129,0, 129,5, 136,7, 139,8, 142,8, 150,6, 160,1, 162,0, 162,2, 164,7, 172,1, 173,5.

Ejemplo 23

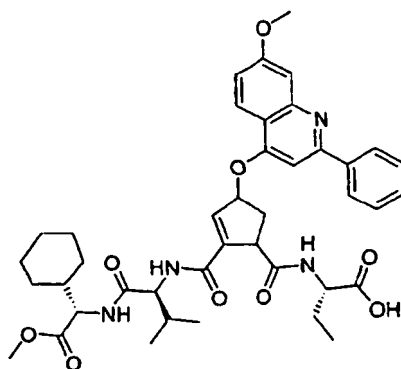


Ácido (*S*)-2-[[*(1R,4R)*-2-[[*(R)*]-1-[[*(R)*]-ciclohexil-metoxycarbonyl-metil]-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino-butirico (23a) y ácido (*S*)-2-[[*(1S,4S)*-2-[[*(R)*]-1-[[*(R)*]-ciclohexil-metoxycarbonyl-metil]-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino-butirico (23b)

El compuesto 23a (6,6 mg, al 50%) y el compuesto 23b (1,3 mg, al 10%) se prepararon a partir de 15 (14 mg, 0,018 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 22a y 22b. Esto dio los compuestos del título en forma de polvos de color blanco.

23a: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): 0,88-1,02 (m, 9H), 1,02-1,40 (m, 7H), 1,55-1,97 (m, 6H), 2,01-2,10 (m, 1H), 2,38-2,52 (m, 1H), 2,88-3,00 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 4,08-4,20 (m, 1 H), 4,22-4,40 (m, 3H), 6,03-6,18 (m, 1H), 6,86-6,99 (m, 1H), 7,08-7,20 (m, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,40-7,43 (m, 1H), 7,45-7,70 (m, 3H), 8,02-8,20 (m, 3H). ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 9,0, 17,6, 18,2, 24,5, 25,3, 28,1, 28,8, 30,9, 35,4, 39,4, 49,6, 51,1, 54,7, 57,2, 58,0, 82,4, 98,5, 105,5, 114,5, 117,7, 122,7, 127,2, 127,3, 128,2, 129,0, 135,6, 136,4, 141,7, 149,9, 159,5, 161,2, 161,4, 164,0, 171,0, 171,7, 172,4. 23b: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,9-1,20 (m, 9H), 1,21-1,53 (m, 7H), 1,55-1,93 (m, 6H), 2,05-2,20 (m, 1 H), 2,41-2,50 (m, 1 H), 2,96-3,05 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 4,00 (s, 3H), 4,05-4,40 (m, 4H), 6,05-6,18 (m, 1 H), 6,90-6,95 (m, 1H), 7,05-7,22 (m, 2H), 7,50-7,65 (m, 4H), 8,01-8,16 (m, 3H).

Ejemplo 24

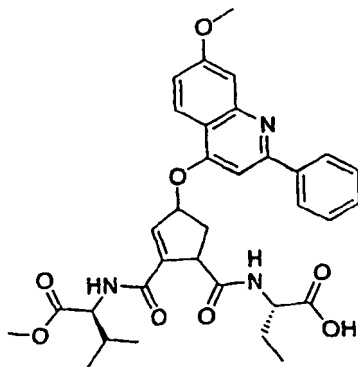


Ácido (*S*)-2-[[[(*1R,4R*) y (*1S,4S*))-2-[(*S*)-1-[(*S*)-carboxi-ciclohexil-metil]-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-butírico (24)

El éster *terc*-butílico 14 (13,4 mg, 0,017 mmol), TES (4,83 mg, 0,042 mmol), DCM (2 ml) y TFA (2 ml) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. Una hora más tarde, la mezcla se concentró y se purificó por HPLC usando MeOH al 65% + TEA al 0,2% como fase móvil. Esto dio 24 (4,3 mg, al 34%) en forma de un jarabe de color ligeramente amarillo. Después de la liofilización, se recogió 24 en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,91-0,99 (m, 9H), 1,00-1,28 (m, 4H), 1,55-1,78 (m, 9H), 1,92-1,95 (m, 1 H), 2,00-2,05 (m, 1 H), 2,93-3,01 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 4,10-4,40 (m, 4H), 6,05-6,15(m, 1 H), 6,88-6,94 (m, 1H), 7,05-7,10 (m, 2H), 7,41-7,43 (m, 1H), 7,44-7,55 (m, 2H), 8,62-8,68 (m, 1 H), 8,69-8,79 (m, 1H), 7,97-8,05 (m, 2H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 9,2, 18,5, 25,5, [29,0 y 29,2], [30,0 y 30,5], 35,3, 37,7, 39,7, 46,2, 50,0, [51,4 y 51,5], 53,6, 55,1, 57,1, 58,4, 83,1, 98,9, 104,9, 114,6, 118,3, 123,0, 123,4, 127,5, 128,4, 128,5, 129,7, 135,0, 142,1, 145,7, 146,2, 159,2, 161,9, 164,3, 171,5, 171,9, 172,2. MALDI-TOF *m/z* 791,27 [(M+K)⁺ calc. para C₄₂H₄₈KN₄O₉⁺ 791,31].

Ejemplo 25

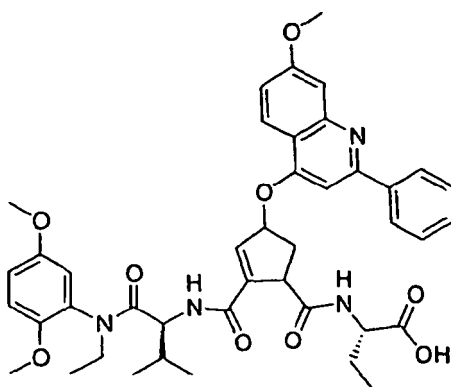


Éster metílico del ácido (*S*)-2-[[[(*3R,5R*) y (*3S,5S*))-5-((*S*)-1-carboxi-propilcarbamoil)-3-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-1-enocarbonil]-amino]-3-metil-butírico (25)

El compuesto 25 (8,0 mg, al 60%) se preparó a partir de 16 (13,8 mg, 0,022 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 24 que dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,83-1,02 (m, 9H), 1,68-1,80 (m, 1H), 1,82-2,02 (m, 1 H), 2,10-2,22 (m, 1H), 2,40-2,60 (m, 1H), 2,81-2,95 (m, 1 H), 3,75 (s, 3H), 4,00 (s, 3H), 4,18-4,22 (m, 1H), 4,27-4,40 (m, 2H), 6,05-6,12 (m, 1H), 6,99-7,02 (m, 1H), 7,16-7,21 (m, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,40-7,43 (m, 1H), 7,48-7,61 (m, 3H), 7,98-8,12 (m, 3H).

Ejemplo 26

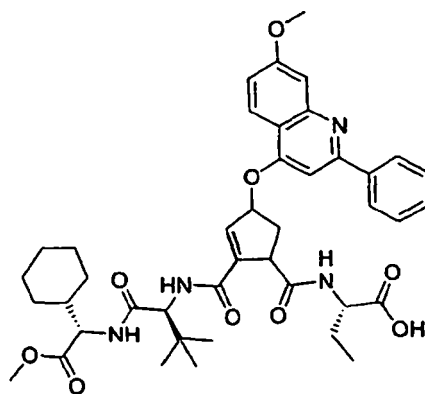


Ácido (*S*)-2-[[[(*1R,4R*) y (*1S,4S*))-2-[(*S*)-1-[(2,5-dimetoxi-fenil)-etil-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-butírico (26)

El compuesto 26 (5,7 mg, al 36%) se preparó a partir de 17 (16,7 mg, 0,021 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 24 que dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,75-0,81 (m, 6H), 0,82-0,98 (m, 3H), 1,00-1,10 (m, 3H), 1,60-2,00 (m, 3H), 2,40-2,56 (m, 1H), 2,80-2,88 (m, 1H), 3,18-3,24 (m, 1H), 3,40-3,46 (m, 1H), [3,67-3,80 (m, 6H)], 3,97 (s, 3H), 4,10-4,20 (m, 1H), 4,21-4,40 (m, 2H), 6,02-6,17 (m, 1H), 6,75-6,82 (m, 1H), 6,84-7,01 (m, 3H), 7,10-7,20 (m, 1H), 7,30-7,37 (m, 1H), 7,40-7,43 (m, 1H), 7,50-7,60 (m, 3H), 8,00-8,17 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 9,6, [11,8 y 12,0], [17,2 y 17,4], 18,9, 25,0, 32,3, 35,7, 43,3, 44,2, [50,3 y 50,5], [54,5 y 54,8 y 54,9 y 55,0], [55,1 y 55,2 y 55,3 y 56,0], 58,7, 83,6, 99,3, 105,5, [112,5 y 112,7], 114,3, [15,1 y 115,2], 115,7, 116,1, 118,4, [123,3 y 123,4], 125,2, [128,0 y 128,1, 128,8, 129,1, 129,8, [135,1 y 135,3], 139,2, [143,3 y 144,4], 149,2, [149,6 y 149,9], 153,8, 159,9, 162,4, [163,9 y 164,5], 172,1, 172,8, [173,6 y 173,7]. MALDI-TOF *m/z* 775,30 [(M + Na)⁺ calc. para C₄₂H₄₈N₄NaO₉⁺ 775,33].

Ejemplo 27

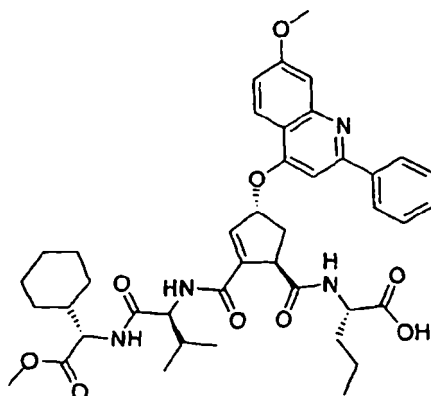


Ácido (*S*)-2-[[[(*1R,4R*) y (*1S,4S*))-2-[(*S*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metoxycarbonil-metil)-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-butírico (27)

El compuesto 27 (6,0 mg, al 72%) se preparó a partir de 18 (8,6 mg, 0,011 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 24. La purificación por HPLC (metanol al 60% + TEA al 0,2%) dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,88-0,95 (m, 3H), 0,96 (s, 9H), 0,97-1,24 (m, 4H), 1,57-1,62 (m, 3H), 1,58-1,78 (m, 4H), 1,79-1,99 (m, 1H), 2,35-2,44 (m, 2H), 2,85-2,98 (m, 1H), [3,67 y 3,69] s, 3H], 3,94 (s, 3H), 4,10-4,20 (m, 1H), 4,30-4,40 (m, 3H), 6,00-6,09 (m, 1H), [6,80-6,82 (m, 0,5H)] [6,85-6,87 (m, 0,5H)], 7,05-7,19 (m, 2H), 7,38-7,55 (m, 4H), 7,95-8,07 (m, 3H). ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ [9,1 y 9,2], [24,7 y 24,9], [25,4 y 25,5], [25,9 y 26,0], [28,3 y 28,4], 28,9, [34,8 y 34,9], [35,6 y 35,9], [39,6 y 39,7], [49,9 y 50,1], [51,4 y 51,2], [53,9 y 54,0] 55,0, [57,2 y 57,4], 60,0, [82,1 y 82,5], 98,6, 106,2, 114,7, 117,8, 122,7, 127,5, 127,7, [128,4 y 128,5], 129,1, 135,3, 136,3, 141,6, 142,0, 150,5, 159,8, [161,0 y 161,3] [164,0 y 164,1], [171,6 y 171,9], [172,2 y 172,3], [173,0 y 173,2]. MALDI-TOF *m/z* 779,43 [(M + Na)⁺ calc. para C₄₂H₅₂N₄NaO₉⁺ 779,36].

Ejemplo 28

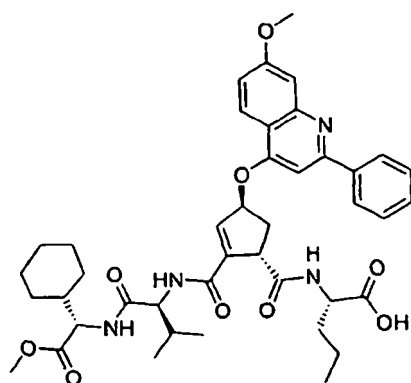


20 *Éster *tert*-butílico del ácido (S)-2-[[*(1R,4R)*-2-[[*(S)*-1-[[*(S)*-ciclohexil-metoxicarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-pentanoico (28)*

El éster *tert*-butílico 19a (7,6 mg, 0,0094 mmol) y TES (2,4 mg, 0,021 mmol) se disolvieron en DCM (1 ml) y la mezcla se enfrió en un baño de hielo. Se añadió TFA (1 ml). Después de dos horas la mezcla se concentró y se purificó por HPLC usando MeOH al 60% + TEA al 0,2% como fase móvil. Esto dio 28 (6,1 mg, al 86%) en forma de un jarabe de color ligeramente amarillo. Después de la liofilización, el compuesto del título se recogió en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD + CDCl₃ (1:1)): δ 0,90-1,00 (m, 9H), 1,00-1,30 (m, 7H), 1,50-1,90 (m, 8H), 2,00-2,10 (m, 1H), 2,40-2,50 (m, 1 H), 2,85-2,98 (m, 1 H), 3,65-3,72 (s, 3H), 3,99 (s, 3H), 4,15-4,22 (m, 1H), 4,24-4,35 (m, 2H), 4,38-4,44 (m, 1 H), 6,10-6,20 (m, 1H), 6,95-6,96 (m, 1H), 7,16-7,23 (m, 1H), 7,31 (s, 1 H), 7,42 (d, *J* = 2,47 Hz, 1H), 7,53-7,72 (m, 3H), 7,97-8,16 (m, 3H); ¹³C RMN (75,5 MHz, 1:1 de CD₃OD + CDCl₃): δ 13,5, 18,3, 19,0, 26,0, 29,0, 29,7, 31,0, 34,1, 35,8, 40,2, 51,9, 55,9, 57,7, 58,9, 63,5, 68,4, 84,0, 99,6, 104,8, 105,7, 115,1, 119,0, 123,7, 128,1, 128,9, 129,1, 130,4, 131,3, 135,3, 138,0, 142,9, 159,5, 162,8, 164,8, 172,2, 172,2, 172,4.

Ejemplo 29

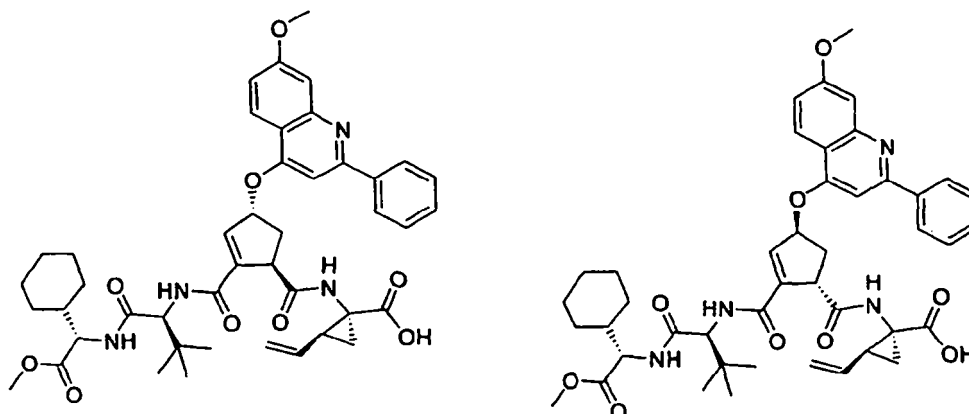


55 *Éster *tert*-butílico del ácido (S)-2-[[*(1S,4S)*-2-[[*(S)*-1-[[*(S)*-ciclohexil-metoxicarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-pentanoico (29)*

El compuesto 29 (1,3 mg, al 26%) se preparó a partir de 19b (5,3 mg, 0,065 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 28. Esto dio el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,85-1,00 (m, 9H), 1,00-1,23 (m, 7H), 1,50-1,78 (m, 8H), 2,05-2,23 (m, 1 H), 2,50-2,66 (m, 1H), 2,70-2,85 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 4,02-4,16 (m, 1H), 4,20-4,25 (m, 1H), 4,35-4,40 (m, 2H), 6,09 (m, 1 H), 7,00 (s, 1H), 7,12-7,18 (dd, *J* = 2,47, 2,19 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,40 (d, *J* = 2,42 Hz, 1H), 7,48-7,74 (m, 3H), 8,03-8,10 (m, 3H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 11,7, 16,5, 17,0, 24,4, 27,2, 27,9, 29,0, 29,1, 37,5, 41,8, 49,7, 50,5, 53,3, 56,3, 63,5, 66,5, 81,0, 100,3, 101,0, 105,7, 113,6, 121,6, 126,3, 127,1, 127,9, 130,1, 131,4, 135,6, 138,7, 141,1, 150,4, 160,2, 160,5, 165,3, 173,0, 173,6, 173,7.

Ejemplo 30

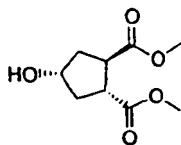


Ácido (1R,2S)-1-[[[(1R,4R)-2-[(S)-1-[[[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (30a) y ácido (1R,2S)-1-[[[(1S,4S)-2-[(S)-1-[[[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil]-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopent-2-enocarbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropano-carboxílico (30b)

El compuesto 30a (6,3 mg, al 49%) y el compuesto 30b (5,6 mg, al 43%) se sintetizaron a partir de 21 (13,8 mg, 0,0016 mmol) de acuerdo con el método de la preparación de 22a y 22b. 30a y 30b: Polvo de color blanco.

30a: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 1,02 (s, 9H), 1,03-1,43 (m, 5H), 1,61-1,95 (m, 8H), 2,11-2,21 (m, 1 H), 2,43-2,58 (m, 1H), 2,97-3,04 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 4,02-4,17 (m, 1 H), 4,25-4,40 (m, 2H), 5,10-5,20 (m, 1H), 5,27-5,40 (m, 1 H), 6,77-6,94 (m, 1H), 6,10-6,20 (m, 1 H), 6,97 (s, 1H), 7,18 (dd, $J = 2,5, 9,2$ Hz, 1H), 7,22 (s, 1 H), 7,46 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,52-7,65 (m, 3H), 8,00-8,18 (m, 3H). ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 13,5, 25,3, 25,7, 28,3, 28,7, 29,0, 32,8, 34,6, 35,3, 39,3, 49,7, 51,1, 54,6, 57,2, 59,8, 82,1, 98,4, 105,8, 114,5, 116,3, 117,6, 122,6, 127,2, 128,1, 128,2, 128,8, 130,2, 133,7, 136,0, 139,5, 141,5, 150,3, 159,7, 161,0, 161,2, 163,4, 171,6, 172,5. MALDI-TOF m/z 803,56 [(M + Na) $^+$ calc. para $\text{C}_{44}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{NaO}_9$ 803,36]. 30b: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 1,03 (s, 9H), 1,04-1,42 (m, 5H), 2,60-2,90 (m, 8H), 2,17-2,22 (m, 1H), 2,40-2,55 (m, 1 H), 2,96-3,10 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 4,05-4,16 (m, 1 H), 4,30-4,40 (m, 2H), 5,15-5,20 (m, 1 H), 5,25-5,40 (m, 1H), 5,78-5,95 (m, 1 H), 6,10-6,20 (m, 1 H), 6,98 (s, 1H), 7,17 (dd, $J = 2,5, 9,1$ Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,46 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,50-7,65 (m, 3H), 8,03-8,28 (m, 3H). ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 13,7, 26,0, 26,3, 28,8, 29,4, 29,6, 34,0, 35,2, 35,8, 40,1, 50,6, 51,7, 55,3, 57,8, 60,6, 83,0, 99,1, 106,3, 115,2, 117,0, 118,3, 123,2, 127,9, 128,0, 128,8, 129,6, 130,6, 134,4, 136,1, 140,0, 142,5, 150,8, 160,3, 161,8, 162,0, 165,7, 172,3, 173,0.

Ejemplo 31



trans-(3R,4R)-Bis(metoxicarbonil)ciclopentanol (31)

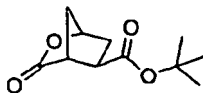
Se añadió borohidruro sódico (1,11 g, 0,029 mol) a una solución en agitación de dimetil éster del ácido (1R, 2S)-4-oxo-ciclopentano-1,2-dicarboxílico (4,88 g, 0,0244 mol) en metanol (300 ml) a 0°C. Después de 1 h, la reacción se interrumpió con 90 ml de salmuera, se concentró y se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (1:1 de tolueno/acetato de etilo) para dar 31 (3,73 g, al 76%) en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 32

*Ácido 3-oxo-2-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (32)*

Se añadió hidróxido sódico (1 M, 74 ml, 0,074 mol) a una solución en agitación de 31 (3,73 g, 0,018 mol) en metanol (105 ml) a temperatura ambiente. Después de 4 h, la mezcla de reacción se neutralizó con HCl 3 M, se evaporó y se co-evaporó con tolueno varias veces. Se añadieron piridina (75 ml) y AC₂O (53 ml) y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla se co-evaporó con tolueno y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo + ácido acético al 1%) para dar 32 (2,51 g, al 88%) en forma de un aceite de color amarillo.

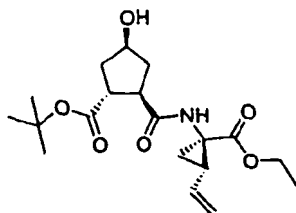
Ejemplo 33

*Éster terc-butílico del ácido 3-oxo-2-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (33)*

Se añadió DMAP (14 mg, 0,115 mmol) y Boc₂O (252 mg, 1,44 mmol) a una solución en agitación de 32 (180 mg, 1,15 mmol) en 2 ml de CH₂Cl₂ en una atmósfera inerte de argón a 0°C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se concentró y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gradiente de 15:1, 9:1, 6:1, 4:1, 2:1 de tolueno/acetato de etilo) para dar 33 (124 mg, al 51%) en forma de cristales de color blanco.

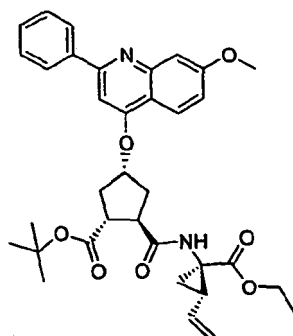
¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 1,45 (s, 9H), 1,90 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,10-2,19 (m, 3H), 2,76-2,83 (m, 1H), 3,10 (s, 1H), 4,99 (s, 1H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 27,1, 33,0, 37,7, 40,8, 46,1, 81,1, 81,6, 172,0, 177,7.

Ejemplo 34

*Éster terc-butílico del ácido (1R,2R,4S)-2-((1R,2S)-1-etoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-4-hidroxi-ciclopentanocarboxílico (34)*

El compuesto 33 (56 mg, 0,264 mmol) se disolvió en 1:1 de dioxano/agua (5 ml) y la mezcla se enfrió a 0°C. Se añadió hidróxido de litio 1 M (0,52 ml, 0,520 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C durante 45 minutos, después de lo cual la mezcla se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M, se evaporó y se co-evaporó con tolueno. El residuo se disolvió en DMF (5 ml), se añadieron clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (60 mg, 0,313 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA) (138 µl, 0,792 mmol) y la solución se enfrió a 0°C. Se añadió HATU (120 mg, 0,316 mmol) y la mezcla se agitó durante 0,5 h a 0°C y durante 2 h más a temperatura ambiente. Después, la mezcla se evaporó y se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (1:1 de tolueno/EtOAc) proporcionó el compuesto 34 (86 mg, al 89%) en forma de un aceite incoloro.

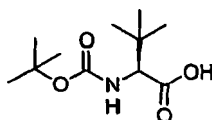
Ejemplo 35



Éster *terc*-butílico del ácido (1*R*,2*R*,4*R*)-2-((1*R*,2*S*)-1-etoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarboxílico (35)

El compuesto 34 (73 mg, 0,199 mmol) se disolvió en THF seco (4 ml) y se añadieron 2-fenil-7-metoxi-4-quinolinol (86 mg, 0,342 mmol) y trifenilfosfina (141 mg, 0,538 mmol). La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota DIAD (0,567 mmol) disuelto en 1 ml de THF. La mezcla se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida mediante un gradiente de elución (9:1, 6:1, 4:1 de tolueno/EtOAc) para dar el compuesto 35 (81 mg, al 68%).

Ejemplo 36

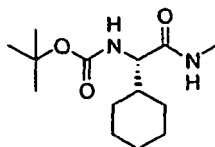


Boc-L-terc-leucina-OH (36)

Se añadió gota a gota trietilamina (890 μ l, 6,40 mmol) a una solución en agitación de L-*terc*-leucina (300 mg, 2,29 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (599 mg, 2,74 mmol) en 1:1 de dioxano/agua (8 ml) y la solución se agitó durante una noche. La mezcla se extrajo con éter de petróleo (2 x) y la fase acuosa se enfrió a 0°C y se acidificó cuidadosamente a pH 3 mediante la adición lenta de NaHSO₄·H₂O 4 M. La fase acuosa acidificada se extrajo con EtOAc (3 x) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x) y después se secaron, se filtraron y se concentraron para dar el compuesto 36 (522 mg, al 99%) en forma de un polvo incoloro. No se necesitó purificación adicional.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD). δ 0,99 (s, 9H), 1,44 (s, 9H), 3,96 (s, 1H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 27,1, 28,7, 34,9, 68,0, 80,5, 157,8, 174,7.

Ejemplo 37

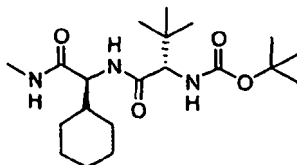


Éster *terc*-butílico del ácido ((*S*)-ciclohexil-metilcarbamoil-metil)-carbámico (37)

Se acopló Boc-Chg-OH (387 mg, 1,50 mmol) a clorhidrato de metilamina (111 mg, 1,65 mmol) usando las mismas condiciones de acoplamiento HATU que en la síntesis del compuesto 34. El producto en bruto se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera y se concentró. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc) proporcionó el compuesto 37 (307 mg, al 76%) en forma de un sólido incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,91-1,13 (m, 2H), 1,14-1,31 (m, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,61-1,80 (m, 6H), 2,80 (d, J = 4,7 Hz, 3H), 3,91 (dd, J = 7,1, 9,1 Hz, 1 H), 5,23 (a, 1 H), 6,52 (s a, 1H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 25,9, 26,0, 26,1, 28,3, 28,5, 29,6, 40,5, 59,5, 79,7, 155,9, 172,4.

Ejemplo 38

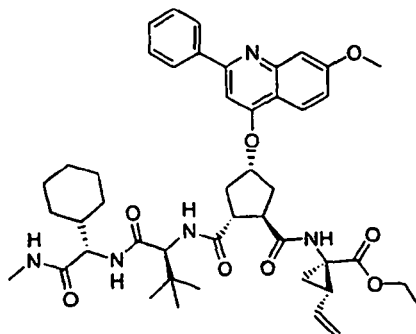


Éster terc-butílico del ácido {(S)-1-[(S)-ciclohexil-metilcarbamoyl-metil]-carbamoyl}-2,2-dimetil-propil}-carbámico (38)

A una solución del compuesto 37 (98 mg, 0,362 mmol) en cloruro de metileno (3 ml) se le añadieron trietilsilano (115 ml, 0,742 mmol) y TFA (3 ml). La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y después se evaporó y se co-evaporó con tolueno. La amina desprotegida se disolvió en DMF (5 ml) y se acopló al compuesto 36 (84 mg, 0,363 mmol) usando las mismas condiciones de acoplamiento HATU como en la síntesis de 34. El producto en bruto se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (1:1 de tolueno/EtOAc) proporcionó el compuesto 38 (128 mg, al 92%) en forma de un sólido incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,99 (s, 9H), 1,02-1,30 (m, 5H), 1,44 (s, 9H), 1,58-1,77 (m, 4H), 1,78-1,89 (m, 2H), 2,79 (d, *J* = 4,7 Hz, 3H), 4,11 (d, *J* = 9,3 Hz, 1 H), 4,33 (t ap., *J* = 8,5 Hz, 1 H), 5,65 (a, 1H), 7,25 (a, 1H), 7,39 (a, 1 H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 25,9, 25,9, 26,0, 26,2, 26,8, 28,4, 29,0, 29,7, 34,5, 39,7, 58,4, 62,4, 79,4, 156,0, 171,4, 171,8.

Ejemplo 39

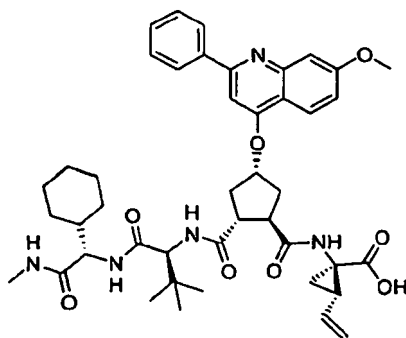


Éster etilico del ácido (1R,2S)-1-[(1R,2R,4S)-2-[(S)-1-[(S)-ciclohexil-metilcarbamoyl-metil)-carbamoyl]-2,2-dimetil-propil-carbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino}-2-vinil-ciclopropanocarbóxico (39)

A una solución del compuesto 35 (30 mg, 0,050 mmol) en cloruro de metileno (1,5 ml) se le añadieron trietilsilano (21 µl, 0,132 mmol) y TFA (1,5 ml). La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, después se evaporó y se co-evaporó con tolueno. La amina 38 (1,3 equiv.) se desprotegió de la misma manera que el compuesto 35 y después se acopló al compuesto desprotegido 35 usando las mismas condiciones de acoplamiento HATU que en la síntesis de 34. El producto en bruto se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó, se filtró y se concentró. La purificación usando HPLC (9:1 de MeOH/agua + trietilamina al 0,2%) proporcionó el compuesto 39 (30 mg, al 74%) en forma de un sólido incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,81-1,14 (m, 4H), 0,99 (s, solapado, 9H), 1,21 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,35-1,51 (m, 4H), 1,52-1,65 (m, 3H), 1,66-1,72 (m, 2H), 2,03-2,20 (m, 2H), 2,24-2,39 (m, 1 H), 2,46-2,56 (m, 1 H), 2,66 (s, 3H), 2,72-2,85 (m, 1H), 3,39-3,48 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 4,03-4,15 (m, 3H), 4,44 (s, 1 H), 5,09 (dd, *J* = 1,9, 10,3 Hz, 1H), 5,19-5,27 (m, 1H), 5,25 (dd, solapado, 1 H), 5,79 (ddd, *J* = 8,8, 10,3, 17,2 Hz, 1 H), 6,99 (s, 1 H), 7,07 (dd, *J* = 2,5, 9,1, Hz, 1 H), 7,29 (d, *J* = 2,5 Hz, 1 H), 7,43-7,52 (m, 3H), 7,86-7,98 (m, 2H), 8,05 (d, *J* = 9,3 Hz, 1 H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 14,7, 23,4, 26,0, 26,9, 27,1, 27,3, 30,1, 30,7, 35,0, 35,4, 38,3, 38,8, 40,9, 41,0, 47,9, 55,9, 59,6, 62,0, 62,4, 79,8, 99,9, 107,3, 116,4, 118,0, 119,1, 124,4, 128,9, 129,8, 130,5, 135,3, 141,3, 152,1, 161,1, 162,4, 163,0, 171,6, 172,5, 173,7, 175,2, 176,8. Espectro Maldi-TOF: (M+H)⁺ calc.: 810,4, encontrado: 810,5; (M+Na)⁺ calc.: 832,4, encontrado: 832,4; (M+K)⁺ calc.: 848,5, encontrado: 848,4.

Ejemplo 40

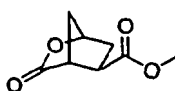


Ácido (1*R*,2*S*)-1-[[[(1*R*,2*R*,4*S*)-2-[(*S*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metilcarbamoyl-metil)-carbamoyl]-2,2-dimetil-propilcarbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (40)

A una solución del compuesto 39 (20 mg, 0,025 mmol) en 2:1:1 de THF/MeOH/agua (2 ml) a 0°C se le añadió LiOH 1 M (175 μ l, 0,175 mmol) y la solución se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 48 h. La solución se acidificó a pH 3 con HCl 1 M, después se evaporó y se co-evaporó con tolueno. El producto en bruto se purificó por HPLC (6:4 de MeOH/agua + TFA al 0,5% seguido de 4:1 de MeOH/agua + TFA al 0,2%) para dar el compuesto 40 (13 mg, al 67%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,82-0,98 (m, 1H), 1,01 (s, 9H), 1,05-1,26 (m, 3H), 1,34-1,43 (m, 1 H), 1,49-1,77 (m, 8H), 2,10-2,21 (m, 1H), 2,28-2,42 (m, 2H), 2,50-2,61 (m, 1 H), 2,64 (s, 3H), 2,68-2,81 (m, 1H), 3,36-3,45 (m, 2H), 4,04-4,11 (m, 1H), 4,06 (s, solapado, 3H), 4,27 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 5,10 (dd, $J = 1,8, 10,3$ Hz, 1 H), 5,28 (dd, $J = 1,8, 17,2$ Hz, 1H), 5,59-5,68 (m, 1H), 5,82 (ddd, $J = 9,1, 10,3, 17,2$ Hz, 1 H), 7,44 (dd, $J = 2,5, 11,8$ Hz, 1 H), 7,50 (s, 1H), 7,53 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,69-7,78 (m, 3H), 8,02-8,07 (m, 2H), 8,39 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 23,5, 26,0, 26,9, 27,2, 27,3, 30,0, 30,7, 34,7, 35,3, 37,0, 38,7, 41,0, 41,3, 47,4, 56,9, 59,4, 62,7, 83,9, 100,4, 102,2, 116,2, 117,7, 121,7, 126,7, 129,8, 130,8, 133,4, 133,9, 135,6, 143,5, 158,0, 166,6, 168,6, 172,5, 173,4, 173,6, 175,4, 176,4. Espectro Maldi-TOF: (M+H) $^+$ calc.: 782,4, encontrado: 782,2; (M+Na) $^+$ calc.: 804,4, encontrado: 804,2; (M+K) $^+$ calc.: 820,5, encontrado: 820,2.

Ejemplo 41

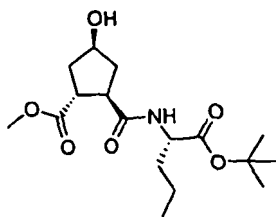


Éster metílico del ácido 3-oxo-2-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (41)

El compuesto 32 (1,014 g, 6,50 mmol) se disolvió en acetona (35 ml) antes de que se añadieran yoduro de metilo (13,68 g, 96,4 mmol) y óxido de plata (I) (1,61 g, 6,95 mmol). Después de agitar durante 3 h, la mezcla se filtró a través de celite y el filtrado se evaporó antes de que se realizara la purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (4:1 de tolueno/acetato de etilo) produciendo el éster metílico 41 (702 mg, al 64%) en forma de cristales de color blanco.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 1,96 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 2,21-2,25 (m, 3H), 2,91-2,95 (m, 1 H), 3,16 (s, 1 H), 3,75 (s, 3H), 4,98 (s ap., 1 H).

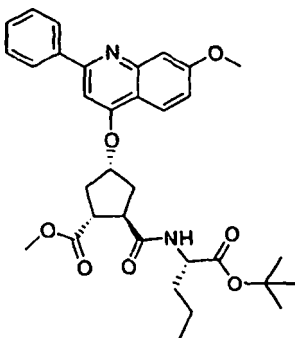
Ejemplo 42



Éster metílico del ácido (1R,2R,4S)-2-((S)-1-terc-butoxicarbonil-butilcarbamoil)-4-hidroxi-ciclopentanocarboxílico (42)

El compuesto 41 (263 mg, 1,55 mmol) y H-Nva-OtBu (420 mg, 2,42 mmol) se disolvieron en THF seco (20 ml). Se añadieron DIEA (530 μ l, 3,04 mmol) y 2-hidroxipiridina (260 mg, 2,73 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante cinco días. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (1:2 de tolueno/EtOAc) para dar 42 (510 mg, al 96%).

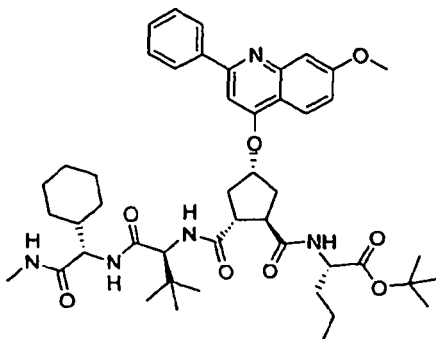
Ejemplo 43



Éster metílico del ácido (1R,2R,4R)-2-((S)-1-terc-butoxicarbonil-butilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-ilo-xi)-ciclopentanocarboxílico (43)

El compuesto 42 (249 mg, 0,725 mmol), 2-fenil-7-metoxi-4-quinolinol (310 mg, 1,23 mmol) y PPh₃ (580 mg, 2,21 mmol) se disolvieron en THF seco y la temperatura se disminuyó a 0°C. A la mezcla se le añadió DIAD (435 μ l, 2,21 mmol) disuelto en 2 ml de THF seco durante cinco minutos. Después de dos horas, la temperatura se elevó a temperatura ambiente y la solución se agitó durante una noche. La evaporación y la purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (gradiente 6:1 a 4:1 de tolueno/EtOAc) dieron 43 (324 mg, al 78%).

Ejemplo 44



Éster terc-butílico del ácido (S)-2-{{[(1R,2R,4S)-2-{{(S)-1-[[((S)-ciclohexil-metilcarbamoil-metil)-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil}-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxy)-ciclopentanocarboxil]-amino}-pentanoico (44)

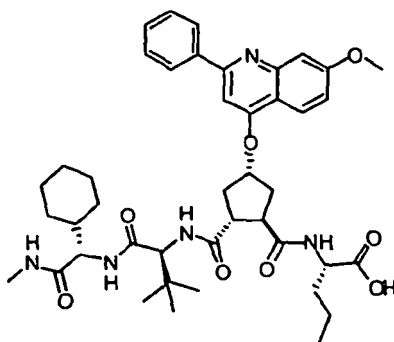
El compuesto 43 (38 mg, 0,066 mmol) se disolvió en 1:1 de dioxano/agua (4 ml) y la solución se enfrió a 0°C y se añadió LiOH 1 M (132 μ l, 0,132 mmol). La temperatura se elevó a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 horas después de lo cual, se neutralizó mediante la adición de HCl 1 M, se evaporó y se co-evaporó con tolueno.

ES 2 336 009 T3

El residuo y la amina desprotegida 38 (1,1 equiv.) se disolvieron en DMF y se acoplaron usando las condiciones de acoplamiento HATU convencionales como en la síntesis del compuesto 34. El producto en bruto se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó, se filtró y se concentró. La purificación con HPLC (9:1 de MeOH/agua + TEA al 0,2%) proporcionó el compuesto 44 (44 mg, al 81%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) rotámetros (5:1): δ 0,79 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 0,85-1,19 (m, 3H), 0,93 (s, solapado, 9H), 1,20-1,35 (m, 2H), 1,39 (s, 1,5 H), 1,43 (s, 7,5 H), 1,54-1,79 (m, 6H), 2,06-2,28 (m, 3H), 2,39-2,51 (m, 2H), 2,66-2,78 (m, 1 H), 2,74 (d, solapado, $J = 4,7$ Hz, 3H), 3,42-3,68 (m, 2H), 3,84 (s, 2,5 H), 3,88 (s, 0,5 H), 4,19 (t, $J = 8,9$ Hz, 1H), 4,39-4,59 (m, 1 H), 4,68 (d, $J = 9,6$ Hz, 1 H), 5,04-5,14 (m, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,88-7,06 (m, 2H), 7,26-7,47 (m, 6H), 7,53 (a, 1 H), 7,85-7,97 (m, 3H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ 13,7, 18,7, 25,6, 25,7, 26,0, 26,7, 28,0, 28,9, 29,7, 34,5, 34,7, 37,7, 38,0, 39,2, 46,6, 47,7, 52,7, 55,3, 58,5, 60,3, 77,9, 81,7, 98,0, 107,4, 115,0, 117,9, 122,8, 127,4, 128,6, 129,0, 140,2, 151,2, 158,9, 160,6, 161,1, 170,9, 171,6, 171,8, 172,7, 173,3. Espectro Maldi-TOF: $(\text{M}+\text{H})^+$ calc.: 828,5, encontrado: 828,6; $(\text{M}+\text{Na})^+$ calc.: 850,5, encontrado: 850,6; $(\text{M}+\text{K})^+$ calc.: 866,6, encontrado: 866,6.

Ejemplo 45



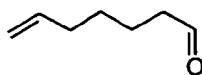
Ácido (*S*)-2-[[[(1*R*,2*R*,4*S*)-2-[(*S*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metilcarbamoil-metil]-carbamoil]-2,2-dimetil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-pentanoico (45)

El compuesto 44 (21 mg, 0,025 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 (1,5 ml) y se añadieron trietilsilano (10 μl , 0,063 mmol) y TFA (1,5 ml). La solución se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente después de lo cual los disolventes se evaporaron y se co-evaporaron con tolueno para proporcionar el compuesto 45 (20 mg, al 100%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,93 (t, solapado, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,99-1,25 (m, 4H), 1,30-1,49 (m, 3H), 1,50-1,90 (m, 8H), 2,25-2,39 (m, 2H), 2,54-2,62 (m, 1 H), 2,64 (s, 3H), 2,72-2,87 (m, 1 H), 3,34-3,57 (m, 3H), 4,02-4,13 (m, 1H), 4,06 (s, solapado, 3H), 4,27-4,36 (m, 1 H), 4,37-4,47 (m, 1 H), 5,57-5,66 (m, 1 H), 7,45 (dd, $J = 2,3, 9,2$ Hz, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,54 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 7,69-7,79 (m, 3H), 8,01-8,07 (m, 2H), 8,42 (d, $J = 9,3$ Hz, 1 H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 14,0, 20,2, 26,0, 26,9, 27,2, 30,1, 30,7, 34,6, 35,3, 37,2, 39,1, 41,2, 47,7, 53,7, 56,9, 59,4, 59,5, 62,5, 83,7, 100,4, 101,3, 102,2, 116,2, 121,7, 126,7, 129,8, 130,8, 133,3, 133,9, 143,5, 157,9, 166,6, 168,5, 172,5, 173,6, 175,3, 175,4, 175,5.

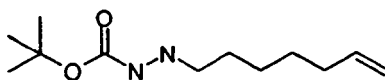
Espectro Maldi-TOF: $(\text{M}+\text{H})^+$ calc.: 772,4, encontrado: 772,6; $(\text{M}+\text{Na})^+$ calc.: 794,4, encontrado: 794,6; $(\text{M}+\text{K})^+$ calc.: 810,5, encontrado: 810,6.

Ejemplo 46



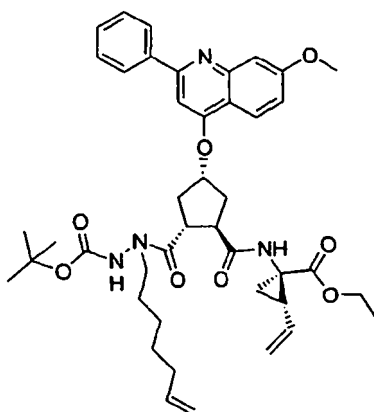
Hept-6-enal (46)

A una solución de hept-6-en-1-ol (1 ml, 7,44 mmol) y N-óxido de N-metilmorfolina (1,308 g, 11,17 mmol) en DCM (17 ml) se le añadieron tamices moleculares molidos (3,5 g, 4 Å). La mezcla se agitó durante 10 min a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno antes de añadir perrutenato de tetrapropilamonio (TPAP) (131 mg, 0,37 mmol). Después de agitar durante 2,5 h más, la solución se filtró a través de celite. Después, el disolvente se evaporó cuidadosamente y el líquido restante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (DCM) para dar el aldehído volátil 46 (620 mg, al 74%) en forma de un aceite.



A una solución de 46 (68 mg, 0,610 mmol) y carbazato de *terc*-butilo (81 mg, 0,613 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadieron tamices moleculares molidos (115 mg, 3 Å). La mezcla se agitó durante 3 h después de lo cual se filtró a través de celite y se evaporó. El residuo se disolvió en THF seco (3 ml) y AcOH (3 ml). Se añadió NaBH₃CN (95 mg, 1,51 mmol) y la solución se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de NaHCO₃ (6 ml) y EtOAc (6 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera, NaHCO₃ saturado y salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. El aducto de cianoborano se hidrolizó por tratamiento con MeOH (3 ml) y NaOH 2 M (1,9 ml). La mezcla se agitó durante 2 h y el MeOH se evaporó. Se añadieron H₂O (5 ml) y DCM (5 ml) y la fase acuosa se extrajo tres veces con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron y se evaporaron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (9:1 de tolueno/acetato de etilo con trietilamina al 1% y 6:1 de tolueno/acetato de etilo con trietilamina al 1%) proporcionó 47 (85 mg, al 61%) en forma de un aceite.

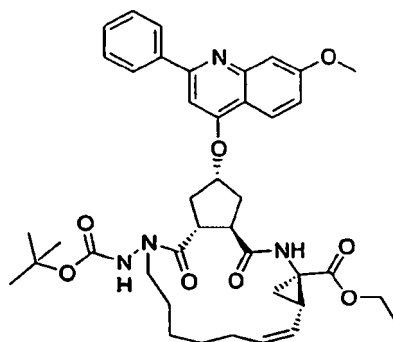
Ejemplo 48



La molécula de estructura 35 (135 mg, 0,225 mmol) y trietilsilano (71 μ l, 0,447 mmol) se disolvieron en DCM (2 ml) después de lo cual se añadió ácido trifluoroacético (TFA) (2 ml). La mezcla se agitó durante 2 h y a partir de entonces se co-evaporó con tolueno para retirar el TFA. El residuo se disolvió en DMF (3 ml) y se añadieron 47 (60 mg, 0,263 mmol) y DIEA (118 μ l, 0,677 mmol). La temperatura disminuyó a 0°C y el reactivo de acoplamiento hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) (94 mg, 0,247 mmol) se añadió. La solución fría se dejó en agitación durante media hora y después durante 16 h más a temperatura ambiente. El disolvente se retiró calentando el matraz de reacción en un baño de agua a presión reducida. Después de esto, el residuo se disolvió en acetato de etilo y la fase orgánica se lavó tres veces con salmuera, se secó, se filtró y se evaporó. La purificación por HPLC (90:10 de MeOH/H₂O con trietilamina al 0,2%) dio 48 (140 mg, al 82%) en forma de un aceite.

58

Ejemplo 49

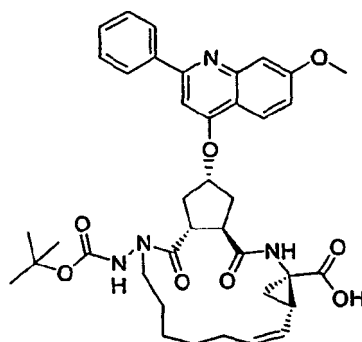


Éster etílico del ácido (Z)-(1R,4R,6S,16R,18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,15-dioxo-3,14-diaza-triciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (49)

Una solución de 48 (158 mg, 0,209 mmol) en DCM seco (25 ml) se burbujeó con argón durante 5 min. Después, a la solución en agitación en una atmósfera de argón se le añadió una solución de catalizador Hoveyda-Grubbs de 2^a generación (11 mg, 0,018 mmol) en DCM seco (5 ml). La mezcla se agitó a la temperatura de reflujo en atmósfera de argón durante 16 h. El disolvente se evaporó y la purificación por HPLC (90:10 de MeOH/H₂O con trietilamina al 0,2%) produjo 49 (107 mg, al 70%) en forma de un sólido incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 1,03-1,22 (m, 1H), 1,28 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,32-1,44 (m, 4H), 1,49 (s, 9H), 1,55-1,73 (m, 2H), 1,81-1,91 (m, 1H), 2,04-2,28 (m, 3H), 2,30-2,52 (m, 3H), 2,53-2,70 (m, 1H), 2,86-3,00 (m, 1H), 3,34-3,44 (m, 1H), 3,46-3,62 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,19 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 4,32-4,48 (m, 1H), 5,20-5,33 (m, 1H), 5,34 (s, 1H), 5,58-5,70 (m, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,14 (dd, J = 2,5, 9,1 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 2,5 Hz, 1H); 7,45-7,55 (m, 3H), 8,00 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,17 (d, J = 9,3 Hz, 1H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 14,6, 23,4, 27,5, 27,7, 28,0, 28,5, 30,7, 36,1, 38,1, 42,5, 45,6, 56,0, 62,7, 79,9, 82,8, 100,2, 107,4, 116,6, 119,1, 124,5, 126,5, 128,9, 129,8, 130,5, 135,8, 141,5, 152,2, 156,4, 161,3, 162,5, 163,1, 171,9, 175,8, 179,0. Espectro MALDI-TOF: (M+H)⁺ calc.: 727,4, encontrado: 727,5.

Ejemplo 50

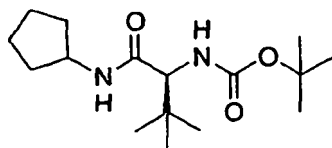


Ácido (Z)-(1R,4R,6S,16R,18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,15-dioxo-3,14-diaza-triciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (50)

A una solución de 49 (27 mg, 0,037 mmol) en 2:1:1 de THF/MeOH/H₂O (5 ml) se le añadió LiOH 1 M (300 μl, 0,300 mmol). La solución se agitó durante 24 h a temperatura ambiente y finalmente durante una hora a reflujo. Después de la acidificación a pH 3-4 con HCl 1 M y la evaporación el residuo se purificó por HPLC (80:20 de MeOH/H₂O y 90:10 MeOH/H₂O) proporcionando 50 (12 mg, al 46%) en forma de un sólido incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 1,06-1,24 (m, 1H), 1,26-1,42 (m, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,52-1,73 (m, 3H), 1,80-1,90 (m, 1H), 2,02-2,15 (m, 1H), 2,15-2,40 (m, 4H), 2,43-2,54 (m, 1H), 2,54-2,68 (m, 1H), 2,88-3,00 (m, 1H), 3,35-3,48 (m, 1H), 3,49-3,66 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 4,32-4,48 (m, 1H), 5,25-5,42 (m, 2H), 5,56-5,68 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,17 (dd, J = 2,5, 9,1 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,46-7,58 (m, 3H), 8,00 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,19 (d, J = 9,1 Hz, 1H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 23,6, 26,8, 27,8, 28,3, 28,5, 30,5, 35,8, 38,1, 43,0, 45,5, 56,0, 80,2, 82,7, 100,4, 106,9, 116,6, 119,2, 124,7, 127,4, 129,0, 129,8, 130,7, 134,8, 140,9, 151,6, 156,5, 161,1, 163,0, 163,4, 173,8, 175,7, 179,3.

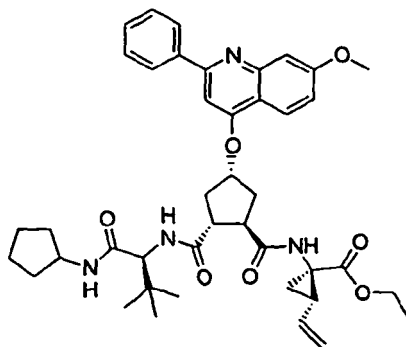
Ejemplo 51

*Éster terc-butílico del ácido ((S)-1-ciclopentilcarbamoyl-2,2-dimetil-propil)-carbámico (51)*

A una solución fría de 36 (133 mg, 0,575 mmol), ciclopentilamina (64 μ l, 0,648 mmol) y DIEA (301 μ l, 1,73 mmol) en DMF (3 ml) se le añadió el reactivo de acoplamiento HATU (240 mg, 0,631 mmol). La mezcla se agitó durante media hora y durante dos horas más a temperatura ambiente. El disolvente se retiró calentando el matraz de reacción en un baño de agua a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo, después de lo cual la fase orgánica se lavó tres veces con salmuera, se secó, se filtró y se evaporó. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (4:1 de tolueno/acetato de etilo) proporcionó 51 (140 mg, al 82%) en forma de cristales incoloros.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (s, 9H), 1,28-1,48 (m, solapado, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,49-1,71 (m, 4H), 1,86-2,01 (m, 2H), 3,76 (a, 1H), 4,09-4,23 (m, 1H), 5,32 (a, 1H), 5,91 (a, 1H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ 23,6, 23,7, 26,5, 28,3, 32,6, 33,1, 34,5, 51,0, 62,2, 79,4, 155,9, 170,3.

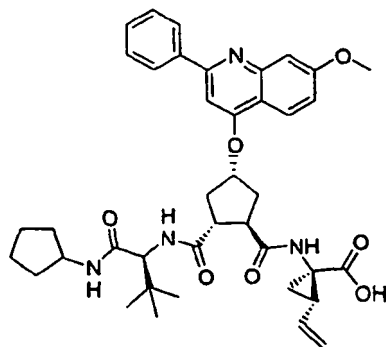
Ejemplo 52

*Éster terc-butílico del ácido (1R,2S)-1-[(1R,2R,4S)-2-((S)-1-ciclopentilcarbamoyl-2,2-dimetil-propilcarbamoyl)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino}-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (52)*

El compuesto 51 (298 mg, 0,048 mmol) y 35 (16 mg, 0,054 mmol) se desprotegieron y se acoplaron de acuerdo con el método para la preparación de 39. La purificación por HPLC (90:10 de MeOH/ H_2O con trietilamina al 0,2%) dio 52 (22 mg, al 63%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): δ 0,97 (s, 9H), 1,21 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,26-1,37 (m, 1H), 1,38-1,46 (m, 2H), 1,48-1,58 (m, 4H), 1,78-1,85 (m, 1H), 1,86-2,02 (m, 3H), 2,03-2,19 (m, 1H), 2,28-2,40 (m, 2H), 2,41-2,54 (m, 1H), 2,64-2,78 (m, 1H), 3,10-3,24 (m, 1H), 3,30-3,44 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,04-4,21 (m, 3H), 5,12 (dd, J = 1,7, 10,3 Hz, 1H), 5,14-5,22 (m, 1H), 5,28 (dd, J = 1,7, 17,0 Hz, 1H), 5,59 (a, 1H), 5,75 (ddd, J = 8,8, 10,3, 17,0 Hz, 1H), 6,66-6,82 (m, 2H), 6,99 (s, 1H), 7,09 (dd, J = 2,5, 9,1 Hz, 1H), 7,41-7,55 (m, 4H), 7,99-8,09 (m, 3H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ 14,3, 22,9, 23,6, 23,6, 26,7, 32,7, 33,2, 33,7, 34,8, 35,9, 36,6, 40,2, 46,4, 47,5, 51,3, 55,5, 61,1, 61,4, 78,0, 98,4, 107,1, 115,2, 117,9, 118,2, 123,1, 127,6, 128,8, 129,3, 133,5, 159,1, 161,4, 169,4, 169,9, 173,1, 174,0. Espectro MALDI-TOF: $(\text{M}+\text{H})^+$ calc.: 725,4, encontrado: 725,6; $(\text{M}+\text{Na})^+$ calc.: 747,4, encontrado: 747,6; $(\text{M}+\text{K})^+$ calc.: 763,3, encontrado: 763,5.

Ejemplo 53

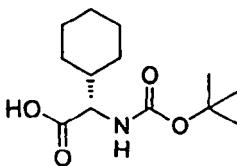


Ácido (1R,2S)-1-[[[(1R,2R,4S)-2-((S)-1-ciclopentilcarbamoil)-2,2-dimetil-propilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (53)

A una solución de 52 (14 mg, 0,019 mmol) en 1:1 de dioxano/H₂O (4 ml) se le añadió LiOH 1 M (115 µl, 0,115 mmol). La solución se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de esto, se añadió una porción más de LiOH (75 µl, 0,075 mmol) y la solución se agitó durante 24 h más. Después de la acidificación a aproximadamente pH 3 con HCl 1 M y la co-evaporación con tolueno, el residuo se purificó por HPLC (70:30 de MeOH/H₂O con TFA al 0,2%), produciendo 53 (8 mg, al 60%) en forma de un sólido incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 0,98 (s, 9H), 1,28-1,48 (m, 3H), 1,49-1,76 (m, 5H), 1,78-1,94 (m, 2H), 2,10-2,24 (m, 1H), 2,26-2,45 (m, 2H), 2,50-2,62 (m, 1 H), 2,66-2,79 (m, 1H), 3,35-3,48 (m, 2H), 3,94-4,03 (m, 1H), 4,06 (s, 3H), 4,16-4,24 (m, 1H), 5,10 (dd, *J* = 1,8, 10,3 Hz, 1H), 5,29 (dd, *J* = 1,8, 17,2 Hz, 1H), 5,62 (a, 1H), 5,82 (ddd, *J* = 9,1, 10,3, 17,2 Hz, 1H), 7,43 (dd, *J* = 2,5, 9,3 Hz, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,50-7,69 (dd, solapado, 1H), 7,67-7,80 (m, 3H), 8,01-8,11 (m, 2H), 8,39 (d, *J* = 9,3 Hz, 1 H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CD₃OD): δ 24,7, 24,7, 27,3, 33,1, 33,6, 34,7, 35,4, 36,9, 38,7, 41,0, 47,4, 52,3, 56,9, 62,3, 83,9, 100,4, 102,3, 116,2, 117,7, 121,6, 126,7, 129,8, 130,8, 133,4, 133,8, 135,6, 143,5, 158,0, 166,5, 168,6, 171,9, 173,4, 175,2, 176,4. Espectro MALDI-TOF: (M+H)⁺ calc.: 697,4, encontrado: 697,3; (M+Na)⁺ calc.: 718,7, encontrado: 719,3; (M+K)⁺ calc.: 735,3, encontrado: 735,3.

Ejemplo 54

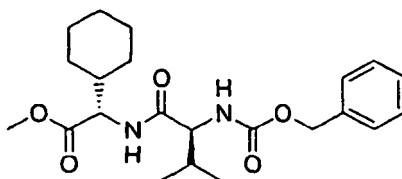


Éster metílico del ácido (S)-terc-butoxicarbonilamino-ciclohexil-acético (54)

A una solución de Boc-Chg-OH (53 mg, 0,206 mmol) en acetona (3 ml) se le añadieron yoduro de metilo (195 µl, 3,1 mmol) y óxido de plata (I) (53 mg, 0,229 mmol). La mezcla se dejó en agitación durante una noche en un matraz de reacción que se cubrió con papel de aluminio. Después de esto, la solución se filtró a través de celite y se evaporó. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (15:1 de tolueno/acetato de etilo) proporcionó el éster metílico 54 (56 mg, al 100%) en forma de un aceite incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,00-1,34 (m, 5H), 1,44 (s, 9H), 1,54-1,82 (m, 6H), 3,73 (s, 3H), 4,20 (dd, *J* = 2,8, 5,0 Hz, 1H), 5,05 (s a, 1 H); ¹³C RMN (75,5 MHz, CDCl₃): δ 26,0, 28,2, 28,3, 29,5, 41,1, 52,0, 58,3, 79,7, 155,6, 172,9.

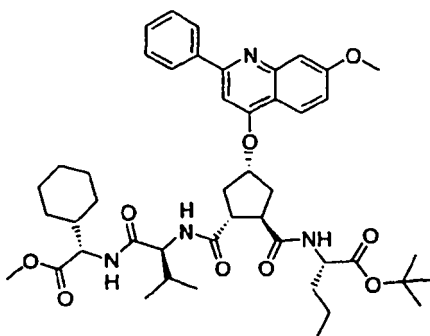
Ejemplo 55

Éster metílico del ácido (*S*)-((*S*)-2-benciloxycarbonilamino-3-metil-butirilamino)-ciclohexil-acético (55)

El compuesto 54 (93 mg, 0,343 mmol) se desprotegió y se acopló a Z-Val-OH (95 mg, 0,378 mmol) de acuerdo con el método para la preparación de 39. La cromatografía en columna ultrarrápida (4:1 de tolueno/acetato de etilo) dio 55 (131 mg, al 94%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,92-1,30 (m, 11H), 1,54-1,88 (m, 6H), 2,02-2,18 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 4,05-4,18 (m, 1H), 4,52 (dd, $J = 3,0, 5,5$ Hz, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,49 (s a, 1H), 6,52 (s a, 1H), 7,34 (s, 5H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ 17,8, 19,0, 25,8, 28,2, 29,3, 31,2, 40,5, 51,9, 56,8, 60,0, 66,8, 127,7, 127,9, 128,1, 128,3, 136,2, 156,3, 171,3, 172,2.

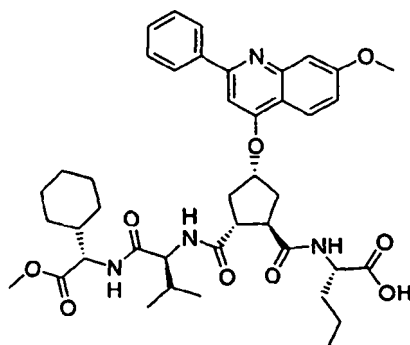
Ejemplo 56

Éster *terc*-butílico del ácido (*S*)-2-[[[(1*R*,2*R*,4*S*)-2-[(*S*)-1-[(*S*)-ciclohexil-metoxycarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-pentanoico (56)

A una solución de 55 (40 mg, 0,099 mmol) en etanol (al 95%) (7,5 ml) se le añadió paladio sobre carbono activo (al 10%, 40 mg) y la mezcla se hidrogenó a presión a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se filtró a través de celite y se evaporó. El compuesto 43 (38 mg, 0,083 mmol) se disolvió en 1:1 de dioxano/ H_2O (3 ml) y la mezcla se enfrió a 0°C antes de que se añadiera LiOH 1 M (140 μl , 0,140 mmol) a la solución en agitación. Después de 1 h, la mezcla se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M y el disolvente se evaporó y se co-evaporó con tolueno. El residuo se acopló a 55 desprotegido usando las mismas condiciones de acoplamiento HATU como en la síntesis del compuesto 48. La purificación por HPLC (90:10 de MeOH/ H_2O con trietilamina al 0,2%) dio 56 (56 mg, al 88%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,82-0,96 (m, 9H), 0,82-1,22 (m, solapado, 6H), 1,23-1,40 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,50-1,69 (m, 4H), 1,71-1,87 (m, 2H), 1,95-2,06 (m, 1H), 2,07-2,22 (m, 1H), 2,28-2,54 (m, 3H), 2,60-2,75 (m, 1H), 3,08-3,28 (m, 1H), 3,30-3,49 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 4,28-4,38 (m, 1H), 4,41-4,57 (m, 2H), 5,17 (a, 1H), 6,54-6,70 (m, 2H), 6,74 (a, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,09 (dd, $J = 2,5, 9,1$ Hz, 1H), 7,39-7,55 (m, 5H), 7,98-8,10 (m, 3H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CDCl_3): δ 13,7, 18,1, 18,6, 19,2, 25,9, 28,0, 28,2, 29,6, 30,7, 34,6, 36,5, 37,6, 40,8, 47,4, 47,5, 52,1, 52,8, 55,5, 56,8, 58,9, 77,8, 82,0, 98,3, 107,5, 115,3, 118,1, 123,1, 127,5, 128,7, 129,1, 140,5, 151,4, 159,2, 160,7, 161,3, 171,0, 171,5, 172,3, 172,8, 173,0. Espectro MALDI-TOF: ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ calc.: 815,5, encontrado: 815,7; ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ calc.: 837,4, encontrado: 837,6; ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ calc.: 853,4, encontrado: 853,6.

Ejemplo 57

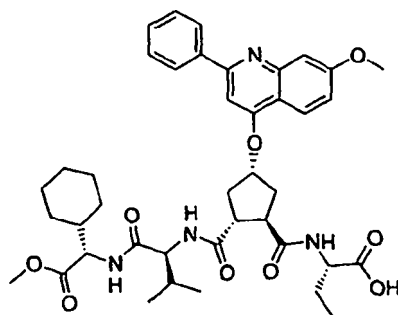


Ácido (S)-2-[[[(1R,2R,4S)-2-[(S)-1-[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-pentanoico (57)

Se disolvieron el éster *tert*-butilico 56 (28 mg, 0,034 mmol) y trietilsilano (14 μ l, 0,088 mmol) en DCM (2 ml) después de lo cual se añadió ácido trifluoroacético (2 ml) y la mezcla se agitó durante 2 h. La co-evaporación con tolueno dio 57 (26 mg, al 100%) en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,86-1,00 (m, 9H), 1,01-1,24 (m, 4H), 1,36-1,46 (m, 2H), 1,48-1,75 (m, 8H), 1,70-1,89 (m, solapado, 1H), 1,96-2,12 (m, 1H), 2,22-2,40 (m, solapado, 2H), 2,49-2,64 (m, 1H), 2,72-2,91 (m, 1H), 3,26-3,40 (m, solapado, 1H), 3,50-3,68 (m, solapado, 1H), 3,62 (s, 3H), 4,05 (s, 3H), 4,09-4,17 (m, 1H), 4,17-4,25 (m, 1H), 4,35-4,45 (m, 1H), 5,62 (a, 1H), 7,44 (dd, $J = 2,2, 9,3$ Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,53 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 7,65-7,78 (m, 3H), 7,98-8,06 (m, 2H), 8,41 (dd, $J = 2,8, 9,3$ Hz, 1H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 75,5 MHz): δ 13,9, 18,8, 19,7, 20,2, 27,0, 29,7, 30,5, 31,8, 34,6, 37,7, 38,9, 41,1, 47,8, 52,3, 53,6, 56,9, 58,8, 58,9, 60,3, 83,8, 100,4, 102,2, 116,2, 121,6, 126,7, 129,8, 130,8, 133,3, 133,8, 143,5, 157,9, 166,5, 168,5, 173,3, 173,9, 175,5, 175,5, 175,6. Espectro MALDI-TOF: $(\text{M}+\text{H})^+$ calc.: 759,4, encontrado: 759,7; $(\text{M}+\text{Na})^+$ calc.: 781,4, encontrado: 781,7; $(\text{M}+\text{K})^+$ calc.: 797,4, encontrado: 797,7.

Ejemplo 58

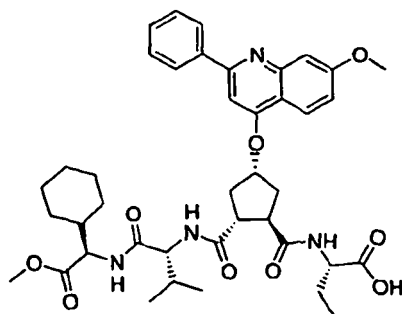


Ácido (S)-2-[[[(1R,2R,4S)-2-[(S)-1-[(S)-ciclohexil-metoxicarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-butírico (58)

El procedimiento que se ha descrito en el ejemplo 42 se siguió pero con el uso de éster *tert*-butilico del ácido L-2-amino-N-butírico en lugar de H-Nva-*Or*Bu. Después, el compuesto producido se hizo reaccionar como se ha descrito en el ejemplo 43, que dio éster metílico del ácido (1R, 2R,4R)-2-((S)-1-*tert*-butoxicarbonil-propilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarboxílico. El acoplamiento de este compuesto con 55 como se ha descrito en el ejemplo 56 seguido de esterhidrólisis como se ha descrito en el ejemplo 57 dio 58 en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 0,82-0,99 (m, 9H), 0,82-1,40 (m, solapado, 6H), 1,48-1,78 (m, 6H), 1,80-9,95 (m, 1H), 1,97-2,12 (m, 1H), 2,22-2,40 (m, solapado, 2H), 2,51-2,64 (m, 1H), 2,71-2,90 (m, 1H), 3,16-3,39 (m, solapado, 1H), 3,49-3,59 (m, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,95 (s, 3H), 4,12-4,23 (m, 2H), 4,28-4,38 (m, 1H), 5,31 (a, 1H), 7,43 (dd, $J = 2,2, 9,3$ Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,66-7,89 (m, 3H), 7,99-8,07 (m, 2H), 8,42 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H); ^{13}C RMN (75,5 MHz, CD_3OD): δ 10,7, 18,8, 19,7, 25,8, 27,0, 27,0, 29,7, 30,5, 31,8, 37,7, 38,9, 41,2, 47,9, 52,3, 55,3, 56,9, 58,8, 60,6, 83,6, 100,7, 102,2, 116,3, 121,5, 126,7, 129,8, 130,8, 133,7, 133,8, 143,9, 158,2, 166,4, 168,3, 173,3, 173,8, 175,2, 175,5, 175,6. Espectro MALDI-TOF: $(\text{M}+\text{H})^+$ calc.: 745,4, encontrado: 744,9; $(\text{M}+\text{Na})^+$ calc.: 767,4, encontrado: 766,9; $(\text{M}+\text{K})^+$ calc.: 783,5, encontrado: 782,9.

Ejemplo 59

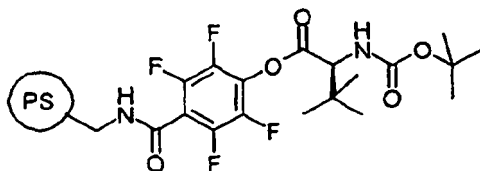


Ácido (*S*)-2-[[*(1R,2R,4S)*-2-[[*(R)*-1-[[*(R)*]-ciclohexil-metoxicarbonil-metil)-carbamoil]-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarboxílico]-amino]-butírico (59)

El procedimiento que se ha descrito en el ejemplo 54 se siguió pero con el uso de Boc-D-ciclohexilglicina en lugar de Boc-L-ciclohexilglicina. Después, el compuesto producido se hizo reaccionar como se ha descrito en el ejemplo 55 seguido del acoplamiento a éster metílico del ácido (*1R,2R,4R*)-2-((*S*)-1-*terc*-butoxicarbonil-pentilcarbamoil)-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarboxílico como se ha descrito en el ejemplo 56. La retirada del grupo éster como se ha descrito en el ejemplo 57 dio el compuesto 59 en forma de un sólido incoloro.

^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz): δ 0,82-1,02 (m, 9H), 1,04-1,42 (m, 6H), 1,52-1,80 (m, 6H), 1,80-1,96 (m, solapado, 1H), 2,00-2,14 (m, 1H), 2,29-2,46 (m, 2H), 2,51-2,65 (m, 1H), 2,68-2,84 (m, 1H), 3,24-3,39 (m, solapado, 1H), 3,47-3,60 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 4,07 (s, 3H), 4,18-4,27 (m, 2H), 4,28-4,38 (m, 1H), 5,64 (s a ap., 1H), 7,44 (d, J = 2,3, 6,9 Hz, 1H), 7,42 (s, 2H), 7,67-7,81 (m, 3H), 8,04 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 8,41 (d, J = 9,1 Hz, 1H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 75,5 MHz): δ 10,8, 18,5, 19,6, 25,7, 27,1, 27,1, 30,1, 30,6, 31,9, 37,3, 38,2, 41,1, 47,8, 52,3, 55,4, 56,9, 59,0, 59,1, 60,2, 83,8, 100,5, 102,2, 116,3, 121,6, 126,8, 129,8, 130,8, 133,6, 133,8, 143,7, 158,1, 166,5, 168,5, 173,4, 173,8, 175,4, 175,7, 175,7. Espectro MALDI-TOF: ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ calc.: 745,4, encontrado: 745,4; ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ calc.: 767,4, encontrado: 767,4; ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ calc.: 783,5, encontrado: 783,3.

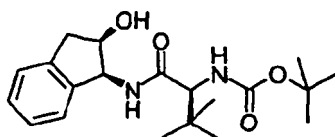
Ejemplo 60



Ácido 2-*terc*-butoxicarbonilamino-3,3-dimetilbutírico unido a resina (60)

A la resina PS-TFP de Argonaut (1,38 mmol/g, 10 g) y ácido 2-*terc*-butoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butírico (4,5 g, 20,7 mmol) se le añadieron diclorometano (40 ml) y DMF (10 ml). A esta mezcla se le añadió DMAP (1 g, 8,28 mmol) y después DIC (9,5 ml, 60,7 mmol). Después de 3 h de agitación a TA, la resina se filtró, se lavó sucesivamente con DMF, THF, DCM, THF, DCM y éter y después se secó al vacío.

Ejemplo 61



Éster *terc*-butílico del ácido [1-(2-hidroxi-indan-1-ilcarbamoil)-2,2-dimetil-propil]-carbámico (61)

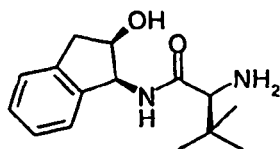
A una porción de 60 (200 mg) en DCM se le añadió aminoindanol (0,14 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h. El líquido se retiró por filtración y la resina se lavó 2 veces con DCM. Los líquidos combinados se combinaron y se concentraron a sequedad para producir el compuesto del título (20,5 mg, 0,055 mmol). Pureza al >95% por HPLC. $\text{M}+\text{H}^+$ 363,15. ^{13}C RMN δ_{C} (100 MHz; CDCl_3 ; Me_4Si) 27,0, 28,5, 34,2, 39,8, 50,8, 57,9, 68,2, 73,7, 124,8, 125,6,

ES 2 336 009 T3

127,4, 128,5, 140,4, 171,6, ^1H RMN d_{H} (400 MHz; CDCl_3 ; Me_4Si) 1,07 (9H, s, CCH_3), 1,44 (9H, s, OCCH_3), 2,93 (1H, dd, J_{gem} 16,4 Hz, $J_{3,2}$ 2,3 Hz, CH_2), 3,15 (1 H, dd, J_{gem} 16,4 Hz, $J_{3,2}$ 5,2 Hz, CH_2).

5 Ejemplo 62

10



15

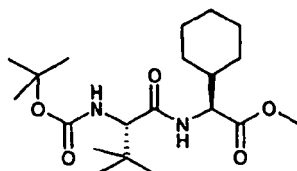
2-Amino-N-(2-hidroxi-indan-1-il)-3,3-dimetil butiramida (62)

20

El compuesto 61 se mantuvo en 2:1 de DCM-TFA (2 ml) durante 60 min a TA. La solución se co-evaporó con tolueno a sequedad.

Ejemplo 63

25



30

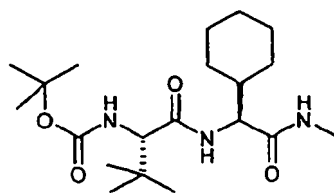
35 Éster metílico del ácido (2-*terc*-butoxicarbonilamino-3,3-dimetil-butirilamino)-ciclohexil-acético (63)

40

A una solución de ácido 2-*terc*-butoxicarbonilamino-3,3-dimetil butírico (500 mg, 2,16 mmol), éster metílico del ácido amino-ciclohexil-acético (444 mg, 2,59 mmol) y HATU (2 g, 5,40 mmol) en DMF (20 ml) se le añadió diisopropiletil-amina (1,88 ml, 10,8 mmol). La solución se agitó durante 1 h a t.a. y se diluyó con diclorometano (40 ml). Esta solución se lavó con NaHCO_3 acuoso (sat.) y agua (x 2), se secó y se concentró. El producto era puro al >95%. $\text{M}+\text{H}^+$ 385,4.

Ejemplo 64

45



50

55

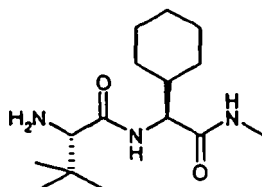
Éster *terc*-butílico del ácido {1-[(ciclohexil-metilcarbamoyl-metil)-carbamoyl]-2,2-dimetil-propil}-carbámico (64)

60

Al compuesto 63 en 1:2 de EtOH-THF se le añadió un gran exceso de metilamina (al 30% en agua) y se dejó a ta durante 2 semanas. La solución se concentró a sequedad y el residuo se sometió a una columna corta de gel de sílice eluyendo con MeOH al 2% en diclorometano para dar un producto puro (al >95%) $\text{M}+\text{H}^+$ 384,5.

65

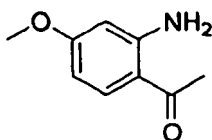
Ejemplo 65



2-Amino-N-(ciclohexil-metilcarbamoyl)-3,3-dimetil-butiramida (65)

El compuesto 64 se mantuvo en 2:1 de ácido diclorometano-trifluoroacético durante 1 h a ta y se concentró a sequedad. El residuo se secó al vacío durante 16 h. El análisis por HPLC en C18 de fase inversa mostró una pureza al >95% M+H⁺ 283,1.

Ejemplo 66



1-(2-Amino-4-metoxifenil)etanona (66)

Se disolvió *m*-anisidina (10,0 g, 82 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) y la solución se enfrió a -50°C. Se añadió lentamente BCl₃ (1 M en CH₂Cl₂, 82 ml, 82 mmol) durante 20 min, después de lo cual la mezcla se agitó a -50°C durante 30 min seguido de la adición secuencial de AcCl (6,0 ml, 84 mmol) y AlCl₃ (11 g, 82 mmol). La mezcla se agitó a -50°C durante 1 h y después se dejó alcanzar la ta. Después de agitar a ta durante una noche, la solución se calentó a 40°C durante 4 h, después de lo cual la mezcla se vertió sobre hielo. La mezcla acuosa se hizo alcalina con NaOH al 10% (p/v) y se extrajo con EtOAc (4 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se evaporaron para dar un sólido de color negro, que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (20:80 de éter/CH₂Cl₂). El sólido resultante se recrystalizó en éter/hexano para dar el compuesto 93 en forma de láminas de color castaño brillante (5,6 g, al 42%).

Ejemplo 67

N-(*terc*-Butil)-*N'*-isopropiltiourea (67)

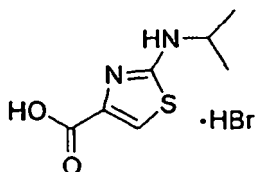
A una solución de isotiocianato de *terc*-butilo (5,0 ml, 39 mmol) en CH₂Cl₂ (200 ml) se le añadieron isopropilamina (4,0 ml, 47 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA) (6,8 ml, 39 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con ácido cítrico al 10% (2 x), NaHCO₃ saturado (2 x), H₂O (2 x) y salmuera (1 x). La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se evaporó para producir el compuesto del título (3,3 g, al 52%) en forma de un sólido de color blanco que se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 68

N-Isopropiltiourea (68)

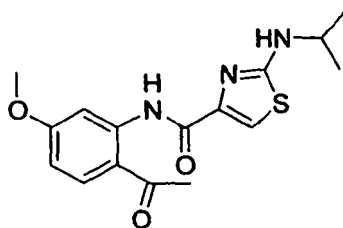
El compuesto 67 (3,3 g, 20 mmol) se disolvió en HCl conc. (45 ml) y la solución se calentó a reflujo durante 40 min. La mezcla se dejó enfriar a ta y después se enfrió en un baño de hielo y se basificó a pH 9,5 con NaHCO₃ sólido y saturado, después de lo cual el producto se extrajo en EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (2 x) y salmuera (1 x), se secaron (MgSO₄) y se evaporaron para producir el compuesto del título en bruto (2,1 g, al 90%) que se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 69

*Bromhidrato del ácido 2-(isopropilamino)-1,3-tiazol-4-carboxílico (69)*

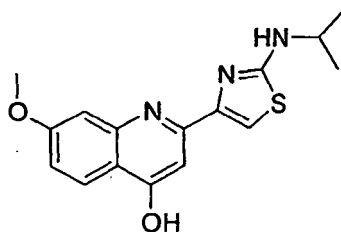
Una suspensión del compuesto 68 (2,1 g, 18 mmol) y ácido 3-bromopirúvico (3,0 g, 18 mmol) en dioxano (180 ml) se calentó a 80°C. Tras alcanzar 80°C la mezcla se volvió transparente, y poco después el producto comenzó a precipitar en forma de un sólido de color blanco. Después de 2 h de calentamiento, la mezcla de reacción se enfrió a ta y el precipitado se retiró por filtración y se recogió. Esto produjo el producto puro del título (4,4 g, al 94%).

Ejemplo 70

*N-(2-Acetil-5-metoxifenil)-2-(isopropilamino)-1,3-tiazol-4-carboxamida (70)*

Una mezcla del compuesto 69 (4,4 g, 16,5 mmol) y el derivado de anilina 66 (2,75 g, 16,5 mmol) en piridina (140 ml) se enfrió a -30°C (tras la refrigeración, la solución transparente se convirtió parcialmente en una suspensión). Se añadió lentamente POCl₃ (3,3 ml, 35 mmol) durante un periodo de 5 min. La mezcla se agitó a -30°C durante 1 h y después se dejó alcanzar la ta. Después de agitar a ta durante 1,5 h, la mezcla de reacción se vertió sobre hielo, y el pH se ajustó a aproximadamente 9-10 usando NaHCO₃ sólido y saturado. El producto en bruto se extrajo en CH₂Cl₂ (3 x) y las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se evaporaron. El sólido en bruto de color beige oscuro se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (55:45 de hexano/EtOAc) para dar el compuesto 70 (5,6 g, al 76%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo 71

*2-[2-(Isopropilamino)-1,3-tiazol-4-il]-7-metoxiquinolin-4-ol (71)*

Una solución de t-BuOK (2,42 g, 21 mmol) en t-BuOH anhidro (40 ml) se calentó a reflujo. El compuesto 70 (1,8 g, 5,4 mmol) se añadió en porciones durante un periodo de 5 min, y la solución de color rojo oscuro formada se agitó a la temperatura de reflujo durante 20 min más. La mezcla se enfrió a ta y se añadió HCl (4 M en dioxano, 8,0 ml, 32

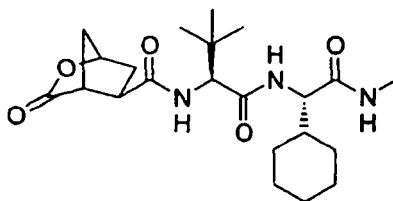
mmol), después de lo cual la mezcla de reacción se concentró al vacío. Para garantizar que toda la cantidad de HCl y dioxano se retiró, el producto en bruto se disolvió de nuevo dos veces en CH₂Cl₂ y se evaporó por completo para obtener la sal HCl ligeramente impura del compuesto 71 (1,62 g) en forma de un sólido de color pardo. El producto se disolvió en CH₂Cl₂ y se lavó con NaHCO₃ saturado, después de lo cual la fase acuosa se extrajo varias veces con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se evaporaron para dar el compuesto 71 (1,38 g, al 81%) en forma de un sólido de color pardo claro (puro al > 95% de acuerdo con los ensayos HPLC).

¹H RMN (MeOH-d₄, 400 MHz): δ 1,30 (d, J = 6,0 Hz, 6H), 3,93 (s, 3H), 3,95-4,07 (m, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,99 (dd, J = 2,4, 9,2 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,37 (s, 1H), 8,10 (d, J = 9,2 Hz, 1H).

10

Ejemplo 72

15



20

25 *(1R,4R,5R)-N-[(1S)-1-[[[(1S)-1-ciclohexil-2-(metilamino)-2-oxoetil]amino]carbonil]-2,2-dimetilpropil]-3-oxo-2-oxabicyclo[2.2.1]heptano-5-carboxamida (72)*

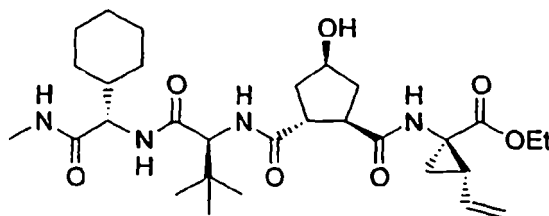
A una solución del compuesto 32 (53 mg, 0,34 mmol) en DMF (9 ml) se le añadieron el compuesto 65 (80 mg, 0,28 mmol) y DIEA (290 µl, 1,66 mmol). La solución se enfrió a 0°C y se añadió HATU (127 mg, 0,33 mmol). Después de agitar a 0°C durante 1 h y a ta durante 1 h el disolvente se evaporó, y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (2:1 de EtOAc/tolueno) para dar el compuesto 72 (110 mg, al 92%) en forma de un sólido de color blanco.

30

Ejemplo 73

35

40



45

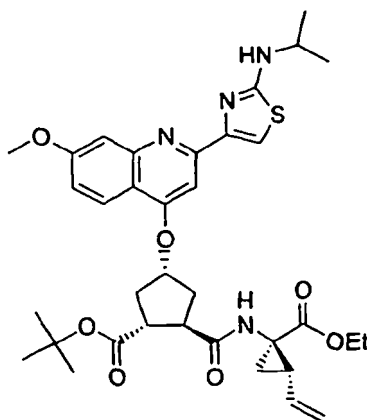
50 *Éster etílico del ácido (1R)-1-[[[(1R,2R,4R)-2-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-ciclohexil-2-(metilamino)-2-oxoetil]amino]carbonil]-2,2-dimetilpropil]amino]carbonil]-4-hidroxiciclopentil]carbonil]amino]-2-etenil-ciclopropanocarboxílico (73)*

El compuesto 72 (60 mg, 0,14 mmol) se disolvió en dioxano (3,5 ml) y H₂O (2,5 ml) y la solución se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota LiOH (1 M, 280 µl, 0,28 mmol) durante 5 min, después de lo cual la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 40 min. El pH se ajustó a 7 usando HCl 1 M, y los disolventes se evaporaron. El residuo se suspendió en DMF (5 ml) y se añadieron éster etílico del ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (32 mg, 0,17 mmol) y DIEA (146 µl, 0,84 mmol). Después de enfriar a 0°C, se añadió HATU (64 mg, 0,17 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C durante 1 h y a ta durante 1 h. El disolvente se evaporó y el producto se purificó usando cromatografía en columna ultrarrápida (9:1 de EtOAc/MeOH) para dar el compuesto 73 (67 mg, al 82%) en forma de un sólido de color blanco.

60

65

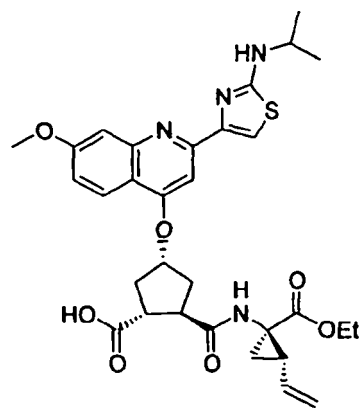
Ejemplo 74



(1R,2R,4R)-2-[[[(1R)-1-(Etoxicarbonil)-2-vinilciclopropil]amino]carbonil]-4-[[2-[2-(isopropilamino)-1,3-tiazol-4-il]-7-metoxiquinolin-4-il]oxi]ciclopentanocarboxilato de terc-butilo (74)

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en ejemplo 76 método A pero con el uso del compuesto 34 en lugar del compuesto 73. (Nota: se usaron 4 equivalentes de Ph_3P y DIAD. Eluyente de cromatografía: 1:1 de Tolueno/EtOAc).

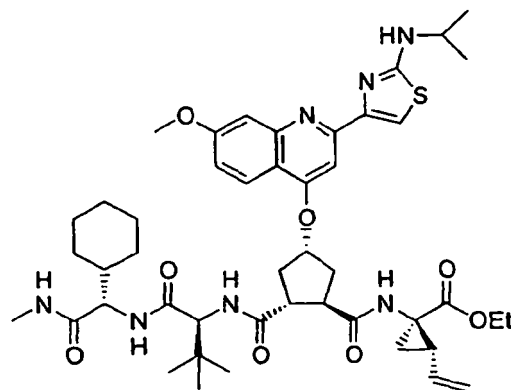
Ejemplo 75



Ácido (1R,2R,4R)-2-[[[(1R)-1-(etoxicarbonil)-2-vinilciclopropil]amino]carbonil]-4-[[2-[2-(isopropilamino)-1,3-tiazol-4-il]-7-metoxiquinolin-4-il]oxi]ciclopentanocarboxílico (75)

A una solución del compuesto 74 (20 mg, 30 μmol) en CH_2Cl_2 (2 ml) se le añadieron TFA (2 ml) y Et_3SiH (10 μl , 63 μmol). Después de 2 h, los volátiles se evaporaron y el producto se usó sin etapa de purificación. Compuesto 75: 18 mg, cuant. en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 76

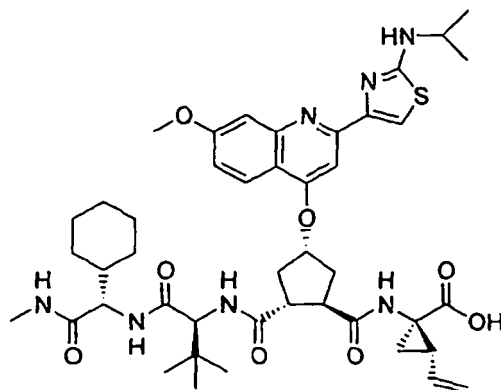


Éster etílico del ácido (1R)-1-[[[(1R,2R,4S)-2-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-ciclohexil-2-(metilamino)-2-oxoetil]amino]carbonil]-2,2-dimetilpropil]amino]carbonil]-4-[[7-metoxi-2-[2-[(1-metiletil)amino]-4-tiazolil]-4-quinolinil]oxi]ciclopentil]carbonil]amino]-2-etenil-ciclopropanocarboxílico (76)

Método A: A una solución del compuesto 73 (59 mg, 0,10 mmol) en THF seco (4 ml) se le añadieron la quinolina 71 (49 mg, 0,16 mmol) y Ph_3P (65 mg, 0,25 mmol). Después de enfriar a 0°C , se añadió gota a gota DIAD (50 μl , 0,25 mmol) durante 5 min. La solución se agitó a 0°C durante 1 h y a ta durante 48 h. El disolvente se evaporó y el producto restante se purificó usando cromatografía en columna ultrarrápida (95:5 de $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ 2 M en MeOH) para dar el compuesto 76 (9 mg, al 10%) en forma de un sólido de color blanco.

Método B: El compuesto 75 se acopló al compuesto 65 de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 72 que dio el compuesto del título (al 82%).

Ejemplo 77



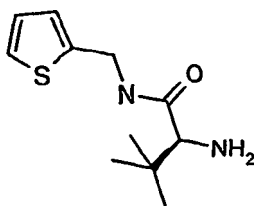
Ácido (1R)-1-[[[(1R,2R,4S)-2-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-ciclohexil-2-(metilamino)-2-oxoetil]amino]carbonil]-2,2-dimetilpropil]amino]carbonil]-4-[[7-metoxi-2-[2-[(1-metiletil)amino]-4-tiazolil]-4-quinolinil]oxi]ciclopentil]carbonil]amino]-2-etenil-ciclopropanocarboxílico (77)

El compuesto 76 (8 mg, 9 μmol) se disolvió en una mezcla de MeOH (150 μl) y THF (100 μl). Se añadió una solución de LiOH (1 mg, 42 μmol) en H_2O (25 μl) y la mezcla se agitó a 50°C durante una noche. La solución se neutralizó con HOAc y se evaporó. El residuo se suspendió en CH_2Cl_2 y se lavó con H_2O . La fase orgánica se evaporó para dar el compuesto del título (8 mg, cuant.) en forma de un sólido de color blanco.

^1H RMN ($\text{MeOH}-d_4$, 400 MHz) (mezcla de rotámeros): δ 0,60-1,33 (m, 21 H), 1,35-1,73 (m, 12H), 1,90-2,42 (m, 2H), 2,51-2,75 (m, 6H), 3,20-3,38 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,95-4,28 (m, 1H), 4,91-5,02 (m, 1H), 5,12-5,23 (m, 1H), 5,64-5,83 (m, 1H), 7,01-7,11 (m, 1H), 7,25-7,40 (m, 1H), 7,42-7,57 (m, 1H), 7,85-8,08 (m, 1H).

Ejemplo 78

5



10

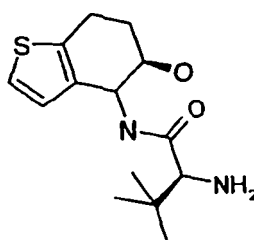
2-Amino-3,3-dimetil-N-tiofen-2-il-metil-butiramida (78)

15

El compuesto del título se preparó como se ha descrito en ejemplo 61 pero con el uso de tiofeno-2-metilamina en lugar de aminoindanol seguido de la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62.

Ejemplo 79

20



25

30

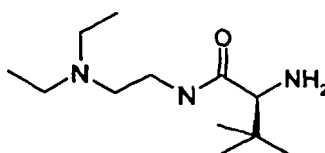
2-Amino-N-(6-hidroxi-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-5-il)-3,3-dimetilbutiramida (79)

35

El compuesto del título se preparó como se ha descrito en el ejemplo 61 pero con el uso de 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-5-ol en lugar de aminoindanol seguido de la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62.

Ejemplo 80

40



45

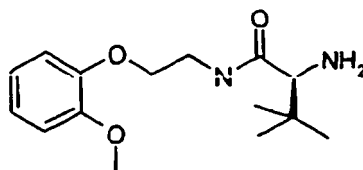
2-Amino-N-(2-dietilamino-etil)-3,3-dimetil-butiramida (80)

50

El compuesto del título se preparó como se ha descrito en el ejemplo 61 pero con el uso de N,N-dietiletilendiamina en lugar de aminoindanol seguido de la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62.

Ejemplo 81

55



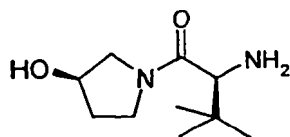
60

2-Amino-N-[2-(2-metoxi-fenoxi)-etil]-3,3-dimetil-butiramida (81)

65

El compuesto del título se preparó como se ha descrito en el ejemplo 61 pero con el uso de 2-metoxifenoxietilamina en lugar de aminoindanol seguido de la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62.

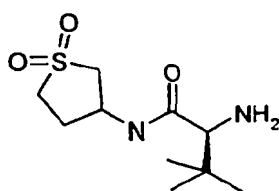
Ejemplo 82



2-Amino-1-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-3,3-dimetil-butan-1-ona (82)

El compuesto del título se preparó como se ha descrito en el ejemplo 61 pero con el uso de (R)-3-pirrolidinona en lugar de aminoindanol seguido de la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62.

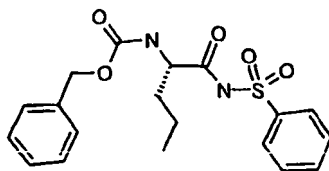
Ejemplo 83



2-Amino-N-(1,1-dioxo-tetrahydro-1-tiofen-3-il)-3,3-dimetil-butiramida (83)

El compuesto del título se preparó como se ha descrito en el ejemplo 61 pero con el uso de 2-metoxifenoxietilamina en lugar de aminoindanol seguido de la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62.

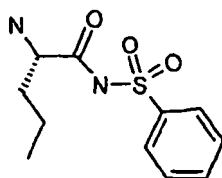
Ejemplo 84



Ácido carbámico, [(1S)-1-[(fenilsulfonil)amino]carbonil]butil]-, fenilmetil éster (84)

A una solución en agitación de Z-Nva-OH (150 mg, 0,59 mmol) en THF (6 ml) se le añadió CDI (400 mg, 2,4 mmol). La suspensión se agitó durante 30 min a TA seguido de la adición de DBU (200 μ l, 1,3 mmol) y una solución de bencenosulfonamida (250 mg, 1,59 mmol) en THF (2 ml). La mezcla se agitó a 60°C durante 48 h seguido de concentración a sequedad. El residuo se disolvió en MeOH y se sometió a purificación por HPLC para dar el compuesto del título (118,5 mg, 0,304 mmol). Pureza al >95% por HPLC. M-H⁺ 389,0, +Na 412,96.

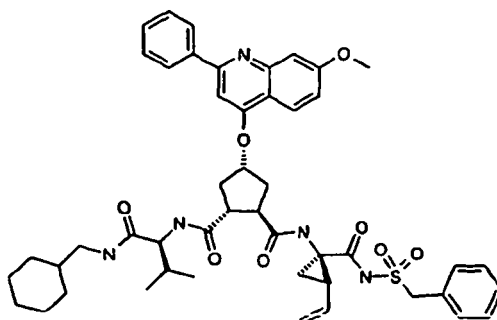
Ejemplo 85



(2S)-2-Amino-N-(fenilsulfonil)pentanamida (85)

El compuesto 84 se disolvió en MeOH (5 ml) seguido de la adición de Pd/C y se sometió a hidrogenación durante 2 h. La suspensión se filtró a través de celite, se lavó con MeOH y se concentró a sequedad para dar el compuesto del título. Rendimiento del 100%. M+H⁺ 257,3.

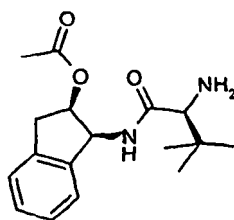
Ejemplo 86



1-[[1-(Ciclohexilmetil-carbamoil)-2-metil-propil]-amida]2-[(1-fenilmetanosulfonilaminocarbonil-2-vinil-ciclopropil)-amida] del ácido 4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentano-1,2-dicarboxílico (86)

Se unió N-(*terc*-butoxicarbonil)-L-valina a la resina PS-TFP de Argonaut como se ha descrito en el ejemplo 60 seguido de reacción con ciclohexanometilamina como se ha descrito en el ejemplo 61 y la retirada del grupo Boc como se ha descrito en el ejemplo 62. La amina producida se usó en una reacción de acoplamiento con el compuesto 35 como se ha descrito en el ejemplo 39 seguido de hidrólisis del éster etílico como se ha descrito en el ejemplo 40 que dio ácido 1-[[2-[1-(ciclohexilmetil-carbamoil)-2-metil-propilcarbamoil]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropanocarboxílico. Después, el ácido producido se trató como se ha descrito en el ejemplo 94 pero usando toluenosulfonamida en lugar de ciclopropil-sulfonamida que dio el compuesto del título. Rendimiento del 6%. Pureza al > 95% por HPLC. $M+H^+$ 864,32.

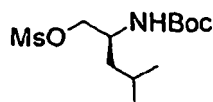
Ejemplo 87



(1S,2R)-1-((2S)-2-Amino-3,3-dimetil-butililamino)-indan-2-il éster del ácido acético (87)

Una solución del compuesto 61 (4 g) se mantuvo en 2:1 de piridina-anhídrido acético durante 30 min. Se añadió DCM y la solución se lavó con ácido cítrico (ac.) y NaHCO_3 (ac.). La capa orgánica se concentró a sequedad la cual dio el producto acetilado puro al >90% por HPLC. Después, el compuesto producido se mantuvo en una solución de TFA al 30% en DCM durante 1,5 h y después se concentró a sequedad. La co-evaporación dos veces del tolueno dio el producto del título puro al >90% por HPLC.

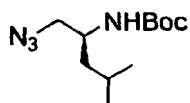
Ejemplo 88



2-terc-Butoxicarbonilamino-4-metil-pentil éster del ácido (2S)-metanosulfónico (88)

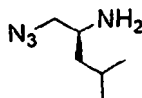
A una solución de éster *terc*-butílico del ácido ((1S)-1-hidroximetil-3-metil-butil)-carbámico (25 g, 115 mmol) en diclorometano (500 ml) enfriada por un baño de agua enfriada con hielo se le añadieron sucesivamente diisopropiletilamina (35,7 g, 276 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (15,81 g, 138 mmol). La solución resultante se agitó durante una noche tiempo durante el cual la mezcla se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente. La mezcla se lavó sucesivamente con agua, ácido cítrico al 10% (ac.), agua y NaHCO_3 (ac.) saturado, después se secó con Na_2SO_4 y se concentró para dar un sólido de color pardo (32,6 g, al 96%) que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Ejemplo 89

ii) Éster *terc*-butílico del ácido ((1*S*)-1-azidometil-3-metil-butil)-carbámico (89)

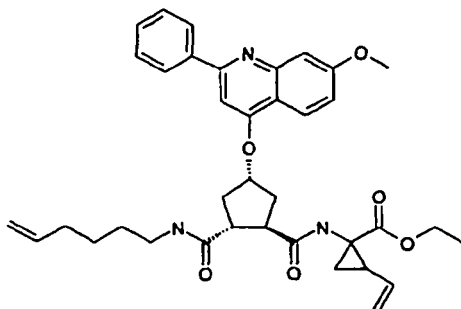
El mesilato del ejemplo 88 (32,6 g, 110 mmol) se trató con azida sódica (21,45 g, 330 mmol) en DMF a 80°C durante 24 h. El disolvente se evaporó, el residuo se recogió en DCM, se filtró y se lavó con NaHCO₃ (ac.) saturado. La solución se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar un aceite pardo que se purificó por cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de acetato de etilo y hexano para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (19,55 g, al 73%).

Ejemplo 90

(1*S*)-1-Azidometil-3-metil-butilamina (90)

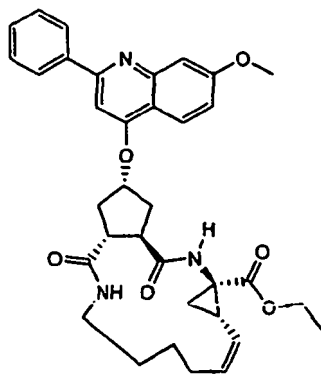
Se trató éster *terc*-butílico del ácido ((1*S*)-1-azidometil-3-metil-butil)-carbámico (9,64 g, 39,78 mmol) con TFA (30 ml) en DCM (150 ml) durante 3 h, la mezcla se evaporó a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con K₂CO₃ acuoso 1 M, se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar un líquido de color amarillo (4,55 g, al 80%).

Ejemplo 91

Éster *etílico* del ácido 1-[[2-hex-5-enilcarbamoil-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino]-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (91)

El éster *terc*-butílico del compuesto 35 se retiró por tratamiento con trietil-silano como se ha descrito en el Ejemplo 39. El ácido producido (724 mg, 1,33 mmol), clorhidrato de hex-5-enilamina (271 mg, 2 mmol) y diisopropiletilamina (1,85 ml, 10,65 mmol), se disolvió en DMF (20 ml) y se enfrió a 0°C. Después de 30 min, se añadió HATU (608 mg, 1,6 mmol) y el matraz se retiró del baño de hielo. La reacción se continuó con LC-MS. Después de 3 h, la mezcla de reacción se extrajo entre EtOAc (100 ml) e hidrógenocarbonato sódico acuoso (15 ml). La fase de EtOAc se secó sobre sulfato de magnesio, se evaporó y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc al 25% en hexano → EtOAc al 50% en hexano) para dar el producto puro del título (726 mg, al 87%). MS (M + H⁺): 525,8.

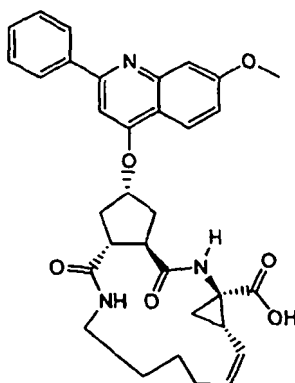
Ejemplo 92



*Éster etílico del ácido 17-(7-Metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carboxílico (92)*

El compuesto 91 (363 mg, 0,58 mmol) se disolvió en diclorometano desgasificado (100 ml). Se añadió catalizador Hoveyda-Grubbs de 2ª generación (26 mg, 0,041 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de argón durante una noche. La mezcla de reacción se evaporó sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc al 50% en hexano → EtOAc al 70% en hexano) para dar el producto puro del título (111 mg, al 32%). MS (M + H⁺): 597,7.

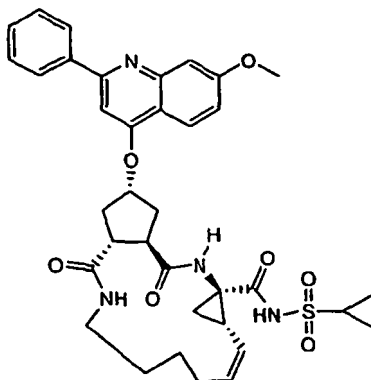
Ejemplo 93



*Ácido 17-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carboxílico (93)*

El compuesto 92 (95 mg, 0,159 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml), metanol (5 ml) y agua (4 ml). Se disolvió hidróxido de litio (40 mg, 1,67 mmol) en agua (1 ml) y se añadió. La mezcla de reacción se calentó a 65°C. Después de 3 h, la mezcla de reacción se enfrió, se acidificó con HCl acuoso (pH = 5), se evaporó sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH al 10% en diclorometano → MeOH al 15% en diclorometano) para dar el producto puro del título (65 mg, al 72%). MS (M + H⁺): 569,8.

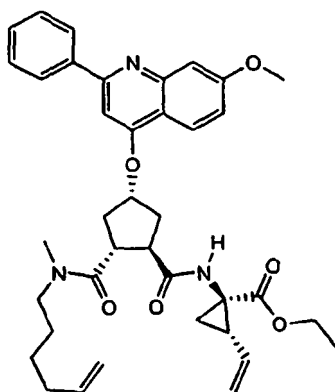
Ejemplo 94



*[17-(7-Metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*octadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico (94)*

El compuesto 93 (65 mg, 0,12 mmol), DMAP (21 mg, 0,17 mmol) y EDAC (44 mg, 0,23 mmol) se disolvió en DMF (0,2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 5 h a T.A. después de lo cual se añadieron ciclopropilsulfonamida (69 mg, 0,57 mmol) y DBU (80 μ l, 0,57 mmol). Después de agitar a T.A. durante una noche la mezcla de reacción se extrajo entre EtOAc (80 ml) y ácido cítrico acuoso (al 10%, 2 x 15 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 , se evaporó sobre sílice y se purificó dos veces por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH al 5% en diclorometano \rightarrow MeOH al 15% en diclorometano), lo que dio un jarabe. Este jarabe se disolvió en un pequeño volumen de acetonitrilo y se precipitó con éter etílico para dar el producto puro del título (19 mg, al 23%). MS ($\text{M} + \text{H}^+$): 673,2.

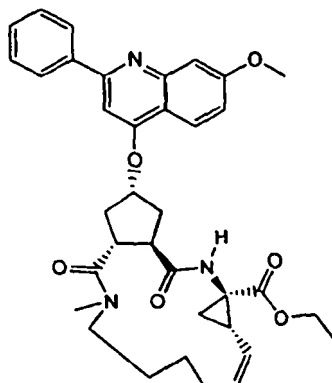
Ejemplo 95



Éster etílico del ácido 1-[[2-hex-5-enil-metil-carbamoyl]-4-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-ciclopentanocarbonil]-amino-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (95)

El éster *tert*-butílico del compuesto 35 se retiró de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 39. El ácido producido (850 mg, 1,56 mmol), clorhidrato de N-metil hex-5-enilamina (380 mg, 2,5 mmol) y diisopropiletilamina (2,3 ml, 13,4 mmol), se disolvió en DMF (60 ml) y se enfrió a 0°C. Después de 30 min, se añadió HATU (0,76 mg, 2,0 mmol) y el matraz se retiró del baño de hielo. La reacción se continuó con el análisis por TLC. Después de 2 h, la mezcla de reacción se añadió al ácido cítrico al 5% y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, lo que dio el producto del título (820 mg, al 82%).

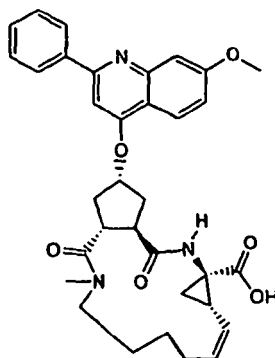
Ejemplo 96



*Éster etílico del ácido 17-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carboxílico (96)*

El compuesto 95 (648 mg, 1,01 mmol) se disolvió en dicloroetano desgasificado (500 ml). Se añadió catalizador de Hoveyda-Grubbs de 2ª generación (35 mg, 0,055 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de argón durante una noche. La mezcla de reacción se evaporó sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc al 30% en tolueno → EtOAc al 50% en tolueno) para dar el producto puro del título (230 mg, al 37%). MS (M + H⁺): 612,8.

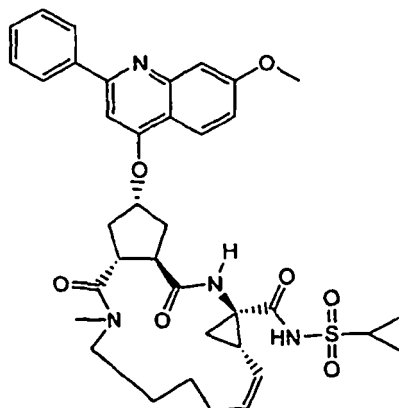
Ejemplo 97



*Éster etílico del ácido 17-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carboxílico (97)*

El compuesto 96 (260 mg, 0,42 mmol) se disolvió en 1,4-dioxano (20 ml), se añadió hidróxido de litio 1,0 M (6,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después durante seis horas a 60°C. La mezcla se añadió a ácido cítrico al 5% y se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice con DCM y MeOH al 5%, lo que dio el producto del título (130 mg, al 53%). MS (M + H): 584,7.

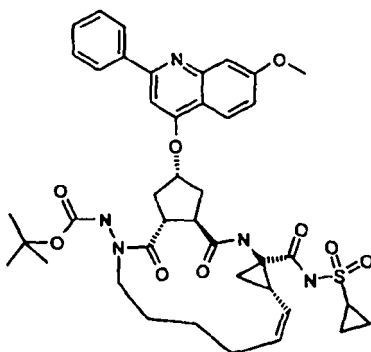
Ejemplo 98



[17-(7-Metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo [13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico (98)

El compuesto 97 (58,3 mg, 0,1 mmol), DMAP (18,3 mg, 0,15 mmol) y EDAC (38,7 mg, 0,2 mmol) se disolvieron en DMF (1,0 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a T.A. después de lo cual se añadieron ciclopropilsulfonamida (60,5 mg, 0,5 mmol) y DBU (76 µg, 0,5 mmol). Después de agitar a T.A. durante una noche la mezcla de reacción se añadió a ácido cítrico al 5% y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó. El residuo producido se purificó dos veces por cromatografía sobre gel de sílice que dio el producto del título (20 mg). MS (M + H) 687,8.

Ejemplo 99



Éster *terc*-butílico del ácido [4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-17-(7-metoxi-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-en-13-il]-carbámico (99)

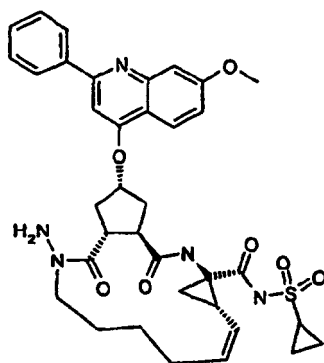
Se preparó éster *terc*-butílico del ácido N'-hex-5-en-(E)-ilideno-hidrazinacarboxílico de acuerdo con el procedimiento descrito en los Ejemplos 46 y 47 pero partiendo de hex-5-en-ol en lugar de hept-6-en-ol. El compuesto 35 se trató como se ha descrito en el Ejemplo 48 pero usando el éster *terc*-butílico del ácido N'-Hex-5-en-(E)-ilideno-hidrazinacarboxílico que se ha descrito anteriormente en lugar del derivado de hept-6-en correspondiente seguido de macrociclación como se ha descrito en el Ejemplo 49 y la hidrólisis del éster etílico como se ha descrito en el Ejemplo 50 dio el ácido. El ácido producido (58 mg, 0,0846 mmol) se disolvió en DMF seca (7 ml) y se añadió gota a gota DIEA durante un minuto. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h antes de la adición de una solución que contenía ciclopropilsulfonamida (41 mg, 0,338 mmol), DMAP (41,3 mg, 0,338 mmol) y DBU (50 µl, 0,338 mmol) en DMF seca (1,5 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 5 días. La solución se diluyó con EtOAc (50 ml) y se lavó con NaHCO₃ sat. La fase acuosa se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron, se concentraron y se sometieron a purificación por HPLC, lo que dio el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (14,3 mg, 0,018 mmol). Pureza por HPLC al >95%, M+H⁺ 788,3.

Ejemplo 100

5

10

15



20

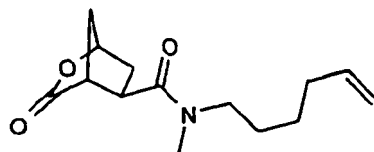
*Sal del ácido trifluoroacético de [13-amino-17-(7-metoxi-2-fenil-quinolin-4-iloxi)-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo [13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico (100)*

El compuesto 99 (2,4 mg, 0,00304 mmol) se mantuvo en 1:2 de TFA-DCM (3 ml) a temperatura ambiente durante 60 min. Se añadió tolueno (3 ml). La muestra se co-evaporó a sequedad para producir el compuesto del título (2,1 mg, 0,0026 mmol). Pureza por HPLC al >95%. $M+H^+$ 688,3.

25

Ejemplo 101

30



35

Hex-5-enil-metilamida del ácido 3-oxo-2-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (101)

40

A HATU (2,17 g, 5,7 mmol) y clorhidrato de N-metil hex-5-enilamina (6,47 mmol) en 5 ml de DMF, en una atmósfera de argón en un baño de hielo, se le añadió ácido 1*R*,4*R*,5*R*-3-oxo-2-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-5-carboxílico (835,6 mg, 5,35 mmol) en 11 ml de DMF seguido de DIEA (2,80 ml, 16 mmol). Después de agitar durante 40 min, la mezcla se agitó a ta durante 5 h. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en EtOAc (70 ml) y se lavó con NaHCO_3 saturado (10 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 25 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con NaCl saturado (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se evaporaron. La cromatografía en columna ultrarrápida (150 g de gel de sílice, 2/1 de EtOAc-éter de petróleo (PE), la detección por TLC mediante KMnO_4 acuoso, R_f de 0,55 en 4/1 de EtOAc-PE) dio el compuesto en forma de un aceite de color amarillo (1,01 g, al 75%).

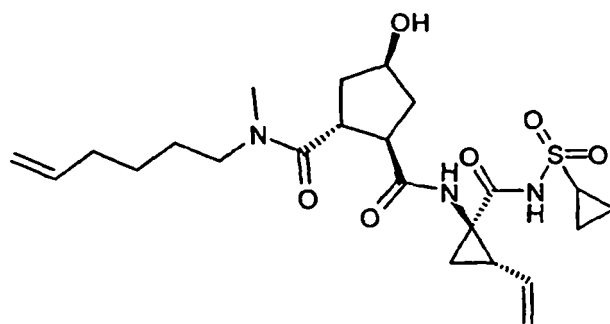
45

Ejemplo 102

50

55

60



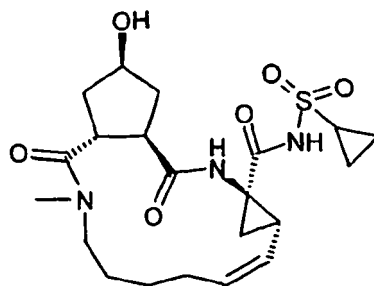
65

Clorhidrato de 1-[(1-ciclopropanosulfonilaminocarbonyl-2-vinilciclopropil)-amida]-2-(hex-5-enil-metilamida) del ácido 4-hidroxiciclopentano-1,2-dicarboxílico (102)

Se añadió una solución de LiOH (0,15 M, 53 ml, 8 mmol) a la lactona amida 101 (996 mg, 3,96 mmol) en un baño de hielo y se agitó durante 1 h. La mezcla se acidificó a pH 2-3 con HCl 1 N, se evaporó, se co-evaporó con tolueno

varias veces y se secó al vacío durante una noche. Se añadieron clorhidrato de (1-amino-2-vinilciclopropanocarbonil) amida del ácido (1*R*,2*S*)-ciclopropanosulfónico (4,21 mmol) y HATU (1,78 g, 4,68 mmol). La mezcla se enfrió en un baño de hielo en una atmósfera de argón y se añadió DMF (25 ml) y después DIEA (2,0 ml, 11,5 mmol). Después de agitar durante 30 min, la mezcla se agitó a ta durante 3 h. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se
 5 disolvió en EtOAc (120 ml), se lavó sucesivamente con HCl 0,5 N (20 ml) y NaCl saturado (2 x 20 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. La cromatografía en columna ultrarrápida (200 g de gel de sílice YMC, MeOH al 2-4% en CH₂Cl₂ dio sólidos de color blanco (1,25 g, al 66%).

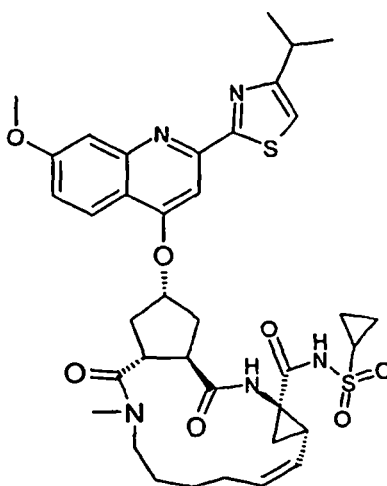
10 Ejemplo 103



25 *(17-Hidroxi-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diazatriciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carbonil)-amida del ácido ciclopropanosulfónico (103)*

El ciclopentanol 102 (52,0 mg, 0,108 mmol) se disolvió en 19 ml de 1,2-dicloroetano (burbujeado con argón antes de usar). El catalizador de Hoveyda-Grubbs de 2ª generación (6,62 mg, al 10% en mol) se disolvió en DCE (2 x
 30 0,5 ml) y se añadió. La solución de color verde se burbujeó con Ar durante 1 min. Los alícuotas (4 ml cada uno) se transfirieron en cinco tubos para microondas de 2 a 5 ml. Al último tubo se le añadió un aclarado de 0,8 ml con disolvente. Cada tubo se calentó por microondas (de ta a 160°C en 5 min). Todos los alícuotas se combinaron y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, MeOH al 3-7% en CH₂Cl₂) dio 24,39 mg de sólidos (R_f 0,28 en MeOH al 10%-CH₂Cl₂ con dos manchas). Los sólidos se combinaron con una muestra de
 35 9,66 mg y se sometieron a una segunda cromatografía (MeOH al 2-8% en EtOAc) para dar sólidos de color crema (23 mg) con el 80% del compuesto deseado (rendimiento del 26%).

40 Ejemplo 104

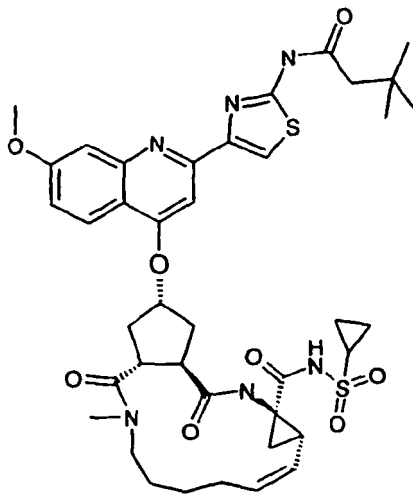


60 *(17-[2-(4-Isopropiltiazol-2-il)-7-metoxiquinotín-4-iloxi]-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diazatriciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carbonil)-amida del ácido ciclopropanosulfónico (104)*

Se añadió DIAD (22 µl, 0,11 mmol) a una mezcla del producto de metátesis 103 (23 mg), 2-(4-isopropil-1,3-tiazol-2-il)-7-metoxiquinolin-4-ol (24 mg, 0,08 mmol), y PPh₃ (30 mg, 0,11 mmol) en 1 ml de THF seco, en un baño de
 65 hielo. La mezcla se agitó a ta durante una noche y después se evaporó. El residuo (1,2 ml de una solución de 1,5 ml de MeCN) se purificó por HPLC prep. (Hypercarb 7 µl de 100 x 21,2 mm, MeCN acuoso del 40% al 99% MeCN en 10 min) para dar 3,18 mg de MV062308 en forma de sólidos de color crema (rendimiento del 13%).

¹H RMN (DMSO-d₆) δ ppm: rotámero principal 0,99 (m, 2H), 1,11 (m, 2H), 1,20-1,30 (m, 2H), 1,37 y 1,38 (2d, *J* = 7,0 Hz, 6H), 1,46-1,58 (m, 2H), 1,70 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,90 (dd, *J* = 8,5, 6,0 Hz, 1H), 2,06 (a, 1H), 2,26 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 2,52-2,62 (m, 3H), 2,90-2,97 (m, 2H), 3,06 (s, 3H), 3,21 (m, 1H), 3,40-3,56 (m, 2H) 3,97 (s, 3H), 4,60 (m, 1H), 5,04 (m, 1H), 5,41 (a, 1H), 5,66 (m, 1H), 7,16 (m), 7,58 (a), 8,02 (m), 10,92 (s, 1H).

Ejemplo 105

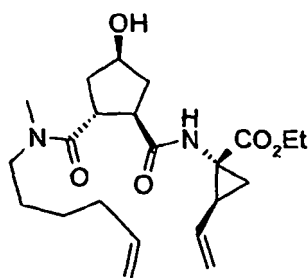


N-{4-[4-(4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-en-17-iloxi)-7-metoxi-quinoli-2-il]-tiazol-2-il}-3,3-dimetilbutiramida (105)

El tratamiento del compuesto 103 con 4-hidroxi-7-metoxi-2-[2-(2,2-dimetilbutanoil)aminotiazol-4-il]quinolina como se ha descrito en el Ejemplo 104 dio el compuesto del título.

LCMS: tiempo de retención 2,30 min gradiente del 30%-80% de B en 3 min (flujo: 0,8 ml/min, UV 220 nm, ACE C8 de 3 x 50 mm; fase móvil A: NH₄Ac 10 mM en H₂O al 90%, B: NH₄Ac 10 mM en ACN al 90%), (M+1)⁺ = 807.

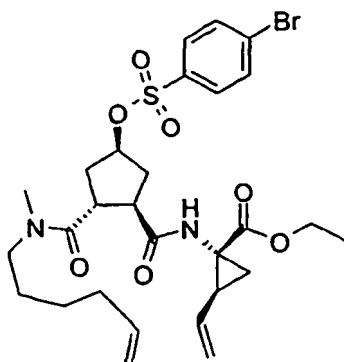
Ejemplo 106



Éster etílico del ácido 1-{[2-(hex-5-enil-metil-carbamoil)-4-hidroxi-ciclopentanocarbonil]-amino}-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (106)

La reacción del compuesto 101 como se ha descrito en el ejemplo 102 pero usando éster etílico del ácido 1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico en lugar de clorhidrato de (1-amino-2-vinilciclopropanocarbonil)amida del ácido (1*R*,2*S*)-ciclopropanosulfónico dio el compuesto del título.

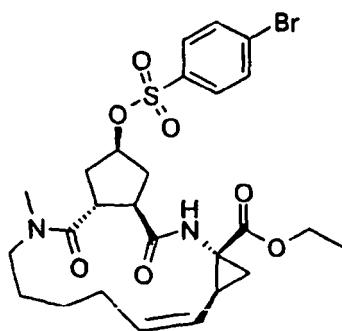
Ejemplo 107



Éster etílico del ácido 1-[[4-(4-bromo-bencensulfoniloxy)-2-(hex-5-enil-metil-carbamoil)-ciclopentanocarbonil]-amino]2-vinil-ciclopropanocarboxílico (107)

El compuesto 106 (115 mg, 0,286 mmol) se disolvió en tolueno (5 ml) y diclorometano (1 ml). A la solución se le añadió DABCO (2,2,2-diazobisciclooctano) (96 mg, 0,857 mmol, 3 equiv.) seguido de la adición de BsCl (109 mg, 0,428 mmol, 1,5 equiv.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche, se diluyó con tolueno (acetato de etilo al +10%), se lavó con bicarbonato sódico saturado y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó. El producto deseado se obtuvo por cromatografía en columna (eluyente: EtOAc) R_f 0,25). Conversión al 80%. Rendimiento de 106 mg.

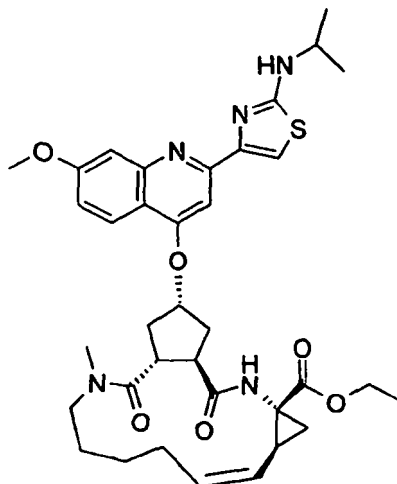
Ejemplo 108



*Éster etílico del ácido 17-(4-bromo-bencensulfoniloxy)-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octa-dec-7-eno-4-carboxílico (108)*

El compuesto 107 (106 mg, 0,169 mmol) se disolvió en diclorometano (40 ml) y se desgasificó por burbujeo con nitrógeno a través de la solución durante 20 min. Después, se añadió catalizador de Hoveyda-Grubbs de 1ª generación (10 mg, 0,017 mmol, al 10% en mol) y la mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante una noche. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadió un eliminador de paladio MP-TMT (aprox. 100 mg) y se agitó durante 2,5 h. El eliminador se retiró por filtración y se lavó con 50 ml de diclorometano. La solución obtenida se concentró por evaporación rotatoria. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc) para dar 61 mg de producto. Rendimiento del 60%.

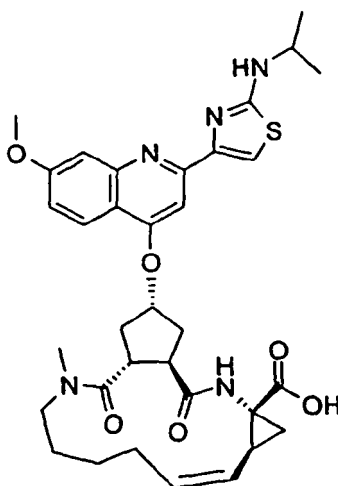
Ejemplo 109



*Éster etílico del ácido 17-[2-(2-isopropilamino-tiazol-4-il)-7-metoxi-quinolin-4-iloxi]-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carboxílico (109)*

Se disolvió 2-(isopropilamino-tiazol-4-il)-7-metoxi-quinolin-4-ol (220 mg, 0,7 mmol) (preparado como se describe en el documento WO 00/59929) en 7 ml de NMP (N-metil pirrolidinona), se añadió una cucharada de Cs_2CO_3 , se agitó a 60°C durante 1,5 h. Después, se añadió el compuesto 108 (150 mg, 0,24 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante una noche. Se diluyó con cloroformo y se lavó con bicarbonato sódico y salmuera. Las fases acuosas se extrajeron de nuevo con cloroformo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa (Gilson) (MeOH- H_2O , al 65%) para dar 21 mg de producto (rendimiento del 13%) así como 12 mg de isómero.

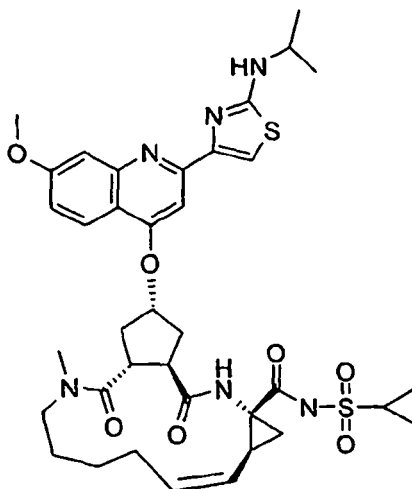
Ejemplo 110



*Ácido 17-[2-(2-isopropilamino-tiazol-4-il)-7-metoxi-quinolin-4-iloxi]-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carboxílico (110)*

A la solución del éster 109 (21 mg, 0,031 mmol) en una mezcla de THF (0,2 ml) y metanol (0,3 ml) se le añadió una solución de LiOH (4 mg, 0,17 mmol) en 0,15 ml de agua. La mezcla resultante se agitó a 60°C durante 3,5 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió ácido acético (30 equiv.). La mezcla se co-evaporó con tolueno. El residuo se repartió entre cloroformo y agua, la fase acuosa se extrajo 3 veces con cloroformo, las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron, lo cual dio 20 mg de producto puro (rendimiento del 99%).

Ejemplo 111



25 {17-[2-(2-Isopropilamino-tiazol-4-il)-7-metoxi-quinolin-4-iloxi]-13-metil-2,14-dioxo-3,13-diaza-triciclo
[13.3.0.0*4,6*]octadec-7-eno-4-carbonil]amida del ácido ciclopropanosulfónico (111)

El ácido 110 (20 mg, 0,15 mmol), DMAP (28 mg, 0,225 mmol) y EDAC (58 mg, 0,3 mmol) se disolvieron en DMF (1,5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a T.A. después de lo cual se añadieron ciclopropil-sulfonamida (91 mg, 1,125 mmol) y DBU (114 μ l, 0,75 mmol). Después de agitar a TA durante una noche la mezcla de reacción se añadió a ácido cítrico al 5% y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó. El residuo producido se purificó por HPLC preparativa para dar el producto del título (5,6 mg) (rendimiento del 24%).

35 Ensayos

Los compuestos de la invención se ensayan convenientemente para la actividad frente a la NS3 proteasa de flavivirus tal como el VHC usando ensayos convencionales *in vitro* (enzimáticos) o ensayos en cultivos celulares.

Un ensayo útil es el ensayo del replicón Bartenshlager descrito en el documento EP 1043399. En el documento WO 03064416 se describe un ensayo de replicón alternativo.

Un ensayo enzimático conveniente implica la inhibición de la NS3 de la hepatitis C de longitud completa como se describe esencialmente en Poliakov, 2002 Prot Expression & Purification 25 363 371. En resumen, la hidrólisis de un sustrato de peptidomimético, Ac-DED (Edans) EEAbuy ψ [COO]ASK(Dabcyl)-NH₂ (AnaSpec, San José, Estados Unidos), se mide por espectrofluorimetría en presencia de un cofactor peptídico, KKGSVVIVGRIVLSGK, como se describe por Landro, 1997 Biochem 36 9340-9348. La enzima (1 nM) se incubaba en un tampón tal como HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 10 mM, glicerol al 40%, n-octil- β -D-glucósido al 0,1%, con cofactor e inhibidor 25 μ M a unos 30°C durante 10 min, después de lo cual se inicia la reacción con la adición de sustrato, típicamente sustrato 0,5 μ M. Los inhibidores se disuelven típicamente en DMSO, se someten a sonicación durante 30 s y a agitación vorticial. Las soluciones se almacenan generalmente a mediciones entre -20°C.

En el documento WO 0399316 se describe un ensayo enzimático alternativo y emplea un ensayo peptídico FRET del complejo NS3/4A proteasa del VHC. El propósito de este ensayo *in vitro* es medir la inhibición de los complejos NS3 proteasa del VHC, derivados de cepas BMS, H77C o J416S, como se describe a continuación, por compuestos de la presente invención. Este ensayo proporciona una indicación de cómo sería la eficacia de los compuestos de la presente invención inhibiendo la actividad proteolítica del VHC.

Se toma suero de un paciente infectado con el VHC. Se construye un molde de ADNc de longitud completa modificado por ingeniería genética del genoma del VHC (cepa BMS) a partir de fragmentos de ADN obtenidos por PCR de transcripción inversa (RT-PCR) de ARN de suero y usando cebadores seleccionados en base a la homología entre otras cepas de genotipo Ia. A partir de la determinación de toda la secuencia del genoma, se asignó un genotipo I a al aislado del VHC de acuerdo con la clasificación de Simmonds *et al.* (Véase P Simmonds, KA Rose, S Graham, SW Chan, F McOmish, BC Dow, EA Follett, PL Yap y H Marsden, J. Clin. Microbiol., 31(6). 1493-1503 (1993)). Se demostró que la secuencia de aminoácidos de la región no estructural, NS2-5B, era >97% idéntica al genotipo Ia del VHC (H77C) y 87% idéntica al genotipo Ib (J4L6S). Los clones infecciosos, H77C (genotipo I a) y J4L6S (genotipo

Ib) pueden obtenerse a partir de R. Purcell (NIH) y las secuencias se publican en el Genbank (AAB67036, véase Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U. y Bukh. Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos 94 (16) 8738-8743 (1997); AF054247, véase Yanagi, M., St Claire, M., Shapiro, M., Emerson, S.U., Purcell, R.H. y Bukh, Virology 244 (1), 161 (1998)).

Las cepas de BMS, H77C y J4L6S son convencionales para la producción de complejos de NS3/4A proteasa recombinante. El ADN que codifica el complejo NS3/4A proteasa del VHC recombinante (aminoácidos 1027 a 1711) de estas cepas se manipuló como se describe por P. Gallinari *et al.* (Véase Gallinari P, Paolini C, Brennan D, Nardi C, Steinkuhler C, De Francesco R. Biochemistry. 38(17):562032, (1999)). En resumen, en el extremo 3' de la región codificante 3'0 NS4A se añadió una cola soluble de tres lisinas. La cisteína en la posición P1 del sitio de escisión NS4A-NS4B (aminoácido 1711) se cambió por una glicina para evitar la escisión proteolítica de la marca de lisina. Además, por PCR puede introducirse una mutación de serina a cisteína en la posición del aminoácido 1454 para evitar la escisión autolítica en el dominio NS3 helicasa. El fragmento de ADN variante puede clonarse en el vector de expresión bacteriano pET21 b (Novagen) y el complejo NS3/4A puede expresarse en la cepa BL21 de *Escherichia coli* (DE3) (Invitrogen) seguido del protocolo descrito por P. Gallinari *et al.* (Véase Gallinari P, Brennan D, Nardi C, Brunetti M, Tomei L, Steinkuhler C, De Francesco R., J. Virol. 72(8):6758-69 (1998)) con modificaciones. En resumen, la expresión de NS3/4A puede inducirse con Isopropil beta-D tiogalactopiranosido (IPTG) 0,5 mM durante 22 h a 20°C. Una fermentación típica (10 l) produce aproximadamente 80 g de pasta celular húmeda. Las células se resuspenden en tampón de lisis (10 mg) formado por N-(2Hidroxietil)Piperazina-N'-(2-ácido Etano Sulfónico) (HEPES) 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20%, Cloruro de Sodio (NaCl) 500 mM, Tritón-X100 al 0,5%, lisozima 1 ug/ml, Cloruro de Magnesio (MgCl₂) 5 mM, Dnasel 1 ug/ml, beta-Mercaptoetanol (BME) 5 mM, inhibidor de Proteasa - sin ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA) (Roche), homogenizado e incubado durante 20 min al VC. El homogeneizado se somete a sonicación y se aclara por ultracentrifugación a 235000 g durante 1 h a 4°C.

Se añade imidazol al sobrenadante hasta una concentración final de 15 mM y el pH se ajusta a 8. El extracto de proteína cruda se carga en una columna de Níquel Ácido nitrilotriacético (Ni-NTA) pre-equilibrada con tampón B (25mM 2,0 HEPES, pH 8, glicerol al 20%, NaCl 500 mM, Tritón-X100 al 0,5%, imidazol 15 mM, BME 5 mM). La muestra se carga a un caudal de 1 ml/min. La columna se lava con volúmenes de 15 columnas de tampón C (el mismo que el tampón B excepto con Tritón-X100 al 2,0%). La proteína se eluye con volúmenes de 5 columnas de tampón D (el mismo que el tampón C excepto con imidazol 200 mM).

Las fracciones que contienen el complejo NS3/4A proteasa se agrupan y se cargan en una columna desalinizante Superdex-S200 pre-equilibrada con tampón D (HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20%, NaCl 300 mM, Tritón-X100 al 0,2%, BME 10 mM). La muestra se carga a un caudal de 1 ml/min. Las fracciones que contienen el complejo 3'0 NS3/4A proteasa se agrupan y se concentran a aproximadamente 0,5 mg/ml. La pureza de los complejos NS3/4A proteasa, derivados de las cepas BMS, H77C y J4L6S se considera típicamente que es superior al 90% por análisis SDS-PAGE y espectrometría de masas.

La enzima se almacena generalmente a -80°C, se descongela en hielo y se diluye antes de usar en el tampón de ensayo. El sustrato usado para el ensayo NS3/4A proteasa, es convenientemente RET S 1 (Sustrato Dipeptídico de Transferencia por Energía de Resonancia; AnaSpec, Inc. cat # 2291) (péptido FRET), descrito por Tailani *et al.* en Anal. Biochem. 240(2): 6067 (1996). La secuencia de este péptido se basa en líneas generales en el sitio de escisión natural NS4A/NS4B excepto que hay una unión éster en lugar de un enlace amina en el sitio de escisión. El sustrato peptídico se incuba con uno de los tres complejos recombinantes NS4/4A, en ausencia o presencia de un compuesto de la presente invención y la formación de producto de reacción fluorescente continuó en tiempo real usando un Cytofluor Series 4000. Los reactivos útiles son los siguientes: El HEPES y el Glicerol (Ultrapure) pueden obtenerse de GIBCO-BRL. El Dimetil Sulfóxido (DMSO) se obtiene de Sigma. El Beta-Mercaptoetanol se obtiene de Bio Rad.

Tampón de ensayo: HEPES 50 mM, pH 7,5; NaCl 0,15 M, Tritón al 0,1%; Glicerol al 15%; BME 10 mM. Sustrato: concentración final 2 uM (de una solución 2,0 madre 2 mM en DMSO almacenada a -20°C). Ia de tipo NS3/4A del VHC (Ib), concentración final 2-3 nM (de una solución madre 5 uM en HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20%, NaCl 300 mM, Tritón-X100 al 0,2%, BME 10 mM). Para compuestos con potencias aproximadas al límite de ensayo, el ensayo puede hacerse más sensible añadiendo BSA 50 ug/ml al tampón de ensayo y/o reduciendo la concentración final de proteasa a 300 pM.

El ensayo se realiza convenientemente en una placa negra de poliestireno de 96 pocillos de Falcon. Cada pocillo contiene complejo NS3/4A proteasa 25 ul en tampón de ensayo, 50 ul de un compuesto de la presente invención en tampón de ensayo/DMSO al 10% y sustrato 25 ul en tampón de ensayo. También se prepara un control (no compuesto) en la misma placa de ensayo. El complejo enzimático se mezcla con un compuesto o una solución control, típicamente durante 1 min antes de iniciar la reacción enzimática por la adición de sustrato. La placa de ensayo se lee generalmente de manera inmediata usando un espectrofotómetro tal como un Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). El instrumento se ajusta convenientemente para leer una emisión de 340 nm y una excitación de 490 nm a 25°C. Las reacciones se continúan generalmente durante aproximadamente 15 minutos.

El porcentaje de inhibición puede calcularse con la siguiente ecuación.

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

5 en la que dF es el cambio de fluorescencia durante el intervalo lineal de la curva. Un ajuste de curva no lineal se aplica a los datos de inhibición-concentración, y la concentración eficaz al 50% (CI_{50}) se calcula mediante el uso de software tal como software de ajuste Excel XI usando la ecuación:

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

10 El ensayo enzimático utiliza convenientemente un principio de transferencia de energía por resonancia fluorescente (FRET) para generar una respuesta espectroscópica para un evento de escisión NS4A/4B catalizado por NS3 serina proteasa del VHC. La actividad se mide típicamente en un ensayo de fluorometría continuo usando una longitud de onda de excitación de 355 nm y una longitud de onda de emisión de 500 nm. La velocidad inicial puede determinarse
15 de una lectura continua de 10 min de intensidades de fluorescencia aumentadas como resultado del evento de escisión catalizado por la NS3 proteasa.

Un ensayo enzimático alternativo puede realizarse como sigue:

20 *Materiales*

Puede prepararse una enzima de longitud completa NS3 del VHC recombinante como se muestra en el Poliakov et al Protein Expression & purification 25 (2002) 363-371. El cofactor de NS4A convenientemente tiene una
25 secuencia de aminoácidos de KKGSVVIVGRIVLSGK (disponible en el mercado), generalmente preparada como una solución madre 10 mM en DMSO. El sustrato-FRET (Ac-Asp-Glu-Asp(EDANS)-Glu-Glu-Abu-ψ-[COO)Ala-Ser-Lys (DABCYL)-NH₂, MW 15480.60 puede adquirirse de AnaSpec RET S1, CA. Estados Unidos) y se prepara típicamente como una solución madre en DMSO 1,61 mM. Las alícuotas (50 µl/tubo) deben envolverse con una lámina de aluminio para proteger directamente de la luz y almacenar a -20°C.

30 El compuesto 1 de referencia, N-1725 con una secuencia de AcAsp-D-Gla-Leu-Ile-Cha-Cys, PM 830.95 puede adquirirse de BACHEM, Suiza y se prepara generalmente como una solución madre 2 mM en DMSO y almacenarse en alícuotas a -20°C.

35 EL tampón HEPES 1M puede adquirirse de Invitrogen Corporation, almacenado a 20°C. El glicerol puede adquirirse de Sigma, 99% de pureza.

CHAPS, 3-[(3-Cloramidopropil)dimetilammonio]-1-propanosulfonato: puede adquirirse de Research Organics, Cleveland, OH44125, Estados Unidos MW614.90

40 DTT, DL-Ditiotreitol (Reactivo Cleland: DL-DTT) pureza al 99%, PM.154.2 Almacenaje: +4°C.

El DMSO puede adquirirse de SDS, 13124 Peypin, Francia. Pureza del 99,5%.

45 El TRIS, ultra puro (TRIS-(hidroximetilaminometano), puede adquirirse de ICN Biomedicals Inc.

El Cloruro de Sodio puede obtenerse de KEBOIab AB.

El N-dodecil-β-D-maltosido, al 98% mínimo, puede adquirirse de Sigma, almacenado a -20°C.

50 *Equipo*

Placas de microtitulación (cliniplate blanca, ThermoLab Systems cat. N° 9502890)

55 Pipetas Eppendorf

Pipeta Biohit de multi - dosificación

60 Fluorímetro Ascent, filterpair ex 355 nm, em 500 nm

Método

65 *Procedimiento experimental:*

Se preparan en DMSO soluciones madre 10 mM de los compuestos. Las soluciones madre se almacenan a temperatura ambiente aunque se ensayan y se ponen a -20°C para almacenar durante mucho tiempo.

ES 2 336 009 T3

Tampón de ensayo A:

Tampón HEPES 50 mM, pH=7,5, Glicerol al 40%, CHAPS 0,1%

Almacenaje: temperatura ambiente.

DTT 10 mM (almacenado en alícuotas a -20°C y añadido fresco en cada experimento).

Tampón de ensayo B:

TRIS 25 mM pH 7,5, NaCl 0,15 M, glicerol al 10%, n-dodecil- β -D-matolsido al 0,05%

DTT 5 mM (almacenado en alícuotas a -20°C y añadido fresco en cada experimento).

Secuencia de ensayo:

Preparación de tampón de reacción (para una placa, 100 reacciones) (tampón A)

1. Se prepara tampón de ensayo 9500 μ l (HEPES, pH=7,5, glicerol al 40% y CHAPS al 0,1% en agua desionizada. Se añade DTT dando una concentración final de 10 mM (preparado fresca para cada proceso).
2. Se descongela rápidamente la NS3 proteasa.
3. Se añade 13,6 μ l de proteasa NS3 y 13,6 μ l de péptido NS4A y se mezcla adecuadamente. Se deja la mezcla durante 15 minutos a temperatura ambiente.
4. Se coloca de nuevo la solución madre enzimática en nitrógeno líquido o a -80°C a tan pronto como sea posible.

Preparación de tampón de reacción (para una placa, 100 reacciones) (tampón B)

5. Se prepara 9500 μ l de tampón de ensayo (TRIS, pH=7,5, NaCl 0,15 M, EDTA 0,5 mM, glicerol al 10% y n-dodecil- β -D-maltosido al 0,05% en agua desionizada. Se añade DTT dando una concentración final de 5 mM (preparado fresca para cada proceso).
6. Se descongela rápidamente la proteasa NS3.
7. Se añade proteasa NS3 27,2 μ l y péptido NS4A 13,6 μ l y se mezcla adecuadamente. Se deja la mezcla durante 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Se coloca de nuevo la solución madre enzimática en nitrógeno líquido o a -80°C tan pronto como sea posible.

Preparación del compuesto inhibidor/referencia

Se hace una dilución en serie de los inhibidores en DMSO a concentraciones finales 100x de 10, 1, 0,1, 0,01 y 0,001 μ M. La concentración de DMSO final en un volumen de reacción total de 100 μ l es del 1%.

Se hace una dilución en serie del compuesto de referencia, N-1725 en DMSO a concentraciones finales 100x de 120, 60, 30, 15, 7,5 y 3,75 nM.

Para cada proceso se necesitan ocho pocillos de control enzimático

Pocillos blancos contienen tampón 95 μ l (sin NS3 PR), DMSO 1 μ l y sustrato 5 μ l.

Preparación del sustrato FRET

Se diluye la solución madre de sustrato (1,61 mM) con tampón de ensayo a una solución de trabajo de 40 μ M. Evitando la exposición a la luz.

Secuencia de ensayo

Uso de cliniplate de 96 pocillos, el volumen de ensayo total por pocillo es de 100 μ l.

1. Se añade 95 μ l de tampón de ensayo a cada pocillo
2. Se añade un compuesto inhibidor/referencia 1 μ l
3. Se preincubar durante 30 minutos a temperatura ambiente
4. Se inicia la reacción añadiendo 5 μ l de solución de sustrato 40 μ M (concentración final 2 μ M)
5. Se lee continuamente durante 20 minutos a $\lambda_{\text{ex}}=355$ nm y $\lambda_{\text{em}}=500$ nm, controlando el aumento de fluorescencia por minuto.
6. Se representa la curva de progresión (dentro del intervalo lineal, intervalos de 8-10) y se determina la pendiente como una velocidad inicial con respecto a cada concentración de inhibidor individual.
7. Se calcula el % de inhibición con respecto al control enzimático.

Tratamiento de los Resultados

El resultado se expresa como % de inhibición a una concentración determinada (exploración) o como un valor K_i en nM o μ M. Cálculo del % de inhibición: la velocidad inicial se determina a partir de la lectura continua durante 10 minutos de intensidades de fluorescencia aumentadas como resultado del evento de escisión catalizado por la NS3 proteasa. El cambio en la pendiente para el inhibidor comparado con el control enzimático proporciona el % de inhibición a una determinada concentración.

Cálculo de K_i : Todos los inhibidores se tratan como si siguieran las reglas de inhibición competitiva. El valor de CI_{50} se calcula a partir de los valores de inhibición de una serie de concentraciones de inhibidor. El valor calculado se usa en la siguiente ecuación: $K_i = CI_{50}(1 + S/k_m)$

La representación del gráfico se realiza con la ayuda de dos programas de cálculo: Grafit y Graphpad.

Diversos compuestos de la invención ejemplificados anteriormente muestran CI_{50} en el intervalo 1 nM a 6,9 micromolar y las DE_{50} en el intervalo sub-micromolar a micromolar en los ensayos anteriores.

Modelo y velocidad de resistencia de escape a fármacos

Pueden usarse cultivos de replicones en placas de microtitulación para determinar la velocidad del desarrollo a la resistencia y para seleccionar los mutantes de escape a fármacos. Los compuestos a ensayar se añaden a concentraciones aproximadas a su DE_{50} usando, digamos, 8 duplicados por concentración. Después del periodo de incubación del replicón apropiado se mide la actividad proteasa en el sobrenadante o las células lisadas.

El siguiente procedimiento se continuó posteriormente con pases de los cultivos. El virus producido a la concentración del compuesto de ensayo que muestra actividad proteasa >50% de células infectadas no tratadas (SIC, Concentración Inhibidora de Inicio) se pasan a cultivos de replicón recién preparado. Una alícuota, digamos, 15 μ l de sobrenadante de cada uno de los ocho duplicados se transfirió a las células de replicón sin el compuesto de ensayo. (control) y a células con el compuesto de ensayo a la misma concentración y adicionalmente dos concentraciones superiores cinco veces respectivamente. (Véase la tabla a continuación).

Cuando el componente viral de propagación del replicón (por ejemplo medido por la actividad proteasa del VCH) se permite a la concentración más alta no tóxica (5-40 μ M), 2-4 pocillos paralelos se recogen y se expanden para dar un material para el análisis de secuencia y la resistencia en modo cruzado.

ES 2 336 009 T3

Clave:

Crecimiento viral permitido

5 Producción de virus inhibida

				125 x SIC	125 x SIC
				$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{25 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$
10		25 x SIC	25 x SIC	125 x SIC	125 x SIC
		5 x SIC	$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{25 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$
		$\frac{SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$
	$\frac{SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$	$\frac{5 \times SIC}{\text{Sin compuesto}}$
15	Pase 1	Pase 2	Pase 3	Pase 4	Pase 5

Los métodos alternativos para ensayar la actividad de mutantes de escape a fármacos incluyen la preparación de enzimas mutantes portadoras de mutación distintiva para usar en determinaciones K_i convencionales como se muestra anteriormente. Por ejemplo, el documento WO 04/039970 describe construcciones que permiten el acceso a proteasas del VCH portadoras de mutantes de escape a fármacos 155, 156 y/o 168 que surgen de la presión selectiva de BILN-2061 y VX-950. Dichas construcciones pueden modificarse genéticamente en vectores de replicones en lugar de la proteasa de tipo silvestre, permitiendo de esta manera la valoración fácil en un ensayo celular o si un compuesto determinado es un activo frente a un determinado mutante de escape a fármacos.

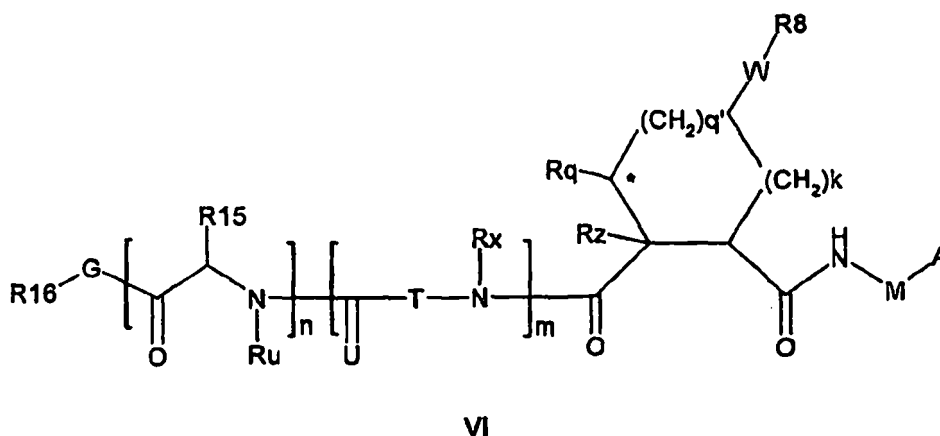
25 *Metabolismo P450*

El metabolismo de los compuestos de la invención a través de las isoformas principales del sistema de citocromo humano P450 se determina convenientemente en células de insecto infectadas con baculovirus transfectadas con ADNc P450 de citocromo humano (supersomas) Gentest Corp. Woburn USA.

Los compuestos de ensayo a concentraciones de 0,5, 5 y 50 μM se incuban por duplicado en presencia de supersomas que sobreexpresan diversas isoformas de citocromo P450, que incluyen reductasa CYP1A2 + P450, reductasa CYP2A6 + P450, reductasa CYP2C9-Arg 144 + P450, reductasa CYP2C19 + P450 + reductasa CYP2D6-Val 374 + P450 y reductasa CYP3A4 + P450. Los compuestos incubados contienen una concentración fija de citocromo P450 (por ejemplo 50 pmoles) y se realiza durante 1 hora. La implicación de una isoforma determinada en el metabolismo del compuesto de ensayo se determina cromatográficamente por UV HPLC midiendo la desaparición del precursor.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula VI:



en la que

A es $C(=O)OR^1$ o $C(=O)NHSO_2R^2$, en la que;

R^1 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 ;

R^2 es alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 ;

donde R^2 está opcionalmente sustituido por 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , $NH_2C(=O)-$, $Y-NRaRb$, $Y-ORb$, $Y-C(=O)Rb$, $Y-C(=O)NRaRb$, $Y-NRaC(=O)Rb$, $Y-NHSO_pRb$, $Y-S(=O)_pRb$, $Y-S(=O)_pNRaRb$, $Y-C(=O)Rb$ e $Y-NRaC(=O)ORb$;

Y es independientemente un enlace o alquileo C_1-C_3 ;

Ra es independientemente H o alquilo C_1-C_3 ;

Rb es independientemente H, alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 o alquilheterociclilo C_0-C_3 ;

p es independientemente 1 ó 2;

M es $CR^7R^{7'}$;

Ru es H o alquilo C_1-C_3 ;

R^7 es alquilo C_1-C_6 , alquil C_0-C_3 -cicloalquilo C_3-C_7 o alquienilo C_2-C_6 , cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por 1-3 halo átomos, o un grupo amino, -SH o alquilocicloalquilo C_0-C_3 ; o R^7 es J;

$R^{7'}$ es H o tomado junto con R^7 forma un anillo cicloalquilo C_3-C_6 opcionalmente sustituido por $R^{7'a}$ donde;

$R^{7'a}$ es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_5 , alquienilo C_2-C_8 cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido por halo; o $R^{7'a}$ es J;

q' es 0 ó 1 y k es de 0 a 3;

Rz es H, o junto con átomo de carbono señalado con un asterisco forma un enlace olefínico;

Rq es H o alquilo C_1-C_6 ;

W es $-CH_2-$, $-O-$, $-OC(=O)NH-$, $-OC(=O)-$, $-S-$, $-NH-$, $-NRa$, $-NHSO_2-$, $-NHC(=O)NH-$ o $-NHC(=O)-$, $-NHC(=S)NH-$ o un enlace;

R^8 es un sistema de anillo que contiene 1 ó 2 anillos saturados, parcialmente saturados o insaturados cada uno de los cuales tiene 4-7 átomos en el anillo y cada uno de los cuales tiene de 0 a 4 heteroátomos seleccionados entre S, O y N, estando el sistema de anillo opcionalmente separado de W por un grupo alquilo C_1-C_3 ; cualquiera de los grupos R^8 puede estar opcionalmente mono-, di- o tri-sustituido por R^9 , donde

R⁹ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, NH₂CO-, Y-NRa'Rb, Y-O-Rb, Y-C(=O)Rb, Y-(C=O)NRa'Rb, Y-NRaC(=O)Rb, Y-NHSO_pRb, Y-S(=O)_pRb, Y-S(=O)_pNRaRb, Y-C(=O)ORb e Y-NRaC(=O)ORb; donde Ra' es Ra, con la condición de que cuando W sea -S- o -O-, R⁸ sea alquilarilo C₀-C₃ o alquilheteroarilo C₀-C₃, Y sea un enlace y Rb sea H o alquilo C₁-C₆, entonces Ra' sea Ra o alquilo C₁-C₆; y donde dicho resto carbociclilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido por R¹⁰; donde R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, alcoxi C₁-C₆, amino, sulfonilo, (alquil C₁-C₃)sulfonilo; NO₂, OH, SH, halo, haloalquilo, carboxilo, amido;

Rx es H o C₁-C₅ alquilo; o Rx es J;

T es -CHR¹¹- o -NRd-, donde Rd es H, alquilo C₁-C₃; o Rd es J;

R¹¹ es H, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales puede estar sustituido por halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, NH₂CO-, Y-NRaRb, Y-O-Rb, Y-C(=O)Rb, Y-(C=O)NRaRb, Y-NRaC(=O)Rb, Y-NHSO_pRb, Y-S(=O)_pRb, Y-S(=O)_pNRaRb, Y-C(=O)ORb, Y-NRaC(=O)ORb; o R¹¹ es J;

J, si está presente, es una cadena alquilen saturada o parcialmente insaturada de 3 a 10 miembros que se extiende desde el cicloalquilo R⁷/R^{7'}, o desde el átomo de carbono al que R⁷ está unido hasta uno de Rd, Rj, Rx, Ry o R¹¹ para formar un macrociclo, cuya cadena está opcionalmente interrumpida por uno a tres heteroátomos independientemente seleccionados entre: -O-, -S- o -NR¹²-, y donde de 0 a 3 átomos de carbono en la cadena están opcionalmente sustituidos por R¹⁴; donde;

R¹² es H, alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₆ o COR¹³;

R¹³ es alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃;

R¹⁴ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, halo, amino, oxo, tio y tioalquilo C₁-C₆;

m es 0 ó 1; n es 0 ó 1;

U es =O o está ausente;

R¹⁵ es H, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales puede estar sustituido por halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C₁-C₆, alquilheterociclilo C₀-C₃, alquilcarbociclilo C₀-C₃, NH₂CO-, Y-NRaRb, Y-O-Rb, Y-C(=O)Rb, Y-(C=O)NRaRb, Y-NRaC(=O)Rb, Y-NHS(=O)_pRb, Y-S(=O)_pRb, Y-S(=O)_pNRaRb, Y-C(=O)ORb, Y-NRaC(=O)ORb;

G es -O-, -NRy-, -NRjNRj-;

Ry es H, C₁-C₃ alquilo; o Ry es J;

un Rj es H y el otro Rj es H o J;

R¹⁶ es H; o R¹⁶ es alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales puede estar sustituido por halo, oxo, nitrilo, azido, nitro, alquilo C₁-C₆, alquilcarbociclilo C₀-C₃, alquilheterociclilo C₀-C₃, NH₂CO-, Y-NRaRb, Y-O-Rb, Y-C(=O)Rb, Y-(C=O)NRaRb, Y-NRaC(=O)Rb, Y-NHSO_pRb, Y-S(=O)_pRb, Y-S(=O)_pNRaRb, Y-C(=O)ORb, Y-NRaC(=O)ORb;

en el que cualquier átomo C en alquilo C₁-C₆ y alquilo C₁-C₃, a menos que se indique otra cosa, puede estar opcionalmente sustituido por uno, dos o, cuando la valencia lo permite tres halógenos; cada resto arilo y cicloalquilo en alquilarilo C₀-C₃ y alquil C₀-C₃-cicloalquilo C₃-C₇, a menos que se indique otra cosa, está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxilo, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcanofilo C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto y alquilheterociclilo C₀-C₃; cada resto carbociclilo y heterociclilo en alquilcarbociclilo C₀-C₃ y alquilheterociclilo C₀-C₃, a menos que se indique otra cosa, está opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes seleccionados entre halo, hidroxilo, nitro, ciano, carboxi, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆-alquilo C₁-C₆, alcanofilo C₁-C₆, amino, azido, oxo, mercapto, alquilcarbociclilo C₀-C₃ y alquilheterociclilo C₀-C₃;

cada grupo amino se selecciona entre NH₂, NHalquilo C₁-C₆ y N(alquilo C₁-C₆)₂; y cada grupo amido se selecciona entre C(=O)NH₂, C(=O)NHalquilo C₁-C₆, C(=O)N(alquilo C₁-C₆)₂ y -NH(C=O)alquilo C₁-C₆; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^{7'} es H y R⁷ es n-etilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo o mercaptometilo, preferiblemente n-propilo o 2,2-difluoroetilo.

ES 2 336 009 T3

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^7 y $R^{7'}$ juntos definen un anillo espiro-ciclopropilo o espiro-ciclobutilo, ambos opcionalmente mono- o di-sustituídos por R^{7a} donde;

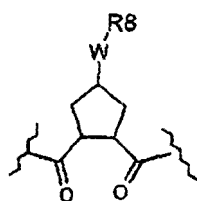
R^{7a} es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_5 o alqueno C_2-C_6 , cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por halo; o R^{7a} es J.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el anillo es un anillo espiro-ciclopropilo sustituido por R^{7a} donde;

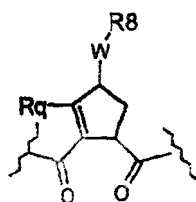
R^{7a} es etilo, vinilo, ciclopropilo, 1- o 2-bromoetilo, 1- o 2-fluoroetilo, 2-bromovinilo o 2-fluoretilo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^7 es J y $R^{7'}$ es H.

6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, con la estructura parcial:



7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, con la estructura parcial



8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que Rq es alquilo C_1-C_3 , preferiblemente metilo.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que m es 0 y n es 0.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que G es $-NR_y-$ o $-NR_jNR_j-$.

11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en el que R_y o uno de los grupos R_j es J, definiendo de este modo un compuesto macrocíclico.

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en el que R^{16} es H, alquilo C_1-C_6 o cicloalquilo C_3-C_6 .

13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que m es 1.

14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que U es O.

15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que T es CHR^{11} .

16. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 15, en el que R^{11} es alquilo C_1-C_6 , alquilcarbociclilo C_0-C_3 , alquilario C_0-C_3 o alquilheteroarilo C_0-C_3 , cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por halo, alcoxi C_1-C_6 , tioalquilo C_1-C_6 , $COOR^{14}$ carboxilo, (alcoxi C_1-C_6)carbonilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo; o especialmente sustituido por hidroxilo o $COOR^{14}$.

17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, en el que R^{11} es *tert*-butilo, iso-butilo, ciclohexilo, feniletilo, 2,2-dimetil-propilo, ciclohexilmetilo, fenilmetilo, 2-piridilmetilo, 4-hidroxi-fenilmetilo o carboxilpropilo, especialmente *tert*-butilo, iso-butilo o ciclohexilo.

18. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que uno de R_d , R_x o R^{11} es J, definiendo de este modo un compuesto macrocíclico.

19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que n es 1.

20. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 19, en el que R¹⁵ es alquilo C₁-C₆ o alquilcarbociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido.

21. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 20, en el que R¹⁵ es ciclohexilo, ciclohexilmetilo, *tert*-butilo, iso-propilo o iso-butilo.

22. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que G es NR_y o NR_jNR_j, donde R_y o un R_j es H o metilo y el otro es H.

23. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 22, en el que R¹⁶ es H, alquilo C₁-C₆ o un heterociclo de 5 ó 6 miembros, especialmente morfolina, piperidina o piperazina.

24. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que R¹⁶ es alquilo C₁-C₆, alquilheterociclilo C₀-C₃, alquilcarbociclilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por hidroxilo, halo o alcoxi C₁-C₆.

25. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 24, en el que R¹⁶ es 2-indanol, indanilo, 2-hidroxilo-1-fenil-etilo, 2-tiofenometilo, ciclohexilmetilo, 2,3-metilenodioxibencilo, ciclohexilo, bencilo, 2-piridilmetilo, ciclobutilo, iso-butilo, n-propilo o 4-metoxifeniletilo.

26. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que W es -OC(=O)-, -NR_a-, -NHS(O)₂- o -NHC(=O)-; o especialmente -OC(=O) NH- o -NH.

27. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que W es -S-, un enlace o especialmente -O-.

28. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 26 ó 27, en el que R⁸ es alquilcarbociclilo C₀-C₃ opcionalmente sustituido o alquilheterociclilo C₀-C₃ opcionalmente sustituido.

29. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 28, en el que el resto alquilo C₀-C₃ es metileno o preferiblemente un enlace.

30. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 29, en el que R⁸ es alquilarilo C₀-C₃ o alquilheteroarilo C₀-C₃, cualquiera de los cuales está opcionalmente mono-, di- o tri-sustituido por R⁹, donde;

R⁹ es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, NO₂, OH, halo, trifluorometilo, amino o amido opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C₁-C₆, alquilarilo C₀-C₃, alquilheteroarilo C₀-C₃, carboxilo, estando el arilo o el heteroarilo opcionalmente sustituido por R¹⁰; donde

R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, alcoxi C₁-C₆, amino opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C₁-C₆, alquilamida C₁-C₃, sulfonilalquilo C₁-C₃, NO₂, OH, halo, trifluorometilo, carboxilo o heteroarilo.

31. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 30, en el que R⁹ es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, di-(alquil C₁-C₃)amino, alquilamida C₁-C₃, arilo o heteroarilo, estando el arilo o el heteroarilo opcionalmente sustituido por R¹⁰; donde

R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o di-alquilamino C₁-C₃, amido, alquilamida C₁-C₃, halo, trifluorometilo o heteroarilo.

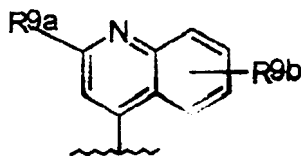
32. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 31, en el que, R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino opcionalmente mono- o di sustituido por C₁-C₃ alquilo, amido, alquilamida C₁-C₃, halo o heteroarilo.

33. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 32, en el que R¹⁰ es metilo, etilo, isopropilo, *tert*-butilo, metoxi, cloro, amino opcionalmente mono- o di sustituido por alquilo C₁-C₃, amido, alquilamida C₁-C₃ o alquil C₁-C₃ tiazolilo.

34. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 29, en el que R⁸ es 1-naftilmetilo, 2-naftilmetilo, bencilo, 1-naftilo, 2-naftilo o quinolinilo, cualquiera de los cuales está sin sustituir, mono- o di-sustituido por R⁹ como se ha definido.

35. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 34, en el que R⁸ es 1-naftilmetilo o quinolinilo, cualquiera de los cuales está sin sustituir, mono- o di-sustituido por R⁹ como se ha definido.

36. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 35, en el que R^8 es:



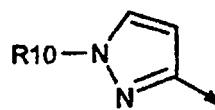
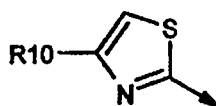
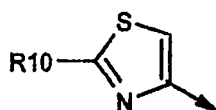
en la que R^{9a} es alquilo C_1-C_6 ; alcoxi C_1-C_6 ; tioalquilo C_1-C_3 ; amino opcionalmente sustituido por alquilo C_1-C_6 ; alquilarilo C_0-C_3 ; o alquilheteroarilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , estando dicho arilo, heteroarilo o heterociclo opcionalmente sustituido por R^{10} donde

R^{10} es alquilo C_1-C_6 , alquil C_0-C_3 -cicloalquilo C_3-C_7 , alcoxi C_1-C_6 , amino opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C_1-C_6 , amido, alquilamida C_1-C_3 ; y

R^{9b} es alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino, di(alquil C_1-C_3)amino, (alquil C_1-C_3)amida, NO_2 , OH, halo, trifluorometilo o carboxilo.

37. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 36, en el que R^{9a} es arilo o heteroarilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido por R^{10} como se ha definido.

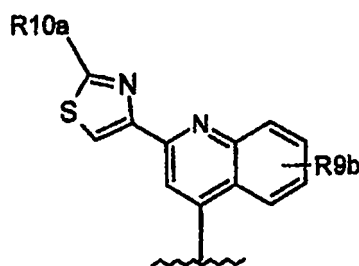
38. Un compuesto de acuerdo con 37, en el que R^{9a} se selecciona entre el grupo que consiste en:



en las que R^{10} es H, alquilo C_1-C_6 o alquilocicloalquilo C_0-C_3 , amino opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C_1-C_6 , amido, (alquil C_1-C_3)amida.

39. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 37, donde R^{9a} es fenilo opcionalmente sustituido, preferiblemente fenilo sustituido por alquilo C_1-C_6 ; alcoxi C_1-C_6 ; o halo.

40. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 33, en el que R^8 es:



en la que R^{10a} es H, alquilo C_1-C_6 o alquilcarbociclilo C_0-C_3 , amino opcionalmente mono- o di-sustituido por alquilo C_1-C_6 , amido, (alquil C_1-C_3)amida, heteroarilo o heterociclilo; y R^{9b} es alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino, di(alquil C_1-C_3)amino, (alquil C_1-C_3)amida, NO_2 , OH, halo, trifluorometilo o carboxilo.

41. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de la reivindicación 36, en el que R^{9b} es alcoxi C_1-C_6 , preferiblemente metoxi.

42. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1-41, en el que A es $C(=O)NHSO_2R^2$.

43. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 42, en el que R^2 es metilo, ciclopropilo o fenilo.

44. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-41, en el que A es $C(=O)OR^1$.

45. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 44, en el que R^1 es H o alquilo C_1-C_6 , preferiblemente hidrógeno, metilo, etilo o *tert*-butilo.

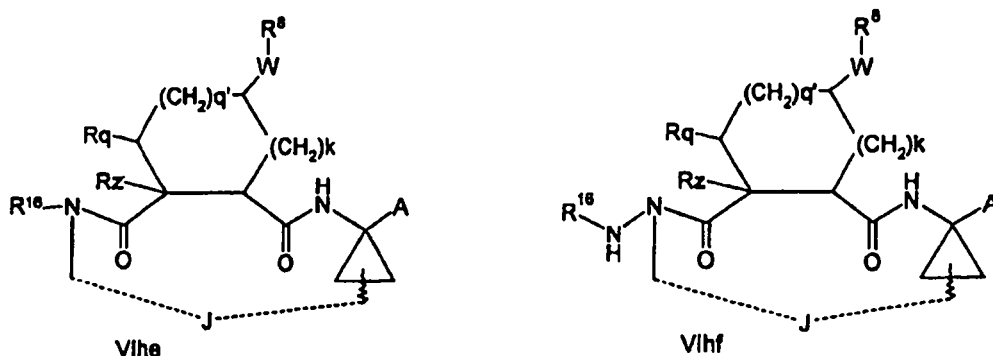
46. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que J es una cadena alquilenos saturada o insaturada de 3 a 8 miembros que contiene opcionalmente de uno a dos heteroátomos independientemente seleccionados entre: -O-, -S- o NR¹²-, donde R¹² es H, alquilo C₁-C₆, tal como metilo, o -C(=O)-alquilo C₁-C₆, tal como acetilo.

47. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 46, en el que J es una cadena alquilenos con todos los carbonos saturados o insaturados de 4 a 7 miembros.

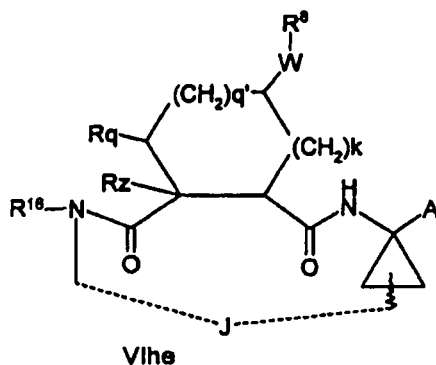
48. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 46, en el que J es saturado o mono-insaturado.

49. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 46, en el que J se dimensiona para proporcionar un macrociclo de 14 ó 15 átomos en el anillo.

50. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de fórmulas VIhe o VIhf:



51. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de fórmula VIhe:



52. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 50 ó 51, en el que J es una sola cadena alquilenos saturada o parcialmente insaturada de 5 ó 6 miembros.

53. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 50-52, en el que J tiene una insaturación.

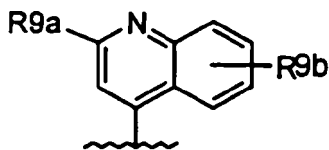
54. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 50-52, en el que W es O y R⁸ es arilo o heteroarilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente mono-, di- o tri-sustituido por R⁹; y donde

R⁹ es alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, NO₂, OH, halo, trifluorometilo, amino o amido, alquilarilo C₀-C₃ o alquiheteroarilo C₀-C₃, carboxilo, estando el arilo o el heteroarilo opcionalmente sustituido por R¹⁰; donde

R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, alcoxi C₁-C₆, amino, amido, sulfonilalquilo C₁-C₃, NO₂, OH, halo, trifluorometilo, carboxilo o heteroarilo.

55. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 54, donde R⁹ se selecciona entre alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, amido, arilo o heteroarilo, estando el resto arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido por R¹⁰; donde R¹⁰ es alquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, alcoxi C₁-C₆, amino, amido, halo, trifluorometilo o heteroarilo.

56. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 50-53, en el que R^8 es

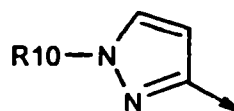
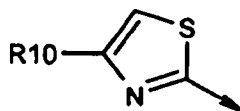
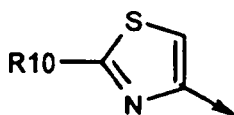


en la que R^{9a} es alquilo C_1-C_6 ; alcoxi C_1-C_6 ; tioalquilo C_1-C_3 ; amino opcionalmente sustituido por alquilo C_1-C_6 ; alquilarilo C_0-C_3 ; o alquilheteroarilo C_0-C_3 , alquilheterociclilo C_0-C_3 , estando dicho arilo, heteroarilo o heterociclo opcionalmente sustituido por R^{10} ;

R^{10} es alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , alcoxi C_1-C_6 , amino, amido, heteroarilo o heterociclilo; y

R^{9b} es alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino, amido, NO_2 , OH, halo, trifluorometilo, carboxilo.

57. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 56, en el que R^{9a} es

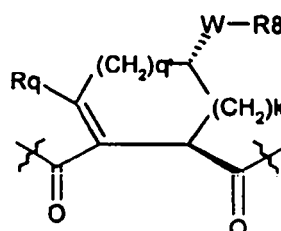
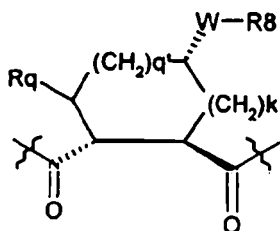


en las que R^{10} es H, alquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , amino, amido, heteroarilo o heterociclilo.

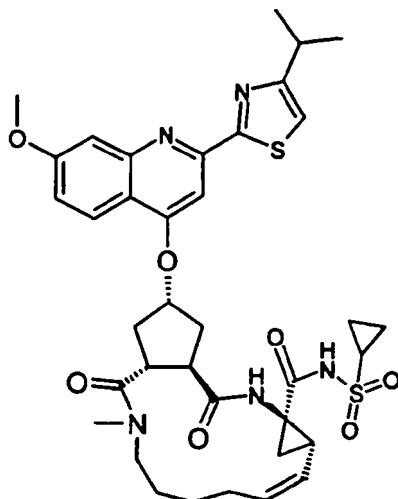
58. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 50-57, en el que A es $C(=O)NHSO_2R^2$.

59. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 58, en el que R^2 es metilo, ciclopropilo o fenilo opcionalmente sustituido.

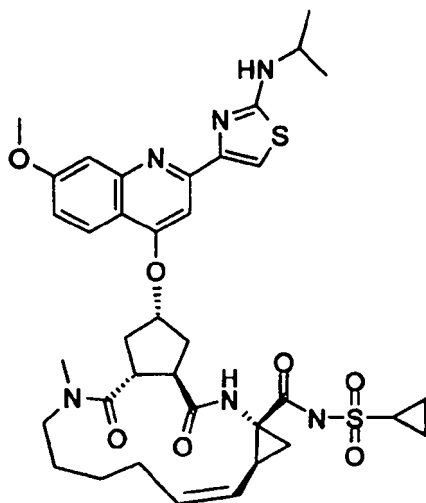
60. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una estereoquímica seleccionada entre las estereoquímicas que se muestran en las estructuras parciales:



61. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, con la fórmula



62. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, con la fórmula



63. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 y un vehículo farmacéuticamente aceptable para ésta.

64. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 63, que comprende un antiviral VHC adicional, seleccionado entre inhibidores de polimerasa análogos de nucleósidos, inhibidores de proteasa, ribavirina e interferón.

65. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 para uso en terapia.

66. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 en la preparación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de infecciones por flavivirus, incluyendo VHC.

67. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-62 para uso en profilaxis o tratamiento de infecciones por flavivirus, incluyendo VHC.

68. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 67 para uso en el tratamiento de infección por VHC.