

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 574 133**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2009** **E 09747582 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016** **EP 2283018**

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

30 Prioridad:

15.05.2008 US 53489

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

15.06.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**SUN, LI-QIANG y
SCOLA, PAUL, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 574 133 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores del virus de la hepatitis C

- 5 La presente divulgación se refiere en general a compuestos antivirales, y más específicamente se refiere a compuestos que inhiben la función de la proteasa NS3 (también denominada en el presente documento como "serina proteasa") codificada por el virus de la hepatitis C (VHC), a composiciones que comprenden dichos compuestos, y a métodos para inhibir la función de la proteasa NS3.
- 10 El VHC es un patógeno humano principal, que se estima que infecta a 170 millones de personas en todo el mundo, aproximadamente cinco veces el número de infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. Una fracción importante de estos individuos infectados por VHC desarrolla una hepatopatía progresiva grave, incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular.
- 15 Actualmente, la terapia del VHC más eficaz emplea una combinación de alfa-interferón y ribavirina, que conduce a una eficacia mantenida en el 40 % de los pacientes. Los resultados clínicos recientes demuestran que el alfa-interferón pegilado es superior al alfa-interferón no modificado como monoterapia. Sin embargo, incluso con regímenes terapéuticos experimentales que implican combinaciones de alfa-interferón pegilado y ribavirina, una fracción importante de pacientes no tienen una reducción mantenida en la carga vírica. Por lo tanto, existe una
- 20 necesidad clara y no satisfecha de desarrollar agentes terapéuticos eficaces para el tratamiento de una infección por VHC.

El VHC es un virus ARN de cadena positiva. Basándose en una comparación de la secuencia de aminoácidos deducida y en la amplia similitud de la región no traducida 5', el VHC se ha clasificado como un género separado en

25 la familia Flaviviridae. Todos los miembros de la familia Flaviviridae tienen viriones con envuelta que contienen un genoma de ARN de cadena positiva que codifica todas las proteínas específicas de virus conocidas por traducción de una sola fase de lectura abierta no interrumpida.

Se encuentra una heterogeneidad considerable dentro de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos codificada a lo largo de todo el genoma del VHC. Se han caracterizado seis genotipos principales, y se han descrito más de 50

30 subtipos. Los genotipos principales del VHC difieren en su distribución mundial, y la importancia clínica de la heterogeneidad genética del VHC continúa siendo difícil de determinar a pesar de numerosos estudios del posible efecto de los genotipos sobre la patogénesis y la terapia.

El genoma de ARN monocatenario del VHC es de aproximadamente 9500 nucleótidos de longitud y tiene una sola fase de lectura abierta (ORF) que codifica una sola poliproteína grande de aproximadamente 3000 aminoácidos. En células infectadas, esta poliproteína se escinde en múltiples sitios por proteasas celulares y virales para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso del VHC, la generación de proteínas no estructurales

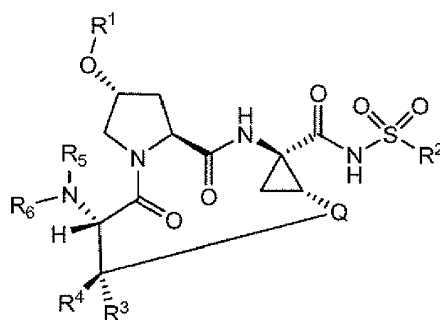
35 maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se efectúa por dos proteasas virales. La primera escinde en la unión NS2-NS3; la segunda es una serina proteasa contenida dentro de la región N-terminal de NS3 y media todas las escisiones posteriores cadena abajo de NS3, tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para los sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B restantes. La proteína NS4A parece servir a múltiples funciones, actuando como cofactor para la proteasa NS3 y contribuyendo posiblemente a la localización de membrana de NS3

40 y otros componentes de la replicasa viral. La formación del complejo de la proteína NS3 con NS4A es esencial para un procesamiento de poliproteína eficaz, aumentando la escisión proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también muestra actividades de nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN que está implicada en la replicación del VHC.

La técnica anterior describe compuestos macrocíclicos útiles para tratar la hepatitis C. Por ejemplo, los documentos WO 2007/015824A y WO2007/056120A describen compuestos macrocíclicos que inhiben el VHC. El documento

50 WO2004/094452A describe inhibidores peptídicos de isoquinolina macrocíclicos del VHC y el documento WO 2008/021960 A describe inhibidores de serina proteasa de Hepatitis C de triazolilo macrocíclicos. Además, el documento WO 2008/137779A describe inhibidores de la replicación del VHC macrocíclicos.

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)

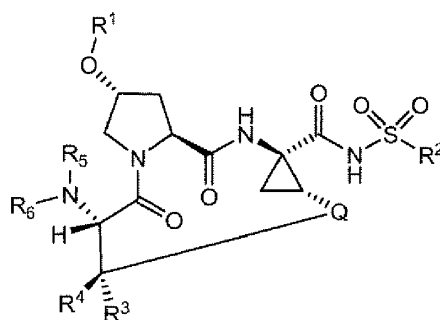


(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

- 5 Q es una cadena C₃₋₉ saturada o insaturada que contiene opcionalmente de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre O, S(O)_m, y NR⁸; en la que m es 0, 1 o 2, y R⁸ se selecciona entre hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterociclicarbonilo;
- 10 R¹ es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R⁷;
- R² se selecciona entre alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y -NR^aR^b, en la que el alquilo, el cicloalquilo y la parte cicloalquilo del (cicloalquil)alquilo están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre alqueno, alcoxi, alcoxialquilo, alquilo, arilalquilo, arilcarbonilo, ciano, cicloalqueno, (cicloalquil)alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y (NR^eR^f)carbonilo;
- 15 R³ y R⁴ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxialquilo, alquilo, haloalcoxialquilo y haloalquilo; R⁵ se selecciona entre hidrógeno, alquilo y haloalquilo;
- R⁶ se selecciona entre fenilo y un anillo parcial o completamente insaturado de cinco o seis miembros que contiene opcionalmente uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre; en la que cada uno de los anillos está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfanilo, carboxi, ciano, cicloalquilo, cicloalquiloxi, halo, haloalquilo, haloalcoxi, -NR^cR^d, (NR^eR^f)carbonilo, (NR^eR^f)sulfonilo y oxo; con la condición de que cuando R⁶ sea un anillo sustituido de seis miembros todos los sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida;
- 20 cada R⁷ se selecciona independientemente entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilo, carboxi, ciano, cianoalquilo, cicloalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heterociclilo, hidroxí, hidroxialquilo, nitro, -NR^cR^d, (NR^eR^f)alquilo, (NR^eR^f)alcoxi, (NR^eR^f)carbonilo y (NR^eR^f)sulfonilo; o dos grupos R⁷ adyacentes, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo parcial o completamente insaturado de cuatro a siete miembros que contiene opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, en la que el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi y haloalquilo;
- 25 R^a y R^b se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclicilalquilo; o R^a y R^b junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cuatro a siete miembros;
- 30 R^c y R^d se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxialquilo, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo y haloalquilo;
- R^e y R^f se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; en la que el arilo, la parte arilo del arilalquilo, y el heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo y halo; y
- 35 R^g y R^h se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilo; o R^g y R^h junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico en el que el anillo heterocíclico monocíclico está opcionalmente condensado a un anillo fenilo para formar un sistema bicíclico; en la que el anillo heterocíclico monocíclico y el sistema bicíclico están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo.
- 40
- 45

La presente invención también se refiere a un compuesto de fórmula (I)



(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

- 5 Q es una cadena C_{3-9} saturada o insaturada que contiene opcionalmente de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre O, $S(O)_m$, y NR^8 ; en la que m es 0, 1 o 2, y R^8 se selecciona entre hidrógeno, alcoxi, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterociclicarbonilo;
- 10 R^1 es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R^7 ;
- R^2 se selecciona entre alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y $-NR^aR^b$, en la que el alquilo, el cicloalquilo y la parte cicloalquilo del (cicloalquil)alquilo están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre alqueno, alcoxi, alcóxialquilo, alquilo, arilalquilo, arilcarbonilo, ciano, cicloalqueno, (cicloalquil)alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y (NR^eR^f) carbonilo;
- 15 R^3 y R^4 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcóxialquilo, alquilo, haloalcoxialquilo y haloalquilo;
- R^5 se selecciona entre hidrógeno, alquilo y haloalquilo;
- R^6 se selecciona entre fenilo y un anillo parcial o completamente insaturado de cinco o seis miembros que contiene opcionalmente uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre; en la que cada uno de los anillos está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre arilo; con la condición de que cuando R^6 sea un anillo sustituido de seis miembros todos los sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida;
- 20 cada R^7 se selecciona independientemente entre alcoxi, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilo, carboxi, ciano, cianoalquilo, cicloalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heterociclilo, hidroxí, hidroxialquilo, nitro, $-NR^cR^d$, (NR^cR^d) alquilo, (NR^cR^d) alcoxi, (NR^eR^f) carbonilo y (NR^eR^f) sulfonilo; o
- 25 dos grupos R^7 adyacentes, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo parcial o completamente insaturado de cuatro a siete miembros que contiene opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, en la que el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi y haloalquilo;
- 30 R^a y R^b se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclicilalquilo; o R^a y R^b junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cuatro a siete miembros;
- R^c y R^d se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcóxialquilo, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo y haloalquilo;
- 35 R^e y R^f se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; en la que el arilo, la parte arilo del arilalquilo, y el heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo y halo; y
- R^g y R^h se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclicilo; o R^g y R^h junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico en el que el anillo heterocíclico monocíclico está opcionalmente condensado a un anillo fenilo para formar un sistema bicíclico; en la que el anillo heterocíclico monocíclico y el sistema bicíclico están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo.
- 45 Los compuestos peptídicos anteriores se describen adicionalmente a continuación.

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

En una primera realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^2 se selecciona entre alquilo y cicloalquilo, en la que el cicloalquilo está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre alquenoilo, alcoxi, alquilo y halo.

- 5 En una segunda realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^3 y R^4 son cada uno hidrógeno y Q es una cadena C_6 insaturada que contiene cero heteroátomos.

- 10 En una tercera realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que
 Q es una cadena C_6 insaturada que contiene cero heteroátomos;
 R^1 es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R^7 ;
 R^2 se selecciona entre alquilo y cicloalquilo, en la que el cicloalquilo está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre alquenoilo, alcoxi, alquilo y halo;
 15 R^3 y R^4 son cada uno hidrógeno; y
 R^6 es un anillo completamente insaturado de seis miembros que contiene un átomo de nitrógeno en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquylcarbonilo, alquylsulfanilo, arilo, carboxi, ciano, cicloalquilo, cicloalquiloxi, halo, haloalquilo, haloalcoxi, $-NR^cR^d$, (NR^eR^f) carbonilo, (NR^eR^f) sulfonilo y oxo; con la condición de que todos los
 20 sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida.

- 25 En un segundo aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una primera realización del segundo aspecto, la composición comprende adicionalmente al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC. En una segunda realización del segundo aspecto, al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina. En una tercera realización del segundo aspecto, el interferón se selecciona entre interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, e interferón tau linfoblastoide.

- 30 En una cuarta realización del segundo aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, y al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC; en la que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto
 35 que aumenta el desarrollo de una respuesta de linfocitos T auxiliares de tipo 1, ARN interferente, ARN antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

- 40 En una quinta realización del segundo aspecto la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, y al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC; en la que al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada entre metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC e IMPDH para el tratamiento de una infección por VHC.

- 45 En un tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para tratar una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del tercer aspecto, el método comprende
 50 adicionalmente administrar al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de, o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una segunda realización del tercer aspecto, al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina. En una cuarta realización del tercer aspecto, el interferón se selecciona entre interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, e interferón tau linfoblastoide.

- 55 En una quinta realización del tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método para tratar una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de, o simultáneamente
 60 con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona entre interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que aumenta el desarrollo de una respuesta de linfocitos T auxiliares de tipo 1, ARN interferente, ARN antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

- 65 En una sexta realización del tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método para tratar una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una

cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de, o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada entre metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC e IMPDH para el tratamiento de una infección por VHC.

En un cuarto aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, uno, dos, tres, cuatro o cinco compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una primera realización del cuarto aspecto, la composición comprende tres o cuatro compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC. En una segunda realización del cuarto aspecto, la composición comprende uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC.

En un quinto aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método para tratar una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno, dos, tres, cuatro o cinco compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC antes de, después de, o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del primer aspecto, el método comprende administrar tres o cuatro compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC. En una segunda realización del primer aspecto, el método comprende administrar uno o dos compuestos adicionales que tienen actividad anti-VHC.

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

Pueden encontrarse aún otros aspectos y realizaciones en la descripción proporcionada en el presente documento.

La descripción de la presente divulgación en el presente documento debe interpretarse en congruencia con las leyes y principios de la unión química. En algunos casos, puede ser necesario retirar un átomo de hidrógeno para alojar un sustituyente en cualquier ubicación determinada.

Ha de apreciarse que los compuestos incluidos por la presente divulgación son aquellos que son adecuadamente estables para su uso como agente farmacéutico.

Se pretende que la definición de cualquier sustituyente o variable en una ubicación particular en una molécula sea independiente de sus definiciones en otra parte en esa molécula.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, los siguientes términos tienen los significados indicados:

Como se usa en el presente documento, las formas singulares, "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias plurales, a menos que el contexto claramente dicte lo contrario.

A menos que se indique otra cosa, todos los grupos arilo, cicloalquilo y heterociclilo de la presente divulgación pueden estar sustituidos como se describe en cada una de sus definiciones respectivas. Por ejemplo, la parte arilo de un grupo arilalquilo puede estar sustituida como se describe en la definición del término "arilo".

En algunos casos, el número de átomos de carbono en cualquier grupo particular se representa antes de citar el grupo. Por ejemplo, el término "alquilo C₆" representa un grupo alquilo que contiene seis átomos de carbono. Cuando estas designaciones existen, reemplazan todas las demás definiciones contenidas en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, las formas singulares, "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias plurales, a menos que el contexto claramente dicte lo contrario.

El término "alquenilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de cadena lineal o ramificada de dos a seis átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono.

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

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

El término "alcoxicarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi unido al resto

molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo obtenido a partir de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a diez átomos de carbono.

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

10 El término "alquilsulfanilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de azufre.

El término "alquilsulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo sulfonilo.

15 El término "aminocarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo $-NH_2$ unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

20 El término "arilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo, o un sistema anular condensado bicíclico en el que uno o ambos anillos son un grupo fenilo. Los sistemas anulares condensados bicíclicos consisten en un grupo fenilo condensado a un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros. Los grupos arilo de la presente divulgación pueden unirse al resto molecular precursor a través de cualquier átomo de carbono sustituible en el grupo. Los ejemplos representativos de grupos arilo incluyen, pero sin limitación, indanilo, indenilo, naftilo, fenilo y tetrahidronaftilo. Los grupos arilo de la presente divulgación pueden estar opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, carboxi, cicloalquilo, cicloalquiloxi, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo, nitro, $-NR^d$, (NR^d) carbonilo y oxo.

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

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

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

El término "arilsulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo unido al resto molecular precursor a través de un grupo sulfonilo.

40 El término "carbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)-$.

El término "carboxi", como se usa en el presente documento, se refiere a CO_2H .

45 El término "ciano", como se usa en el presente documento, se refiere a $-CN$.

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

50 El término "cicloalquenilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema anular monocíclico, bicíclico o tricíclico no aromático, parcialmente insaturado que tiene de tres a catorce átomos de carbono y cero heteroátomos. Los ejemplos representativos de grupos cicloalquenilo incluyen, pero sin limitación, ciclohexenilo, octahidronaftalenilo y norbornilenilo.

55 El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema anular hidrocarburo monocíclico o bicíclico saturado que tiene de tres a diez átomos de carbono y cero heteroátomos. Los ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo y ciclopentilo.

60 El término "(cicloalquil)alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos cicloalquilo.

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

65 El término "dialquilaminocarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo $-NR'R''$ unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo, en el que R' y R'' son grupos alquilo iguales o diferentes.

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

Las expresiones "halo" y "halógeno", como se usan en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br e I.

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

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

El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos, tres o cuatro átomos de halógeno.

15 El término "heterociclilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo de cinco, seis o siete miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de cinco miembros tiene de cero a dos dobles enlaces y los anillos de seis y siete miembros tienen de cero a tres dobles enlaces. El término "heterociclilo" también incluye grupos bicíclicos en los que el anillo heterociclilo está condensado a un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros u otro grupo heterociclilo monocíclico. Los grupos heterociclilo de la presente divulgación pueden unirse al resto molecular precursor a través de un átomo de carbono o un átomo de nitrógeno en el grupo. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, pero sin limitación, benzotienilo, furilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, oxazolilo, piperazinilo, piperidinilo, pirazolilo, piridinilo, pirrolidinilo, pirrolopiridinilo, pirrolilo, tiazolilo, tienilo y tiomorfolinilo. Los grupos heterociclilo de la presente divulgación pueden estar opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, carboxi, cicloalquilo, cicloalquiloxi, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo, nitro, $-NR^cR^d$, (NR^cR^d) carbonilo y oxo.

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

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

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

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

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

El término "nitro", como se usa en el presente documento, se refiere a $-NO_2$.

45 El término " $-NR^aR^b$ " como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^a y R^b , que están unidos al resto molecular precursor a través de un átomo de nitrógeno. R^a y R^b se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo; o R^a y R^b junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cinco o seis miembros.

50 El término " $-NR^cR^d$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^c y R^d , que están unidos al resto molecular precursor a través de un átomo de nitrógeno. R^c y R^d se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxicarbonilo, alquilo y alquilcarbonilo.

55 El término " (NR^cR^d) alcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo (NR^cR^d) alquilo unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno.

El término " (NR^cR^d) alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos $-NR^cR^d$.

60 El término " (NR^cR^d) carbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo NR^cR^d unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

65 El término " $-NR^eR^f$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^e y R^f , que están unidos al resto molecular precursor a través de un átomo de nitrógeno. R^e y R^f se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo y arilalquilo.

El término "(NR^gR^f)carbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -NR^gR^f unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

5 El término "(NR^gR^f)sulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -NR^gR^f unido al resto molecular precursor a través de un grupo sulfonilo.

El término "(NR^gR^h)carbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -NR^gR^h unido al resto molecular precursor a través de un grupo carbonilo.

10 El término "-NR^gR^h", como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^g y R^h, que están unidos al resto molecular precursor a través de un átomo de nitrógeno. R^g y R^h se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilo; o R^g y R^h junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico en el que el anillo heterocíclico monocíclico está opcionalmente condensado a un anillo fenilo para formar un sistema bicíclico; en el que el anillo heterocíclico monocíclico y el sistema bicíclico están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo.

El término "oxo", como se usa en el presente documento, se refiere a =O.

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

El término "profármaco", como se usa en el presente documento, representa compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* en los compuestos precursores por hidrólisis en sangre. Los profármacos de la presente divulgación incluyen ésteres de grupos hidroxilo en la molécula precursora, ésteres de grupos carboxilo en la molécula precursora, y amidas de las aminas en la molécula precursora.

Los compuestos de la presente divulgación pueden existir como las sales farmacéuticamente aceptables. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente divulgación, que son solubles o dispersables en agua o aceite, que dentro del alcance del juicio médico son adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, que corresponden a una relación beneficio/riesgo razonable, y son eficaces para su uso pretendido. Las sales pueden prepararse durante el aislamiento y purificación final de los compuestos, o por separado, haciendo reaccionar una funcionalidad básica adecuada con un ácido adecuado. Las sales de adición de ácidos representativas incluyen acetato, adipato, 30 alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, alcanforsulfonato; digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metanosulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluenosulfonato y undecanoato. Los ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar las sales de adición farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y ácidos orgánicos, tales como oxálico, maleico, succínico y cítrico.

Las sales de adición básicas pueden prepararse durante el aislamiento y purificación final de los compuestos, haciendo reaccionar un grupo ácido con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico, o con amoníaco o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Los cationes de las sales farmacéuticamente aceptables incluyen litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, así como cationes de amina cuaternaria no tóxicos, tales como amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, dietilamina, etilamina, tributilamina, piridina, *N,N*-dimetilanelina, *N*-metilpiperidina, *N*-metilmorfalina, 50 dicitohexilamina, procaína, dibencilamina, *N,N*-dibencilfenetilamina, y *N,N'*-dibenciletilendiamina. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina y piperazina.

Como se usa en el presente documento, la expresión "actividad anti-VHC" se refiere a que el compuesto es eficaz para tratar el virus VHC.

La expresión "compuestos de la divulgación", y expresiones equivalentes, pretende incluir compuestos de fórmula (I), y enantiómeros, diastereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. De forma similar, las referencias a intermedios pretenden incluir sus sales cuando el contexto así lo permita.

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

La expresión "composición farmacéutica" se refiere a una composición que comprende un compuesto de la divulgación en combinación con al menos un vehículo farmacéutico adicional, es decir, adyuvante, excipiente o vehículo, tal como diluyentes, agentes conservantes, cargas, agentes reguladores del flujo, agentes disgregantes, 65 agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes saporíferos,

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

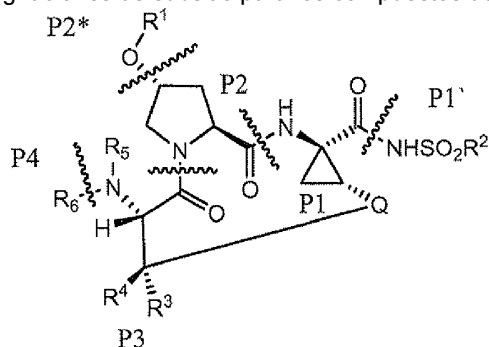
5 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de pacientes sin una toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación excesivos en proporción con una relación riesgo/beneficio razonable.

10 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad total de cada componente activo que es suficiente para mostrar un beneficio significativo para el paciente, por ejemplo, una reducción mantenida en la carga vírica. Cuando se aplica a un principio activo individual administrado en solitario, la expresión se refiere a ese ingrediente en solitario. Cuando se aplica a una combinación, la expresión se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que dan como resultado el efecto terapéutico, ya se administren en combinación, en serie o simultáneamente.

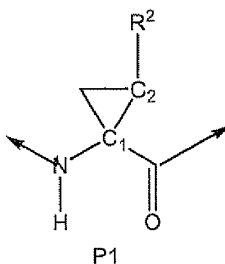
15 Las expresiones "tratar" y "tratamiento" se refieren a: (i) prevenir que aparezca una enfermedad, trastorno o afección en un paciente que pueda estar predispuesto a la enfermedad, trastorno y/o afección pero al que todavía no se le haya diagnosticado que la tenga; (ii) inhibir la enfermedad, trastorno o afección, es decir, detener su evolución; y/o (iii) aliviar la enfermedad, trastorno o afección, es decir, causando la regresión de la enfermedad, trastorno y/o afección.

25 Cuando se usan para nombrar los compuestos de la presente divulgación, las designaciones P1', P1, P2, P2*, P3 y P4, como se usan en el presente documento, mapean las posiciones relativas de los restos de aminoácidos de una unión a inhibidor de proteasas respecto a la unión del sustrato de escisión peptídico natural. La escisión se produce en el sustrato natural entre P1 y P1', donde las posiciones no prima designan los aminoácidos partiendo del extremo C-terminal del sitio de escisión natural del péptido que se extienden hacia el extremo N-terminal; mientras que las posiciones prima surgen del extremo N-terminal de la designación de sitio de escisión y se extienden hacia el extremo C-terminal. Por ejemplo, P1' se refiere a la primera posición lejos del extremo a la derecha del C-terminal del sitio de escisión (es decir, primera posición del N-terminal); mientras que P1 comienza la numeración desde el lado a la izquierda del sitio de escisión C-terminal, P2: segunda posición desde el C-terminal, etc.) (véase Berger A. y Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), B257, 249-264).

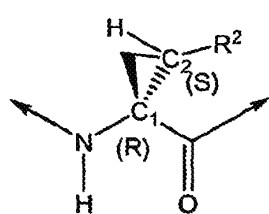
35 La siguiente figura muestra las designaciones de subsitio para los compuestos de la presente divulgación.



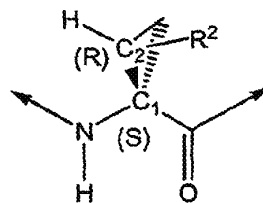
Existen centros asimétricos en los compuestos de la presente divulgación. Por ejemplo, los compuestos pueden incluir el elemento ciclopropilo P1 de fórmula



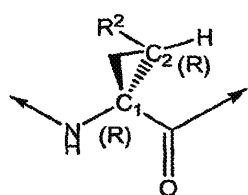
40 en la que cada C₁ y C₂ representa un átomo de carbono asimétrico en las posiciones 1 y 2 del anillo de ciclopropilo.



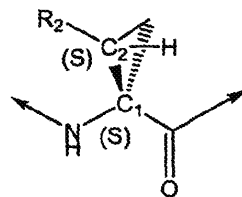
(1R, 2S)

 R^2 es syn respecto a carbonilo

(1S, 2R)

 R^2 es syn respecto a carbonilo

(1R, 2R)

 R^2 es syn respecto a amida

(1S, 2S)

 R^2 es syn respecto a amida

5 Debe entenderse que la divulgación incluye todas las formas isoméricas estereoquímicas, o mezclas de las mismas, que poseen la capacidad de inhibir la proteasa VHC.

10 Ciertos compuestos de la presente divulgación pueden existir también en diferentes formas conformacionales estables que pueden ser separables. La asimetría torsional debido a la rotación restringida alrededor de un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo debido a impedimentos estéricos o tensión del anillo, puede permitir la separación de diferentes conformeros. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y mezclas de los mismos.

15 Ciertos compuestos de la presente divulgación pueden existir en forma zwitteriónica, y la presente divulgación incluye cada forma zwitteriónica de estos compuestos y mezclas de los mismos.

20 Cuando es posible que, para su uso en terapia, cantidades terapéuticamente eficaces de un compuesto de fórmula (I), así como sales farmacéuticamente aceptables del mismo, puedan administrarse como un compuesto químico en bruto, es posible presentar el principio activo como una composición farmacéutica. Por consiguiente, la divulgación proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas que incluyen cantidades terapéuticamente eficaces del compuesto de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I), y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son como se han descrito anteriormente. El vehículo o vehículos, diluyente o diluyentes o excipiente o excipientes deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación, y no perjudiciales para el receptor de la misma. De acuerdo con otro aspecto de la divulgación se proporciona también un procedimiento para la preparación de una formulación farmacéutica mezclando un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

30 Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en forma de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada del principio activo por dosis unitaria. Los niveles de dosificación entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 250 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal por día, preferentemente entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos de la divulgación son típicos en una monoterapia para la prevención y tratamiento de una enfermedad mediada por VHC. Normalmente, las composiciones farmacéuticas de esta divulgación se administrarán de aproximadamente 1 a 35 aproximadamente 5 veces por día o, como alternativa, como una infusión continua. Dicha administración puede usarse como una terapia crónica o aguda. La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales de soporte para producir una forma de dosificación sencilla variará dependiendo de la afección a tratar, la gravedad de la afección, el tiempo de administración, la vía de administración, la velocidad de excreción del compuesto empleado, la duración del tratamiento y la edad, género, peso y estado del paciente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o subdosis, como se ha citado 40 anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo. Generalmente, el tratamiento se inicia con pequeñas dosificaciones sustancialmente menores de la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, la dosificación aumenta en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias concretas. En general, el compuesto se administra más deseablemente a un nivel de

concentración que generalmente dará resultados antiviralmente eficaces sin provocar ningún efecto secundario dañino o perjudicial.

5 Cuando las composiciones de esta divulgación comprenden una combinación de un compuesto de la divulgación y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional normalmente están presentes a niveles de dosificación entre aproximadamente del 10 % al 150 % y, más preferentemente, entre aproximadamente el 10 y el 80 % de la dosificación administrada normalmente en un régimen de monoterapia.

10 Las formulaciones farmacéuticas pueden estar adaptadas para administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intracutánea, intramuscular, intraarterial, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional, intravenosa, o inyecciones intradérmicas o infusiones). Dichas formulaciones pueden prepararse por cualquier procedimiento conocido en la técnica farmacéutica, por ejemplo asociando el
15 principio activo con el vehículo o vehículos o excipiente o excipientes.

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

20 Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable, no tóxico, oral, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto a un tamaño fino adecuado, y mezclando con un vehículo farmacéutico triturado análogamente, tal como un carbohidrato comestible tal como, por ejemplo, almidón o manitol. Los agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes también pueden estar presentes.

30 Las cápsulas se fabrican preparando una mezcla en polvo, como se ha descrito anteriormente, y llenando las vainas de gelatina formadas. Pueden añadirse emolientes y lubricantes, tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. Puede añadirse también un agente disgregante o de solubilización, tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato sódico, para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Además, cuando se desea o es necesario, pueden incorporarse también los aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados a la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o betalactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato sódico, cloruro sódico y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo granulando o fabricación de formas en bruto, añadiendo un lubricante y disgregante, y comprimiendo hasta formar comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara mezclando el compuesto, triturado adecuadamente, con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente y, opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa y alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, una solución retardante tal como parafina con acelerador de resorción, tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción, tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse humedeciendo con un aglutinante, tal como un jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábiga o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos, y forzándolo a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, una mezcla en polvo puede hacerse pasar a través de la máquina de comprimidos y el resultado son formas en bruto formadas de forma imperfecta, que se rompen en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para evitar que se peguen a los troqueles de formación de comprimidos mediante la adición de ácido esteárico, una sal estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime después en comprimidos. Los compuestos de la presente divulgación pueden combinarse también con un vehículo inerte que fluye libremente y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o fabricación de formas en bruto. Puede proporcionarse un revestimiento protector transparente u opaco, que consiste en un revestimiento de sellado de goma laca, un revestimiento de azúcar o material polimérico y un revestimiento de pulido de cera. Pueden añadirse colorantes a estos revestimientos para distinguir diferentes
55 dosificaciones unitarias.

Los fluidos orales, tales como solución, jarabes y elixires pueden prepararse en forma de una unidad de dosificación, de manera que la cantidad dada contenga una cantidad predeterminada de compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa aromatizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo no tóxico. Pueden añadirse también solubilizadores y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxoetilen sorbitol, conservantes, aditivos de aroma tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

65 Cuando sea apropiado, las formulaciones de la unidad de dosificación para administración oral pueden estar microencapsuladas. La formulación puede prepararse también para prolongar o sostener la liberación, tal como por ejemplo por recubrimiento o embebido de un material particulado en polímeros, ceras o similares.

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

5 Los compuestos de fórmula (I), y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse también mediante el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales, a los que están acopladas las moléculas de compuesto. Los compuestos pueden estar acoplados también con polímeros solubles como vehículos de fármaco dirigibles. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidafenol, polihidroxietilaspirtamidafenol o polietilenoóxido-polilisina, sustituido con restos palmitoilo. Adicionalmente, los compuestos pueden estar acoplados a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque reticulados anfipáticos de hidrogeles.

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

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

25 Para tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferentemente como una pomada o crema tópica. Cuando se formulan como una pomada, el ingrediente activo puede emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el ingrediente activo puede formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

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

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

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal pueden presentarse en forma de supositorios o como enemas.

40 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal, en las que el vehículo es un sólido, incluyen un polvo fino, que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micrómetros, que se administra de una manera en que se toma una calada, es decir, por inhalación rápida a través del pasaje nasal desde un recipiente del polvo mantenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas, en las que el vehículo es un líquido, para administración como una pulverización nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas o de aceite del principio activo.

45 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración por inhalación incluyen polvos o neblinas de partículas finas, que pueden generarse mediante diversos tipos de aerosoles presurizados, nebulizadores o insufladores de dosis medida.

50 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal pueden presentarse en forma de pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

55 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas o no acuosas, que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes unidos o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que solo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. La inyección extemporánea de soluciones y suspensiones puede prepararse para polvos estériles, gránulos y comprimidos.

60 Debe entenderse que, además de los ingredientes mencionados particularmente anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes, convencionales en la técnica que con respecto al tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos adecuados para administración oral, pueden incluir agentes aromatizantes.

65 La Tabla 1 a continuación muestra algunos ejemplos ilustrativos de compuestos que pueden administrarse con los compuestos de esta divulgación. Los compuestos de la divulgación pueden administrarse con otros compuestos con

actividad anti-VHC en terapia combinada, conjuntamente o por separado, o combinando los compuestos en una composición.

Tabla 1

<i>Nombre Comercial</i>	<i>Clase Fisiológica</i>	<i>Tipo de Inhibidor o Diana</i>	<i>Compañía de Origen</i>
NIM811		Inhibidor de Ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Inmunomodulador	SciClone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista de TLR9	Coley
Batabulin (T67)	Anticanceroso	Inhibidor de β -tubulina	Tularik Inc., South San Francisco, CA
ISIS 14803	Antivirico	Antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., Nueva York, NY
Summetrel	Antivirico	Antivirico	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	Antivirico	Inhibidor de VHC	Achillion/Gilead
Compuestos de pirazolopirimidina y sales del Documento WO-2005047288 26 de mayo de 2005	Antivirico	Inhibidores de VHC	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirin	Antivirico	Inhibidor de IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Merimepodib (VX-497)	Antivirico	Inhibidor de IMPDH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antivirico	Anticuerpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Isreal
Telaprevir (VX-950, LY-570310)	Antivirico	Inhibidor de serina proteasa NS3	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly y Co. Inc., Indianapolis, IN
HCV-796	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Wyeth/Viropharma
NM-283	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Idenix/Novartis
GL-59728	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Gene Labs/Novartis
GL-60667	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Gene Labs/Novartis
2'C MeA	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Gilead
PSI 6130	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Roche
R1626	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Roche
2'C Metil adenosina	Antivirico	Inhibidor de replicasa NS5B	Merck
JTK-003	Antivirico	Inhibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokio, Japon
Levovirin	Antivirico	ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
Ribavirin	Antivirico	ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidina	Antivirico	Profármaco de ribavirina	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Heptazyme	Antivirico	Ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antivirico	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
SCH 503034	Antivirico	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
Zadazim	Inmunomodulador	Inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Ceplene	Inmunomodulador	Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
CellCept	Inmunosupresor	Inmunosupresor de IgG de VHC	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
Civacir	Inmunosupresor	Inmunosupresor de IgG de VHC	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL

Albuferon- α	Interferón	albumina IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferón	IFN aliacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
Omega IFN	Interferón	IFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β y EMZ701	Interferón	IFN- β y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá
Rebif	Interferón	IFN- β 1a	Serono, Geneva, Suiza
Roferon A	Interferón	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
Intron A	Interferón	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Intron A y Zadaxin	Interferón	IFN- α 2b/ α 1-timosina	RegeneRx Biopharma. Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Rebetron	Interferón	IFN- α 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferón	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, CA
Interferon- β	Interferón	Interferon- β -1a	Serono,
Multiferon	Interferón	IFN de larga duración	Viragen/Valentis
Wellferon	Interferón	IFN- α n1 linfoblastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, Reino Unido
Omniferon	Interferón	ICN- α natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferón	IFN-a2a PEGilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
Pegasys y Ceplene	Interferón	IFN- α 2a PEGilado/Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Pegasys y Ribavirin	Interferón	IFN- α 2a PEGilado/ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza
PEG-Intron	Interferón	IFN- α 2b PEGilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron/Ribavirin	Interferón	IFN- α 2b PEGilado/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Protección hepática	antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Protección hepática	Inhibidor de caspasa	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
ITMN-191 (R-7227)	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
GL-59728	Antivírico	Inhibidor de replicasa NS5B	Genelabs
ANA-971	Antivírico	Agonista de TLR-7	Anadys
Boceprevir	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Schering Plough
TMS-435	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Tibotec BVBA, Mechelen, Bélgica
BI-201335	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
MK-7009	Antivírico	Inhibidor de serina proteasa	Merck
PF-00868554	Antivírico	Inhibidor de replicasa	Pfizer
ANA598	Antivírico	Inhibidor de polimerasa NS5B no nucleósido	Anadys Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, Estados Unidos
IDX375	Antivírico	Inhibidor de replicasa no nucleósido	Idenix Pharmaceuticals, Cambridge, MA, Estados Unidos
BILB 1941	Antivírico	Inhibidor de polimerasa NS5B	Boehringer Ingelheim Canada Ltd R&D Laval, QC, Canadá
PSI-7851	Antivírico	Inhibidor de polimerasa nucleósido	Pharmasset, Princeton, NJ, Estados Unidos
VCH-759	Antivírico	Inhibidor de polimerasa NS5B r	ViroChem Pharma

VCH-916	Antivirico	Inhibidor de polimerasa NS5B r	ViroChem Pharma
GS-9190	Antivirico	Inhibidor de polimerasa NS5B r	Gilead
Peg-interferon lamda	Antivirico	Interferón	ZymoGenetics/Bristol-Myers Squibb

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

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

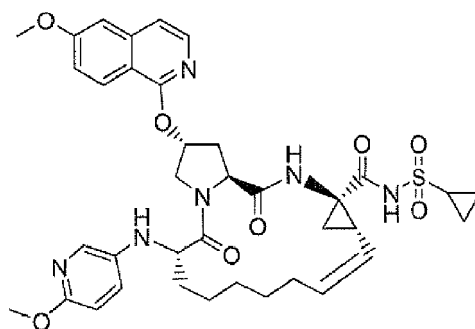
La presente divulgación pretende incluir compuestos que tienen la formula (I) cuando se preparan por procedimientos sintéticos o por procedimientos metabólicos, incluyendo aquellos que ocurren en el cuerpo humano o animal (*in vivo*) o procedimientos que ocurren *in vitro*.

Las abreviaturas usadas en la presente solicitud, incluyendo particularmente los esquemas ilustrativos y los ejemplos que siguen, se conocen bien por los expertos en la técnica. Algunas de las abreviaturas usadas son las siguientes: EtOAc para acetato de etilo; t-Bu para terc-butilo; DMSO para dimetilsulfóxido; HATU para fosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; DIEA o DIPEA para diisopropiletilamina; DCM para diclorometano; CDI para 1,1'-carbonildiimidazol; DBU para 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno; h para horas; min para minutos; MeOH para metanol; NBS para N-bromosuccinimida; n-Bu-Li para n-butil litio; i-Pr para isopropilo; TMS para trimetilsililo; THF para tetrahidrofurano; MeCN para acetonitrilo; ta para temperatura ambiente; y tr para tiempo de retención.

Los materiales de partida útiles para sintetizar los compuestos de la presente divulgación se conocen por los expertos en la técnica y pueden fabricarse fácilmente o están disponibles en el mercado

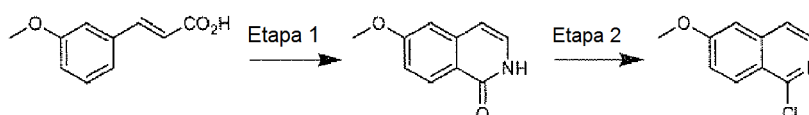
Los siguientes métodos expuestos a continuación se proporcionan para fines ilustrativos, y no pretenden limitar el alcance de las reivindicaciones. Se reconocerá que puede ser necesario preparar dicho compuesto en el que un grupo funcional está protegido usando un grupo protector convencional y eliminar después el grupo protector para proporcionar un compuesto de la presente divulgación. Los detalles relacionados con el uso de los grupos protectores de acuerdo con la presente divulgación se conocen por los expertos en la técnica.

35 Ejemplo 1: Preparación del Compuesto 1



Compuesto 1

Esquema 1



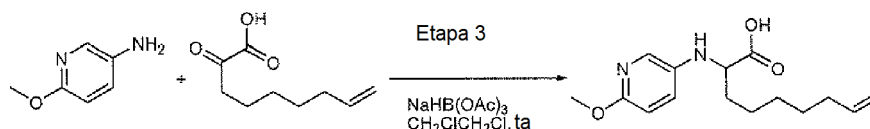
Etapa 1:

A una solución de ácido 3-metoxicinnámico (11,0 g, 62 mmol) y trietilamina (12,5 g, 124 mmol) en acetona (80 ml) se le añadió gota a gota cloroforniato de etilo (aproximadamente 1,5 equivalentes) a 0 °C. Después de agitar a esta temperatura durante 1 hora, se añadió gota a gota NaN₃ acuoso (6,40 g, 100 mmol en 35 ml H₂O) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. A la mezcla se le añadió agua (100 ml) y los volátiles se retiraron al vacío. La suspensión resultante se extrajo con tolueno (3 x 50 ml) y las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se filtraron. El filtrado se añadió gota a gota a una solución caliente de difenilmetano (50 ml) y tributilamina (30 ml) a 190 °C. El tolueno se retiró por destilación durante la adición. Después de que se completara la adición, la temperatura de reacción se elevó a 210 °C durante 2 horas. Después de la refrigeración, el producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con hexano (2 x 50 ml) y se secó para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color blanco (5,53 g, 51 %) (Nicolas Briet y col., Tetrahedron, 2002, 5761-5766). LC-MS, MS *m/z* 176 (M⁺+H).

15 *Etapa 2:*

Se calentó a reflujo suave 6-metoxi-2*H*-isoquinolin-1-ona (5,0 g, 28,4 mmol) en POCl₃ (10 ml) durante 3 horas y después la mezcla se concentró al vacío (Nicolas Briet y col., Tetrahedron, 2002, 5761-5766). El residuo se vertió en hielo agua (20 ml) y se llevó a pH = 10 mediante la adición de NaOH 10,0 M. La mezcla resultante se extrajo con CHCl₃. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (1:1 de hexano-acetato de etilo) para proporcionar 4,41 g (80 %) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco. ¹H RMN (CD₃OD) δ ppm 3,98 (s, 3H), 7,34-7,38 (m, 2H), 7,69 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 8,10 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 8,23 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H); LC-MS, MS *m/z* 194 (M⁺+H).

Esquema 2



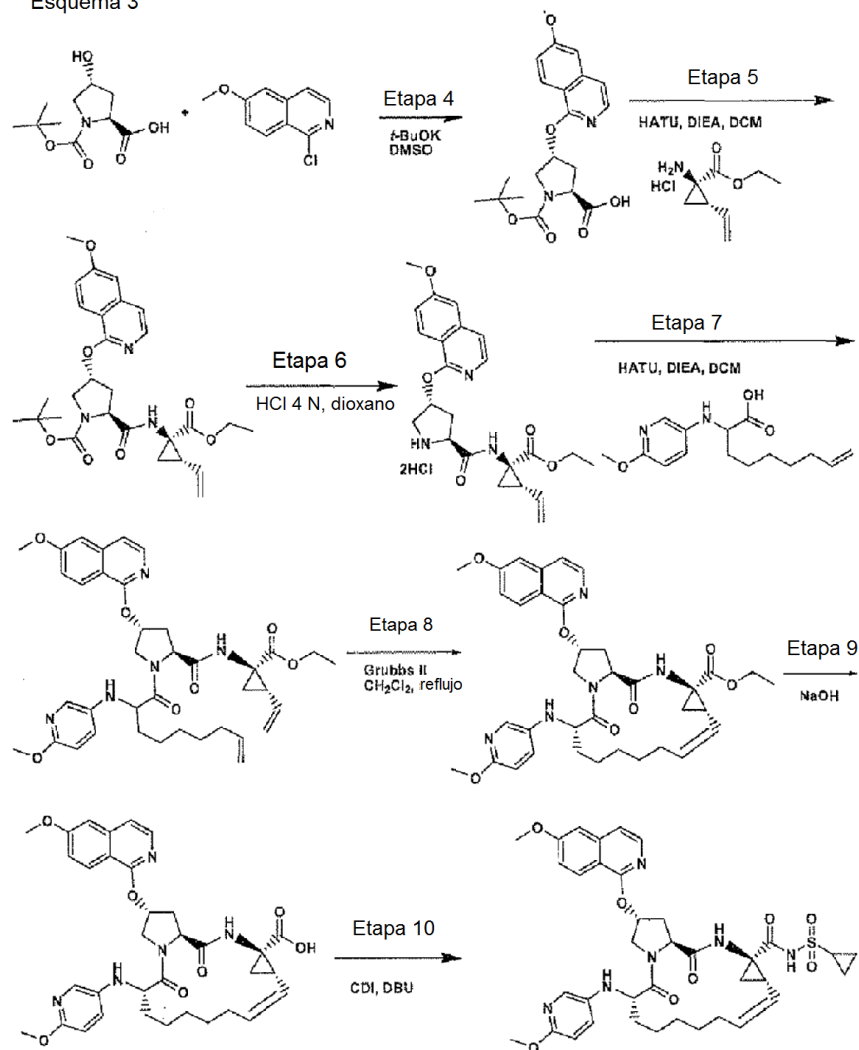
25

Etapa 3:

Una mezcla de 6-metoxipiridin-3-amina (0,372 g, 3 mmol), ácido 2-oxonon-8-enoico (0,511 g, 3,00 mmol), y NaHB(OAc)₃ (1,907 g, 9,00 mmol) en CH₂ClCH₂Cl (10 ml) se agitó durante 24 h. La reacción se interrumpió con NH₄Cl saturado (20 ml), se diluyó con EtOAc (50 ml), se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La concentración dio 800 mg de un producto deseado en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

30

Esquema 3

**Etapa 4:**

- 5 A una solución de *N*-Boc-4(*R*)-hidroxi-*L*-prolina (0,892 g, 3,89 mmol) en DMSO (40 ml) a temperatura ambiente se le añadió en una porción *tert*-butoxido potásico sólido (1,34 g, 12,0 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de enfriarse a 10 °C. Se añadió en una porción 1-cloro-6-metoxi-isoquinolina (el producto de la Etapa 2, Ejemplo 1) (785 mg, 4,05 mmol) en forma de un sólido y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla se inactivó con ácido cítrico enfriado con hielo al 5 % (ac.) y después se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo una vez más. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con ácido cítrico al 5 % (ac.) y salmuera respectivamente, se secaron sobre MgSO₄ y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío a sequedad para proporcionar el producto deseado en forma de una espuma de color blanquecino (1,49 g, rendimiento del 99 %). Este material en bruto se usó en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. ¹H RMN (CD₃OD) δ 1,42, 1,44 (rotámeros, 9H), 2,38-2,43 (m, 1H), 2,66-2,72 (m, 1H), 3,80-3,87 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 4,44-4,52 (m, 1H), 5,73 (s a, 1H), 7,16-7,18 (m, 2H), 7,24-7,25 (m, 1H), 7,87-7,88 (m, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); LC-MS, MS *m/z* 389 (M⁺+H).

Etapa 5:

- 20 A una mezcla del producto de la Etapa 4, Ejemplo 1 (7,7 g, 20 mmol), DIPEA (12,92 g, 100 mmol), y sal HCl (1*R*,2*S*)-1-amino-*N*-(ciclopropilsulfonyl)-2-vinilciclopropanocarboxamida (4,6 g, 24 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) se le añadió HATU (11,41 g, 30 mmol) a ta durante 4 horas. Después de la concentración, el residuo se purificó por Biotage (columna 40+S Si) eluyendo con acetona al 33 % en hexanos para dar 9,5 g (90 %) del producto deseado en forma de un aceite. LC-MS, MS *m/z* 526 (M⁺+H).

25

Etapa 6:

Al producto de la Etapa 5, Ejemplo (5,26 g, 10 mmol) se le añadió HCl 4 M (25,00 ml, 100 mmol) en 1,4-dioxano. La solución formada se agitó a 25 °C durante 3 h. Después de la concentración al vacío, al residuo se le añadió éter (20 ml), después se concentró de nuevo y se repitió el procedimiento 3 veces. El secado al vacío dio 4,98 g (100 %) del producto en forma de un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LC-MS, MS m/z 426 (M^+H).

Etapa 7:

A una solución del producto de la Etapa 6, Ejemplo 1 (150 mg, 0,3 mmol), el producto de la Etapa 3, Ejemplo 1 (84 mg, 0,300 mmol), y base de Hunig (0,524 ml, 3,00 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml) se le añadió HATU (171 mg, 0,450 mmol). Después de agitar durante 16 h y de la concentración, el residuo se purificó por Biotage eluyendo con acetona al 33 % en hexanos para dar 170 mg del producto deseado en forma de un sólido y diastereómero. LC-MS, MS m/z 686 (M^+H).

Etapa 8:

Se añadió a reflujo una solución del producto de la Etapa 7, Ejemplo 1 (160 mg, 0,233 mmol) y Grubbs II (30 mg, 0,035 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml) durante 16 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por Biotage eluyendo con acetona al 25 % en hexanos para dar 52 mg de un diastereómero individual cuya estructura se etiquetó como se muestra en el Esquema o isómero (*R*). LC-MS, MS m/z 658 (M^+H).

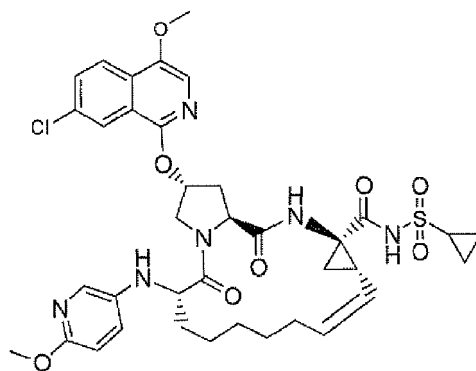
Etapa 9:

Una solución del producto de la Etapa 8, Ejemplo 1 (50 mg, 0,076 mmol) e hidróxido sódico (30,4 mg, 0,760 mmol) en MeOH (5 ml) y agua (2,00 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se neutralizó con HCl 1 N (1 ml), se extrajo con EtOAc y se secó sobre $MgSO_4$. La concentración dio 36 mg del producto deseado que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LC-MS, MS m/z 630 (M^+H).

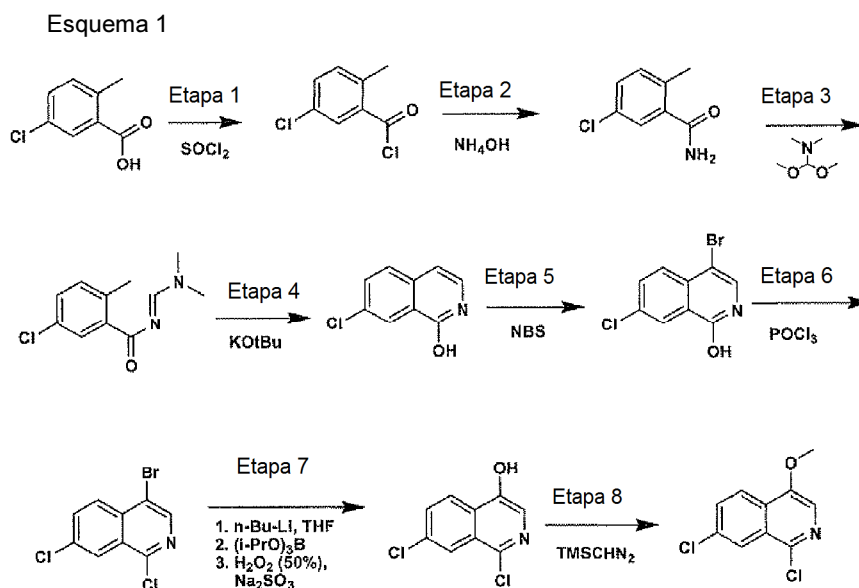
Etapa 10:

Una solución del producto de la Etapa 9, Ejemplo 1 (35 mg, 0,056 mmol) y CDI (12,62 mg, 0,078 mmol) en THF (1 ml) se calentó a reflujo durante 1 h. Después de enfriar a ta, a la solución se le añadió ciclopropanosulfonamida (10,77 mg, 0,089 mmol) seguido de DBU (0,017 ml, 0,111 mmol), y después la solución resultante se agitó durante una noche. Después de la concentración, el residuo se purificó por HPLC prep. para dar 25 mg (61 %) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco. LC-MS, MS m/z 733 (M^+H).

Ejemplo 2: Preparación del Compuesto 2



Compuesto 2



Etapa 1:

5 Una suspensión de ácido 3-cloro-6-metilbezoico (17,0 g, 0,10 mol) en cloruro de tionilo (23,5 ml, 0,30 mol) se calentó lentamente a reflujo suave y se mantuvo a esta temperatura durante 2 h. Después, la mezcla de reacción se enfrió a TA y el exceso de cloruro de tionilo se eliminó al vacío. El residuo se recogió en DCM (50 ml), y después el disolvente se eliminó al vacío. (Ha de apreciarse que este proceso se repitió varias veces para garantizar la
10 eliminación del cloruro de tionilo y HCl residuales). Después, el producto resultante se disolvió en THF (80 ml) que se usó directamente en la siguiente reacción como se describe a continuación.

Etapa 2:

15 A una solución de amoníaco al 30 % (58 ml) en agua (240 ml), enfriada por un baño de sal-hielo (-10 °C), se le añadió gota a gota una solución en THF del producto de la Etapa 1, Ejemplo 2. Después de completar la adición, la mezcla de reacción resultante (suspensión) se agitó a -10 °C durante 1 h. Después, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se decantó. Después, el sólido restante en el recipiente de reacción se trituró con agua (50 ml). Después, este proceso de trituración y de decantación se repitió. Después, el sólido restante se filtró y la
20 torta de filtro se lavó con agua. Después, el sólido se secó al vacío durante una noche para producir 13,8 g (82 %) del producto deseado en forma de un material cristalino de color blanco. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ ppm 2,33 (s, 3H), 7,24-7,27 (m, 1H), 7,35-7,38 (m, 2H), 7,44 (a, 1H), 7,80 (a, 1H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 18,87, 126,64, 128,86, 129,81, 132,31, 134,19, 138,65, 169,41; LC-MS, MS *m/z* 170.

Etapa 3:

Una mezcla del producto de la Etapa 2, Ejemplo 2 (11,5 g, 68 mmol), DMF-acetal (10,9 ml, 82 mmol) y THF (150 ml) se calentó a reflujo y se mantuvo a esta temperatura durante 2 h. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y los volátiles se retiraron al vacío. El residuo resultante se recristalizó en hexano (150 ml)
30 para producir 14,7 g (96 %) del producto deseado en forma de agujas blancas. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 2,49-2,51 (m, 3H), 3,09 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 7,24, 7,27 (d, J = 13,5 Hz, 1H), 7,37-7,41 (dd, J₁ = 14 Hz, J₂ = 4,5 Hz, 1H), 7,91, 7,92 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,55 (s, 1H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 20,69, 35,09, 40,91, 129,50, 129,72, 132,98, 136,86, 138,87, 160,60, 177,04; LC-MS, MS *m/z* 225.

Etapa 4:

Una mezcla del producto de la Etapa 3, Ejemplo 2 y KOtBu (14,7 g, 131 mmol) en THF (300 ml) se calentó a reflujo y se mantuvo a esta temperatura durante 2 h (la mezcla de reacción se convirtió en una solución de color oscuro tras el calentamiento). Después, el volumen de la mezcla de reacción se redujo retirando por destilación
40 aproximadamente 100 ml de disolvente. Después, la solución resultante se vertió cuidadosamente en agua (1 l) y la mezcla resultante se acidificó con HCl 1 M a un pH resultante de 4. Después, la mezcla se filtró, y el sólido recogido se lavó vigorosamente con agua, y después se secó al vacío durante una noche para producir 7,0 g (60 %) del producto deseado en forma de un polvo de color blanquecino. ¹H RMN (400 Hz, CD₃OD) δ ppm 6,66 (d, J = 7,05 Hz, 1 H), 7,18 (d, J = 7,05 Hz, 1 H), 7,66 (s, 1 H) 7,67 (d, J = 2,01 Hz, 1 H), 8,24 (d, J = 2,27 Hz, 1 H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 104,05, 125,62, 127,21, 128,54, 129,52, 130,77, 132,43, 136,55, 160,72; LC-MS, MS *m/z* 180.

Etapa 5:

Una suspensión del producto de la Etapa 4, Ejemplo 2 y NBS (39,747 g, 223,3 mmol) en MeCN (500 ml, anhidro) se calentó lentamente a reflujo suave durante un periodo de aproximadamente 2 h y se mantuvo a reflujo suave durante 1,5 h. (Esta reacción puede controlarse por LC/MS). Después, la mezcla de reacción se enfrió lentamente a temperatura ambiente durante un periodo de 3 h y el sólido observado se retiró por filtración simple. El sólido recogido se lavó con MeCN (100 ml x 3) para proporcionar 47 g del producto deseado. Este material se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7,46(s, 1H), 7,81 (dd, J = 8,40, 2,00 Hz, 1 H), 7,88 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 8,27(d, J = 2,00 Hz, 1 H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 96,68, 126,34, 127,58, 127,71, 130,73, 132,20, 133,47, 134,46,159,88; LC-MS, MS *m/z* 258.

Etapa 6:

Una solución heterogénea del producto de la Etapa 5, Ejemplo 2 (47 g, 182 mmol) en POCl₃ (200 ml, 2,15 mol) se calentó lentamente a reflujo durante un periodo de 1 h. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 4 h. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío para retirar el exceso de POCl₃. Después, el residuo resultante se recogió en 600 ml de CH₂Cl₂, se enfrió a -35 °C, y después se neutralizó cuidadosamente con NaOH 1 N (400 ml) hasta que la mezcla se hizo ligeramente básica (pH = 8). La capa orgánica resultante se separó, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo resultante se cristalizó en EtOAc (aproximadamente 50 ml) para dar 32 g del producto deseado. El sólido recogido se lavó con EtOAc al 10 %/Hexanos (3 x 50 ml). Las aguas madre se concentraron y se purificaron por Biotage (elución con EtOAc al 16 % en hexanos) para dar 4 g del producto deseado en forma de un sólido, ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,8 ml (dd, J = 8,81, 2,01 Hz, 1 H), 8,14 (d, J = 9,06 Hz, 1 H), 8,34 (d, J = 1,76 Hz, 1 H), 8,48 (s, 1 H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 118,39, 125,06, 127,59, 128,71, 133,89, 134,14, 134,93, 143,18, 148,98; LC-MS, MS *m/z* 275.

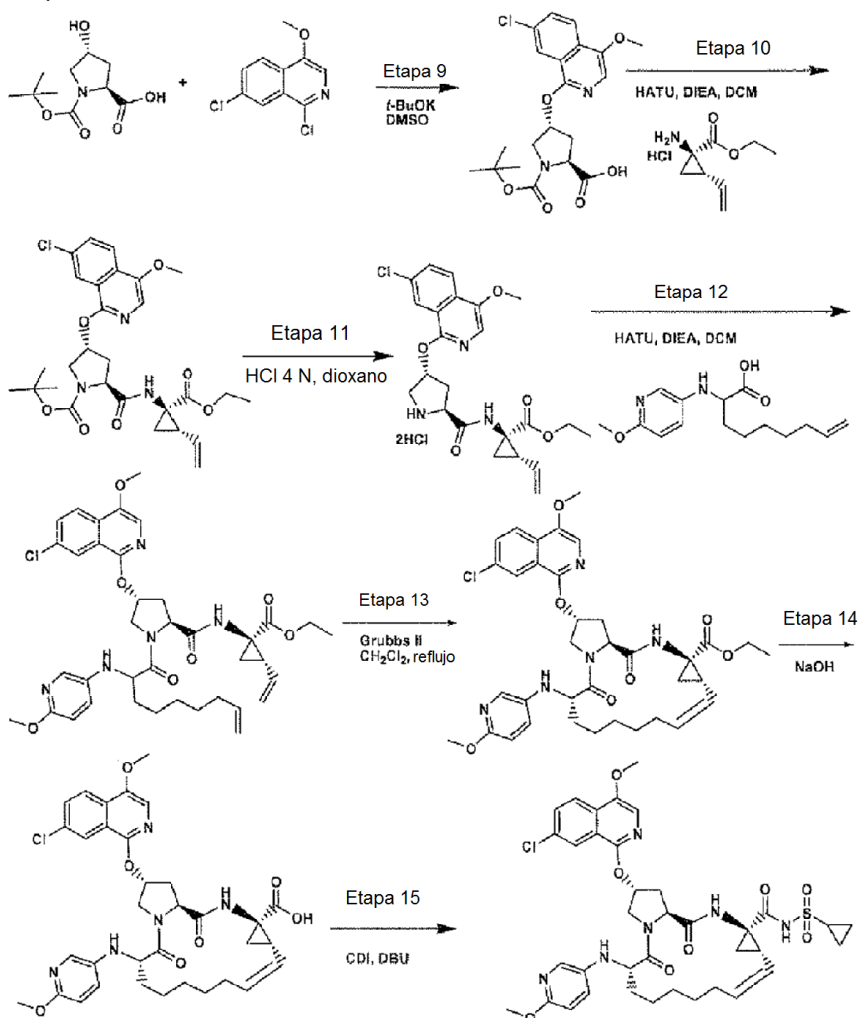
Etapa 7:

A una suspensión del producto de la Etapa 6, Ejemplo 2 (22,16 g, 80 mmol) en THF (500 ml) a -78 °C se le añadieron gota a gota 100 ml de n-BuLi 1,6 M (en hexanos, 160 mmol) mediante una cánula durante 15 min (manteniendo la temperatura interna < -65 °C). La solución resultante se agitó durante 0,5 h, después de este tiempo, se añadió gota a gota (i-PrO)₃B (37 ml, 160 mmol) mediante una jeringa durante 10 min (manteniendo la temperatura interna < -65 °C). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 0,5 h. Después de comprobar la finalización de la reacción por LC/MS, se añadieron gota a gota 80 ml de H₂O₂ al 30 % (776 mmol) mediante un embudo de adición durante 10 min (la temperatura interna se elevó a -60 °C durante la adición) seguido de la adición de 80 ml de NaOH 1 N (80 mmol). El baño de refrigeración se retiró, y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h más. Después de conformar la finalización de la reacción por LC/MS, después la mezcla de reacción se enfrió a -40 °C, y se añadió gota a gota una solución de 100 g de Na₂SO₃ (0,793 moles) en 400 ml de agua mediante un embudo de adición como un medio para inactivar el exceso de H₂O₂ durante 30 min (manteniendo la temperatura interna 5-10 °C). Después, la suspensión resultante se neutralizó con HCl 6 N (aproximadamente 50 ml) a 0 °C hasta un pH ~ 6, después se diluyó con 500 ml de EtOAc y se decantó en un embudo de decantación de 2 l. Al sólido restante en el recipiente de reacción se le añadieron 500 ml de agua y 300 ml de EtOAc, y después se neutralizó con HCl 6 N (aproximadamente 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 ml x 3), después con agua (200 ml x 3), se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron para dar un producto en bruto que se trituró con 50 ml de EtOAc. El sólido se recogió por filtración, se aclaró con EtOAc (3 x 25 ml) y se secó para dar el producto deseado (2 realizaciones: 12,0 g, 70 % y 13,8 g, 81 %). Los filtrados se combinaron, se concentraron y se purificaron por Biotage eluido con EtOAc al 35 % en hexanos para dar 2,1 g de producto. En general, 44,4 g de bromuro dieron 27,9 g (81 %) de producto 4-OH. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 4,05 (s, 3 H), 7,4 (s, 1 H), 7,76 (dd, J = 8,8, 2, Hz, 1 H), 8,16 (d, J = 2 Hz, 1 H), 8,23 (d, J = 8,8 Hz, 1 H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 123,78, 124,66, 125,62, 127,03, 127,71, 130,72, 133,80, 137,63; 148,88; LC-MS, MS *m/z* 213.

Etapa 8:

A una suspensión del producto de la Etapa 7, Ejemplo 2 (16 g, 75,5 mmol) en MeOH-MeCN (30 ml/300 ml) a 0 °C se le añadieron gota a gota 60 ml de una solución 2 M de TMSCHN₂ en hexanos (120 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y después se agitó durante 14 h. Después, la solución se concentró, y el sólido resultante se recrystalizó en EtOAc (aproximadamente 50 ml) para dar 8,1 g del producto deseado que se lavó con EtOAc al 25 % en hexanos; 20 x 3 veces. Las aguas madre se concentraron y se purificaron por Biotage (elución con EtOAc al 16 % en hexanos) para proporcionar 3,2 g del producto deseado en forma de un sólido. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,05 (s, 3 H), 7,67 (dd, J = 9,06, 2,01 Hz, 1 H), 7,80 (s, 1 H), 8,16 (d, J = 8,81 Hz, 1 H), 8,23 (d, J = 2,01 Hz, 1 H); ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 56,68, 122,70, 123,99, 124,14, 126,67, 127,83, 131,43, 134,10, 139,75, 149,94; LC-MS, MS *m/z* 229.

Esquema 2

**Etapa 9:**

5

A una mezcla de 1,7-dicloro-4-metoxiisquinolina (4,52 g, 20 mmol), Boc-L-Hyp-OH (5,08 g, 22 mmol) y *t*-BuOK (6,72 g, 60 mmol) se le añadió DMSO (200 ml) con agitación a 10 °C y después la suspensión resultante se sometió a ultrasonidos durante 30 min para obtener rápidamente una solución homogénea a ta. La solución resultante se agitó durante 3 h. Después, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó con 50 ml de agua. La mezcla resultante se neutralizó/acidificó a un pH final de 5 mediante la adición de HCl 1 N. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (400 ml), y después la capa orgánica se lavó con salmuera (200 ml), agua (200 ml x 2), se secó sobre MgSO_4 , se filtró y después se concentró al vacío para proporcionar un sólido en bruto (8,36 g). Este material se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2,34 - 2,47 (m, 1 H), 2,62 - 2,77 (m, 1 H), 3,70 - 3,92 (m, 2 H), 4,42 - 4,59 (m, 1 H), 5,65 (s a, 1 H), 7,54 (s, 1 H), 7,68 (dd, $J = 8,81, 2,01$ Hz, 1 H), 8,02 - 8,13 (m, 2 H); ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6) (los picos observados son más que las cifras de carbono debido a los rotámeros Boc) δ ppm 13,90, 14,04, 20,71, 22,02, 27,84, 27,98, 30,91, 35,00, 35,87, 51,84, 52,08, 56,21, 57,49, 57,80, 59,70, 73,32, 73,87, 79,14, 79,19, 119,11, 119,77, 122,3\$, 123,35, 128,50, 130,95, 132,25, 145,70, 151,94, 153,25, 153,71, 173,51, 173,98; LC-MS, MS m/z 423.

10

15

Etapa 10:

20

Una mezcla del producto de la Etapa 9, Ejemplo 2 (4,23 g, 10 mmol), ciclopropanosulfonamida (2,300 g, 12,00 mmol), base de Hunig (6,46 g, 50,0 mmol) y HATU (5,70 g, 15,00 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) se agitó durante 4 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por Biotage (columna 40+S Si) eluyendo con acetona al 33 % en hexanos para dar 4,7 g (84 %) del producto deseado en forma de un sólido. LC-MS, MS m/z 560.

25

Etapa 11:

Al producto de la Etapa 10, Ejemplo 2 (5,60 g, 10 mmol) se le añadió HCl 4 M (25,00 ml, 100 mmol) en 1,4-dioxano.

La solución formada se agitó a 25 °C durante 3 h. Después de la concentración al vacío, al residuo se le añadió éter (20 ml), después se concentró de nuevo y se repitió el procedimiento 3 veces. El secado al vacío dio 5,33 g (100 %) del producto en bruto en forma de un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

5 **Etapa 12:**

Al producto de la Etapa 11, Ejemplo 2 (5,60 g, 10 mmol) se le añadió HCl 4 M (25,00 ml, 100 mmol) en 1,4-dioxano. La solución formada se agitó a 25 °C durante 3 h. Después de la concentración al vacío, al residuo se le añadió éter (20 ml), después se concentró de nuevo y se repitió el procedimiento 3 veces. El secado al vacío dio 5,33 g (100 %) del producto en bruto en forma de un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LC-MS, MS *m/z* 720.

10 **Etapa 13:**

15 Se añadió a reflujo una solución del producto de la Etapa 12, Ejemplo 2 (160 mg, 0,222 mmol) y Grubbs II (30 mg, 0,035 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) durante 16 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por Biotage eluyendo con acetona al 25 % en hexanos para dar 54 mg de un diastereómero individual cuya estructura se etiquetó como se muestra en el Esquema o el isómero (*R*). LC-MS, MS *m/z* 692.

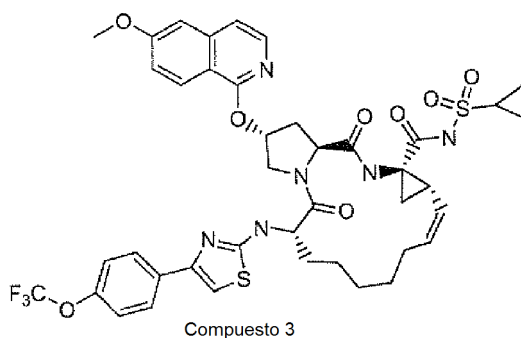
20 **Etapa 14:**

Una solución del producto de la Etapa 13, Ejemplo 2 (50 mg, 0,072 mmol) e hidróxido sódico (28,9 mg, 0,722 mmol) en MeOH (5 ml) y agua (2,00 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se neutralizó con HCl 1 N (1 ml), se extrajo con EtOAc, se secó sobre MgSO₄. La filtración y la concentración dieron 25 46 mg del producto deseado que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

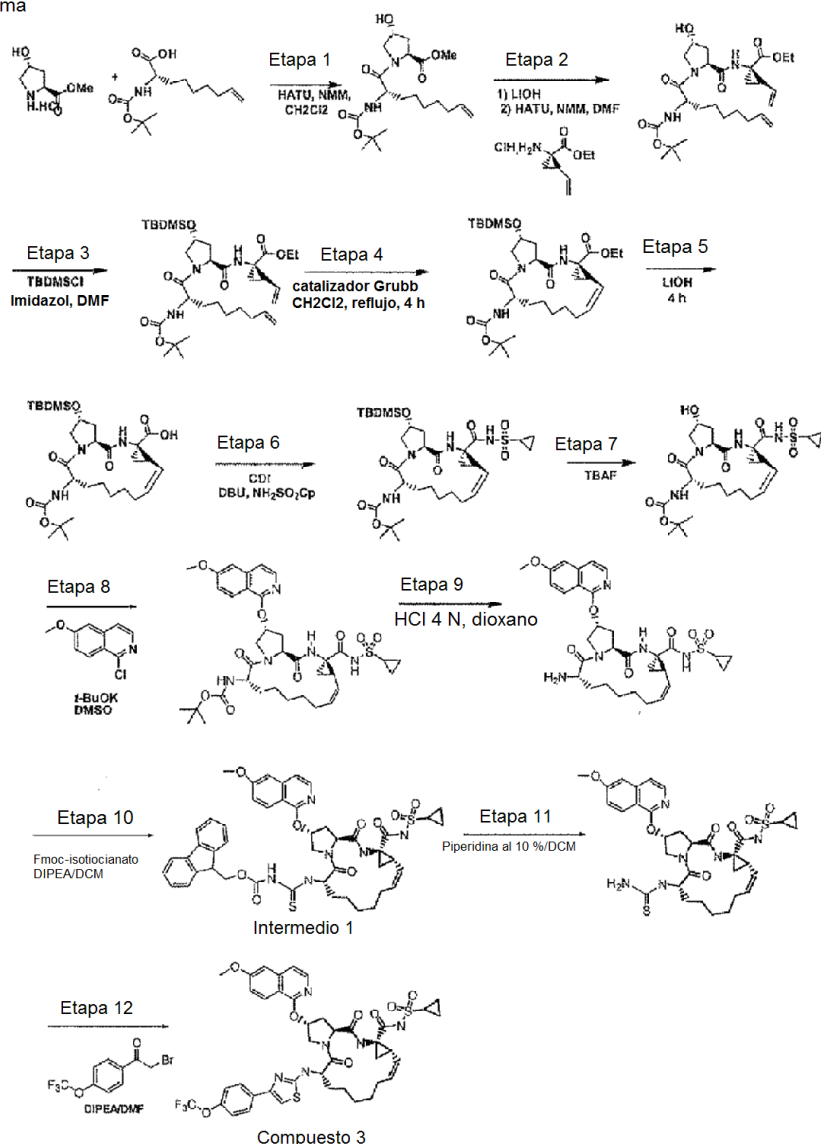
Etapa 15:

30 Una solución del producto de la Etapa 14, Ejemplo 2 (45 mg, 0,068 mmol) y CDI (15,38 mg, 0,095 mmol) en THF (1 ml) se calentó a reflujo durante 1 h. Después de enfriar a ta, a la solución se le añadió ciclopropanosulfonamida (13,13 mg, 0,108 mmol) seguido de DBU (0,020 ml, 0,136 mmol), y después la solución resultante se agitó durante una noche. Después de la concentración, el residuo se purificó por HPLC prep. para dar 15 mg (30 %) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco. LC-MS, MS *m/z* 767.

35 **Ejemplo 3: Preparación del Compuesto 3**

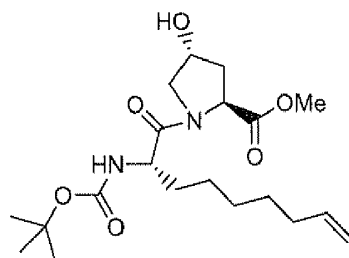


Esquema



Etapa 1: Preparación de éster metílico del ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxílico

5

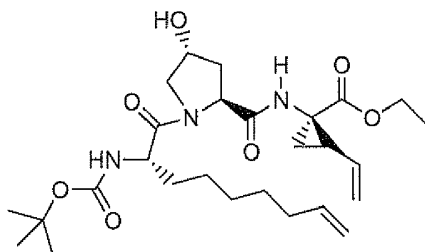


Una solución de ácido 2(S)-terc-butoxicarbonilamino-8-nonenoico (adquirido en RSP Amino Acids) (3,5 g, 12,9 mmol) en 200 ml de DCM se trató secuencialmente con clorhidrato del éster metílico del ácido 4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxílico (2,15 g, 11,8 mmol), *N*-metil morfolina (4,25 ml, 38,6 mmol) y HATU (5,37 g, 14,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta en una atmósfera de N₂ durante 3 días, y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo y tampón a pH 4 (bifalato). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ ac. sat., se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío para dar el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 50 %/hexano a acetato de etilo al 100 %) dio 4,7 g (~100 %) de éster metílico del ácido 1-(2(S)-terc-Butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxílico en forma de un aceite incoloro: ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,33-1,50(m, 8 H), 1,46 (s, 9 H), 1,57 (m, 1 H), 1,72 (m, 1 H), 2,08 (m, 2 H), 2,28 (m, 1 H),

15

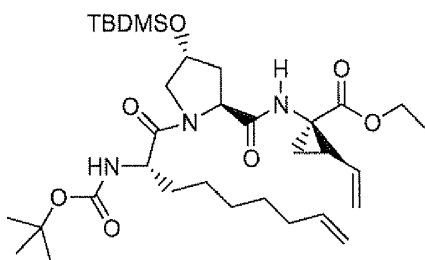
3,72 (s, 3 H), 3,75-3,87 (m, 2 H), 4,36 (m, 1 H), 4,51 (s a, 1 H), 4,57 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 4,95 (d, J = 10,4 Hz, 1 H), 5,01 (m, 1 H), 5,83 (m, 1 H). MS m/z 399 ($M^+ + 1$).

5 *Etapa 2: Preparación de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(S)-terc-Butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)hidroxi-pirrolidina-2(S)carbonil]-(1R)-amino]-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico*



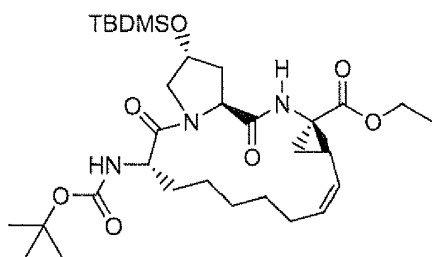
10 Se disolvió éster metílico del ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxi-pirrolidina-2(S)-carboxílico (4,7 g, 11,8 mmol) en THF (80 ml), metanol (20 ml) y agua (40 ml). Se añadió hidróxido de litio en polvo (5,6 g, 233 mmol). La suspensión de color amarillo claro se agitó a ta en una atmósfera de N_2 durante 16 h, y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre éter y agua. La fase de éter se desechó, y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta que el pH fue de 4. Esta solución ácida se extrajo con EtOAc (3 x). Los extractos de EtOAc combinados se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 4,36 g (96 %) de ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-8-nonenol)-4(R)-hidroxi-pirrolidina-2(S)-carboxílico en forma de un sólido de color blanco. Después, este ácido se disolvió en 150 ml de DMF y clorhidrato de éster etílico del ácido (1R,2S)-1-amino-2-vinilciclopropano carboxílico (2,61 g, 13,6 mmol), N-metil morfolina (2,5 ml, 22,6 mmol) y se añadió HATU (5,2 g, 13,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta en una atmósfera de N_2 durante 16 h, y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo y tampón a pH 4 (biftalato). La fase orgánica se lavó con $NaHCO_3$ ac. sat., se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró al vacío para dar el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 60 %-80 %/hexano) dio 6,0 g (98 %) de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(S)-terc-Butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxi-pirrolidina-2(S)carbonil]-(1R)-amino]-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico en forma de un sólido de color blanco. 1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 1,25 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 1,33-1,80 (m, 10 H), 1,46 (s, 9 H), 2,09 (m, 3 H), 2,25 (m, 2 H), 3,76 (m, 2 H), 4,14 (m, 2 H), 4,27 (dd, J = 8,5, 5,2 Hz, 1 H), 4,50 (m, 2 H), 25 4,94 (d, J = 10,1 Hz, 1 H), 5,01 (dd, J = 17,1, 1,8 Hz, 1 H), 5,11 (dd, J = 10,4, 1,8 Hz, 1 H), 5,30 (d, J = 15,6 Hz, 1 H), 5,80 (m, 2 H), 8,57 (s, 1 H). MS m/z 522 ($M^+ + 1$).

30 *Etapa 3: Preparación de éster etílico del ácido 1-[[1-(2-terc-Butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4-(terc-butil-dimetil-silanilo)pirrolidina-2-carbonil]-amino]-2-vinilciclopropanocarboxílico*



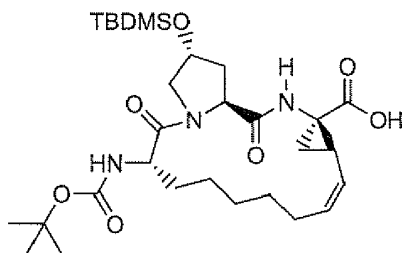
35 A una mezcla de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(S)-terc-Butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxi-pirrolidina-2(S)carbonil]-(1R)-amino]-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico (1,5 g, 2,87 mmol) en 10 ml de DMF se le añadieron imidazol (0,25 g, 3,67 mmol) y cloruro de terc-butil-dimetilsililo (516 mg, 3,44 mmol). La mezcla se agitó a ta durante dos días. Después, se concentró al vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo. Después, se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío para obtener un sólido, que después se purificó por cromatografía ultrarrápida (eluyendo con acetato de etilo al 20 % en hexano) para aislar un sólido de color blanco (1,43 g, 78 %). 1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 0,10 (s, 6 H), 0,89 (s, 9 H), 1,22 (m, 3 H), 1,31-1,48 (m, 16 H), 1,50-1,75 (m, 3 H), 2,06 (m, 3 H), 2,11-2,33 (m, 2 H), 3,70 (m, 2 H), 4,03-4,19 (m, 2 H), 4,21 (m, 1 H), 4,45 (t, J = 7,87 Hz, 1 H), 4,59 (m, 1 H), 4,91 (d, J = 9,1 Hz, 1 H), 4,98 (d, J = 17,20 Hz, 1 H), 5,08 (dd, J = 10,25, 1,83 Hz, 1 H), 5,27 (dd, J = 17,38, 1,65 Hz, 1 H), 5,65-5,87 (m, 2 H). MS m/z 636 ($M^+ + 1$).

45 *Etapa 4: Preparación de éster etílico del ácido 14-terc-Butoxicarbonilamino-18-(terc-butil-dimetil-silanilo)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,04,6]nonadec-7-eno-4-carboxílico*



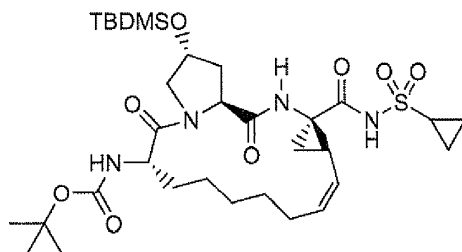
5 A una solución de éster etílico del ácido 1-[[1-(2-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enil)-4-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)pirrolidina-2-carbonil]-amino]-2-vinilciclopropanocarboxílico (1,63 g, 2,56 mmol) en 640 ml de cloruro de metileno se le añadieron 215 mg (0,26 mmol) de dicloruro de triciclohexilfosfina[1,3-bis(2,4,6-tri[bencilideno]rutenio (IV). La mezcla se calentó a reflujo durante 15 min. El residuo se concentró al vacío, y después se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo al 30 %/hexano. Para decolorar adicionalmente la muestra, el producto en bruto se sometió a cromatografía una segunda vez eluyendo con éter al 50 % en hexano para dar 1,5 g (96 %) del producto en forma de un sólido de color blanco. ¹H RMN (500 MHz, CD₃Cl) δ 0,06 (s, 3 H), 0,07 (s, 3 H), 0,86 (s, 9 H), 1,18-1,24 (m, 6 H), 1,34-1,64 (m, 14 H), 1,86-1,96 (m, 3 H), 2,02-2,09 (m, 1 H), 2,11-2,17 (m, 1 H), 2,19-2,28 (m, 1 H), 2,57-2,63 (m, 1 H), 3,50-3,54 (m, 1 H), 3,71 (dd, J = 10,22, 6,26 Hz, 1 H), 4,06-4,17 (m, 2 H), 4,52-4,58 (m, 2 H), 4,75 (d, J = 8,55 Hz, 1 H), 5,21 (t, J = 9,92 Hz, 1 H), 5,35 (d, J = 7,63 Hz, 1 H), 5,45-5,50 (m, 1 H), 6,94 (s, 1 H). MS *m/z* 608 (M⁺+1).

15 *Etapa 5: Preparación de ácido 14-terc-Butoxicarbonilamino-18-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,04,6]nonadec-7-eno-4-carboxílico*



20 A una solución de éster etílico del ácido 14-terc-Butoxicarbonilamino-18-(terc-butyl-dimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,04,6]nonadec-7-eno-4-carboxílico (1,5 g, 2,47 mmol) en THF (4 ml), metanol (1 ml) y agua (2 ml) se le añadió hidróxido de litio en polvo (1,0 g, 50 mmol), y la suspensión de color amarillo claro se agitó a ta en una atmósfera de N₂ durante 4 h. Después, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se repartió entre éter y agua. La fase de éter se desechó, y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta un pH 4. Esta solución ácida se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos de EtOAc combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío para dar 1,2 g (84 %) de un sólido de color blanquecino. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ ppm 0,12 (s, 6 H), 0,89 (s, 9 H), 1,23-1,64 (m, 17 H), 1,70-1,87 (m, 1 H), 1,90-2,49 (m, 6 H), 3,70-3,80 (m, 1 H), 3,83-3,90 (m, 1 H), 4,28-4,36 (m, 1 H), 4,47-4,55 (m, 1 H), 4,65 (s, 1 H), 5,30-5,39 (m, 1 H), 5,53-5,62 (m, 1 H). MS *m/z* 580 (M⁺+1).

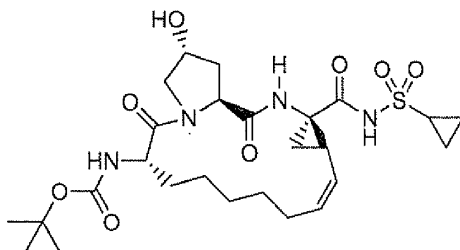
30 *Etapa 6: Preparación de éster terc-butílico del ácido [18-(terc-Butil-dimetil-silaniloxi)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,04,6]nonadec-7-en-14-il]-carbámico*



35 Se disolvió ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butyl-dimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,04,6]nonadec-7-eno-4-carboxílico (500 mg, 0,86 mmol) en 25 ml de THF y se trató con CDI (180 mg, 1,12 mmol). (Tener cuidado para evitar la humedad usando cristalería secada al horno y manteniendo una atmósfera de N₂ seca). Después de calentar a reflujo la mezcla de reacción durante dos horas, se enfrió a ta y se trató secuencialmente con ciclopropilsulfonamida (135 mg, 1,12 mmol) y DBU (170 mg, 1,12 mmol). Después de agitar durante 4 h a ta, el THF se retiró por evaporación rotatoria. El residuo se repartió entre acetato de etilo y tampón a pH 4. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío para dar el producto en bruto. Después, se purificó por columna ultrarrápida, eluyendo con acetato de etilo al 33 % en hexano para aislar un sólido de color

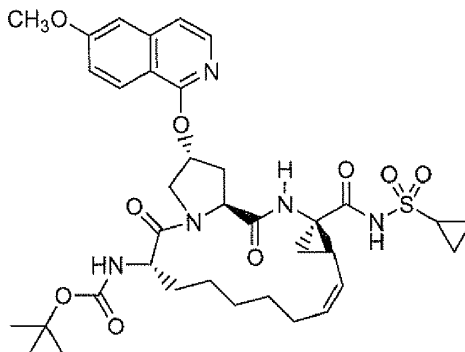
blanco (300 mg, 51 %). ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ ppm ^1H 0,07 (s, 3 H), 0,08 (s, 3 H), 0,85 (s, 9 H), 0,87-1,49 (m, 21 H), 1,73-1,95 (m, 3 H), 2,08-2,16 (m, 1 H), 2,25-2,36 (m, 2 H), 2,42-2,56 (m, 1 H), 2,85-2,93 (m, 1 H), 3,65-3,74 (dd, $J = 10,61, 3,66$ Hz, 1 H), 3,89 (d, $J = 10,25$ Hz, 1 H), 4,34 (m, $J = 9,70, 9,70$ Hz, 1 H), 4,43 (t, $J = 7,87$ Hz, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,94-5,01 (m, 1 H), 5,10 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H), 5,66-5,75 (m, 1 H), 6,55 (s, 1 H), 10,13 (s, 1 H). MS m/z 683 ($\text{M}^+ + 1$).

Etapa 7: Éster terc-butílico del ácido (4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il)-carbámico



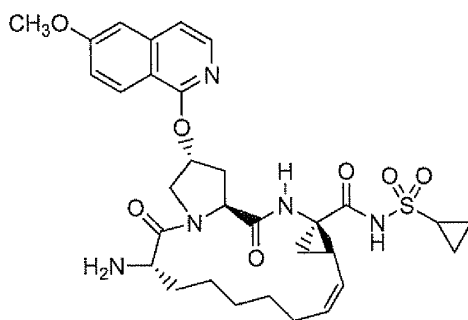
A una mezcla de éster terc-butílico del ácido [18-(terc-Butil-dimetil-silaniloxi)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14,3,0,0^{4,5}]nonadec-7-en-14-il]-carbámico (330 mg, 0,48 mmol) en 25 ml de THF se le añadió fluoruro de tetrabutilamonio (150 mg, 0,54 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante una noche. El THF se retiró por evaporación rotatoria. El residuo se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró al vacío para dar el producto en bruto. Después, se purificó por trituración con hexano para producir un sólido de color blanco (200 mg, 73 %). ^1H RMN (500 MHz, CD_3Cl) δ ppm 1,87-1,64 (m, 21 H), 1,70-1,98 (m, 3 H), 2,15-2,56 (m, 5 H), 2,85-2,94 (m, 1 H), 3,71 (d, $J = 13,91$ Hz, 1 H), 4,10-4,26 (m, 2 H), 4,51 (t, $J = 7,87$ Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,98 (m, 1 H), 5,06 (d, $J = 8,78$ Hz, 1 H), 5,64-5,71 (m, 1 H), 6,72 (s, 1 H), 10,24 (s, 1 H). MS m/z 569 ($\text{M}^+ + 1$).

Etapa 8. Preparación de éster terc-butílico del ácido [4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-(6-metoxiisoquinolin-1-iloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]-carbámico



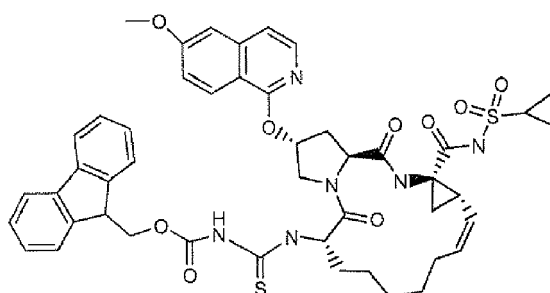
A una mezcla de ácido 4-terc-butoxicarbonilamino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (215 mg, 0,46 mmol) en DMSO (5 ml) se le añadieron *t*-BuOK (125 mg, 1,11 mmol) y 1-cloro-6-metoxiisoquinolina (110 mg, 0,56 mmol, de Ejemplo 1, Esquema 1). La reacción se agitó durante 5 h a ta. Después, la mezcla de reacción se repartió entre éter (10 ml) y agua (10 ml). La fase acuosa se acidificó a pH 4 usando HCl 1 N. La solución resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron al vacío para dar un sólido de color blanco. La cromatografía ultrarrápida (MeOH al 2 %/ CH_2Cl_2) dio 140 mg (49 %) del derivado de ácido carboxílico en forma de un sólido de color blanco. LC-MS (Método B, tiempo de retención: 1,80 min), MS m/z 543 ($\text{M}^+ + 1$). El sólido anterior (140 mg, 0,22 mmol) se trató con ciclopropilsulfonamida (35 mg, 0,28 mmol) como se ha descrito en el procedimiento general anterior para dar el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (MeOH al 2 %/ CH_2Cl_2) dio 90 mg del producto deseado. La purificación adicional por HPLC preparativa (YMC Xterra, S5, 30 x 50 mm, del 50 % al 100 % de B, gradiente de 9 min, mantenimiento de 1 min, caudal 40 ml/min) dio 30 mg (19 %) del producto en forma de un polvo de color blanco. MS m/z 726 ($\text{M}^+ + 1$).

Etapa 9: Preparación de [(Z)-(1S,4R,14S,18R)-14-amino-18-(6-metoxi-isoquinolin-1-iloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico



5 El producto del Ejemplo 2 (0,944 g, 3,03 mmol) se disolvió en HCl 4 M en dioxano (15 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas y después se concentró al vacío. Después, el residuo se disolvió en diclorometano (20 ml) y se concentró de nuevo al vacío. El sólido de color blanco se usó posteriormente sin purificación adicional. MS m/z 626 (M^++1).

Etapa 10: Preparación de intermedio 1



Intermedio 1

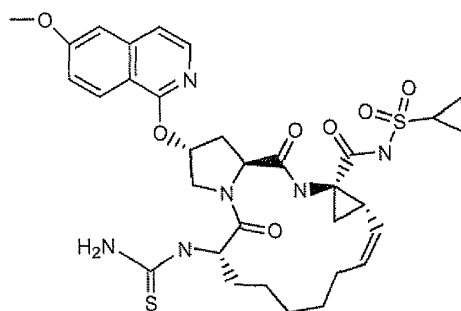
10

Se trató secuencialmente de la [(Z)-(1S,4R,14S,18R)-14-amino-18-(6-metoxiisoquinolin-1-iloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico (100 mg, 0,16 mmol) disuelto en 5 ml de DCM con Fmoc-isotiocianato (49,5 mg, 0,176 mmol, 1,1 equiv.) y DIPEA (0,084 ml, 0,479 mmol, 3 equiv.) a t_a en una atmósfera de N_2 . La mezcla se agitó a t_a durante 1 h. La solución resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

15

Etapa 11: Preparación de [(Z)-(1S,4R,6S,14S,18R)-18-(6-metoxi-isoquinolin-1-iloxi)-2,15-dioxo-14-tioureido-3,16-diazatriciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico

20

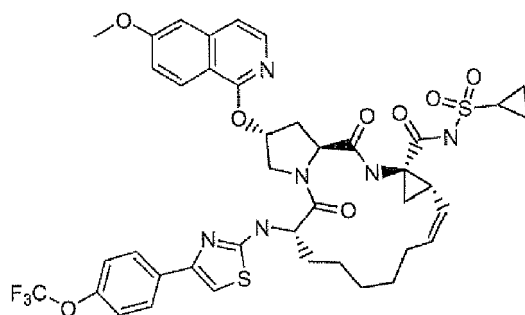


25

A la solución de reacción del intermedio 1 (145 mg, 0,16 mmol) en 5 ml de DCM se le añadió piperidina (0,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a t_a durante 2 h. El disolvente se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con HCl 1 N y una solución de salmuera. La capa orgánica se secó y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (MeOH al 2 %/DCM) dio 57 mg (0,083 mmol, 52 %) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco. MS m/z 685,4 (M^++1).

Etapa 12: Preparación del Compuesto 3

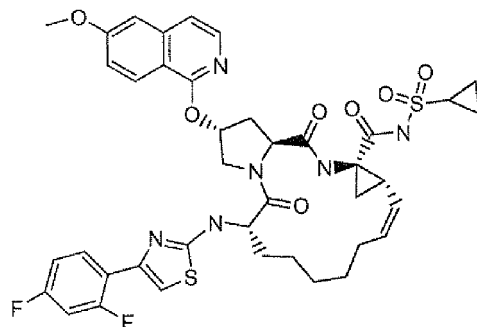
30



Compuesto 3

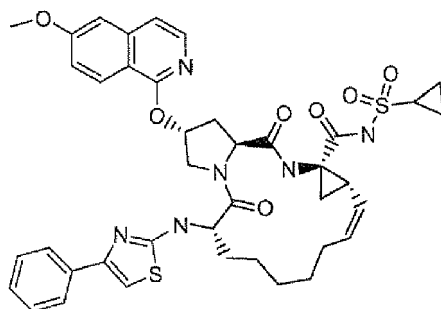
A una mezcla de [(Z)-(1S,4R,6S,14S,18R)-18-(6-metoxi-isoquinolin-1-iloxi)-2,15-dioxo-14-tioureido-3,16-diazatriciclo[14,3,0,0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carbonil]-amida del ácido ciclopropanosulfónico (20 mg, 0,029 mmol) y DIPEA (0,015 ml, 0,088 mmol, 3 equiv.) en DMF (1 ml) se le añadió 2-bromo-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)etanona (16,53 mg, 0,058 mmol, 2 equiv.) a ta en una atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a ta durante una noche. La mezcla de reacción se purificó por HPLC preparativa para dar 10,9 mg (0,012 mmol, 43 %) del producto en forma de un polvo de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 0,97 - 1,02 (m, 2 H) 1,04 - 1,11 (m, 4 H) 1,25 - 1,37 (m, 2 H) 1,40 (m, 2 H) 1,57 (m, 2 H) 1,71 (dd, J = 806, 5,54 Hz, 2 H) 1,92 - 2,03 (m, 2 H) 2,40 (d, J = 9,06 Hz, 1 H) 2,52 - 2,64 (m, 2 H) 2,83 - 2,93 (m, 2 H) 3,11 (dt, J = 3,21, 1,54 Hz, 2 H) 3,89 (s, 3 H) 4,21 (dd, J = 11,71, 3,90 Hz, 1 H) 4,63 (t, J = 8,06 Hz, 1 H) 4,75 - 4,81 (m, 2 H) 5,08 (d, J = 9,57 Hz, 1 H) 5,70 (d, J = 10,07 Hz, 1 H) 6,02 (s, 1 H) 6,73 (s, 1 H, NH) 6,83 - 6,89 (m, 3 H) 7,12 (d, J = 2,27 Hz, 1 H) 7,21 (d, J = 6,04 Hz, 1 H) 7,60 - 7,67 (m, 2 H) 7,79 (d, J = 6,04 Hz, 1 H) 9,00 (s, 1 H, NH). MS *m/z* 869,3 (M⁺+1).

15 Ejemplo 4: Preparación del Compuesto 4



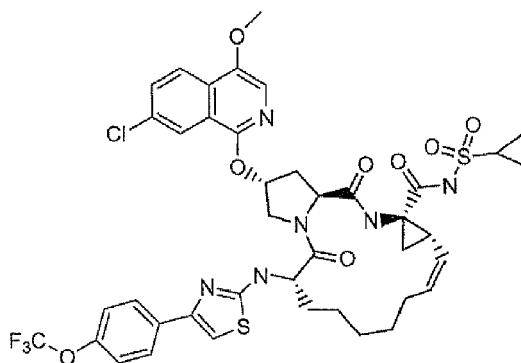
Compuesto 4

El Ejemplo 4 se preparó por el mismo procedimiento que se ha descrito para la preparación del Ejemplo 3, excepto que se usó 2-bromo-1-(2,4-difluorofenil)etanona en lugar de 2-bromo-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)etanona en Etapa 12. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 0,96 - 1,02 (m, 1 H) 1,04 - 1,11 (m, 2 H) 1,25 - 1,31 (m, 1 H) 1,36 (m, 1 H) 1,58 (dd, J = 9,44, 5,41 Hz, 4 H) 1,71 (dd, J = 8,06, 5,54 Hz, 2 H) 1,91 - 2,03 (m, 2 H) 2,38 - 2,47 (m, 1 H) 2,50 - 2,61 (m, 1 H) 2,64 (m, 1 H) 2,85 - 2,95 (m, 1 H) 3,64 (s, 2 H) 3,90 (s, 3 H) 4,17 (dd, J = 11,33, 3,78 Hz, 1 H) 4,63 (t, J = 8,18 Hz, 1 H) 4,74 (dd, J = 10,58, 3,27 Hz, 1 H) 4,88 - 4,96 (m, 2 H) 5,04 - 5,10 (m, 1 H) 5,66 - 5,73 (m, 1 H) 6,05 (s, 1 H) 6,45 (td, J = 8,31, 2,27 Hz, 1 H) 6,63 (s, 1 H, NH) 6,65 - 6,69 (m, 1 H) 6,89 (dd, J = 9,06, 2,52 Hz, 1 H) 7,12 (d, J = 2,52 Hz, 1 H) 7,19 (d, J = 5,79 Hz, 1 H) 7,58 (d, J = 9,06 Hz, 1 H) 7,74 - 7,81 (m, 2 H) 8,98 (s, 1 H, NH) MS *m/z* 821,6 (M⁺+H).

Ejemplo 5: Preparación del Compuesto 5

Compuesto 5

- 5 El Ejemplo 5 se preparó por el mismo procedimiento que se ha descrito para la preparación del Ejemplo 3, excepto que se usó 2-bromo-1-feniletanona en lugar de 2-bromo-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)etanona en la Etapa 12. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 0,98 - 1,03 (m, 1 H) 1,05 - 1,12 (m, 2 H) 1,26 - 1,38 (m, 4 H) 1,47 - 1,59 (m, 2 H) 1,72 (dd, J = 8,18, 5,67 Hz, 1 H) 1,81 (s, 1 H) 2,02 (s, 2 H) 2,36 (t, J = 8,94 Hz, 1 H) 2,55 (ddd, J = 13,85, 8,69, 4,66 Hz, 2 H) 2,63 - 2,71 (m, 1 H) 2,91 (tt, J = 7,93, 4,91 Hz, 1 H) 3,64 (s, 3 H) 3,89 (s, 3 H) 4,18 (dd, J = 11,58, 3,78 Hz, 1 H) 4,57 (s, 1 H) 4,69 - 4,76 (m, 2 H) 5,01 - 5,11 (m, 2 H) 5,66 - 5,74 (m, 1 H) 5,98 (s, 1 H) 6,63 (s, 1 H, NH) 7,01 (dd, J = 9,19, 2,39 Hz, 1 H) 7,16 (d, J = 2,52 Hz, 1 H) 7,19 - 7,26 (m, 4 H) 7,53 (dd, J = 7,93, 1,64 Hz, 2 H) 7,84 (d, J = 6,04 Hz, 2 H) 9,09 (s, 1 H, NH) MS *m/z* 785,6 (M⁺ + H).

Ejemplo 6: Preparación del Compuesto 6

Compuesto 6

- 15 El Ejemplo 6 se preparó por el mismo procedimiento que se ha descrito para la preparación del Ejemplo 3, excepto que se usó 1,7-dicloro-4-metoxi-isoquinolina (del Ejemplo 2 Esquema 1) en lugar de cloruro de isoquinolina en la Etapa 8. ¹H RMN (400 MHz, MCD₃OD) δ ppm 0,99 (ddd, J = 11,90, 8,25, 3,27 Hz, 1 H) 1,03 - 1,13 (m, 2 H) 1,24 1,36 (m, 2 H) 1,58 (dd, J = 9,44, 5,16 Hz, 4 H) 1,70 (dd, J = 8,18, 5,41 Hz, 2 H) 1,89 - 1,98 (m, 1 H) 2,02 (s, 1 H) 2,41 - 2,52 (m, 3 H) 2,64 (s, 1 H) 2,84 - 2,92 (m, 1 H) 3,31 - 3,34 (m, 2 H) 3,64 (s, 1 H) 3,92 (s, 3 H) 4,15 (dd, J = 11,33, 3,78 Hz, 1 H) 4,58 (t, J = 8,31 Hz, 1 H) 4,78 (dd, J = 10,95, 3,15 Hz, 2 H) 5,03 - 5,13 (m, 2 H) 5,68 (m, 1 H) 6,08 (s, 1 H) 6,68 (m, 2H) 6,75 (s, 1 H) 7,40 (s, 1 H, NH) 7,46 (s, 1 H) 7,52 (dd, J = 8,81, 2,27 Hz, 1 H) 7,56 - 7,62 (m, 2 H) 7,93 (d, J = 8,81 Hz, 1 H) 8,93 (s, 1 H, NH). MS *m/z* 903,3 (M⁺ + H).

Estudios biológicos

- 30 Se utilizaron ensayos enzimáticos de complejo de proteasas NS3/4A de VHC y ensayos de replicón de VHC basados en células en la presente divulgación, y se prepararon, realizaron y validaron como se indica a continuación:

Generación de complejo de proteasas NS3/4A de VHC recombinante

- 35 Se generaron complejos de proteasas NS3 de VHC, obtenidos de la cepa BMS, cepa H77 o cepa J4L6S, como se describe a continuación. Estas proteínas recombinantes purificadas se generaron para su uso en un ensayo homogéneo (véase a continuación) para proporcionar indicios de cómo de eficaces serían los compuestos de la presente divulgación en la inhibición de la actividad proteolítica de NS3 de VHC.

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

Las cepas H77 y J4L6S se usaron para la producción de complejos de proteasas NS3/4A recombinantes. Se manipuló ADN que codificaba el complejo de proteasas NS3/4A de VHC recombinante (aminoácidos 1027 a 1711) para estas cepas como se describe por P. Gallinari y col. (véase Gallinari P, Paolini C, Brennan D, Nardi C, Steinkuhler C, De Francesco R. Biochemistry 38 (17): 5620-32 (1999)). En resumen, se añadió una cola solubilizante de tres lisinas al extremo 3' de la región codificante de NS4A. La cisteína en la posición P1 del sitio de escisión
 20 NS4A-NS4B (aminoácido 1711) se cambió a una glicina para evitar la escisión proteolítica de la etiqueta de lisina. Además, se introdujo una mutación de cisteína a serina por PCR en la posición de aminoácido 1454 para evitar la escisión autolítica en el dominio helicasa de NS3. El fragmento de ADN variante se clonó en el vector de expresión bacteriana pET21b (Novagen) y el complejo de NS3/4A se expresó en Escherichia coli cepa BL21 (DE3) (Invitrogen) siguiendo el protocolo descrito por P. Gallinari y col. (véase Gallinari P, Brennan D, Nardi C, Brunetti M, Tomei L, Steinkuhler C, De Francesco R., J Virol. 72 (8): 6758-69 (1998)) con modificaciones. En resumen, la expresión del
 25 complejo de proteasas NS3/4A se indujo con isopropil 1- β -D-tiogalactopiranosido (IPTG) 0,5 milimolar (mM) durante 22 horas (h) a 20 °C. Una fermentación típica (1 litro (l)) produjo aproximadamente 10 gramos (g) de pasta celular húmeda. Las células se suspendieron de nuevo en tampón de lisis (10 ml/g) que consistía en N-(2-Hidroxietil)Piperazina-N'-(ácido 2-etanol sulfónico) (HEPES) 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, cloruro sódico (NaCl)
 30 500 mM, Triton X-100 al 0,5 %, lisozima 1 microgramo/mililitro ("µg/ml") , cloruro de magnesio (MgCl₂) 5 mM, ADNasal 1 µg/ml, β -mercaptoetanol (β ME) 5 mM, inhibidor de proteasas-ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) libre (Roche) , se homogeneizaron y se incubaron durante 20 minutos (min) a 4 °C. El homogeneizado se sometió a ultrasonidos y se aclaró por ultracentrifugación a 235000 g durante 1 hora (h) a 4 °C. Se añadió imidazol al sobrenadante a una concentración final de 15 mM y el pH se ajustó a 8,0. El extracto de proteína en bruto se cargó
 35 en una columna de níquel-ácido nitrilotriacético (Ni-NTA) preequilibrada con tampón B (HEPES 25 mM, pH 8,0, glicerol al 20 %, NaCl 500 mM, Triton X-100 al 0,5 %, imidazol 15 mM, β ME 5 mM). La muestra se cargó a un caudal de 1 ml/min. La columna se lavó con 15 volúmenes de columna de tampón C (igual que el tampón B excepto con Triton X-100 al 0,2 %). La proteína se eluyó con 5 volúmenes de columna de tampón D (igual que el tampón C excepto con Imidazol 200 mM).

Las fracciones que contenían complejo de proteasas NS3/4A se combinaron y se cargaron en una columna desalinizante Superdex-S200 preequilibrada con tampón D (HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, NaCl 300 mM, Triton X-100 al 0,2 %, β ME 10 mM). La muestra se cargó a un caudal de 1 ml/min. Las fracciones que contenían
 45 complejo de proteasas NS3/4A se combinaron y se concentraron hasta aproximadamente 0,5 mg/ml. Se juzgó que la pureza de los complejos de proteasas NS3/4A, obtenidos de las cepas BMS, H77 y J4L6S, era superior al 90 % por SDS-PAGE y análisis de espectrometría de masas. La enzima se almacenó a -80 °C, se descongeló en hielo y se diluyó antes del uso en tampón de ensayo.

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

El propósito de este ensayo *in vitro* era medir la inhibición de complejos de proteasa NS3 de VHC, obtenidos de la cepa BMS, cepa H77 o cepa J4L6S, como se ha descrito anteriormente, por compuestos de la presente divulgación. Este ensayo proporciona indicios que cómo serían de eficaces los compuestos de la presente divulgación en la
 50 inhibición de la actividad proteolítica de NS3 de VHC.

Para controlar la actividad de proteasas NS3/4A de VHC, se usó un sustrato peptídico de NS3/4A. El sustrato era RET S1 (sustrato de transferencia de energía de resonancia; AnaSpec, Inc. n.º cat. 22991) (péptido de FRET) , descrito por Taliani y col. en Anal. Biochem. 240 (2): 60-67 (1996). La secuencia de este péptido está ligeramente basada en el sitio de escisión natural NS4A/NS4B para la proteasa NS3 de VHC excepto por que hay un enlace éster en lugar de un enlace amida en el sitio de escisión. El péptido también contiene un donante de fluorescencia, EDANS, próximo a un extremo del péptido y un aceptor, DABCYL, próximo al otro extremo. La fluorescencia del péptido se inactiva por transferencia de energía de resonancia intermolecular (RET) entre el donante y el aceptor, pero a medida que la proteasa NS3 escinde el péptido, los productos se liberan de la inactivación por RET y la fluorescencia del donante se hace evidente.
 65

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

- 5 Los reactivos fueron los siguientes: Se obtuvieron HEPES y glicerol (Ultrapure) en GIBCO-BRL. Se obtuvo dimetilsulfóxido (DMSO) en Sigma. Se obtuvo β -mercaptoetanol en Bio Rad.

Tampón de ensayo: HEPES 50 mM, pH 7,5; NaCl 0,15 M; Triton al 0,1 %; Glicerol al 15 %; β ME 10 mM. Sustrato: Concentración final de 2 μ M (a partir de una solución madre 2 mM en DMSO almacenado a -20 °C). Proteasa NS3/4A de VHC tipo 1a (1b), concentración final 2-3 nM (a partir de una solución madre 5 μ M en HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20 %, NaCl 300 mM, Triton-X100 al 0,2 %, β ME 10 mM). Para compuestos con potencias que se aproximan al límite de ensayo, el ensayo se hizo más sensible por adición de albúmina de suero bovino 50 μ g/ml (Sigma) al tampón de ensayo y reducción de la concentración de proteasa final hasta 300 pM.

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

El porcentaje de inhibición se calculó con la ecuación siguiente:

$$25 \quad 100 - [(\delta F_{inh} / \delta F_{con}) \times 100]$$

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

Se descubrió que todos los compuestos ensayados inhiben la actividad del complejo de proteasas NS3/4A con CI_{50} de 7 nM o menos. Además, se descubrió que los compuestos de la presente divulgación, que se ensayaron frente a más de un tipo de complejo de NS3/4A, tienen propiedades inhibitorias similares aunque los compuestos demostraron uniformemente mayor potencia frente a las cepas 1b en comparación con las cepas 1a.

Ensayos de especificidad

Los ensayos de especificidad se realizaron para demostrar la selectividad *in vitro* de los compuestos de la presente divulgación en la inhibición del complejo de proteasas NS3/4A de VHC en comparación con otras serina o cisteína proteasas.

Las especificidades de compuestos de la presente divulgación se determinaron frente a diversas serina proteasas: elastasa de neutrófilos humanos (HNE), elastasa pancreática porcina (PPE) y quimotripsina pancreática humana, y una cisteína proteasa: catepsina B hepática humana. En todos los casos se usó un protocolo de formato de placa de 96 pocillos usando sustrato fluorométrico de Amino-Metil-Coumarina (AMC) específico para cada enzima como se ha descrito anteriormente (Solicitud de Patente PCT n.º WO 00/09543) con algunas modificaciones para los ensayos de serina proteasa. Todas las enzimas se adquirieron en Sigma, EMDbiosciences, mientras que los sustratos eran de Bachem, Sigma y EMDbiosciences.

Las concentraciones de compuesto variaban de 100 a 0,4 μ M dependiendo de su potencia. Cada ensayo enzimático se inició mediante la adición de sustrato al inhibidor enzimático preincubado durante 10 min a temperatura ambiente e hidrólisis hasta conversión del 15 % según se midió en cytofluor.

Las condiciones finales para cada ensayo fueron como se indica a continuación:

Clorhidrato tris(hidroximetil) aminometano 50 mM (Tris-HCl) pH 8, sulfato sódico 0,5 M (Na_2SO_4), NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, DMSO al 3 %, Tween-20 al 0,01 % con LLVY-AMC 5 μ M y Quimotripsina 1 nM.

60 Tris-HCl 50 mM, pH 8,0, NaCl 50 mM, EDTA 0,1 mM, DMSO al 3 %, Tween-20 al 0,02 %, succ-AAPV-AMC 5 μ M y HNE 20 nM o PPE 8 nM;

65 NaOAC 100 mM (acetato sódico) pH 5,5, DMSO al 3 %, TCEP al 1 mM (clorhidrato de Tris(2-carboxietil)fosfina), catepsina B 5 nM (solución madre enzimática activada en tampón que contiene TCEP 20 mM antes del uso), y Z-FR-AMC 2 μ M diluido en H_2O .

El porcentaje de inhibición se calculó usando la fórmula:

$$[1 - ((UV_{inh} - UV_{blanco}) / (UV_{ctl} - UV_{blanco}))] \times 100$$

- 5 Se aplicó un ajuste de curva no lineal a los datos de inhibición-concentración y se calculó el 50 % de la concentración eficaz (CI_{50}) mediante el uso del programa informático Excel XLfit.

Generación de replicón de VHC

- 10 Se estableció un sistema de células completas de replicón de VHC como se describe por Lohmann V, Komer F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R., *Science* 285 (5424): 110-3 (1999). Este sistema permitió a los presentes inventores evaluar los efectos de los compuestos de proteasa de VHC de los presentes inventores sobre la replicación de ARN de VHC. En resumen, usando la secuencia de la cepa 1b de VHC descrita en el artículo de Lohmann (Número de acceso: AJ238799), se sintetizó un ADNc de VHC por Operon Technologies, Inc. (Alameda, CA), y el replicón de longitud completa se ensambló después en el plásmido pGem9zf (+) (Promega, Madison, WI) usando técnicas de biología molecular convencionales. El replicón consiste en (i) la UTR 5' de VHC fusionada a los primeros 12 aminoácidos de la proteína de la cápside, (ii) el gen de la neomicina fosfotransferasa (neo), (iii) el IRES del virus de la encefalomiocarditis (EMCV), y (iv) los genes NS3 a NS5B de VHC y la UTR 3' de VHC. Los ADN plasmídicos se linealizaron con Scal y se sintetizaron transcritos de ARN *in vitro* usando el kit de transcripción T7 MegaScript (Ambion, Austin, TX) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las transcripciones *in vitro* del ADNc se transfectaron en la línea celular de hepatoma humano, HUH-7. La selección de células que expresaban de forma constitutiva el replicón de VHC se consiguió en presencia del marcador de selección, neomicina (G418). Las líneas celulares resultantes se caracterizaron por la producción de ARN de cadena positiva y negativa y la producción de proteína con el tiempo.

25

Ensayo de FRET de replicón de VHC

- El ensayo de FRET de replicón de VHC se desarrolló para controlar los efectos inhibitorios de los compuestos descritos en la divulgación sobre la replicación viral del VHC. Se cultivaron células HUH-7, que expresaban de forma constitutiva el replicón de VHC, en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Gibco-BRL) que contenía suero fetal de ternera al 10 % (FCS) (Sigma) y G418 1 mg/ml (Gibco-BRL). Las células se sembraron la noche anterior ($1,5 \times 10^4$ células/pocillo) en placas estériles de cultivo de tejido de 96 pocillos. Se prepararon controles con compuesto y sin compuesto en DMEM que contenía FCS al 4 %, penicilina/estreptomina 1:100 (Gibco-BRL), L-glutamina 1:100 y DMSO al 5 % en la placa de dilución (concentración final de DMSO al 0,5 % en el ensayo). Se añadieron mezclas de compuesto/DMSO a las células y se incubaron durante 4 días a 37 °C. Después de 4 días, las células se evaluaron primero para determinar la citotoxicidad usando Alamar Blue (Trek Diagnostic Systems) para una lectura de la CC_{50} . La toxicidad del compuesto (CC_{50}) se determinó por adición de 1/10 volumen de Alamar Blue a los medios de incubación de las células. Después de 4 h, se leyó la señal de fluorescencia de cada pocillo con una longitud de onda de excitación a 530 nm y una longitud de onda de emisión de 580 nm, usando el Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). Después, las placas se aclararon minuciosamente con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (3 veces 150 μ l). Las células se lisaron con 25 μ l de un reactivo de ensayo de lisis que contenía un sustrato de proteasa de VHC (reactivo de lisis de cultivo celular de luciferasa celular 5 x (Promega n.º E153A) diluido hasta 1 x con agua destilada, NaCl añadido a 150 mM final, el sustrato de péptido de FRET (como se ha descrito para el ensayo enzimático anterior) diluido hasta 10 μ M finales a partir de una solución madre 2 mM en DMSO al 100 %. Después, la placa se puso en el instrumento Cytofluor 4000 que se había ajustado a excitación a 340 nm/emisión a 490 nm, modo automático durante 21 ciclos, y la lectura de placas en un modo cinético. Las determinaciones de la CE_{50} se llevaron a cabo como se ha descrito para las determinaciones de la CI_{50} .

50

Ensayo de indicador de luciferasa de replicón de VHC

- Como un ensayo secundario, las determinaciones de la CE_{50} del ensayo de FRET de replicón se confirmaron en un ensayo de indicador de luciferasa de replicón. La utilización de un ensayo de indicador de luciferasa de replicón se describió por primera vez por Krieger y col (Krieger N, Lohmann V y Bartenschlager R, *J. Virol.* 75 (10): 4614-4624 (2001)). La construcción de replicón descrita para el ensayo de FRET de los presentes inventores se modificó por inserción de ADNc que codificaba una forma humanizada del gen de luciferasa de Renilla y una secuencia de engarce fusionada directamente al extremo 3' del gen de luciferasa. Esta inserción se introdujo en la construcción de replicón usando un sitio de restricción Ascl localizado en el núcleo, directamente cadena arriba del gen marcador de neomicina. También se introdujo la mutación adaptativa en la posición 1179 (serina a isoleucina) (Blight KJ, Kolykhalov, AA, Rice, CM, *Science* 290 (5498): 1972-1974). Se generó una línea celular estable que expresaba de forma constitutiva esta construcción de replicón de VHC como se ha descrito anteriormente. El ensayo de indicador de luciferasa se preparó como se ha descrito para el ensayo de FRET de replicón de VHC con las modificaciones siguientes. Después de 4 días en una incubadora a 37 °C/CO₂ al 5 %, las células se analizaron para determinar la actividad de luciferasa de Renilla usando el sistema de ensayo de luciferasa Dual-Glo de Promega. Se retiró medio (100 μ l) de cada pocillo que contenía células. A los 50 μ l de medio restantes se le añadieron 50 μ l de reactivo de luciferasa Dual-Glo, y las placas se sometieron a balanceo durante de 10 min a 2 h a temperatura ambiente.

65

Después se añadió reactivo Dual-Glo Stop & Glo (50 µl) a cada pocillo, y las placas se sometieron a balanceo de nuevo durante de 10 min a 2 h adicionales a temperatura ambiente. Las placas se leyeron en un Packard TopCount NXT usando un programa de luminiscencia.

5 El porcentaje de inhibición se calculó usando la fórmula a continuación:

$$\% \text{ de control} = \frac{\text{promedio de señal de luciferasa en pocillos experimentales (+ compuesto)}}{\text{promedio de señal de luciferasa en pocillos de control con DMSO (- compuesto)}}$$

10 Los valores se representaron gráficamente y se analizaron usando XLfit para obtener el valor CE₅₀.

15 Los compuestos representativos de la divulgación se evaluaron en los ensayos enzimáticos de VHC, el ensayo celular de replicación de VHC y/o en varios de los ensayos de especificidad resumidos. Por ejemplo, se descubrió que el Compuesto 1 tenía una CI₅₀ de 8,7 nanomolar (nM) frente a la cepa BMS de NS3/4A en el ensayo enzimático. Se obtuvieron valores de potencia similares con las cepas H77 (CI₅₀ de 1,9 nM) y J4L6S (CI₅₀ de 1,2 nM) publicadas. El valor de CE₅₀ en el ensayo de FRET de replicación era de 21 nM.

20 En los ensayos de especificidad, se descubrió que el mismo compuesto tenía la siguiente actividad: HLE = 1,5 µM; PPE > 25 µM; quimotripsina = 25 µM; catepsina B > 25 µM. Estos resultados indican que esta familia de compuestos es altamente específica para la proteasa NS3 y muchos de estos miembros inhiben la replicación del replicón de VHC.

Los compuestos de la divulgación actual se ensayaron y se descubrió que tenían las actividades que se indican a continuación:

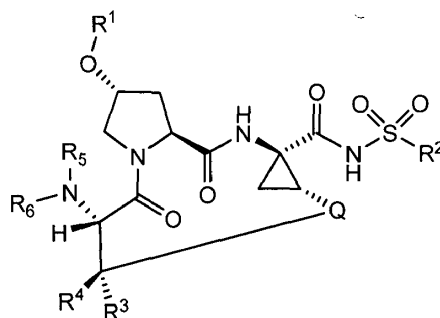
Tabla 2

Compuesto Número	IC ₅₀	EC ₅₀
1	7	20,5
2	6	9,1
3	5	6,2
4	11	13,8
5	3	8,1
6	2	8,7

25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I),

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

10

Q es una cadena C₃₋₉ saturada o insaturada que contiene opcionalmente de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre O, S(O)_m, y NR⁸; en donde m es 0, 1 o 2, y R⁸ se selecciona entre hidrógeno, alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterociclilcarbonilo;

15

R¹ es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R⁷;

R² se selecciona entre alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y -NR^aR^b, en donde el alquilo, el cicloalquilo y la parte cicloalquilo del (cicloalquil)alquilo están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre alquenilo, alcoxi, alcoxialquilo, alquilo, arilalquilo, arilcarbonilo, ciano, cicloalquenilo, (cicloalquil)alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y (NR^eR^f)carbonilo;

20

R³ y R⁴ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxialquilo, alquilo, haloalcoxialquilo y haloalquilo;

20

R⁵ se selecciona entre hidrógeno, alquilo y haloalquilo;

R⁶ se selecciona entre fenilo y un anillo parcial o completamente insaturado de cinco o seis miembros que contiene opcionalmente uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre; en donde cada uno de los anillos está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfanilo, carboxi, ciano, cicloalquilo, cicloalquiloxi, halo, haloalquilo, haloalcoxi, -NR^cR^d, (NR^eR^f)carbonilo, (NR^eR^f)sulfonilo y oxo; con la condición de que cuando R⁶ sea un anillo sustituido de seis miembros todos los sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida;

25

cada R⁷ se selecciona independientemente entre alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilo, carboxi, ciano, cianoalquilo, cicloalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heterociclilo, hidroxilquilo, hidroxi, hidroxi, nitro, -NR^cR^d, (NR^eR^f)alquilo, (NR^eR^f)alcoxi, (NR^eR^f)carbonilo y (NR^eR^f)sulfonilo; o

30

dos grupos R⁷ adyacentes, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo parcial o completamente insaturado de cuatro a siete miembros que contiene opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi y haloalquilo;

35

R^a y R^b se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo; o R^a y R^b junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cuatro a siete miembros;

40

R^c y R^d se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxialquilo, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo y haloalquilo;

40

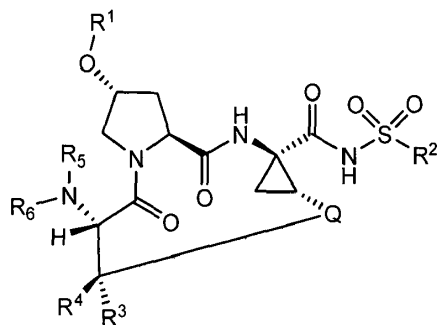
R^e y R^f se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; en donde el arilo, la parte arilo del arilalquilo y el heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo y halo; y

45

R^g y R^h se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilo; o R^g y R^h junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico en donde el anillo heterocíclico monocíclico está opcionalmente condensado a un anillo fenilo para formar un sistema bicíclico; en donde el anillo heterocíclico monocíclico y el sistema bicíclico están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo.

50

2. Un compuesto de fórmula (I)



(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

- 5 Q es una cadena C₃₋₉ saturada o insaturada que contiene opcionalmente de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente entre O, S(O)_m y NR^g; en donde m es 0, 1 o 2, y R^g se selecciona entre hidrógeno, alcoxi, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterociclilcarbonilo;
- 10 R¹ es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R⁷;
- R² se selecciona entre alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y -NR^aR^b, en donde el alquilo, el cicloalquilo y la parte cicloalquilo del (cicloalquil)alquilo están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre alquenilo, alcoxi, alcocalquilo, alquilo, arilalquilo, arilcarbonilo, ciano, cicloalquenilo, (cicloalquil)alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y (NR^eR^f)carbonilo;
- 15 R³ y R⁴ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcocalquilo, alquilo, haloalcoxi, haloalquilo y haloalquilo;
- R⁵ se selecciona entre hidrógeno, alquilo y haloalquilo;
- R⁶ se selecciona entre fenilo y un anillo parcial o completamente insaturado de cinco o seis miembros que contiene opcionalmente uno, dos, tres o cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre; en donde cada uno de los anillos está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre arilo; con la condición de que cuando R⁶ sea un anillo sustituido de seis miembros todos los sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida;
- 20 cada R⁷ se selecciona independientemente entre alcoxi, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilo, carboxi, ciano, cianoalquilo, cicloalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heterociclilo, hidroxí, hidroxialquilo, nitro, -NR^cR^d, (NR^cR^d)alquilo, (NR^cR^d)alcoxi, (NR^eR^f)carbonilo y (NR^eR^f)sulfonilo; o
- 25 dos grupos R⁷ adyacentes, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo parcial o completamente insaturado de cuatro a siete miembros que contiene opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi y haloalquilo;
- 30 R^a y R^b se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo; o R^a y R^b junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cuatro a siete miembros;
- 35 R^c y R^d se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alcocalquilo, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo y haloalquilo;
- R^e y R^f se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; en donde el arilo, la parte arilo del arilalquilo y el heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo y halo; y
- 40 R^g y R^h se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilo; o R^g y R^h junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico en donde el anillo heterocíclico monocíclico está opcionalmente condensado a un anillo fenilo para formar un sistema bicíclico; en donde el anillo heterocíclico monocíclico y el sistema bicíclico están opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alcoxi, alquilo, halo, haloalcoxi y haloalquilo.

45 3. Un compuesto de las reivindicaciones 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R² se selecciona entre alquilo y cicloalquilo, en donde el cicloalquilo está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre alquenilo, alcoxi, alquilo y halo.

50 4. Un compuesto de las reivindicaciones 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R³ y R⁴ son cada uno hidrógeno y Q es una cadena C₆ insaturada que contiene cero heteroátomos.

5. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Q es una cadena C₆ insaturada que contiene cero heteroátomos;

R¹ es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R⁷;

5 R² se selecciona entre alquilo y cicloalquilo, en donde el cicloalquilo está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre alquenoilo, alcoxi, alquilo y halo;

R³ y R⁴ son cada uno hidrógeno; y

10 R⁶ es un anillo completamente insaturado de seis miembros que contiene un átomo de nitrógeno en donde el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfanilo, carboxi, ciano, cicloalquilo, cicloalquiloxi, halo, haloalquilo, haloalcoxi, -NR^cR^d, (NR^eR^f)carbonilo, (NR^eR^f)sulfonilo y oxo; con la condición de que todos los sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida.

15 6. Un compuesto de la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Q es una cadena C₆ insaturada que contiene cero heteroátomos;

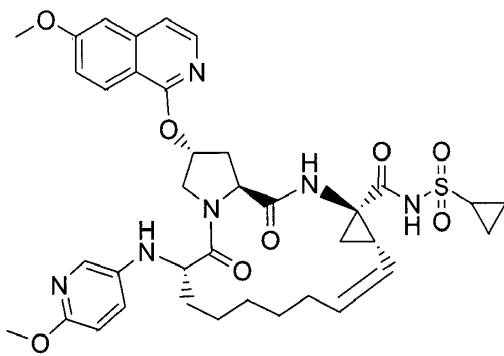
R¹ es isoquinolinilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R⁷;

R² se selecciona entre alquilo y cicloalquilo, en donde el cicloalquilo está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre alquenoilo, alcoxi, alquilo y halo;

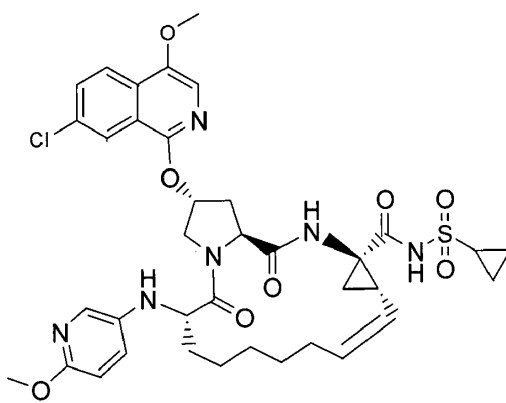
R³ y R⁴ son cada uno hidrógeno; y

20 R⁶ es un anillo completamente insaturado de seis miembros que contiene un átomo de nitrógeno en donde el anillo está opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes independientemente seleccionados entre arilo; con la condición de que todos los sustituyentes en el anillo distintos de flúor deban estar en las posiciones meta y/o para con respecto al punto de unión del anillo al resto molecular de partida.

25 7. Un compuesto de la reivindicación 1 seleccionado entre



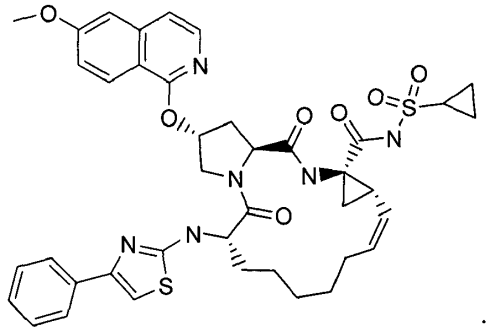
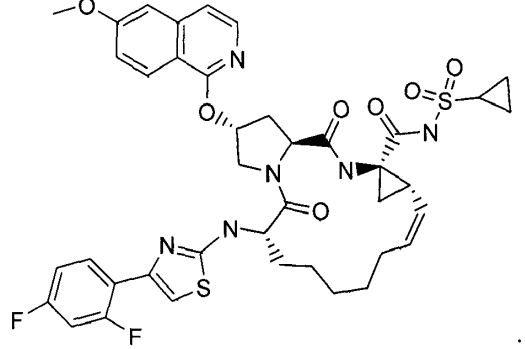
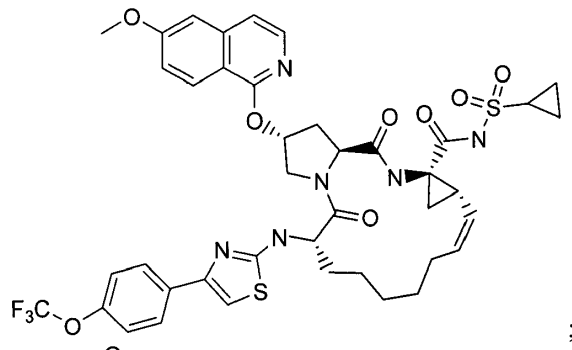
y



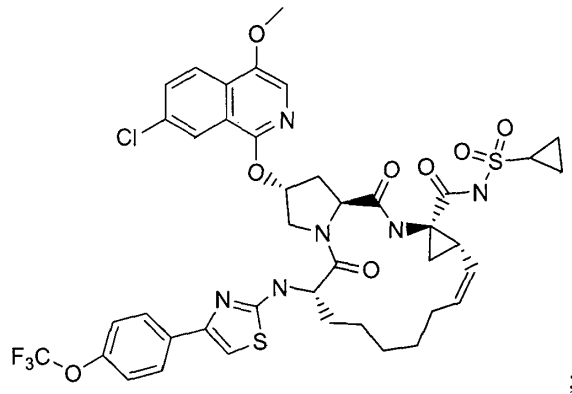
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

8. Un compuesto de la reivindicación 2 seleccionado entre



y



5

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10

9. Una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10. La composición de la reivindicación 9 que comprende adicionalmente al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC.

15

11. La composición de la reivindicación 10, en la que al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina.

12. La composición de la reivindicación 11, en la que el interferón se selecciona entre interferón alfa 2B, interferón

alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide.

13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una infección por VHC.

5

14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende adicionalmente administrar al menos un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC antes de, después de o simultáneamente con el compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

15. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina.

15

16. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el interferón se selecciona entre interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón tau linfoblastoide.