Q.F.

Libertad y Orden

REPÚBLICA DE COLOMBIA

DIVISIÓN DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

PCT

PATENTE DE INVENCIÓN

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

06-56306

TITULO: NUEVOS INHIBIDORES DE LA NS3/NS4A SERINA PROTEASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C.

SOLICITANTE: SCHERING CORPORATION

A 61K 31/401 ; C07D 209/52

11-07-2006

DIRECCIÓN: 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 E.U.A.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ, Junio 8 de 2006

S. S.

P2006/000104

OLARTE RAISBECK 06/104

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-056306- 00000-0000
Fec: 2006-06-09 18:44:11 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEIYII
Eve: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 315

FORMULARIO ÚNICO DE SC
PCT
ENTRADA EN FAS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 06-056306- -00000-0000
Fecha: 2006-06-09 18:44:11 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 315

SOLICIT

(1)

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[ ] Capítulo I. [X] Capítulo II.

(2) **SOLICITANTE (71)**

Nombre: SCHERING CORPORATION

Dirección: 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 E.U.A.
Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE
Lugar de Constitución: Kenilworth E.U.A.

Teléfono: _____ Fax: _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN
C.C. [ ] NIT [ ]
C.E. [ ] Otro [ ]
Cual _____
Número _____

(3) **REPRESENTANTE O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A, Calle 100 Nº 8A-37 Piso 10
Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799
E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN
C.C. [X] NIT [ ]
C.E. [ ] Otro [ ]
Cual _____
Número 79.782.747 Btá
TP 74.295

(4) **INVENTOR (ES) (72)**

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

(5) **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/041579 Fecha Diciembre 9, 2004

Publicación Internacional No. WO 2005/058821 Fecha Junio 30, 2005

(6) **Título (54)** **NUEVOS INHIBIDORES DE LA NS3/NS4A SERINA PROTEASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C**

(7) **Clasificación Internacional (51): C07D 209/52, 403/12, 409/12, 401/12, 417/12, C07K 5/107, A61K 31/401**

(8) **Prioridad**
SI [X] **NO** [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Diciembre 11, 2003	60/528,845

(9) **Comprobante de pago No.** 06-42,972 **Fecha:** Junio 7, 2006

(10) **ANEX S**

- [X] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [ ] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [X] Poderes, si fuere el caso.
- [X] Documento de cesión del interventor al solicitante o a su causante.
- [ ] Declaraciones.
- [X] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [X] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [X] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- [X] Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [X] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [X] Otros. Búsqueda Internacional

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

3

LISTA DE INVENTORES PCT/US2004/041579

FRANCISCO VELAZQUEZ
4 Alexandra Way, Clinton
New Jersey 08809,
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Mexicana

SRIKANTH VENKATRAMAN
35 Roanoke Street, Woodbridge,
New Jersey 07095,
Estados Unidos de América
Nacionalidad: India

ASHOK ARASAPPAN
18 Larsen Court, Bridgewater,
New Jersey 08807,
Estados Unidos de América
Nacionalidad: India

GEORGE F. NJOROGE
11 Softwood Way, Warren,
New Jersey 07059,
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-056306- -00000-0000
Fec: 2006-06-09 18:44:11 Dep: 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEIYII
Eve: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION
Folios: 315

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 06-056306- -00000-0000

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Fecha: 2006-06-09 18:44:11 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 315

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 42,972
FECHA : JUNIO 7 DE 2006

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBECK	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	52332395	06/06/2006	4,837,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50003-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
		TOTAL : $	463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

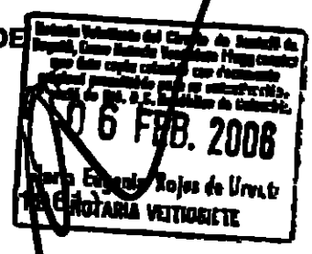
5

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE

SCHERING CORPORATION

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)



1. País: Estados Unidos de América
   - Este documento Público
2. ha sido firmado por Marguerite La Corte
3. Quien ejerce funciones de Notario público de Nueva Jersey
4. Lleva el sello de Marguertie La Corte Notario

CERTIFICADO

5. En Trenton, Nueva Jersey
6. El 29 de agosto 2003
7. Por John E. McCormac Contador Publico- Tesorero de Nueva Jersey 8. No. A 180345
9. Gran Sello del Estado de Nueva Jersey
10. Firma legible de John M.

PODER DE REPRESENTACIÓN

Bilingüe inglés- español otorgado en Kenilworth, Nueva Jersey, Estados Unidos, el 7 de agosto de 2003 y firmado por Edward H. Mazer - Director Juridico senior.

CERTIFICADO NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, fechado el 7 de agosto, 2003 certificando las funciones de Edward H. Mazer - Director Juridico senior, de Schering Corporation.

Las certificaciones anteriores se basan en el Poder de representación fechado el 4 noviembre de 2002.

Sello: Marguerite La Corte- Notario público,
Estado de Nueva Jersey
Su comisión vence el 7 de octubre de 2003.
Sello en alto relieve del Notario Público

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo, para confrontación. Bogotá 5 septiembre, 2003.

MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No 2117 del 7 Oct 1987

APOSTILLE

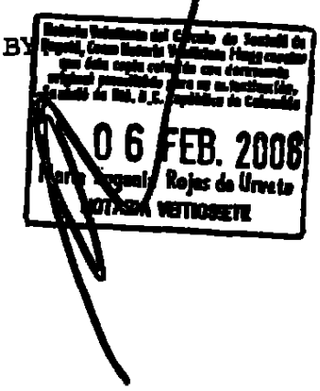
(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA

2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY MARGUERITE LA CORTE

3. ACTING IN THE CAPACITY OF: NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY

4. BEARS THE SEAL/STAMP OF: MARGUERITE LA CORTE, NOTARY



CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY

6. THE 29TH DAY OF AUGUST 2003

7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER

8. NO. A180345

9. SEAL/STAMP:



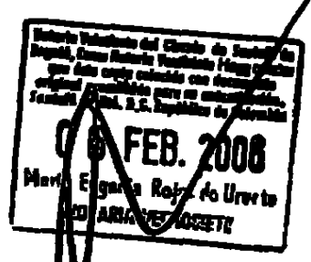
10. SIGNATURE

OLARTERAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER – TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 Piso 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-8200
Fax: +57-1 638-8201

www.olarteraisbeck.com



Power of Attorney

The undersigned,
SCHERING CORPORATION

domiciled in
2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey 07033-0532, U.S.A.

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

domiciliado en
2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey 07033-0532, U.S.A.

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma: _____
Edward H. Hafer, Senior Legal Director

Date/Fecha: August 7, 2003

City,Country/Ciudad,Pais: Kenilworth, New Jersey, U.S.A.

OLARTERAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER – TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-8200
FAX: +57-1 638-8201

www.olarteraisbeck.com

8

Notarial Certification

On this date, August 7, 2003

The undersigned Notary Public certifies:

1. That Edward H. Mazer

of legal age and domiciled in 119 Greenwood Drive, Millburn, New Jersey 07041, U.S.A. signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Senior Legal Director of SCHERING CORPORATION

3. That SCHERING CORPORATION having its principal place of business located in 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey 07033-0530, U.SA.. is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the Power of Attorney and that his/her representation is legal.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):

Power of Attorney, dated November 4, 2002.

Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que

mayor de edad y domiciliado

suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

de

4. Que

con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

06 FEB. 2008

NOTARY PUBLIC (Signature):

Marguerite LaCorte

Marguerite La Corte
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires October 7, 2003

9

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. **País: Estados Unidos de América**
2. **El presente documento público fue firmado por: Alana Fredericks**
3. **Que actuó en su calidad de Notario Público de Nueva Jersey**
4. **Lleva el sello del mencionado Notario Público Alana Fredericks**

Se certificó:

5. **En Trenton, Nueva Jersey**
6. **El 17 de mayo de 2006**
7. **Por parte de Bradley I. Abelow, Tesorero New Jersey**
8. **Bajo el Número A259975**
9. **Aparece Sello del Estado de Nueva Jersey**
10. **Firmado por Bradley I. Abelow**

10

RECONOCIMIENTO

Estado de Nueva Jersey

Condado de Unión

Por el presente certifico que anexa se encuentra una copia fiel de la cesión original a **SCHERING CORPORATION,** de una solicitud de patente titulada **"NUEVOS INHIBIDORES DE LA NS3/NS4A SERINA PROTEASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C"**, dicho documento de cesión ha sido ejecutado por Francisco Velásquez, Srikanth Venkatraman y George Njoroge el 30 de noviembre de 2004, y Ashok Arasappan el 1 de diciembre de 2004.

Fecha: 9 de mayo de 2006.

(Fdo.) Alana Fredericks
Notario Público de Nueva Jersey, cuyo cargo vence el 16 de Mayo de 2010 (Sello Oficial del Notario).

Caso de Patentes No.: IN06139US01

CESIÓN

Por buena y onerosa consideración pagada a favor nuestro,

(1) FRANCISCO VELÁSQUEZ, (2) SRIKANTH VENKATRAMAN
(3) ASHOK ARASAPPAN, (4) F. GEORGE NJOROGE,

cada uno domiciliado, de manera respectiva, en:

(1) Clinton, NJ, (2) Woodbridge, NJ,
(3) Bridgewater, NJ, (4) Warren, NJ.

por **SCHERING- CORPORATION**, una compañía constituida bajo las leyes del Estado de Nueva Jersey, Estados Unidos de América, con domicilio principal en 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey 07033, Estados Unidos de América, (de aquí adelante conocido como "CESIONARIO", por la presente cada uno de nosotros vendemos, cedemos y transferimos a dicho CESIONARIO la totalidad de nuestro derecho, título e interés en todos los países del mundo y todos nuestros inventos y descubrimientos descritos en la solicitud de patente titulada **"NUEVOS INHIBIDORES DE LA NS3/NS4A SERINA PROTEASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C"** y oficialmente identificada por la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos con el número de solicitud No. 11/007,910 presentada el 9 de Diciembre de 2004, y/o por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual con el Número de Solicitud de Patente Internacional US04/41579 presentada el 9 de Diciembre de 2004, con derecho de presentar solicitudes de patente a nombre del CESIONARIO, su designado o cualquiera o todos nuestros nombres, a su elección, con respecto a las anteriores invenciones y descubrimientos en todos los países del mundo, junto con todos los derechos de prioridad en los anteriores países que deriven de la anterior solicitud de patente bajo la Convención Internacional para la Protección de la Propiedad Industrial, bajo la Convención Inter-americana con relación a Invenciones, Patentes, Diseños y Modelos Industriales y bajo cualquier otro convenio internacional bajo el cual los Estados Unidos ahora o en adelante se convierta en signatario, para cualquier o todas las Patentes que se otorgaran con respecto a cualquiera de las anteriores solicitudes de patente, para cualquier solicitud reivindicando beneficios de prioridad sobre una solicitud de patente provisional u otras solicitudes presentadas sobre dichos inventos, y para cualquier continuación, división, re-otorgamiento, renovación y extensión de la misma de cualesquiera de dichas Patentes, el mismo que debe ser poseído y usufructuado por dicho CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios, u otros representantes legales, en todo su alcance por lo que implica el otorgamiento de una patente, de manera tan entera como si hubiera sido poseída y usufructuada por nosotros si esta cesión y venta no se hubiera cristalizado.

Y por medio de la presente nosotros convenimos y acordamos que en cualquier momento, al requerirse y a expensas del CESIONARIO, ejecutaremos y entregaremos

cualquier y todos los documentos necesarios o deseables para perfeccionar el título de los anteriores inventos o descubrimientos, solicitudes de patente, Patentes y continuaciones, divisiones, re-otorgamientos, renovaciones, y extensiones del mismo a nombre del CESIONARIO, sus cesionarios, sucesores, u otros representantes legales, incluyendo la ejecución y consecución de cualquier y todo documento adicional que evidencie esta cesión y venta según sea necesario o deseable para el registro del mismo ante la Oficina de Patentes de cualquier país en cuestión, y que nosotros, en cualquier momento, al requerirse y a expensas del CESIONARIO, ejecutaremos cualquier solicitud divisional o adicional para patentes de dichos inventos y descubrimientos, o cualquier parte o partes del mismo, y solicitudes de patentes de confirmación, registro e importación con base en dicha Patente y sobre Patentes que salgan otorgadas a partir de dichas solicitudes divisionales y adicionales y renovaciones y extensiones del mismo, y realizaremos las necesarias declaraciones juramentadas y realizaremos todos los actos jurídicos necesarios para ello, sin compensación adicional, pero a expensas del CESIONARIO, sus sucesores, cesionarios, u otros representantes legales.

Por medio de la presente autorizamos al CESIONARIO adicionar a este instrumento el número de solicitud y la fecha de presentación de dicha solicitud de patentes.

Ejecutado el 30 de noviembre de 2004
FRANCISCO VELAZQUEZ, (firma ilegible) L.S.

RECONOCIMIENTO
Estado de Nueva Jersey)
Condado de Unión) s.s.:

Compareció ante mi el 30 de noviembre de 2004, Francisco Velazquez, personaje conocido y el cual ejecutó el anterior instrumento, y el cual afirmó que ejecutó el mismo, por voluntad propia, por lo motivos expuestos en el mismo.
(sello)

(firmado: Ashly M. Armstrong)
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi comisión vence el 26 de marzo de 2008

Ejecutado el 30 de noviembre de 2004
SRIKANTH VENKATRAMAN, (firma ilegible) L.S.

RECONOCIMIENTO
Estado de Nueva Jersey)
Condado de Unión) s.s.:

Compareció ante mi el 30 de noviembre de 2004, Srikanth Venkatraman, personaje conocido y el cual ejecutó el anterior instrumento, y el cual afirmó que ejecutó el mismo, por voluntad propia, por lo motivos expuestos en el mismo.
(sello)

(firmado: Ashly M. Armstrong)
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi comisión vence el 26 de marzo de 2008

13

Ejecutado el 1 de Diciembre de 2004
ASHOK ARASAPPAN, (firma ilegible) L.S.

RECONOCIMIENTO
Estado de Nueva Jersey)
Condado de Unión) s.s.:

Compareció ante mi el 1 de Diciembre de 2004, Ashok Arasappan, personaje conocido y el cual ejecutó el anterior instrumento, y el cual afirmó que ejecutó el mismo, por voluntad propia, por lo motivos expuestos en el mismo.
(sello)

(firmado: Ashly M. Armstrong)
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi comisión vence el 26 de marzo de 2008

Ejecutado el 30 de noviembre de 2004
F. GEORGE NJOROGE, (firma ilegible) L.S.

RECONOCIMIENTO
Estado de Nueva Jersey)
Condado de Unión) s.s.:

Compareció ante mi el 30 de noviembre de 2004, F. George Njoroge, personaje conocido y el cual ejecutó el anterior instrumento, y el cual afirmó que ejecutó el mismo, por voluntad propia, por lo motivos expuestos en el mismo.
(sello)

(firmado: Ashly M. Armstrong)
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi comisión vence el 26 de marzo de 2008

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA

2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
ALANA FREDERICKS

3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY

4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
ALANA FREDERICKS, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY

6. THE 17TH DAY OF MAY 2006

7. BY: Bradley I. Abelow, NEW JERSEY TREASURER

8. NO. A259975

9. SEAL/STAMP:



10. SIGNATURE

Bradley Abelow

15

Case IN06139

ACKNOWLEDGMENT

State of New Jersey }
}
County of Union }

I hereby certify that the attached is a true copy of the original Assignment from the inventors to **SCHERING CORPORATION**, of a patent application entitled, **"NOVEL INHIBITORS OF HEPATITIS C VIRUS NS3/NS4A SERINE PROTEASE"**, said Assignment having been executed by Francisco Velazquez, Srikanth Venkatraman, and F. George Njoroge on November 30, 2004, and Ashok Arasappan on December 1, 2004.

Date: May 9, 2006

Alana Fredericks
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires May 16, 2010

(Seal)

16

(Joint)

PATENT CASE: IN06139US01

ASSIGNMENT

For good and valuable consideration paid to us,

(1) FRANCISCO VELAZQUEZ, (2) SRIKANTH VENKATRAMAN,
(3) ASHOK ARASAPPAN, (4) F. GEORGE NJOROGE,

respectively residing at

(1) Clinton, NJ, (2) Woodbridge, NJ,
(3) Bridgewater, NJ, (4) Warren, NJ,

by **SCHERING CORPORATION**, a corporation organized under the laws of the State of New Jersey, United States of America, having its principal office at 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey 07033 , United States of America, (hereinafter called "**ASSIGNEE**"), we each do hereby sell, assign and transfer to said **ASSIGNEE** our entire rights, title and interest in all countries of the world in and to any and all of our inventions and discoveries described in the patent application entitled

NOVEL INHIBITORS OF HEPATITIS C VIRUS NS3/NS4A SERINE PROTEASE

and officially identified* by the United States Patent and Trademark Office as Application Number 11/007,910 filed on December 9, 2004, and/or by the World Intellectual Property Organization as International Patent Application Number US04/41579 filed on December 9, 2004, in and to the right to file patent applications in the name of **ASSIGNEE**, its designee, or in any or all of our names, at its election, on the aforesaid inventions and discoveries in all countries of the world, together with all rights of priority in the aforesaid countries deriving from the above-identified patent application under the International Convention for the Protection of Industrial Property, under the Inter-American Convention relating to Inventions, Patents, Designs and Industrial Models and under any other International arrangement to which the United States now is or hereafter becomes a signatory, in and to any and all Letters Patent that are granted from any of the aforesaid patent applications, in and to any applications claiming priority benefits to a provisional patent application or other applications filed on said inventions, and in and to any continuations, divisions, reissues, renewals and extensions thereof of any of said Letters Patent, the same to be held and enjoyed by said **ASSIGNEE**, its successors, assigns and other legal representatives, to the full ends of the terms for which all Letters Patent therefor may be granted, as fully and entirely as the same would have been held and enjoyed by us if this assignment and sale had not been made.

And we hereby covenant and agree that we will at any time, upon the request and at the expense of **ASSIGNEE**, execute and deliver any and all documents that may be necessary or desirable to perfect the title to the foregoing inventions and discoveries, patent applications, and Letters Patent and continuations, divisions, reissues, renewals and extensions thereof in **ASSIGNEE**, its successors, assigns or other legal representatives, including the execution and procurement of any and all further documents evidencing this assignment and sale as may be necessary or desirable for recording the same in the Patent Office of any country concerned, and that we will, at any time, upon the request and at the expense of **ASSIGNEE**, execute any additional or

17

divisional applications for patents for said inventions and discoveries, or any part or parts thereof, and applications for patents of confirmation, registration and importation based on said Letters Patent and on Letters Patent issuing from said additional or divisional applications and reissues, renewals and extensions therefor, and will make all rightful oaths and declarations and do all lawful acts requisite for procuring the same or for aiding therein, without further compensation, but at the expense of **ASSIGNEE**, its successors, assigns or other legal representatives.

"We hereby authorize **ASSIGNEE** to insert in this instrument the Application Number and the filing date of said application for Letters Patent when officially notified thereof.

Executed this 30 day of November, 20 04.

Velazquez L.S.

FRANCISCO VELAZQUEZ

ACKNOWLEDGEMENT

State of New Jersey)
) s.s.:
County of Union)

On this 30th day of November, 20 04, personally appeared before me Francisco Velazquez to me known, and known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he (she) executed the same, of his (her) own free will for the purpose set forth.

(Seal)

Ashly M. Armstrong
Notary Public

ASHLY M. ARMSTRONG
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 3/26/2008

ASHLY M. ARMSTRONG
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 3/26/2008

18

Executed this 30 day of May, 2004.

_____ L.S.

SRIKANTH VENKATRAMAN

ACKNOWLEDGEMENT

State of New Jersey)
) s.s.:
County of Union)

On this 30th day of November, 2004, personally appeared before me Srikanth Venkatraman to me known, and known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he (she) executed the same, of his (her) own free will for the purpose set forth.

(Seal)

_____
Notary Public

ASHLY M. ARMSTRONG
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 3/26/2008

Executed this 1st day of Dec, 2004.

_____ L.S.

ASHOK ARASAPPAN

ACKNOWLEDGEMENT

State of New Jersey)
) s.s.:
County of Union)

On this 1st day of December, 2004, personally appeared before me Ashok Arasappan to me known, and known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he (she) executed the same, of his (her) own free will for the purpose set forth.

(Seal)

_____
Notary Public

ASHLY M. ARMSTRONG
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 3/26/2008

Executed this 30th day of November, 2004.

George Njoroge L.S.

F. GEORGE NJOROGE

ACKNOWLEDGEMENT

State of New Jersey)
) s.s.:
County of Union)

On this 30th day of November, 2004, personally appeared before me F. George Njoroge to me known, and known by me to be the same person described in and who executed the foregoing instrument, and acknowledged that he (she) executed the same, of his (her) own free will for the purpose set forth.

(Seal)

Ashly M. Armstrong
Notary Public

ASHLY M. ARMSTRONG
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 3/26/2006

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
30 June 2005 (30.06.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/058821 A1

(51) International Patent Classification⁷: C07D 209/52, 403/12, 409/12, 401/12, 417/12, C07K 5/107, A61K 31/401

(21) International Application Number: PCT/US2004/041579

(22) International Filing Date: 9 December 2004 (09.12.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/528,845 11 December 2003 (11.12.2003) US

(71) Applicants (*for all designated States except US*): SCHERING CORPORATION [US/US]; 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US). ARASAPPAN, Ashok [IN/US]; 18 Larsen Court, Bridgewater, NJ 08807 (US).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (*for US only*): VELAZQUEZ, Francisco [MX/US]; 4 Alexandra Way, Clinton, New Jersey 08809 (US). VENKATRAMAN, Srikanth [IN/US]; 35 Roanoke Street, Woodbridge, NJ 07095 (US). NJOROGE, F., George [US/US]; 11 Softwood Way, Warren, NJ 07059 (US).

(74) Agent: KALYANARAMAN, Palaiyur, S.; Schering-Plough Corporation, 2000 Galloping Hill Road, Mail Stop K-6-1 1990, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).

(81) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of national protection available*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:
— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)*
— *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations*

Published:
— *with international search report*
— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2005/058821 A1

(54) Title: INHIBITORS OF HEPATITIS C VIRUS NS3/NS4A SERINE PROTEASE

(57) Abstract: The present invention discloses novel compounds which have HCV protease inhibitory activity as well as methods for preparing such compounds. In another embodiment, the invention discloses pharmaceutical compositions comprising such compounds as well as methods of using them to treat disorders associated with the HCV protease.

21

INHIBITORS OF HEPATITIS C VIRUS NS3/ NS4A SERINE PROTEASE

Field of the Invention

The present invention relates to novel hepatitis C virus ("HCV") protease inhibitors, pharmaceutical compositions containing one or more such inhibitors, methods of preparing such inhibitors and methods of using such inhibitors to treat hepatitis C and related disorders. This invention additionally discloses novel macrocyclic compounds as inhibitors of the HCV NS3/NS4a serine protease. This application claims priority from U.S. provisional patent application, Serial Number 60/528845 filed December 11, 2003.

Background of the Invention

Hepatitis C virus (HCV) is a (+)-sense single-stranded RNA virus that has been implicated as the major causative agent in non-A, non-B hepatitis (NANBH), particularly in blood-associated NANBH (BB-NANBH) (see, International Patent Application Publication No. WO 89/04669 and European Patent Application Publication No. EP 381 216). NANBH is to be distinguished from other types of viral-induced liver disease, such as hepatitis A virus (HAV), hepatitis B virus (HBV), delta hepatitis virus (HDV), cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV), as well as from other forms of liver disease such as alcoholism and primary biliar cirrhosis.

Recently, an HCV protease necessary for polypeptide processing and viral replication has been identified, cloned and expressed; (see, e.g., U.S. Patent No. 5,712,145). This approximately 3000 amino acid polyprotein contains, from the amino terminus to the carboxy terminus, a nucleocapsid protein (C), envelope proteins (E1 and E2) and several non-structural proteins

(NS1, 2, 3, 4a, 5a and 5b). NS3 is an approximately 68 kda protein, encoded by approximately 1893 nucleotides of the HCV genome, and has two distinct domains: (a) a serine protease domain consisting of approximately 200 of the N-terminal amino acids; and (b) an RNA-dependent ATPase domain at the C-terminus of the protein. The NS3 protease is considered a member of the chymotrypsin family because of similarities in protein sequence, overall three-dimensional structure and mechanism of catalysis. Other chymotrypsin-like enzymes are elastase, factor Xa, thrombin, trypsin, plasmin, urokinase, tPA and PSA. The HCV NS3 serine protease is responsible for proteolysis of the polypeptide (polyprotein) at the NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a and NS5a/NS5b junctions and is thus responsible for generating four viral proteins during viral replication. This has made the HCV NS3 serine protease an attractive target for antiviral chemotherapy. The inventive compounds can inhibit such protease. They also can modulate the processing of hepatitis C virus (HCV) polypeptide.

It has been determined that the NS4a protein, an approximately 6 kda polypeptide, is a co-factor for the serine protease activity of NS3. Autocleavage of the NS3/NS4a junction by the NS3/NS4a serine protease occurs intramolecularly (i.e., *cis*) while the other cleavage sites are processed intermolecularly (i.e., *trans*).

Analysis of the natural cleavage sites for HCV protease revealed the presence of cysteine at P1 and serine at P1' and that these residues are strictly conserved in the NS4a/NS4b, NS4b/NS5a and NS5a/NS5b junctions. The NS3/NS4a junction contains a threonine at P1 and a serine at P1'. The Cys→Thr substitution at NS3/NS4a is postulated to account for the requirement of *cis* rather than *trans* processing at this junction. *See*, e.g., Pizzi et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 91:888-892, Failla et al. (1996) Folding & Design 1:35-42. The NS3/NS4a cleavage site is also more

tolerant of mutagenesis than the other sites. *See*, e.g., Kollykhalov et al. (1994) J. Virol. 68:7525-7533. It has also been found that acidic residues in the region upstream of the cleavage site are required for efficient cleavage. *See*, e.g., Komoda et al. (1994) J. Virol. 68:7351-7357.

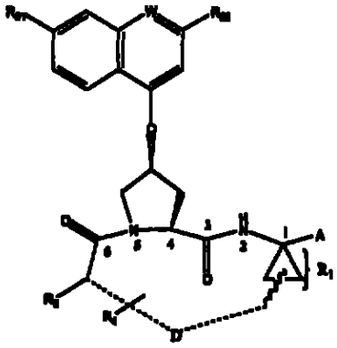
Inhibitors of HCV protease that have been reported include antioxidants (see, International Patent Application Publication No. WO 98/14181), certain peptides and peptide analogs (see, International Patent Application Publication No. WO 98/17679, Landro et al. (1997) Biochem. 36:9340-9348, Ingallinella et al. (1998) Biochem. 37:8906-8914, Llinàs-Brunet et al. (1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:1713-1718), inhibitors based on the 70-amino acid polypeptide eglin c (Martin et al. (1998) Biochem. 37:11459-11468, inhibitors affinity selected from human pancreatic secretory trypsin inhibitor (hPSTI-C3) and minibody repertoires (MBip) (Dimasi et al. (1997) J. Virol. 71:7461-7469), cV_HE2 (a "camelized" variable domain antibody fragment) (Martin et al.(1997) Protein Eng. 10:607-614), and α1-antichymotrypsin (ACT) (Elzouki et al.) (1997) J. Hepat. 27:42-28). A ribozyme designed to selectively destroy hepatitis C virus RNA has recently been disclosed (see, *BioWorld Today* 9(217): 4 (November 10, 1998)).

Reference is also made to the PCT Publications, No. WO 98/17679, published April 30, 1998 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496, published May 28, 1998 (F. Hoffmann-La Roche AG); and WO 99/07734, published February 18, 1999 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd.).

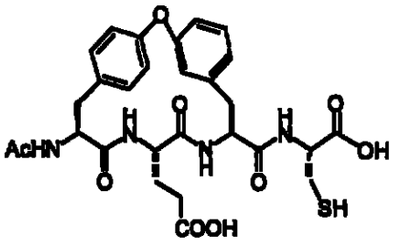
HCV has been implicated in cirrhosis of the liver and in induction of hepatocellular carcinoma. The prognosis for patients suffering from HCV infection is currently poor. HCV infection is more difficult to treat than other forms of hepatitis due to the lack of immunity or remission associated with HCV infection. Current data indicates a less than 50% survival rate at four years post cirrhosis diagnosis. Patients diagnosed with localized resectable

hepatocellular carcinoma have a five-year survival rate of 10-30%, whereas those with localized unresectable hepatocellular carcinoma have a five-year survival rate of less than 1%.

Reference is made to WO 00/59929 (US 6,608,027, Assignee: Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd.; Published October 12, 2000) which discloses peptide derivatives of the formula:

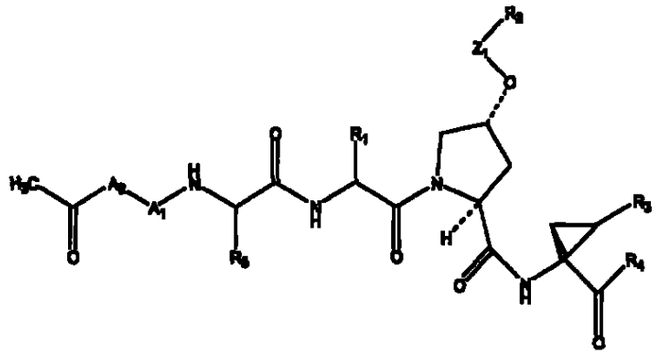


Reference is made to A. Marchetti *et al*, *Synlett*, S1, 1000-1002 (1999) describing the synthesis of bicylic analogs of an inhibitor of HCV NS3 protease. A compound disclosed therein has the formula:

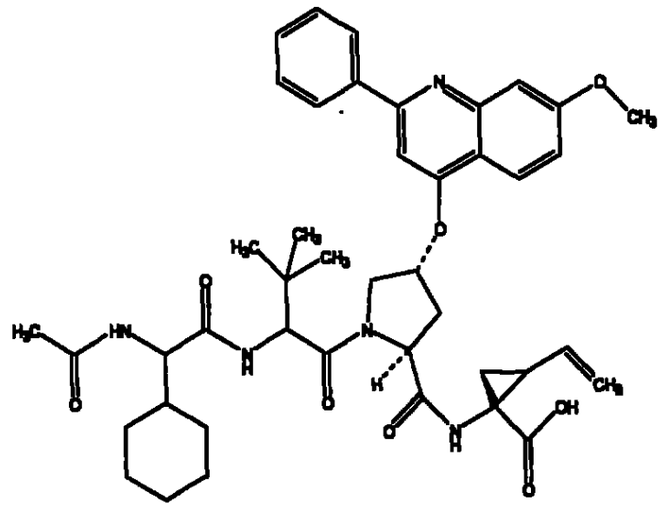


Reference is also made to W. Han *et al*, *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett*, (2000) 10, 711-713, which describes the preparation of certain α-ketoamides, α-ketoesters and α-diketones containing allyl and ethyl functionalities.

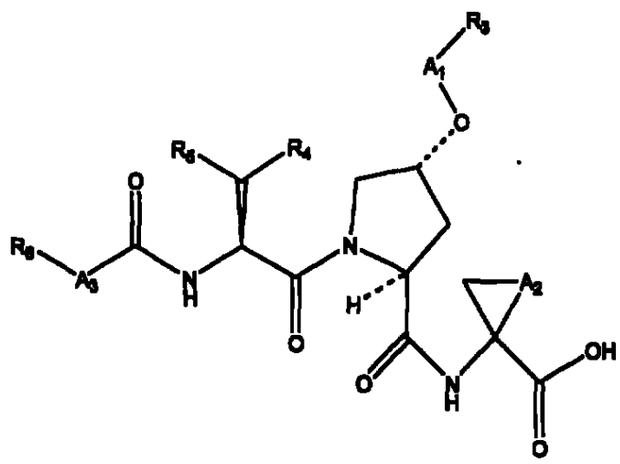
Reference is also made to WO 00/09558 (Assignee: Boehringer Ingelheim Limited; Published February 24, 2000) which discloses peptide derivatives of the formula:



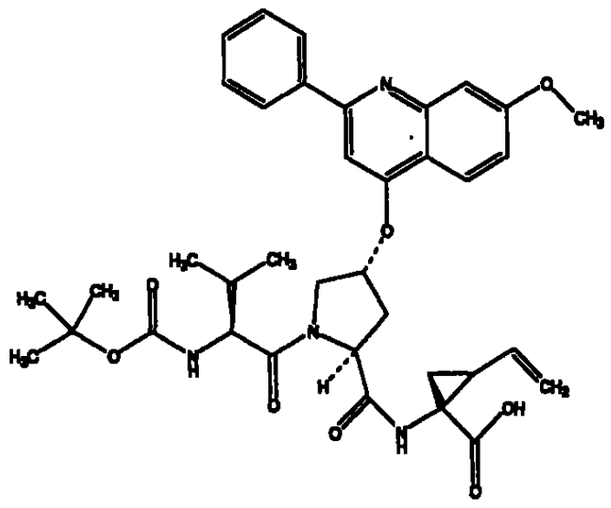
where the various elements are defined therein. An illustrative compound of that series is:



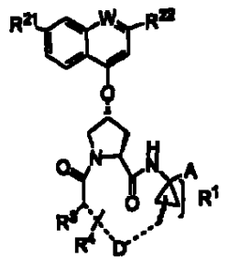
Reference is also made to WO 00/09543 (Assignee: Boehringer Ingelheim Limited; Published February 24, 2000) which discloses peptide derivatives of the formula:



where the various elements are defined therein. An illustrative compound of that series is:



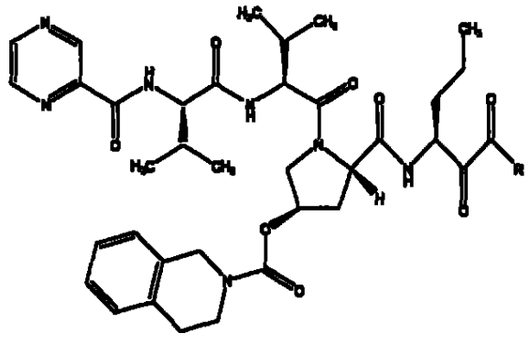
Reference is also made to U.S. 6,608,027 (Boehringer Ingelheim, Canada) which discloses NS3 protease inhibitors of the type:



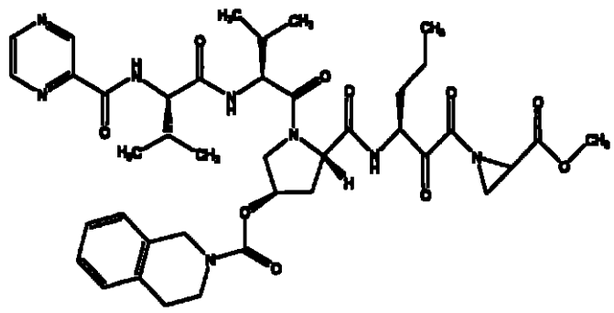
wherein the various moieties are defined therein.

Current therapies for hepatitis C include interferon-α ($INF_α$) and combination therapy with ribavirin and interferon. *See*, e.g., Beremguer et al. (1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2):98-112. These therapies suffer from a low sustained response rate and frequent side effects. *See*, e.g., Hoofnagle et al. (1997) N. Engl. J. Med. 336:347. Currently, no vaccine is available for HCV infection.

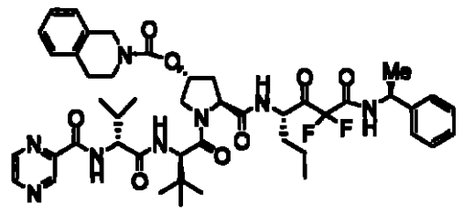
Reference is further made to WO 01/74768 (Assignee: Vertex Pharmaceuticals Inc) published October 11, 2001, which discloses certain compounds of the following general formula (R is defined therein) as NS3-serine protease inhibitors of Hepatitis C virus:



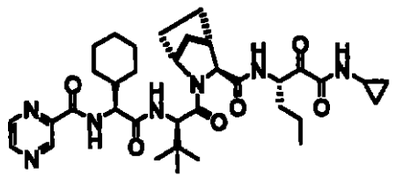
A specific compound disclosed in the afore-mentioned WO 01/74768 has the following formula:



Reference is also made to WO02/18369 (Eli Lilly and Company) which discloses protease inhibitors. An illustrative compound disclosed therein has the structure:



Reference is also made to WO03/006490 (Vertex Pharmaceuticals) which discloses bridged bicyclic protease inhibitors. An illustrative compound disclosed therein has the structure:



PCT Publications WO 01/77113; WO 01/081325; WO 02/08198; WO 02/08256; WO 02/08187; WO 02/08244; WO 02/48172; WO 02/08251; and pending U.S. patent application, Serial No. 10/052,386, filed January 18, 2002, disclose various types of peptides and/or other compounds as NS3/NS4a serine protease inhibitors of hepatitis C virus. Furthermore,

pending U.S. applications Serial No. 60/506,637 filed September 26, 2003; 60/497,749 filed August 26, 2003; and 60/—— (Attorney Docket No. IN06122) filed November 20, 2003 disclose various types of protease inhibitors. The disclosures of those applications are incorporated herein by reference thereto.

There is a need for new treatments and therapies for HCV infection. There is a need for compounds useful in the treatment or prevention or amelioration of one or more symptoms of hepatitis C.

There is a need for methods of treatment or prevention or amelioration of one or more symptoms of hepatitis C.

There is a need for methods for modulating the activity of serine proteases, particularly the HCV NS3/NS4a serine protease, using the compounds provided herein.

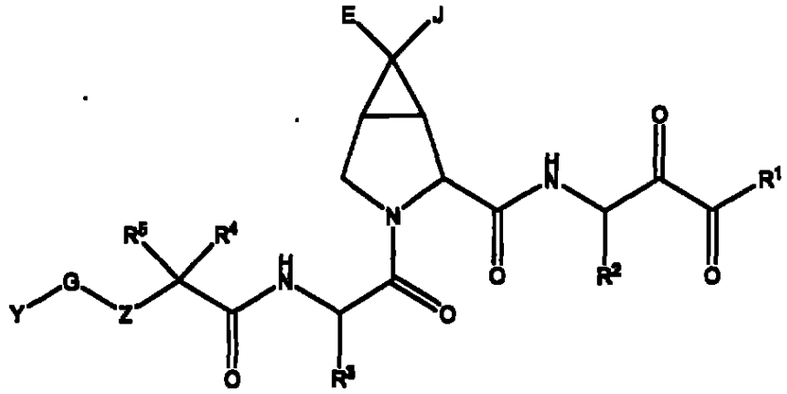
There is a need for methods of modulating the processing of the HCV polypeptide using the compounds provided herein.

Summary of the Invention

The afore-mentioned WO 02/08244 publication broadly discloses several compounds. Applicants found that a specific type of compounds surprisingly exhibits good HCV NS3/NS4a serine protease inhibitory activity. Thus, in its many embodiments, the present invention provides a novel class of inhibitors of the HCV protease, pharmaceutical compositions containing one or more of the compounds, methods of preparing pharmaceutical formulations comprising one or more such compounds, and methods of treatment or prevention of HCV or amelioration of one or more of the symptoms of hepatitis C using one or more such compounds or one or more such formulations. Also provided are methods of modulating the interaction of an HCV polypeptide with HCV protease. Among the compounds provided herein, compounds that inhibit HCV NS3/NS4a serine protease activity are

30

preferred. The present invention thus discloses a compound, or enantiomers, stereoisomers, rotamers, tautomers, diastereomers, or racemates of said compound, or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or ester of said compound, said compound having the general structure shown in Formula I:



Formula I

wherein:

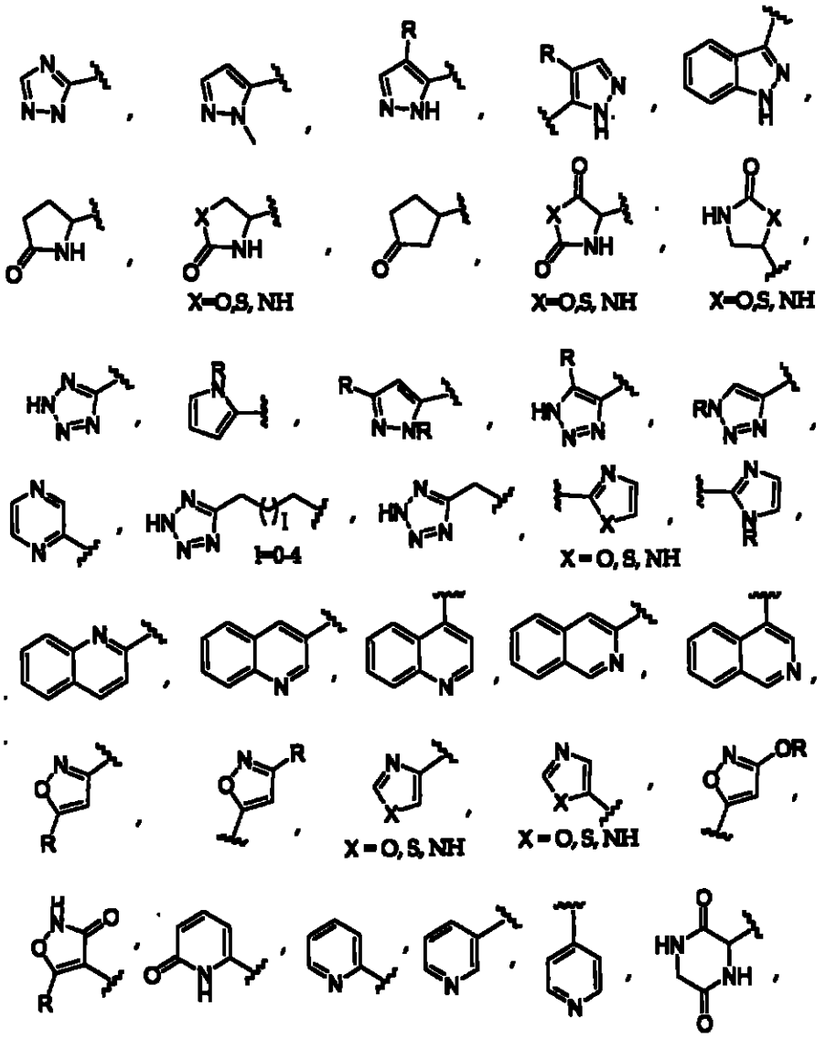
R^1 is H, OR^8, NR^9R^{10}, or CHR^9R^{10}, wherein R^8, R^9 and R^{10} can be the same or different, each being independently selected from the group consisting of H, alkyl-, aryl-, heteroalkyl-, heteroaryl-, cycloalkyl-, cycloalkyl-, arylalkyl-, and heteroarylalkyl;

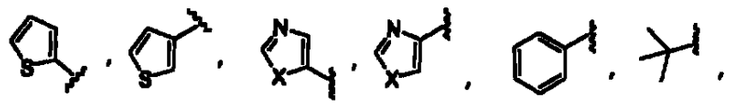
E and J can be the same or different, each being independently selected from the group consisting of R, OR, NHR, NRR^7, SR, halo, and $S(O_2)R$, or E and J can be directly connected to each other to form either a three to eight-membered cycloalkyl, or a three to eight-membered heterocyclyl moiety;

Z is N(H), N(R), or O, with the proviso that when Z is O, G is present or absent and if G is present with Z being O, then G is C(=O);

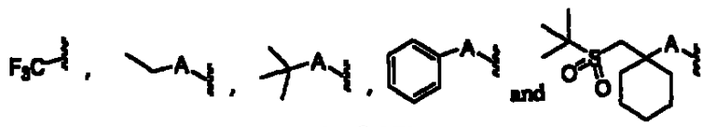
G maybe present or absent, and if G is present, G is C(=O) or $S(O_2)$, and when G is absent, Z is directly connected to Y;

Y is selected from the group consisting of:





X = O, S, NH



A = O, NH

;

R, R^7, R^2, R^3, R^4 and R^5 can be the same or different, each being independently selected from the group consisting of H, alkyl-, alkenyl-, alkynyl-, cycloalkyl-, heteroalkyl-, heterocyclyl-, aryl-, heteroaryl-, (cycloalkyl)alkyl-, (heterocyclyl)alkyl-, aryl-alkyl-, and heteroaryl-alkyl-, wherein each of said heteroalkyl, heteroaryl and heterocyclyl independently has one to six oxygen, nitrogen, sulfur, or phosphorus atoms;

wherein each of said alkyl, heteroalkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, cycloalkyl and heterocyclyl moieties can be unsubstituted or optionally independently substituted with one or more moieties selected from the group consisting of alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, aralkyl, cycloalkyl, heterocyclyl, halo, hydroxy, thio, alkoxy, aryloxy, alkylthio, arylthio, amino, amido, ester, carboxylic acid, carbamate, urea, ketone, aldehyde, cyano, nitro, sulfonamido, sulfoxide, sulfone, sulfonyl urea, hydrazide, and hydroxamate.

The compounds represented by Formula 1, by themselves or in combination with one or more other additional suitable agents disclosed herein, can be useful for treating diseases such as, for example, HCV, HIV, (AIDS or Acquired Immune Deficiency Syndrome), and related disorders, as well as for modulating the activity of hepatitis C virus (HCV) protease,

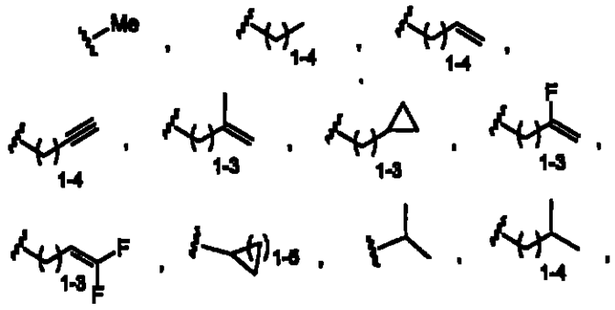
preventing HCV, or ameliorating one or more symptoms of hepatitis C. Such modulation, treatment, prevention or amelioration can be done with the inventive compounds as well as with pharmaceutical compositions or formulations comprising such compounds. Without being limited to theory, it is believed that the HCV protease may be the NS3 or NS4a protease. The inventive compounds can inhibit such protease. They can also modulate the processing of hepatitis C virus (HCV) polypeptide.

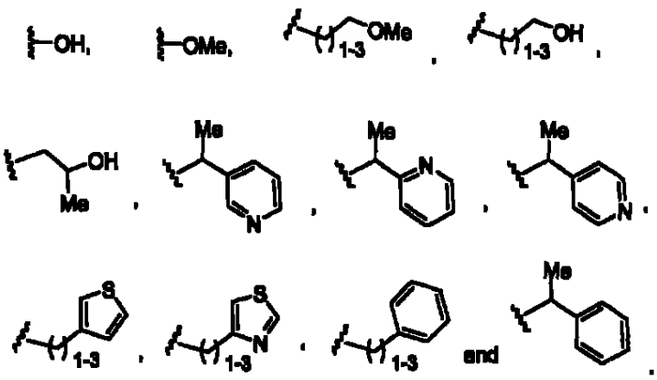
Detailed Description

In an embodiment, the present invention discloses compounds which are represented by structural Formula 1 or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or ester thereof, wherein the various moieties are as defined above.

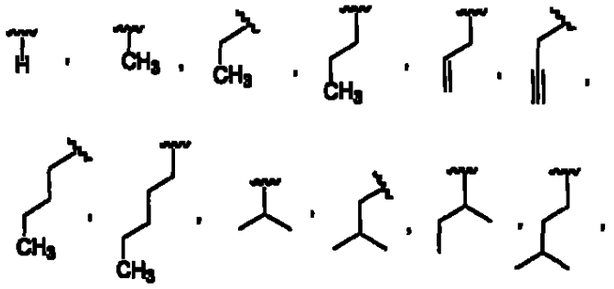
In another embodiment, R^1 is NR^9R^{10}, where R^9 is H, R^{10} is H or R^{14}, wherein R^{14} is alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cycloalkyl, alkyl-aryl-, alkyl-heteroaryl-, aryl-alkyl-, alkenyl, alkynyl or heteroaryl-alkyl-.

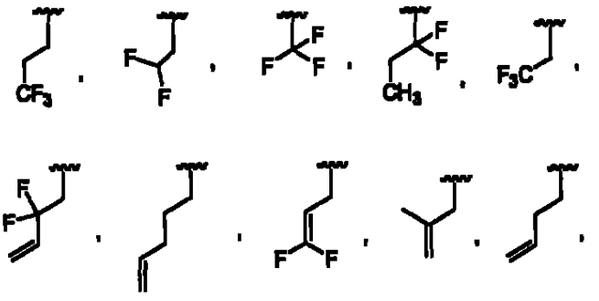
In another embodiment, R^{14} is selected from the group consisting of:

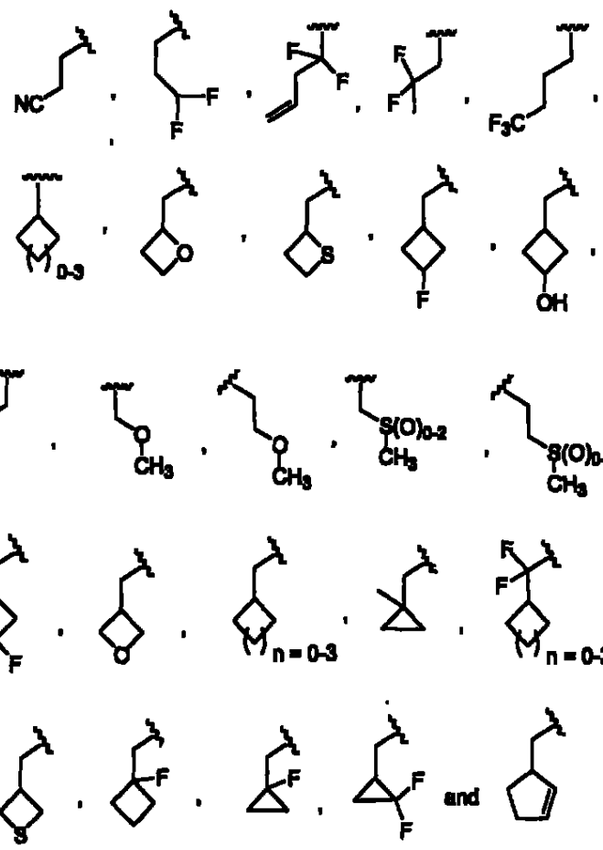




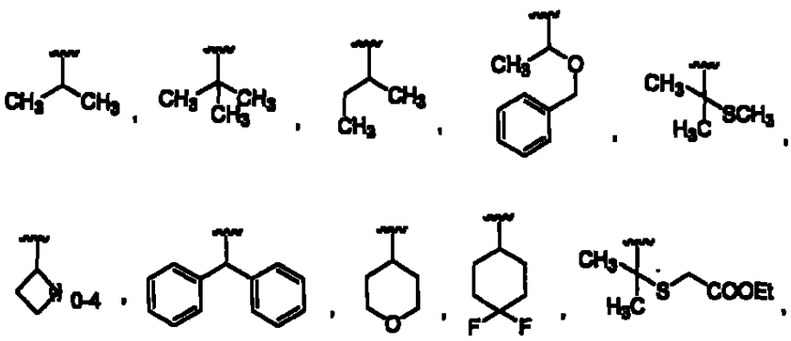
In another embodiment, R^2 is selected from the group consisting of the following moieties:

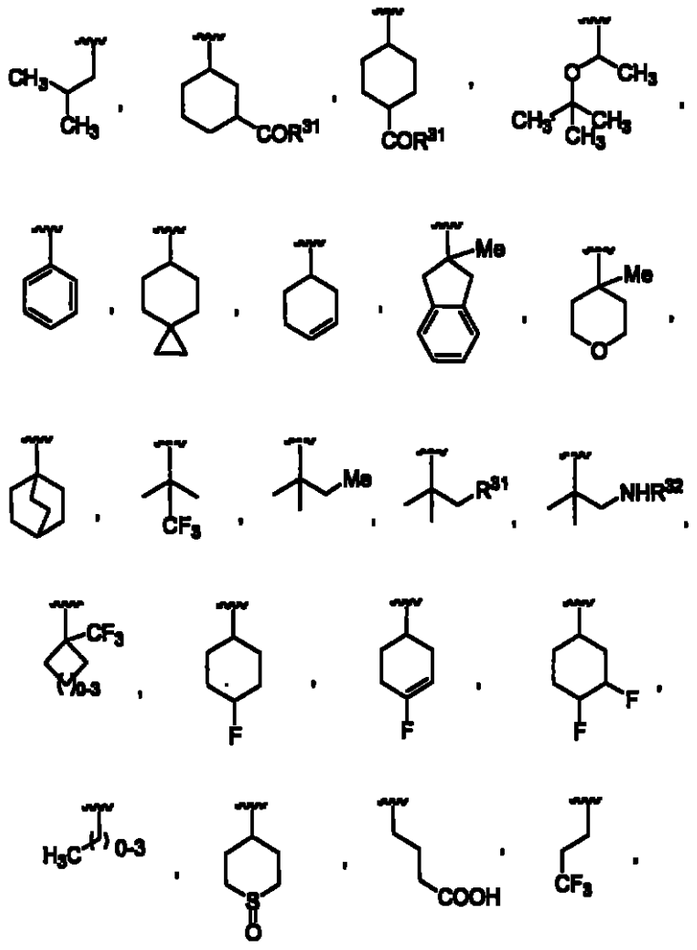


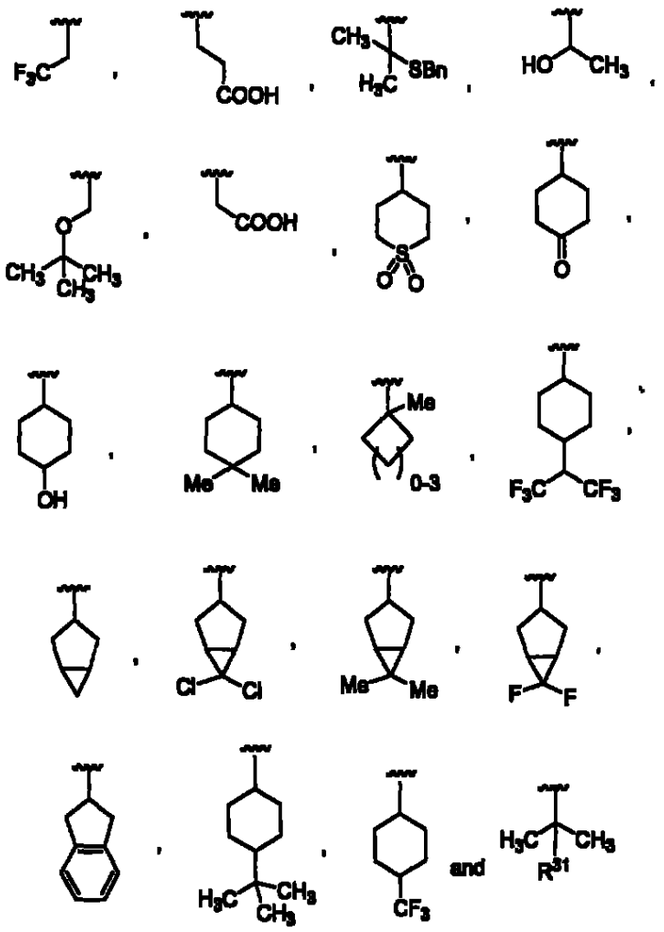




In another embodiment, R^3 is selected from the group consisting of:



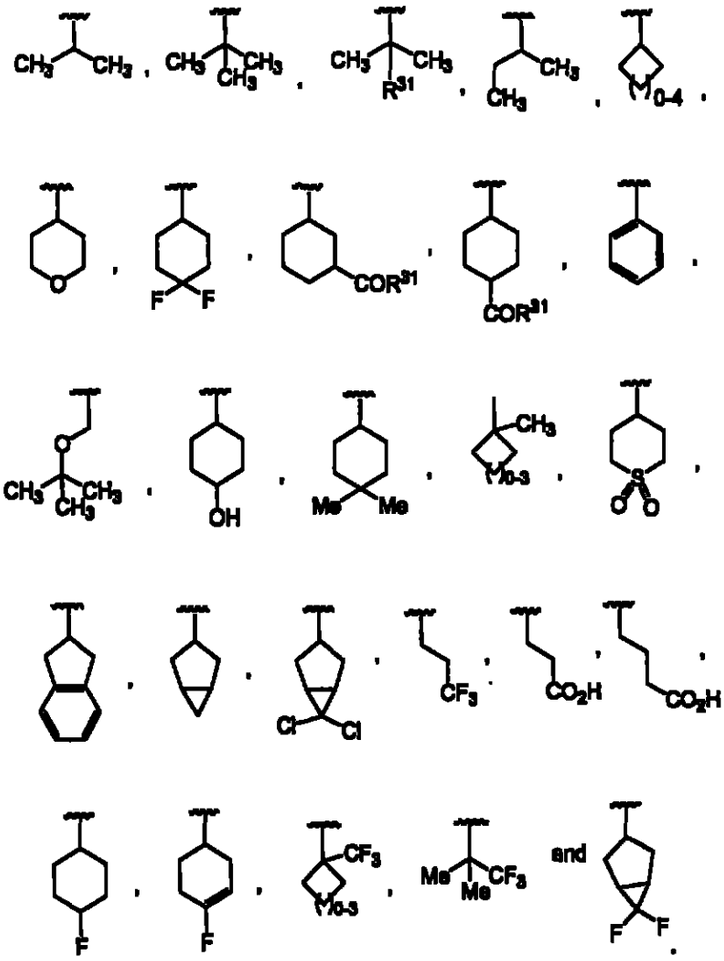

CH3
CH3
COR31
COR31
O
CH3
CH3
CH3
CH3
Me
Me
O
Me
CF3
R31
NHR32
CF3
0-3
F
F
F
F
H3C
0-3
S
O
COOH
CF3



wherein R^{31} is OH or O-alkyl; and

R^{32} is H, C(O)CH_3, C(O)OtBu or C(O)N(H)tBu.

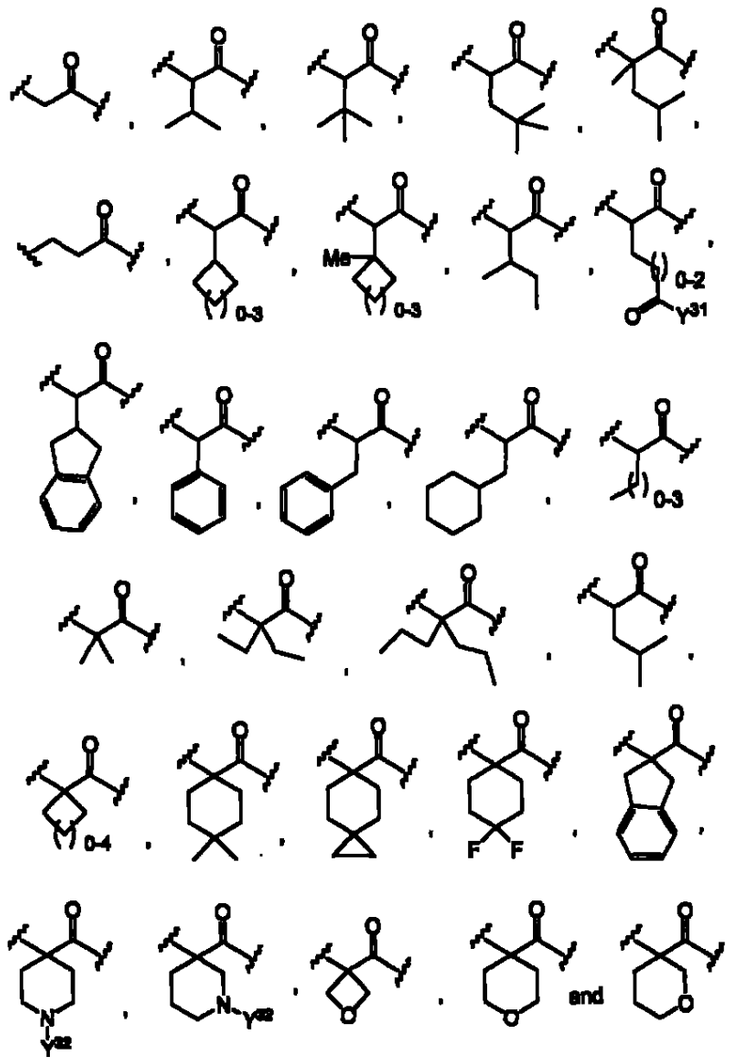
In another embodiment, R^3 is selected from the group consisting of:



In another embodiment, the moiety



is selected from the group consisting of:

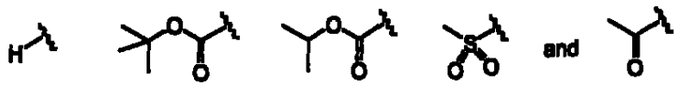


wherein

Y^{31} is selected from the group consisting of: OR, NHR and NRR^7

and

Y^{32} is selected from the group consisting of:



In another embodiment, Z is NH.

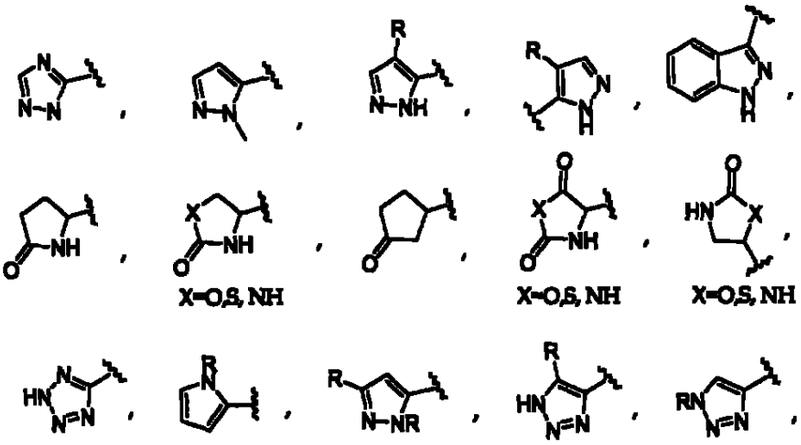
In another embodiment, Z is N(R).

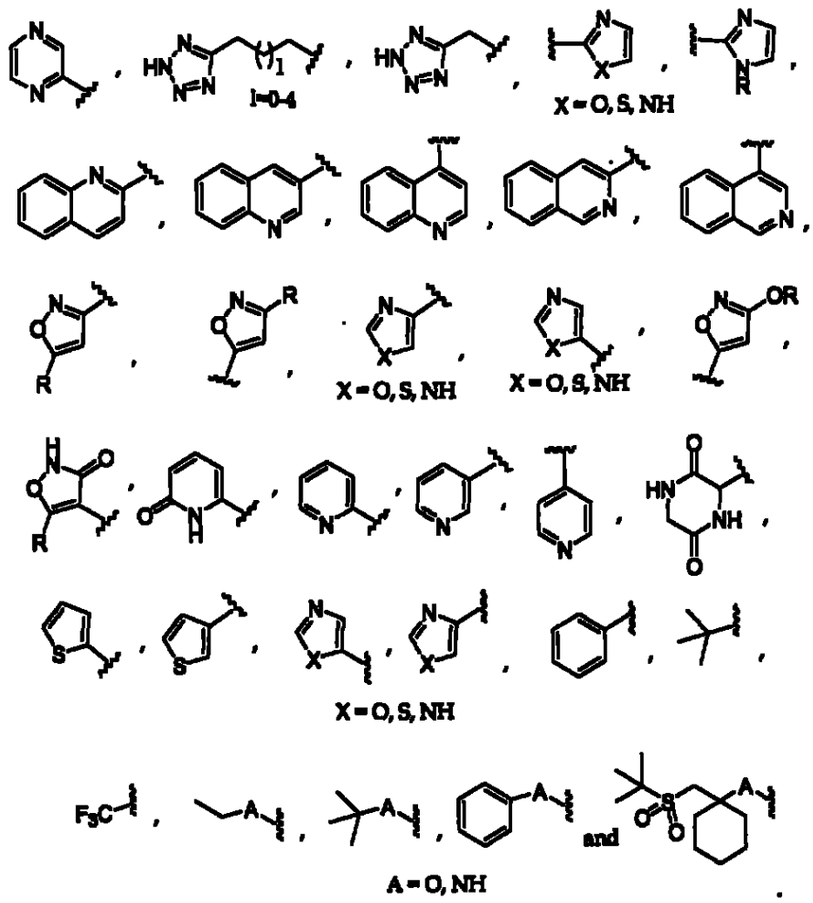
In another embodiment, Z is O; when Z is O, then G can be present or absent, and if G is present with Z being O, then G is C(=O).

In another embodiment, G is present and G is C(=O) or S(O_2).

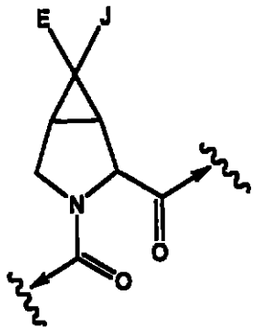
In another embodiment, G is absent.

In another embodiment, Y is selected from the group consisting of:

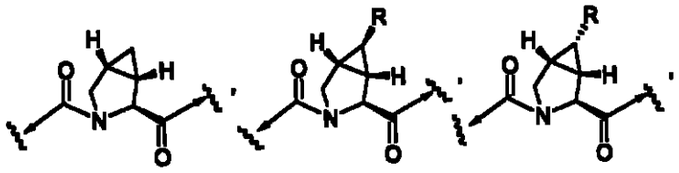


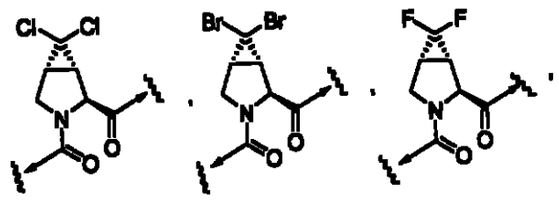


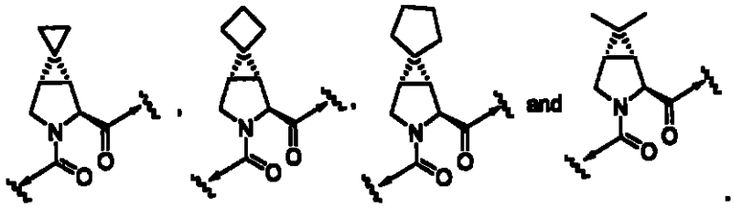
In another embodiment, the moiety:



is selected from the group consisting of:



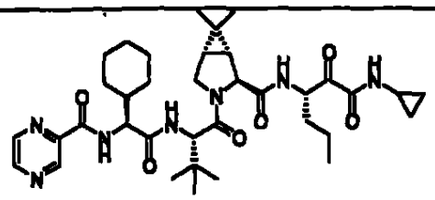
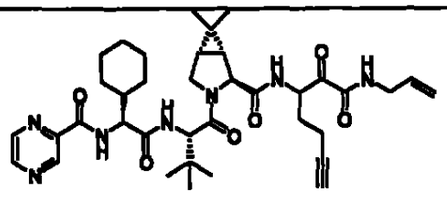
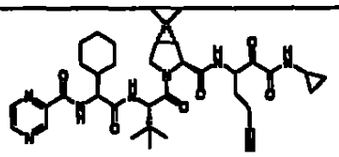
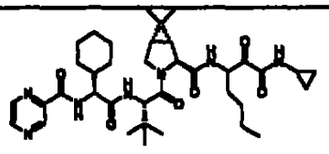


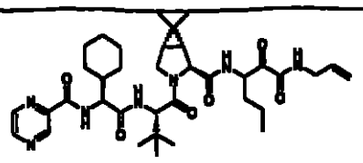
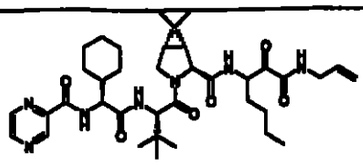
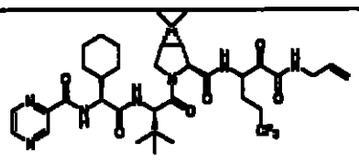
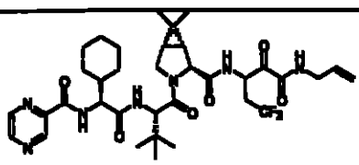
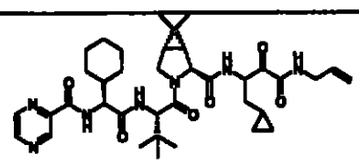
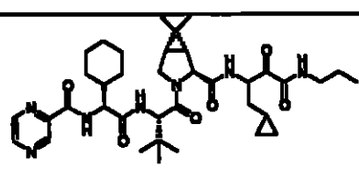
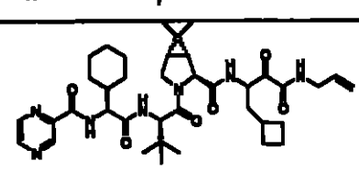


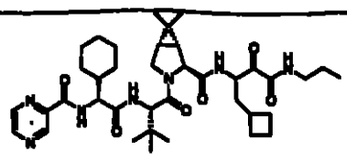
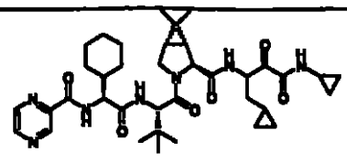
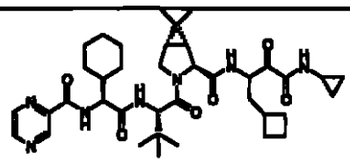
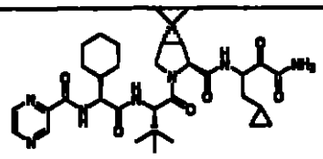
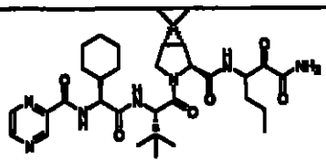
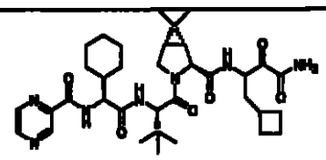
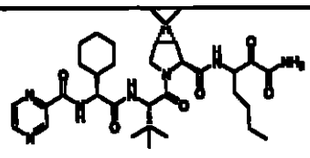
In general, the arrow-containing designations on a moiety  and  represent the connecting points of the moiety to the respective positions shown in the parent structure, e.g., in Formula I.

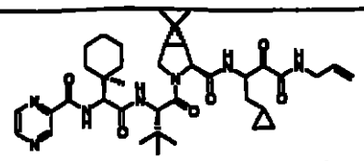
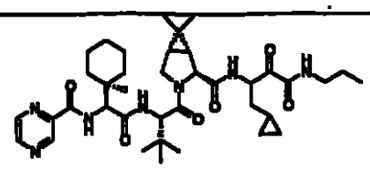
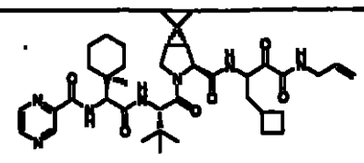
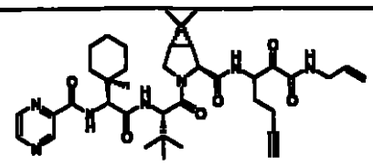
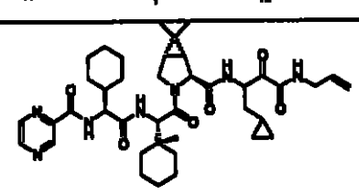
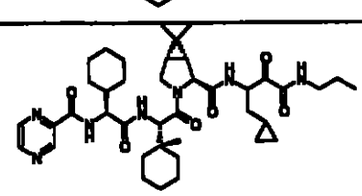
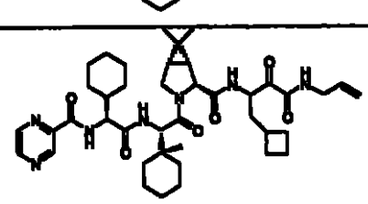
Yet another embodiment of the invention discloses some of the inventive compounds of Formula I in Table 1. Also disclosed in Table 1 is the NS3/NS4a serine protease inhibitory activity (Ki* in nanoMolar) for some of the inventive compounds.

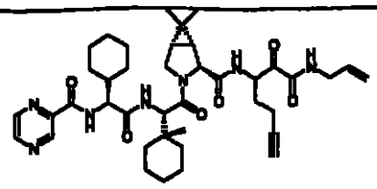
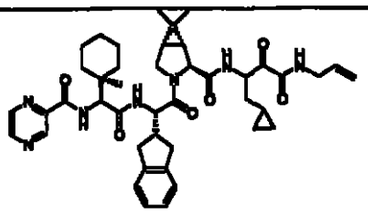
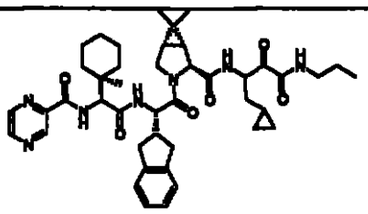
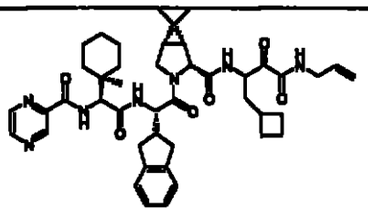
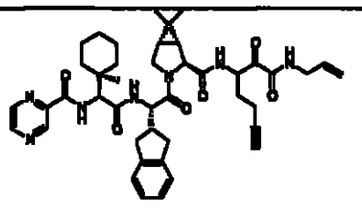
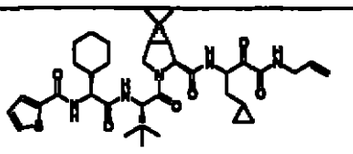
Table I

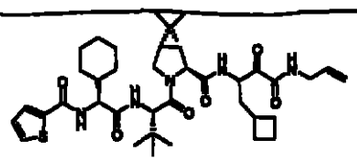
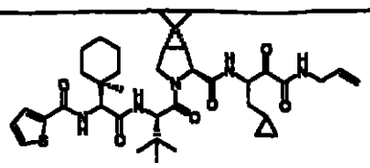
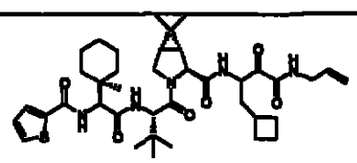
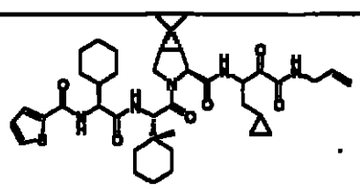
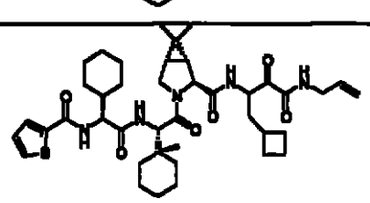
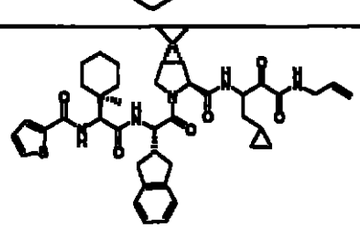
Entry	Structure	Ki* (nM)
1		10
2		6
3		
4		

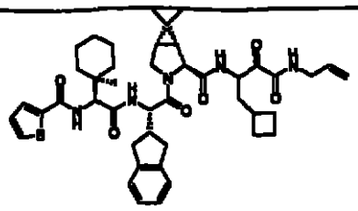
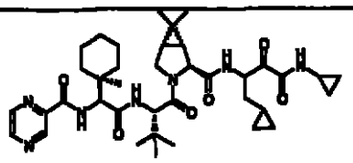
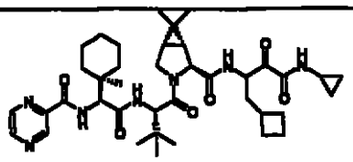
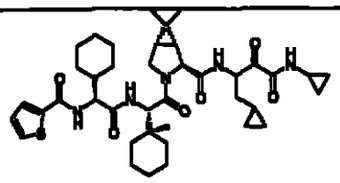
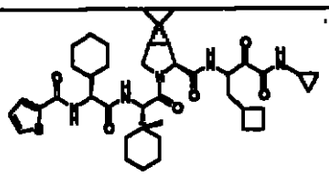
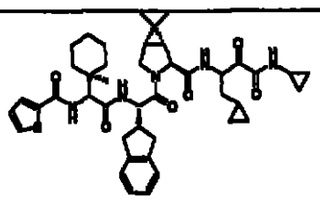
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		

12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		

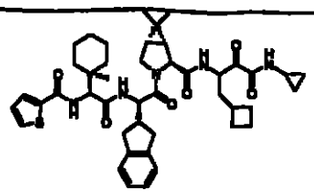
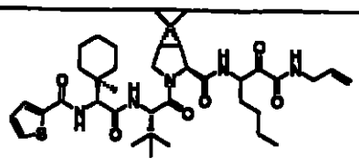
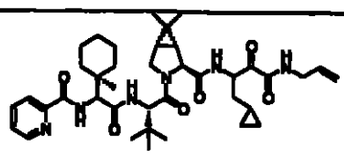
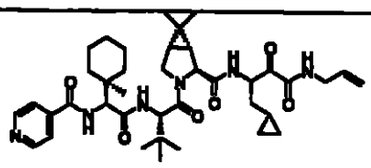
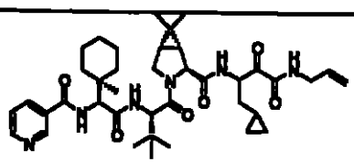
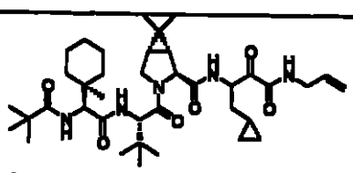
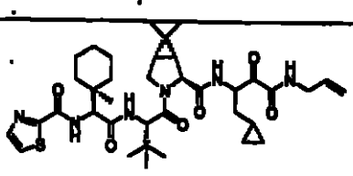
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		

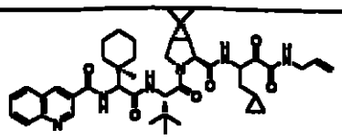
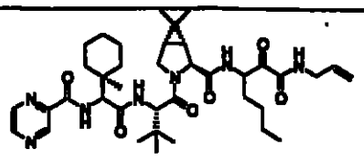
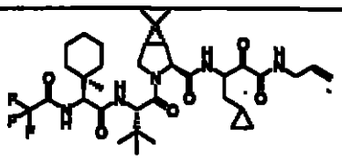
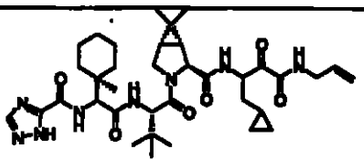
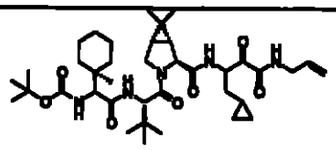
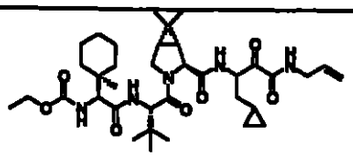
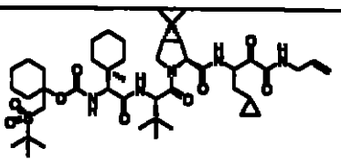
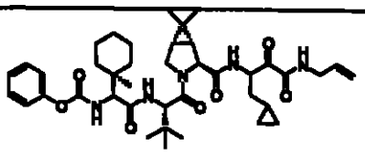
26		
27		
28		
29		
30		
31		

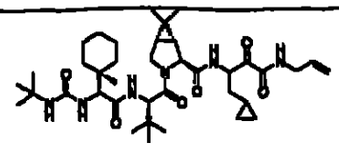
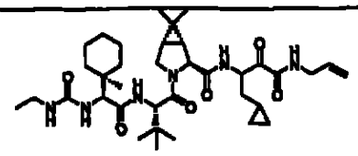
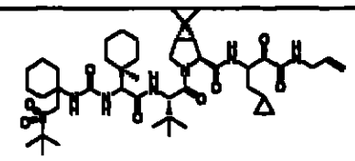
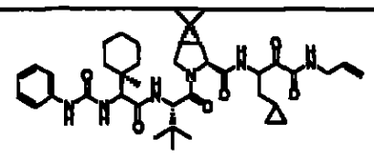
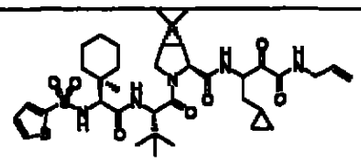
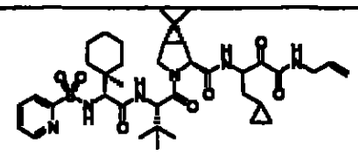
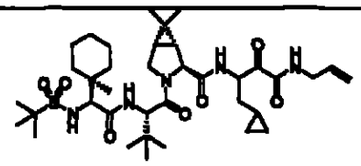
32		
33		
34		
35		
36		
37		

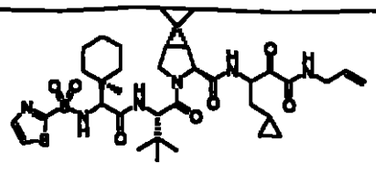
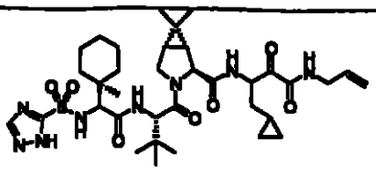
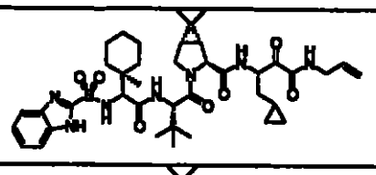
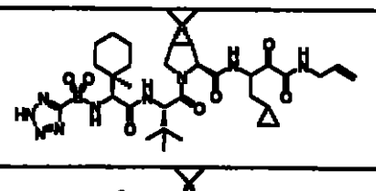
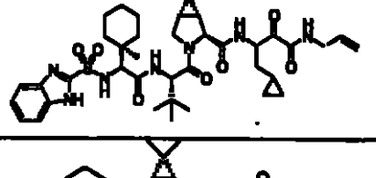
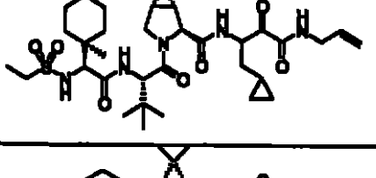
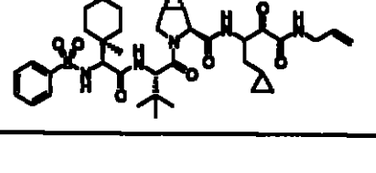
38		
39		
40		
41		
42		
43		

50

44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		

51		
52		
53		
54		
55		
56		
57		
58		

59		
60		
61		
62		
63		
64		
65		

66		
67		
68		
69		
70		
71		
72		

As used above, and throughout this disclosure, the following terms, unless otherwise indicated, shall be understood to have the following meanings:

"Patient" includes both human and animals.

"Mammal" means humans and other mammalian animals.

"Alkyl" means an aliphatic hydrocarbon group which may be straight or branched and comprising about 1 to about 20 carbon atoms in the chain. Preferred alkyl groups contain about 1 to about 12 carbon atoms in the chain. More preferred alkyl groups contain about 1 to about 6 carbon atoms in the chain. Branched means that one or more lower alkyl groups such as methyl, ethyl or propyl, are attached to a linear alkyl chain. "Lower alkyl" means a group having about 1 to about 6 carbon atoms in the chain which may be straight or branched. The term "substituted alkyl" means that the alkyl group may be substituted by one or more substituents which may be the same or different, each substituent being independently selected from the group consisting of halo, alkyl, aryl, cycloalkyl, cyano, hydroxy, alkoxy, alkylthio, amino, -NH(alkyl), -NH(cycloalkyl), -N(alkyl)$_2$, -N(alkyl)$_2$, carboxy and –C(O)O-alkyl. Non-limiting examples of suitable alkyl groups include methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl and t-butyl.

"Alkenyl" means an aliphatic hydrocarbon group containing at least one carbon-carbon double bond and which may be straight or branched and comprising about 2 to about 15 carbon atoms in the chain. Preferred alkenyl groups have about 2 to about 12 carbon atoms in the chain; and more preferably about 2 to about 6 carbon atoms in the chain. Branched means that one or more lower alkyl groups such as methyl, ethyl or propyl, are attached to a linear alkenyl chain. "Lower alkenyl" means about 2 to about 6 carbon atoms in the chain which may be straight or branched. The term "substituted alkenyl" means that the alkenyl group may be substituted by one or more

substituents which may be the same or different, each substituent being independently selected from the group consisting of halo, alkyl. aryl, cycloalkyl, cyano, alkoxy and –S(alkyl). Non-limiting examples of suitable alkenyl groups include ethenyl, propenyl, n-butenyl, 3-methylbut-2-enyl, n-pentenyl, octenyl and decenyl.

"Alkynyl" means an aliphatic hydrocarbon group containing at least one carbon-carbon triple bond and which may be straight or branched and comprising about 2 to about 15 carbon atoms in the chain. Preferred alkynyl groups have about 2 to about 12 carbon atoms in the chain; and more preferably about 2 to about 4 carbon atoms in the chain. Branched means that one or more lower alkyl groups such as methyl, ethyl or propyl, are attached to a linear alkynyl chain. "Lower alkynyl" means about 2 to about 6 carbon atoms in the chain which may be straight or branched. Non-limiting examples of suitable alkynyl groups include ethynyl, propynyl, 2-butynyl and 3-methylbutynyl. The term "substituted alkynyl" means that the alkynyl group may be substituted by one or more substituents which may be the same or different, each substituent being independently selected from the group consisting of alkyl, aryl and cycloalkyl.

"Aryl" means an aromatic monocyclic or multicyclic ring system comprising about 6 to about 14 carbon atoms, preferably about 6 to about 10 carbon atoms. The aryl group can be optionally substituted with one or more "ring system substituents" which may be the same or different, and are as defined herein. Non-limiting examples of suitable aryl groups include phenyl and naphthyl.

"Heteroaryl" means an aromatic monocyclic or multicyclic ring system comprising about 5 to about 14 ring atoms, preferably about 5 to about 10 ring atoms, in which one or more of the ring atoms is an element other than carbon, for example nitrogen, oxygen or sulfur, alone or in combination.

Preferred heteroaryls contain about 5 to about 6 ring atoms. The "heteroaryl" can be optionally substituted by one or more "ring system substituents" which may be the same or different, and are as defined herein. The prefix aza, oxa or thia before the heteroaryl root name means that at least a nitrogen, oxygen or sulfur atom respectively, is present as a ring atom. A nitrogen atom of a heteroaryl can be optionally oxidized to the corresponding N-oxide. Non-limiting examples of suitable heteroaryls include pyridyl, pyrazinyl, furanyl, thienyl, pyrimidinyl, pyridone (including N-substituted pyridones), isoxazolyl, isothiazolyl, oxazolyl, thiazolyl, pyrazolyl, furazanyl, pyrrolyl, pyrazolyl, triazolyl, 1,2,4-thiadiazolyl, pyrazinyl, pyridazinyl, quinoxalinyl, phthalazinyl, oxindolyl, imidazo[1,2-a]pyridinyl, imidazo[2,1-b]thiazolyl, benzofurazanyl, indolyl, azaindolyl, benzimidazolyl, benzothienyl, quinolinyl, imidazolyl, thienopyridyl, quinazolinyl, thienopyrimidyl, pyrrolopyridyl, imidazopyridyl, isoquinolinyl, benzoazaindolyl, 1,2,4-triazinyl, benzothiazolyl and the like. The term "heteroaryl" also refers to partially saturated heteroaryl moieties such as, for example, tetrahydroisoquinolyl, tetrahydroquinolyl and the like.

"Aralkyl" or "arylalkyl" means an aryl-alkyl- group in which the aryl and alkyl are as previously described. Preferred aralkyls comprise a lower alkyl group. Non-limiting examples of suitable aralkyl groups include benzyl, 2-phenethyl and naphthalenylmethyl. The bond to the parent moiety is through the alkyl.

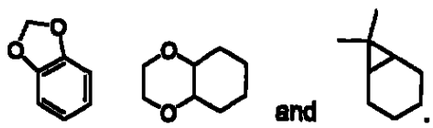
"Alkylaryl" means an alkyl-aryl- group in which the alkyl and aryl are as previously described. Preferred alkylaryls comprise a lower alkyl group. Non-limiting example of a suitable alkylaryl group is tolyl. The bond to the parent moiety is through the aryl.

"Cycloalkyl" means a non-aromatic mono- or multicyclic ring system comprising about 3 to about 10 carbon atoms, preferably about 5 to about 10 carbon atoms. Preferred cycloalkyl rings contain about 5 to about 7 ring

atoms. The cycloalkyl can be optionally substituted with one or more "ring system substituents" which may be the same or different, and are as defined above. Non-limiting examples of suitable monocyclic cycloalkyls include cyclopropyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl and the like. Non-limiting examples of suitable multicyclic cycloalkyls include 1-decalinyl, norbornyl, adamantyl and the like, as well as partially saturated species such as, for example, indanyl, tetrahydronaphthyl and the like.

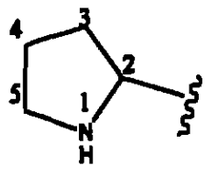
"Halogen" or "halo" means fluorine, chlorine, bromine, or iodine. Preferred are fluorine, chlorine and bromine.

"Ring system substituent" means a substituent attached to an aromatic or non-aromatic ring system which, for example, replaces an available hydrogen on the ring system. Ring system substituents may be the same or different, each being independently selected from the group consisting of alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, aralkyl, alkylaryl, heteroaralkyl, heteroarylalkenyl, heteroarylalkynyl, alkylheteroaryl, hydroxy, hydroxyalkyl, alkoxy, aryloxy, aralkoxy, acyl, aroyl, halo, nitro, cyano, carboxy, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, aralkoxycarbonyl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylthio, arylthio, heteroarylthio, aralkylthio, heteroaralkylthio, cycloalkyl, heterocyclyl, -C(=N-CN)-NH_2, -C(=NH)-NH_2, -C(=NH)-NH(alkyl), Y_1Y_2N-, Y_1Y_2N-alkyl-, $Y_1Y_2NC(O)$-, $Y_1Y_2NSO_2$- and $-SO_2NY_1Y_2$, wherein Y_1 and Y_2 can be the same or different and are independently selected from the group consisting of hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, and aralkyl. "Ring system substituent" may also mean a single moiety which simultaneously replaces two available hydrogens on two adjacent carbon atoms (one H on each carbon) on a ring system. Examples of such moiety are methylene dioxy, ethylenedioxy, $-C(CH_3)_2-$ and the like which form moieties such as, for example:



"Heterocyclyl" means a non-aromatic saturated monocyclic or multicyclic ring system comprising about 3 to about 10 ring atoms, preferably about 5 to about 10 ring atoms, in which one or more of the atoms in the ring system is an element other than carbon, for example nitrogen, oxygen or sulfur, alone or in combination. There are no adjacent oxygen and/or sulfur atoms present in the ring system. Preferred heterocyclyls contain about 5 to about 6 ring atoms. The prefix aza, oxa or thia before the heterocyclyl root name means that at least a nitrogen, oxygen or sulfur atom respectively is present as a ring atom. Any –NH in a heterocyclyl ring may exist protected such as, for example, as an -N(Boc), -N(CBz), -N(Tos) group and the like; such protections are also considered part of this invention. The heterocyclyl can be optionally substituted by one or more "ring system substituents" which may be the same or different, and are as defined herein. The nitrogen or sulfur atom of the heterocyclyl can be optionally oxidized to the corresponding N-oxide, S-oxide or S,S-dioxide. Non-limiting examples of suitable monocyclic heterocyclyl rings include piperidyl, pyrrolidinyl, piperazinyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, thiazolidinyl, 1,4-dioxanyl, tetrahydrofuranyl, tetrahydrothiophenyl, lactam, lactone, and the like.

It should be noted that in hetero-atom containing ring systems of this invention, there are no hydroxyl groups on carbon atoms adjacent to a N, O or S, as well as there are no N or S groups on carbon adjacent to another heteroatom. Thus, for example, in the ring:



there is no -OH attached directly to carbons marked 2 and 5.

It should also be noted that tautomeric forms such as, for example, the moieties:



are considered equivalent in certain embodiments of this invention.

"Alkynylalkyl" means an alkynyl-alkyl- group in which the alkynyl and alkyl are as previously described. Preferred alkynylalkyls contain a lower alkynyl and a lower alkyl group. The bond to the parent moiety is through the alkyl. Non-limiting examples of suitable alkynylalkyl groups include propargylmethyl.

"Heteroaralkyl" means a heteroaryl-alkyl- group in which the heteroaryl and alkyl are as previously described. Preferred heteroaralkyls contain a lower alkyl group. Non-limiting examples of suitable aralkyl groups include pyridylmethyl, and quinolin-3-ylmethyl. The bond to the parent moiety is through the alkyl.

"Hydroxyalkyl" means a HO-alkyl- group in which alkyl is as previously defined. Preferred hydroxyalkyls contain lower alkyl. Non-limiting examples of suitable hydroxyalkyl groups include hydroxymethyl and 2-hydroxyethyl.

"Acyl" means an H-C(O)-, alkyl-C(O)- or cycloalkyl-C(O)-, group in which the various groups are as previously described. The bond to the parent moiety is through the carbonyl. Preferred acyls contain a lower alkyl. Non-limiting examples of suitable acyl groups include formyl, acetyl and propanoyl.

60

"Aroyl" means an aryl-C(O)- group in which the aryl group is as previously described. The bond to the parent moiety is through the carbonyl. Non-limiting examples of suitable groups include benzoyl and 1- naphthoyl.

"Alkoxy" means an alkyl-O- group in which the alkyl group is as previously described. Non-limiting examples of suitable alkoxy groups include methoxy, ethoxy, n-propoxy, isopropoxy and n-butoxy. The bond to the parent moiety is through the ether oxygen.

"Aryloxy" means an aryl-O- group in which the aryl group is as previously described. Non-limiting examples of suitable aryloxy groups include phenoxy and naphthoxy. The bond to the parent moiety is through the ether oxygen.

"Aralkyloxy" means an aralkyl-O- group in which the aralkyl group is as previously described. Non-limiting examples of suitable aralkyloxy groups include benzyloxy and 1- or 2-naphthalenemethoxy. The bond to the parent moiety is through the ether oxygen.

"Alkylthio" means an alkyl-S- group in which the alkyl group is as previously described. Non-limiting examples of suitable alkylthio groups include methylthio and ethylthio. The bond to the parent moiety is through the sulfur.

"Arylthio" means an aryl-S- group in which the aryl group is as previously described. Non-limiting examples of suitable arylthio groups include phenylthio and naphthylthio. The bond to the parent moiety is through the sulfur.

"Aralkylthio" means an aralkyl-S- group in which the aralkyl group is as previously described. Non-limiting example of a suitable aralkylthio group is benzylthio. The bond to the parent moiety is through the sulfur.

61

"Alkoxycarbonyl" means an alkyl-O-C(O)- group. Non-limiting examples of suitable alkoxycarbonyl groups include methoxycarbonyl and ethoxycarbonyl. The bond to the parent moiety is through the carbonyl.

"Aryloxycarbonyl" means an aryl-O-C(O)- group. Non-limiting examples of suitable aryloxycarbonyl groups include phenoxycarbonyl and naphthoxycarbonyl. The bond to the parent moiety is through the carbonyl.

"Aralkoxycarbonyl" means an aralkyl-O-C(O)- group. Non-limiting example of a suitable aralkoxycarbonyl group is benzyloxycarbonyl. The bond to the parent moiety is through the carbonyl.

"Alkylsulfonyl" means an alkyl-S(O_2)- group. Preferred groups are those in which the alkyl group is lower alkyl. The bond to the parent moiety is through the sulfonyl.

"Arylsulfonyl" means an aryl-S(O_2)- group. The bond to the parent moiety is through the sulfonyl.

The term "substituted" means that one or more hydrogens on the designated atom is replaced with a selection from the indicated group, provided that the designated atom's normal valency under the existing circumstances is not exceeded, and that the substitution results in a stable compound. Combinations of substituents and/or variables are permissible only if such combinations result in stable compounds. By 'stable compound' or "stable structure" is meant a compound that is sufficiently robust to survive isolation to a useful degree of purity from a reaction mixture, and formulation into an efficacious therapeutic agent.

The term "one or more" or "at least one", when indicating the number of substituents, compounds, combination agents and the like, refers to at least one, and up to the maximum number of chemically and physically permissible, substituents, compounds, combination agents and the like, that are present or

62

added, depending on the context. Such techniques and knowledge are well known within the skills of the concerned artisan.

The term "optionally substituted" means optional substitution with the specified groups, radicals or moieties.

The term "isolated" or "in isolated form" for a compound refers to the physical state of said compound after being isolated from a synthetic process or natural source or combination thereof. The term "purified" or "in purified form" for a compound refers to the physical state of said compound after being obtained from a purification process or processes described herein or well known to the skilled artisan, in sufficient purity to be characterizable by standard analytical techniques described herein or well known to the skilled artisan.

It should also be noted that any heteroatom with unsatisfied valences in the text, schemes, examples and Tables herein is assumed to have the hydrogen atom(s) to satisfy the valences.

When a functional group in a compound is termed "protected", this means that the group is in modified form to preclude undesired side reactions at the protected site when the compound is subjected to a reaction. Suitable protecting groups will be recognized by those with ordinary skill in the art as well as by reference to standard textbooks such as, for example, T. W. Greene *et al*, *Protective Groups in organic Synthesis* (1991), Wiley, New York.

When any variable (e.g., aryl, heterocycle, R^2, etc.) occurs more than one time in any constituent or in Formula 1, its definition on each occurrence is independent of its definition at every other occurrence.

As used herein, the term "composition" is intended to encompass a product comprising the specified ingredients in the specified amounts, as well

63

as any product which results, directly or indirectly, from combination of the specified ingredients in the specified amounts.

Prodrugs and solvates of the compounds of the invention are also contemplated herein. The term "prodrug", as employed herein, denotes a compound that is a drug precursor which, upon administration to a subject, undergoes chemical conversion by metabolic or chemical processes to yield a compound of Formula 1 or a salt and/or solvate thereof. A discussion of prodrugs is provided in T. Higuchi and V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems* (1987) 14 of the A.C.S. Symposium Series, and in *Bioreversible Carriers in Drug Design*, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, both of which are incorporated herein by reference thereto.

"Solvate" means a physical association of a compound of this invention with one or more solvent molecules. This physical association involves varying degrees of ionic and covalent bonding, including hydrogen bonding. In certain instances the solvate will be capable of isolation, for example when one or more solvent molecules are incorporated in the crystal lattice of the crystalline solid. "Solvate" encompasses both solution-phase and isolatable solvates. Non-limiting examples of suitable solvates include ethanolates, methanolates, and the like. "Hydrate" is a solvate wherein the solvent molecule is H_2O.

"Effective amount" or "therapeutically effective amount" is meant to describe an amount of compound or a composition of the present invention effective in inhibiting the CDK(s) and thus producing the desired therapeutic, ameliorative, inhibitory or preventative effect.

The compounds of Formula 1 can form salts which are also within the scope of this invention. Reference to a compound of Formula 1 herein is understood to include reference to salts thereof, unless otherwise indicated.

The term "salt(s)", as employed herein, denotes acidic salts formed with inorganic and/or organic acids, as well as basic salts formed with inorganic and/or organic bases. In addition, when a compound of Formula 1 contains both a basic moiety, such as, but not limited to a pyridine or imidazole, and an acidic moiety, such as, but not limited to a carboxylic acid, zwitterions ("inner salts") may be formed and are included within the term "salt(s)" as used herein. Pharmaceutically acceptable (i.e., non-toxic, physiologically acceptable) salts are preferred, although other salts are also useful. Salts of the compounds of the Formula 1 may be formed, for example, by reacting a compound of Formula 1 with an amount of acid or base, such as an equivalent amount, in a medium such as one in which the salt precipitates or in an aqueous medium followed by lyophilization.

Exemplary acid addition salts include acetates, ascorbates, benzoates, benzenesulfonates, bisulfates, borates, butyrates, citrates, camphorates, camphorsulfonates, fumarates, hydrochlorides, hydrobromides, hydroiodides, lactates, maleates, methanesulfonates, naphthalenesulfonates, nitrates, oxalates, phosphates, propionates, salicylates, succinates, sulfates, tartarates, thiocyanates, toluenesulfonates (also known as tosylates,) and the like. Additionally, acids which are generally considered suitable for the formation of pharmaceutically useful salts from basic pharmaceutical compounds are discussed, for example, by P. Stahl *et al*, Camille G. (eds.) *Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.* (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge *et al*, *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201-217; Anderson *et al*, *The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, New York; and in *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C. on their website). These disclosures are incorporated herein by reference thereto.

Exemplary basic salts include ammonium salts, alkali metal salts such as sodium, lithium, and potassium salts, alkaline earth metal salts such as calcium and magnesium salts, salts with organic bases (for example, organic amines) such as dicyclohexylamines, t-butyl amines, and salts with amino acids such as arginine, lysine and the like. Basic nitrogen-containing groups may be quarternized with agents such as lower alkyl halides (e.g. methyl, ethyl, and butyl chlorides, bromides and iodides), dialkyl sulfates (e.g. dimethyl, diethyl, and dibutyl sulfates), long chain halides (e.g. decyl, lauryl, and stearyl chlorides, bromides and iodides), aralkyl halides (e.g. benzyl and phenethyl bromides), and others.

All such acid salts and base salts are intended to be pharmaceutically acceptable salts within the scope of the invention and all acid and base salts are considered equivalent to the free forms of the corresponding compounds for purposes of the invention.

Pharmaceutically acceptable esters of the present compounds include the following groups: (1) carboxylic acid esters obtained by esterification of the hydroxy groups, in which the non-carbonyl moiety of the carboxylic acid portion of the ester grouping is selected from straight or branched chain alkyl (for example, acetyl, n-propyl, t-butyl, or n-butyl), alkoxyalkyl (for example, methoxymethyl), aralkyl (for example, benzyl), aryloxyalkyl (for example, phenoxymethyl), aryl (for example, phenyl optionally substituted with, for example, halogen, C_{1-4}alkyl, or C_{1-4}alkoxy or amino); (2) sulfonate esters, such as alkyl- or aralkylsulfonyl (for example, methanesulfonyl); (3) amino acid esters (for example, L-valyl or L-isoleucyl); (4) phosphonate esters and (5) mono-, di- or triphosphate esters. The phosphate esters may be further esterified by, for example, a C_{1-20} alcohol or reactive derivative thereof, or by a 2,3-di (C_{6-24})acyl glycerol.

Compounds of Formula 1, and salts, solvates, esters and prodrugs thereof, may exist in their tautomeric form (for example, as an amide or imino ether). All such tautomeric forms are contemplated herein as part of the present invention.

All stereoisomers (for example, geometric isomers, optical isomers and the like) of the present compounds (including those of the salts, solvates and prodrugs of the compounds as well as the salts and solvates of the prodrugs), such as those which may exist due to asymmetric carbons on various substituents, including enantiomeric forms (which may exist even in the absence of asymmetric carbons), rotameric forms, atropisomers, and diastereomeric forms, are contemplated within the scope of this invention, as are positional isomers (such as, for example, 4-pyridyl and 3-pyridyl). Individual stereoisomers of the compounds of the invention may, for example, be substantially free of other isomers, or may be admixed, for example, as racemates or with all other, or other selected, stereoisomers. The chiral centers of the present invention can have the S or R configuration as defined by the *IUPAC* 1974 Recommendations. The use of the terms "salt", "solvate" "prodrug" and the like, is intended to equally apply to the salt, solvate and prodrug of enantiomers, stereoisomers, rotamers, tautomers, positional isomers, racemates or prodrugs of the inventive compounds.

Compounds of Formula 1, and salts, solvates and prodrugs thereof, may exist in their polymorphic forms. Polymorphic forms of the compounds of Formula I, and of the salts, solvates and prodrugs of the compounds of Formula I, are intended to be included in the present invention.

All such polymorphic form or forms are contemplated herein as part of the present invention.

It is to be understood that the utility of the compounds of Formula 1 for the therapeutic applications discussed herein is applicable to each compound

67

by itself or to the combination or combinations of one or more compounds of Formula 1 as illustrated, for example, in the next immediate paragraph. The same understanding also applies to pharmaceutical composition(s) comprising such compound or compounds and method(s) of treatment involving such compound or compounds.

The compounds according to the invention can have pharmacological properties; in particular, the compounds of Formula 1 can be inhibitors of HCV protease, each compound by itself or one or more compounds of Formula 1 can be combined with one or more compounds selected from within Formula 1. The compound(s) can be useful for treating diseases such as, for example, HCV, HIV, (AIDS, Acquired Immune Deficiency Syndrome), and related disorders, as well as for modulating the activity of hepatitis C virus (HCV) protease, preventing HCV, or ameliorating one or more symptoms of hepatitis C.

The compounds of Formula 1 may be used for the manufacture of a medicament to treat disorders associated with the HCV protease, for example, the method comprising bringing into intimate contact a compound of Formula 1 a pharmaceutically acceptable carrier.

In another embodiment, this invention provides pharmaceutical compositions comprising the inventive compound or compounds as an active ingredient. The pharmaceutical compositions generally additionally comprise at least one pharmaceutically acceptable carrier diluent, excipient or carrier (collectively referred to herein as carrier materials). Because of their HCV inhibitory activity, such pharmaceutical compositions possess utility in treating hepatitis C and related disorders.

In yet another embodiment, the present invention discloses methods for preparing pharmaceutical compositions comprising the inventive compounds as an active ingredient. In the pharmaceutical compositions and

68

methods of the present invention, the active ingredients will typically be administered in admixture with suitable carrier materials suitably selected with respect to the intended form of administration, i.e. oral tablets, capsules (either solid-filled, semi-solid filled or liquid filled), powders for constitution, oral gels, elixirs, dispersible granules, syrups, suspensions, and the like, and consistent with conventional pharmaceutical practices. For example, for oral administration in the form of tablets or capsules, the active drug component may be combined with any oral non-toxic pharmaceutically acceptable inert carrier, such as lactose, starch, sucrose, cellulose, magnesium stearate, dicalcium phosphate, calcium sulfate, talc, mannitol, ethyl alcohol (liquid forms) and the like. Moreover, when desired or needed, suitable binders, lubricants, disintegrating agents and coloring agents may also be incorporated in the mixture. Powders and tablets may be comprised of from about 5 to about 95 percent inventive composition.

Suitable binders include starch, gelatin, natural sugars, corn sweeteners, natural and synthetic gums such as acacia, sodium alginate, carboxymethylcellulose, polyethylene glycol and waxes. Among the lubricants there may be mentioned for use in these dosage forms, boric acid, sodium benzoate, sodium acetate, sodium chloride, and the like. Disintegrants include starch, methylcellulose, guar gum and the like.

Sweetening and flavoring agents and preservatives may also be included where appropriate. Some of the terms noted above, namely disintegrants, diluents, lubricants, binders and the like, are discussed in more detail below.

Additionally, the compositions of the present invention may be formulated in sustained release form to provide the rate controlled release of any one or more of the components or active ingredients to optimize the therapeutic effects, i.e. HCV inhibitory activity and the like. Suitable dosage

69

forms for sustained release include layered tablets containing layers of varying disintegration rates or controlled release polymeric matrices impregnated with the active components and shaped in tablet form or capsules containing such impregnated or encapsulated porous polymeric matrices.

Liquid form preparations include solutions, suspensions and emulsions. As an example may be mentioned water or water-propylene glycol solutions for parenteral injections or addition of sweeteners and pacifiers for oral solutions, suspensions and emulsions. Liquid form preparations may also include solutions for intranasal administration.

Aerosol preparations suitable for inhalation may include solutions and solids in powder form, which may be in combination with a pharmaceutically acceptable carrier such as inert compressed gas, e.g. nitrogen.

For preparing suppositories, a low melting wax such as a mixture of fatty acid glycerides such as cocoa butter is first melted, and the active ingredient is dispersed homogeneously therein by stirring or similar mixing. The molten homogeneous mixture is then poured into convenient sized molds, allowed to cool and thereby solidify.

Also included are solid form preparations which are intended to be converted, shortly before use, to liquid form preparations for either oral or parenteral administration. Such liquid forms include solutions, suspensions and emulsions.

The compounds of the invention may also be deliverable transdermally. The transdermal compositions may take the form of creams, lotions, aerosols and/or emulsions and can be included in a transdermal patch of the matrix or reservoir type as are conventional in the art for this purpose.

The compounds of the invention may also be administered orally, intravenously, intranasally or subcutaneously.

The compounds of the invention may also comprise preparations which are in a unit dosage form. In such form, the preparation is subdivided into suitably sized unit doses containing appropriate quantities of the active components, e.g., an effective amount to achieve the desired purpose.

The quantity of the inventive active composition in a unit dose of preparation may be generally varied or adjusted from about 1.0 milligram to about 1,000 milligrams, preferably from about 1.0 to about 950 milligrams, more preferably from about 1.0 to about 500 milligrams, and typically from about 1 to about 250 milligrams, according to the particular application. The actual dosage employed may be varied depending upon the patient's age, sex, weight and severity of the condition being treated. Such techniques are well known to those skilled in the art.

Generally, the human oral dosage form containing the active ingredients can be administered 1 or 2 times per day. The amount and frequency of the administration will be regulated according to the judgment of the attending clinician. A generally recommended daily dosage regimen for oral administration may range from about 1.0 milligram to about 1,000 milligrams per day, in single or divided doses.

Some useful terms are described below:

Capsule - refers to a special container or enclosure made of methyl cellulose, polyvinyl alcohols, or denatured gelatins or starch for holding or containing compositions comprising the active ingredients. Hard shell capsules are typically made of blends of relatively high gel strength bone and pork skin gelatins. The capsule itself may contain small amounts of dyes, opaquing agents, plasticizers and preservatives.

Tablet- refers to a compressed or molded solid dosage form containing the active ingredients with suitable diluents. The tablet can be prepared by

compression of mixtures or granulations obtained by wet granulation, dry granulation or by compaction.

Oral gel- refers to the active ingredients dispersed or solubilized in a hydrophilic semi-solid matrix.

Powder for constitution refers to powder blends containing the active ingredients and suitable diluents which can be suspended in water or juices.

Diluent - refers to substances that usually make up the major portion of the composition or dosage form. Suitable diluents include sugars such as lactose, sucrose, mannitol and sorbitol; starches derived from wheat, corn, rice and potato; and celluloses such as microcrystalline cellulose. The amount of diluent in the composition can range from about 10 to about 90% by weight of the total composition, preferably from about 25 to about 75%, more preferably from about 30 to about 60% by weight, even more preferably from about 12 to about 60%.

Disintegrant - refers to materials added to the composition to help it break apart (disintegrate) and release the medicaments. Suitable disintegrants include starches; "cold water soluble" modified starches such as sodium carboxymethyl starch; natural and synthetic gums such as locust bean, karaya, guar, tragacanth and agar; cellulose derivatives such as methylcellulose and sodium carboxymethylcellulose; microcrystalline celluloses and cross-linked microcrystalline celluloses such as sodium croscarmellose; alginates such as alginic acid and sodium alginate; clays such as bentonites; and effervescent mixtures. The amount of disintegrant in the composition can range from about 2 to about 15% by weight of the composition, more preferably from about 4 to about 10% by weight.

Binder - refers to substances that bind or "glue" powders together and make them cohesive by forming granules, thus serving as the "adhesive" in the formulation. Binders add cohesive strength already available in the diluent

or bulking agent. Suitable binders include sugars such as sucrose; starches derived from wheat, corn rice and potato; natural gums such as acacia, gelatin and tragacanth; derivatives of seaweed such as alginic acid, sodium alginate and ammonium calcium alginate; cellulosic materials such as methylcellulose and sodium carboxymethylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose; polyvinylpyrrolidone; and inorganics such as magnesium aluminum silicate. The amount of binder in the composition can range from about 2 to about 20% by weight of the composition, more preferably from about 3 to about 10% by weight, even more preferably from about 3 to about 6% by weight.

Lubricant - refers to a substance added to the dosage form to enable the tablet, granules, etc. after it has been compressed, to release from the mold or die by reducing friction or wear. Suitable lubricants include metallic stearates such as magnesium stearate, calcium stearate or potassium stearate; stearic acid; high melting point waxes; and water soluble lubricants such as sodium chloride, sodium benzoate, sodium acetate, sodium oleate, polyethylene glycols and dl-leucine. Lubricants are usually added at the very last step before compression, since they must be present on the surfaces of the granules and in between them and the parts of the tablet press. The amount of lubricant in the composition can range from about 0.2 to about 5% by weight of the composition, preferably from about 0.5 to about 2%, more preferably from about 0.3 to about 1.5% by weight.

Glident - material that prevents caking and improve the flow characteristics of granulations, so that flow is smooth and uniform. Suitable glidents include silicon dioxide and talc. The amount of glident in the composition can range from about 0.1% to about 5% by weight of the total composition, preferably from about 0.5 to about 2% by weight.

Coloring agents - excipients that provide coloration to the composition or the dosage form. Such excipients can include food grade dyes and food grade dyes adsorbed onto a suitable adsorbent such as clay or aluminum oxide. The amount of the coloring agent can vary from about 0.1 to about 5% by weight of the composition, preferably from about 0.1 to about 1%.

Bioavailability - refers to the rate and extent to which the active drug ingredient or therapeutic moiety is absorbed into the systemic circulation from an administered dosage form as compared to a standard or control.

Conventional methods for preparing tablets are known. Such methods include dry methods such as direct compression and compression of granulation produced by compaction, or wet methods or other special procedures. Conventional methods for making other forms for administration such as, for example, capsules, suppositories and the like are also well known.

Another embodiment of the invention discloses the use of the inventive compounds or pharmaceutical compositions disclosed above for treatment of diseases such as, for example, hepatitis C and the like. The method comprises administering a therapeutically effective amount of the inventive compound or pharmaceutical composition to a patient having such a disease or diseases and in need of such a treatment.

In yet another embodiment, the compounds of the invention may be used for the treatment of HCV in humans in monotherapy mode or in a combination therapy (e.g., dual combination, triple combination etc.) mode such as, for example, in combination with antiviral and/or immunomodulatory agents. Examples of such antiviral and/or immunomodulatory agents include Ribavirin (from Schering-Plough Corporation, Madison, New Jersey) and Levovirin™ (from ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, California), VP 50406™ (from Viropharma, Incorporated, Exton, Pennsylvania), ISIS 14803™ (from

ISIS Pharmaceuticals, Carlsbad, California), Heptazyme™ (from Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, Colorado), VX 497™ (from Vertex Pharmaceuticals, Cambridge, Massachusetts), Thymosin™ (from SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, California), Maxamine™ (Maxim Pharmaceuticals, San Diego, California), mycophenolate mofetil (from Hoffman-LaRoche, Nutley, New Jersey), Interferon (such as, for example, Interferon-alpha, PEG-Interferon alpha conjugates) and the like. "PEG-Interferon alpha conjugates" are interferon alpha molecules covalently attached to a PEG molecule. Illustrative PEG-Interferon alpha conjugates include Interferon alpha-2a (Roferon™, from Hoffman La-Roche, Nutley, New Jersey) in the form of pegylated Interferon alpha-2a (e.g., as sold under the trade name Pegasys™), Interferon alpha-2b (Intron™, from Schering-Plough Corporation) in the form of pegylated Interferon alpha-2b (e.g., as sold under the trade name PEG-Intron™), Interferon alpha-2c (Berofor Alpha™, from Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Germany) or consensus Interferon as defined by determination of a consensus sequence of naturally occurring Interferon alphas (Infergen™, from Amgen, Thousand Oaks, California).

As stated earlier, the invention includes tautomers, rotamers, enantiomers and other stereoisomers of the inventive compounds also. Thus, as one skilled in the art appreciates, some of the inventive compounds may exist in suitable isomeric forms. Such variations are contemplated to be within the scope of the invention.

Another embodiment of the invention discloses a method of making the compounds disclosed herein. The compounds may be prepared by several techniques known in the art. Illustrative procedures are outlined in the following reaction schemes. The illustrations should not be construed to limit the scope of the invention which is defined in the appended claims.

Alternative mechanistic pathways and analogous structures will be apparent to those skilled in the art.

It is to be understood that while the following illustrative schemes describe the preparation of a few representative inventive compounds, suitable substitution of any of both the natural and unnatural amino acids will result in the formation of the desired compounds based on such substitution. Such variations are contemplated to be within the scope of the invention.

For the procedures described below, the following abbreviations are used:

THF: Tetrahydrofuran
DMF: N,N-Dimethylformamide
EtOAc: Ethyl acetate
AcOH: Acetic acid
HOOBt: 3-Hydroxy-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-one
EDCI: 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
NMM: N-Methylmorpholine
ADDP: 1,1'-(Azodicarbobyl)dipiperidine
DEAD: Diethylazodicarboxylate
MeOH: Methanol
EtOH: Ethanol
Et2O: Diethyl ether
DMSO: Dimethylsulfoxide
HOBt: N-Hydroxybenzotriazole
PyBrOP: Bromo-tris-pyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
DCM: Dichloromethane
DCC: 1,3-Dicyclohexylcarbodiimide
TEMPO: 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy
Phg: Phenylglycine

Chg: Cyclohexylglycine

Bn: Benzyl

Bzl: Benzyl

Et: Ethyl

Ph: Phenyl

IBoc: Isobutoxycarbonyl

IPr: Isopropyl

^{t}Bu or Bu^{t}: tert-Butyl

Boc: tert-Butyloxycarbonyl

Cbz: Benzyloxycarbonyl

Cp: Cyclopentyldienyl

Ts: p-toluenesulfonyl

Me: Methyl

HATU: O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate

DMAP: 4-N,N-Dimethylaminopyridine

BOP : Benzotriazol-1-yl-oxy-tris(dimethylamino)hexafluorophosphate

PCC: Pyridiniumchlorochromate

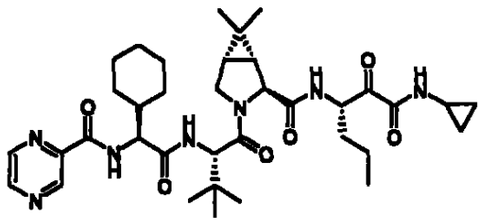
KHMDS: Potassium Hexamethyldisilazide or Potassium bis(trimethylsilylamide)

NaHMDS: Sodium Hexamethyldisilazide or Sodium bis(trimethylsilylamide)

LiHMDS: Lithium Hexamethyldisilazide or Lithium bis(trimethylsilylamide)

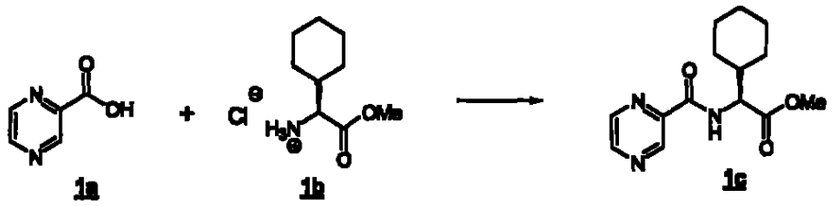
10% Pd/C: 10% Palladium on carbon (by weight).

Preparative Example 1



1

Step A



1a 1b 1c

A solution of pyrazinecarboxylic acid 1a (3 g) in 150 mL of dry dichloromethane and 150 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 6.03 g). L-cyclohexylglycine hydrochloride 1b (1.2 eq, 6.03 g) was added in small portions. Then, N-methylmorpholine (4 eq, 10 mL, d 0.920) was added dropwise. The reaction mixture was gradually warmed to room temperature and stirred for 20 h. All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 500 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (100 mL), aqueous 1N HCl (100 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (100 mL), and brine (100 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 5:95 to 3:7) to afford the product as a white solid.

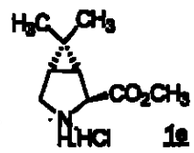
Step B



1c 1d

A solution of the methyl ester 1c (6.5 g) in 270 mL of a 1:1:1 mixture of THF/MeOH/water was cooled to 0 °C and treated with lithium hydroxide monohydrate (2.5 eq, 2.45 g). The mixture was stirred and monitored by TLC (acetone/hexanes; 2:8). When all the starting material had been consumed, the reaction mixture was treated with 100 mL of aqueous 1N HCl and the mixture was concentrated on the rotovap. Dichloromethane (250 mL) was added and layers separated. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 x 80 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated to afford the product as a white solid.

Step C

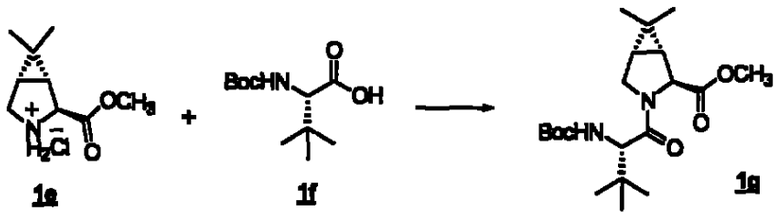


1e

The amino ester 1e was prepared following the method of R. Zhang and J. S. Madalengoitia (*J. Org. Chem.* 1999, *64*, 330), with the exception that the Boc group was cleaved by the reaction of the Boc-protected amino acid with methanolic HCl (4M HCl in dioxane was also employed for the deprotection).

(Note: In a variation of the reported synthesis, the sulfonium ylide was replaced with the corresponding phosphonium ylide).

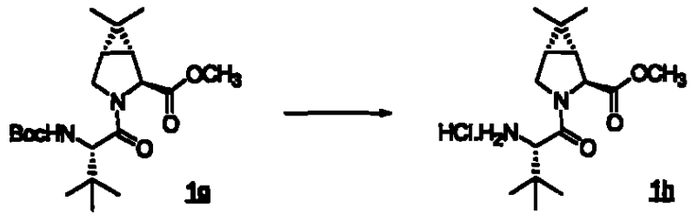
Step D



1e 1f 1g

A solution of Boc-tert-Leu 1f (Fluka, 5.0 g, 21.6 mmol) in dry CH_2Cl_2/DMF (50 mL, 1:1) was cooled to 0 °C and treated with the amine hydrochloride 1f (5.3 g, 25.7 mmol), NMM (6.5 g, 64.8 mmol) and BOP reagent (11.6 g, 25.7 mmol). The reaction was stirred at rt. for 24h, diluted with aqueous HCl (1 M) and extracted with CH_2Cl_2. The combined organic layers were washed with aqueous 1M HCl, saturated $NaHCO_3$, brine, dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated *in vacuo* and purified by chromatography (SiO_2, Acetone/Hexane 1:5) to yield 1g as a colorless solid.

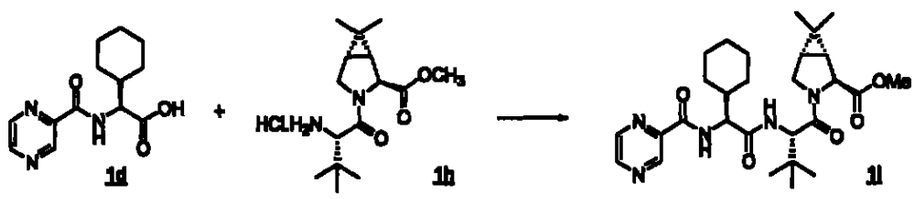
Step E



1g 1h

A solution of methyl ester 1g (4.0 g, 10.46 mmol) was dissolved in 4M HCl in dioxane and stirred at rt. for 3 h. The reaction mixture was concentrated in *vacuo* to obtain the amine hydrochloride salt, 1h which was used without purification.

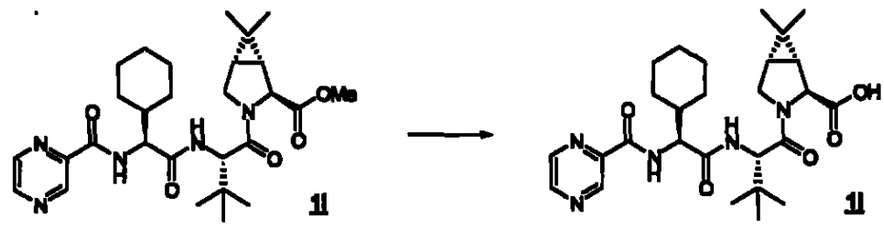
Step F



1d 1h 1l

A solution of acid 1d (100 mg) in 5 mL of dry dichloromethane and 5 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 202 mg). The amine hydrochloride 1h (1.2 eq, 146 mg) was added. Then, N-methylmorpholine (4 eq, 0.17 mL, d 0.920) was also added. The reaction mixture was stirred at 0 °C overnight. All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 80 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 4:6) to afford the product 1l as a white solid.

Step G

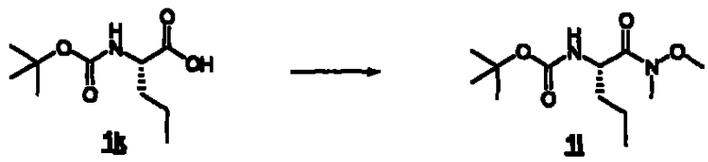


1l 1l

A solution of methyl ester 1l (180 mg) in 9 mL of a 1:1:1 mixture of THF/MeOH/water was cooled to 0 °C and treated with lithium hydroxide monohydrate (2.5 eq, 35 mg). The mixture was stirred and monitored by TLC (acetone/hexanes; 3:7). When all the starting material had been consumed,

the reaction mixture was treated with 50 mL of aqueous 1N HCl and the mixture was concentrated on the rotovap. Dichloromethane (80 mL) was added and layers separated. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 x 50 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated to afford the product 1j as a white solid.

Step H



1k 1l

A solution of acid 1k (2 g) in 100 mL of dry dichloromethane and 5 mL of DMF was treated with N,O-dimethylhydroxylamine hydrochloride (1.1 eq, 966 mg), BOP reagent (1.1 eq, 4.47 g), and N-methylmorpholine (3.3 eq, 3.3 mL, d 0.920) in that order. The mixture was heated to 50 °C overnight. The reaction mixture was concentrated to half its volume and diluted with 400 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (80 mL), aqueous 1M HCl (80 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (80 mL), and brine (80 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 5:95 to 3:7) to afford the product 1l as a clear oil.

Step I

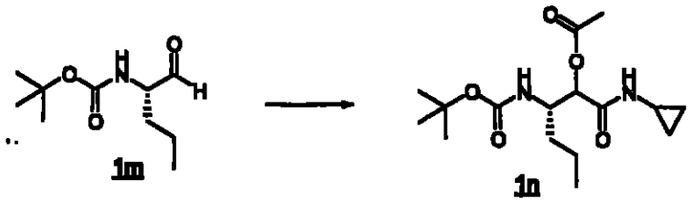


1l 1m

A solution of amide 1l (2.2 g) in 100 mL of dry THF was cooled to °C. Lithium aluminum hydride solution (1.3 eq) was added dropwise. The cooling

bath was removed after 5 min and the mixture was allowed to reach room temperature. TLC analysis (ethyl acetate/hexanes; 2:8) showed that all the starting material had been consumed. The excess LAH was carefully quenched by addition of drops of aqueous saturated sodium hydrogen sulfate. The mixture was diluted with 200 mL of ether and aqueous saturated sodium hydrogen sulfate was added in small portions until a white solid precipitated. The mixture was filtered thru celite and the filtrate was washed with 50 mL of brine. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: ethyl acetate/hexanes; 5:95 to 4:6) to afford the aldehyde product 1m as a colorless oil.

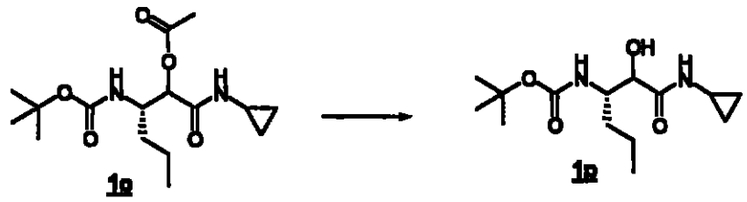
Step J



1m 1n

A solution of aldehyde 1m (1.8 g) in 100 mL of dry dichloromethane was treated with isonitrile (1.1 eq, 880 mg) and acetic acid (2 eq, 1.02 mL, d 1.0149). The mixture was stirred overnight. All the volatiles were removed under vacuum and the residue was chromatographed on silica gel (gradient: ethyl acetate/hexanes; 2:8 to 6:4) to afford the product 1n as a white solid.

Step K



1o 1p

A solution of acetate 1o (1.6 g) in 60 mL of a 1:1:1 mixture of THF/MeOH/water was treated with lithium hydroxide monohydrate and stirred for approximately 1 h until all the starting material had been consumed as determined by TLC analysis (ethyl acetate/hexanes; 1:1). The volatiles were removed in rotovap and the residue was diluted with dichloromethane (150 mL). The layers were separated and the aqueous layer was diluted with 30 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate solution and extracted with dichloromethane (3 x 80 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated to afford the product 1p as a white solid.

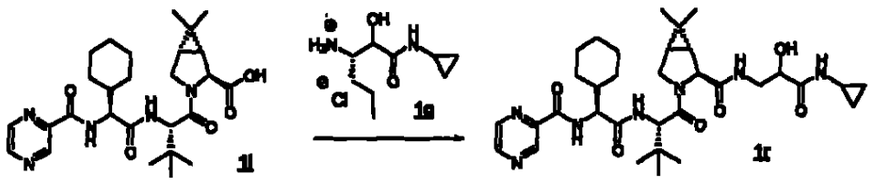
Step L



1p 1q

The N-Boc protected amine 1p (1.5 g) was dissolved in 20 mL of 4M HCl in dioxane. The reaction mixture was stirred for about 1 h until all the starting material had been consumed. All the volatiles were removed under vacuum to afford the product 1q as a white solid.

Step M

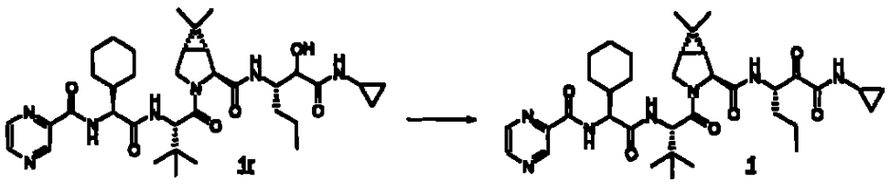


1l 1q 1r

A solution of acid 1j (50 mg) in 2 mL of dry dichloromethane and 2 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 52 mg). The amine hydrochloride 1q (1.2 eq, 26 mg) was added. Then, N-

methylmorpholine (4 eq, 0.042 mL, d 0.920) was also added. The reaction mixture was stirred at 0 °C overnight. All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 80 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The product 1r was used without further purification.

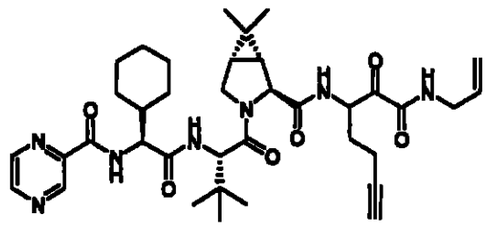
Step N



1r 1

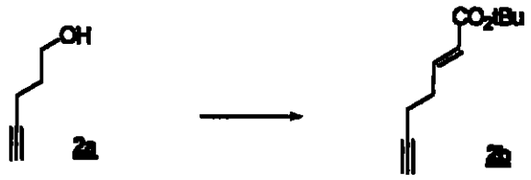
A solution of alcohol 1r (65 mg) in 5 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 121 mg). Reaction mixture was stirred at room temperature for 45 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) and stirred for 15 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 20 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 5:5) to afford the product 1 as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{36}H_{54}N_7O_8$ [M+H] 680.4136; found 680.4131.

Preparative Example 2



2

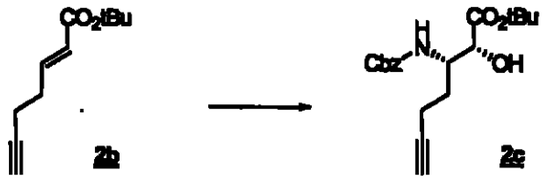
Step A



2a 2b

To a solution of 4-pentyn-1-ol, 2a (4.15g; Aldrich) was added Dess-Martin periodinane (30.25g; Aldrich) and the resulting mixture was stirred for 45min. before the addition of (tert-Butoxycarbonylmethylene)triphenylphosphorane (26.75g; Aldrich). The resulting dark reaction was stirred overnight, diluted with ethyl acetate), washed with aqueous sodium sulfite, saturated aqueous sodium bicarbonate, water, brine and dried. The volatiles were removed under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography using 1% ethyl acetate in hexanes as eluent to give the desired compound 2b (3.92g). Some impure fractions were also obtained but set aside at this time.

Step B



2b 2c

Using the alkene **2b** (1.9 g) in *n*-propanol (20mL; Aldrich)), benzyl carbamate (4.95g; Aldrich) in *n*-propanol (40mL), NaOH (1.29g) in water (79ml), tert-butyl hypochlorite (3.7ml), (DHQ)2PHAL (0.423g; Aldrich)) in *n*-propanol (37.5ml), and potassium osmate:dehydrate (0.1544g; Aldrich) and the procedure set forth in *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* (1998), 35, (23/24), pp. 2813-7 gave a crude product which was purified by silica gel column chromatography using EtOAc:Hexanes (1:5) to give the desired amino alcohol **2c** (1.37g, 37%) as a white solid.

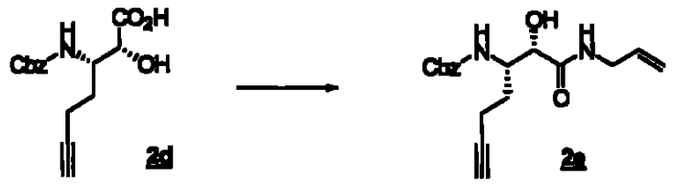
Step C



2c **2d**

To the ester **2c** (0.700g) was added 4M HCl in dioxane (20ml; Aldrich) and the resulting mixture was allowed to stand at room temperature overnight. The volatiles were removed under reduced pressure to give the acid **2d** (0.621g) as a white solid.

Step D

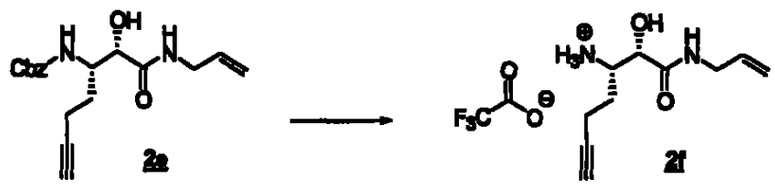


2d **2e**

BOP reagent (3.65g; Sigma) followed by triethylamine (3.45ml) were added to a dichloromethane (20ml) solution of the carboxylic acid **2d** (2.00 g) and allyl amine (0.616ml) at room temperature and the resulting mixture was stirred overnight. The reaction mixture was partitioned between EtOAc and 10% aqueous HCl. The organic phase was separated, washed with saturated aqueous sodium bicarbonate, water, dried (magnesium sulfate). The crude

reaction product was purified by silica gel column chromatography using (EtOAc:Hexanes; 70:30) as eluent to provide the desired amide 2e (1.73g) as a viscous yellow oil.

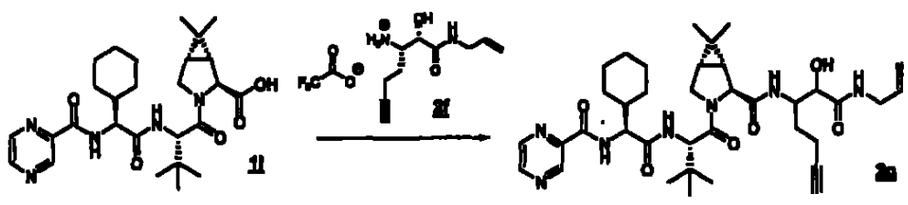
Step E



2e 2f

A solution of N-Cbz amine 2e (85.8 mg) in 5 mL of a 4:1 mixture of trifluoroacetic acid/methyl sulfide was stirred at room temperature for about 3 h. All the volatiles were removed under reduced pressure. The product 2f was placed under high vacuum for about 3 h and used without further purification.

Step F

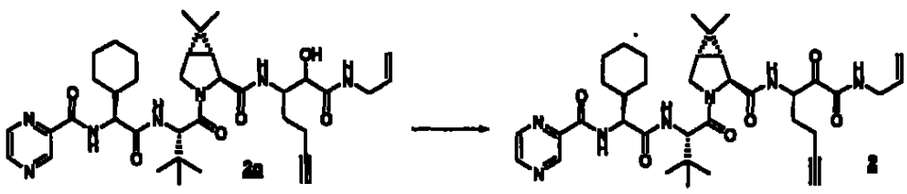


1J 2f 2g

A solution of acid 1J (50 mg) in 2 mL of dry dichloromethane and 2 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 72 mg). The amine salt 2f (1.3 eq, 72 mg) was added in dichloromethane. Then, N-methylmorpholine (4 eq, 0.042 mL, d 0.920) was also added. The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 80 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and

concentrated under reduced pressure. The product **2g** was used without further purification.

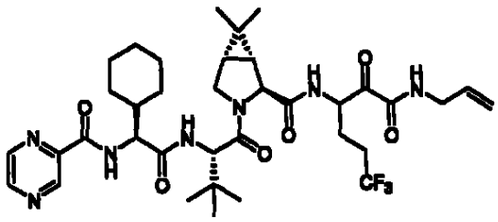
Step G



2g **2**

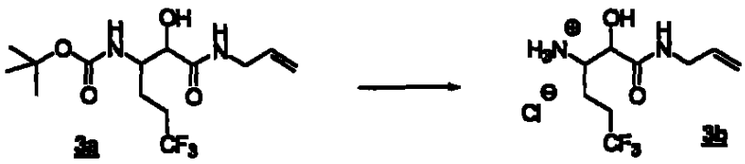
A solution of hydroxyamide **2g** (67 mg) in 5 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 123 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 45 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL) and stirred for 15 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 20 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 4:6) to afford the product **2** as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{34}H_{52}N_7O_6$ [M+H] 690.3979; found 690.3995.

Preparative Example 3



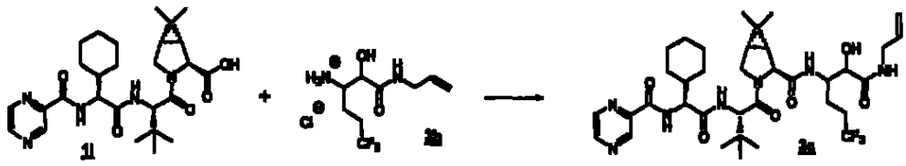
3

Step A



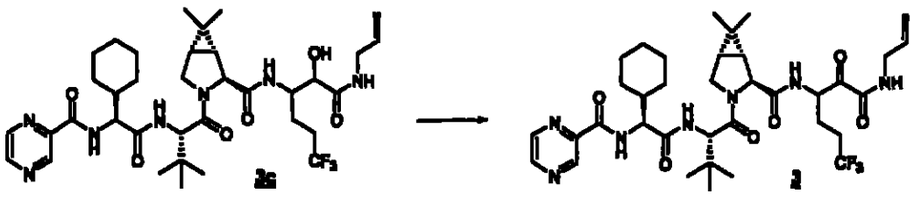
The N-Boc protected amine 3a (3 g) was dissolved in 60 mL of 4M HCl solution in dioxanes. The mixture was stirred at room temperature until all the starting material had been consumed as determined by TLC (ethyl acetate/hexanes; 6:4). After 2h, all the volatiles were removed under reduced pressure to afford the product 3b (2.4 g, 98%) as a white solid which was used without further purification.

Step B



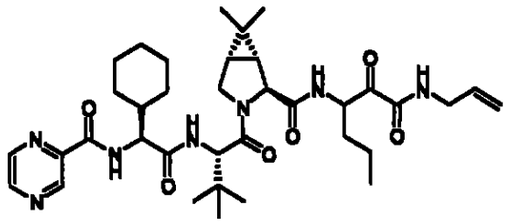
A solution of acid 1J (150 mg) in 3 mL of dry dichloromethane and 3 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 155 mg). The amine hydrochloride 3b (88 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.13 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (8 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 3c (210 mg) was used without further purification.

Step C



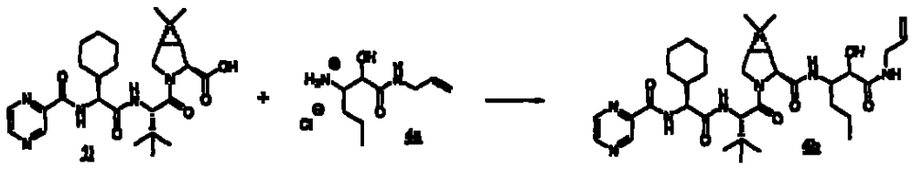
A solution of hydroxyamide 3c (214 mg) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 371 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) was also added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 45:55) to afford the product 3 as a semi-solid which was dissolved in 2 mL of dichloromethane and 10 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 3 as a white solid.(150 mg, 70% for two steps). HRMS (FAB) calcd for $C_{36}H_{51}F_3N_7O_6$ [M+H] 734.3853; found 734.3850.

Preparative Example 4



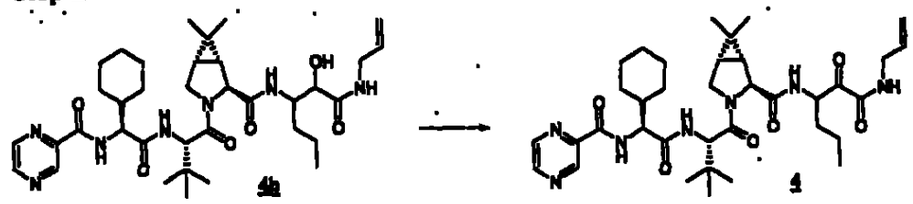
4

Step A



A solution of acid 1j (150 mg) in 3 mL of dry dichloromethane and 3 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 155 mg). The amine hydrochloride 4a (71 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.13 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL), and brine (8 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 4b (190 mg) was used without further purification.

Step B

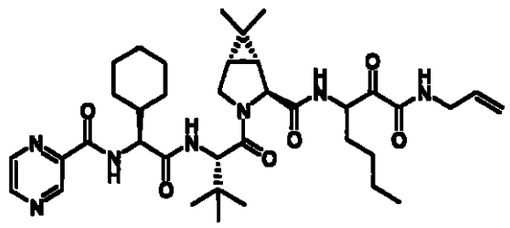


A solution of hydroxyamide 4b (199 mg) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 371 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) was also added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers

92

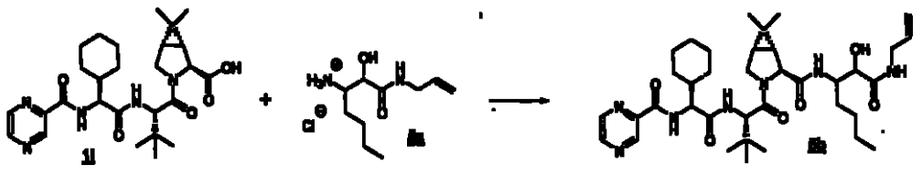
were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 4:6) to afford the product 4 as a semi-solid which was dissolved in 2 mL of dichloromethane and 10 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 4 (150 mg, 76% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{38}H_{54}N_7O_6$ [M+H] 680.4136; found 680.4165.

Preparative Example 5



5

Step A

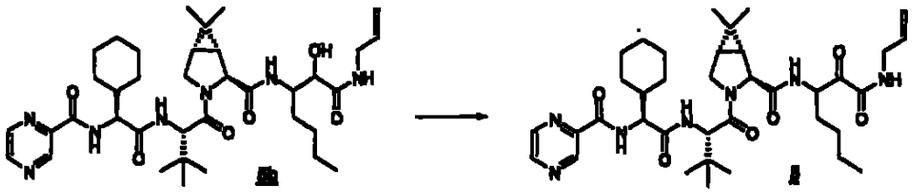


A solution of acid 1J (150 mg) in 3 mL of dry dichloromethane and 3 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 155 mg). The amine hydrochloride 5a (76 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.13 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL), and brine (8 mL). The organic layer was dried over magnesium

93

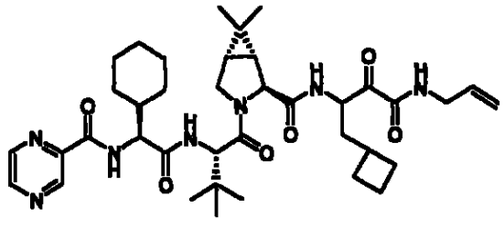
sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 5b (200 mg) was used without further purification.

Step B



A solution of hydroxyamide 5b (202 mg) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 371 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) was also added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 45:55) to afford the product 5 as a semi-solid which was dissolved in 2 mL of dichloromethane and 10 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 5 (170 mg, 84% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{37}H_{56}N_7O_6$ [M+H] 694.4292; found 694.4294.

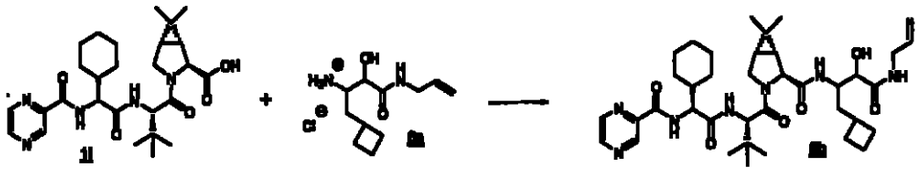
Preparative Example 6



94

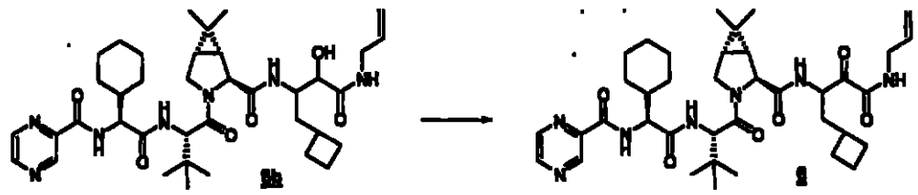
6

Step A



A solution of acid 1J (150 mg) in 3 mL of dry dichloromethane and 3 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 155 mg). The amine hydrochloride 6a (80 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.13 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL), and brine (8 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 6b (205 mg) was used without further purification.

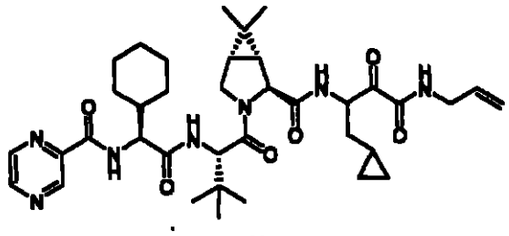
Step B



A solution of hydroxyamide 6b (206 mg) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 371 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL) was also added

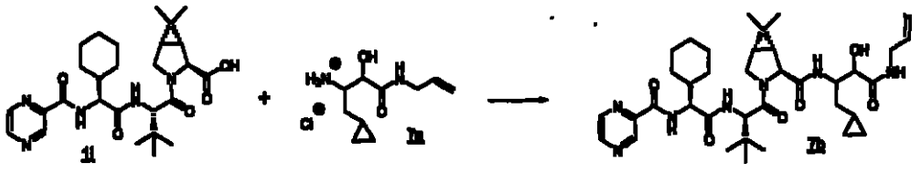
and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 45:55) to afford the product 6 as a semi-solid which was dissolved in 2 mL of dichloromethane and 10 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 6 (169 mg, 82% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{38}H_{56}N_7O_6$ [M+H] 706.4292; found 706.4280.

Preparative Example 7



7

Step A

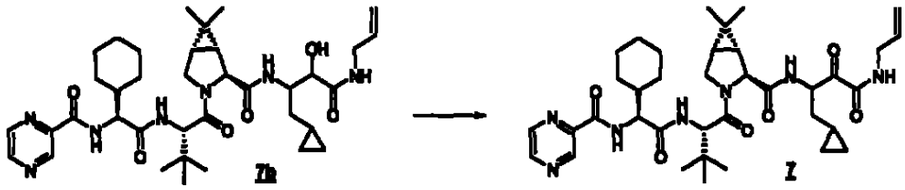


11 7a 7b

A solution of acid 1J (80 mg) in 3 mL of dry dichloromethane and 3 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 83 mg). The amine hydrochloride 7a (1.1 eq, 40 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.07 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was

washed with water (10 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (8 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 7b (105 mg) was used without further purification.

Step B

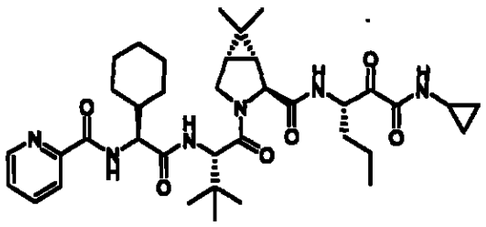


7b 7

A solution of hydroxyamide 7b (108 mg) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (3 eq, 198 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL) was added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 45:55) to afford the product 7 as a semi-solid which was dissolved in 2 mL of dichloromethane and 10 mL of hexane. The solvent was removed under reduced pressure to give the product 7 (86 mg, 80% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{37}H_{54}N_7O_6$ [M+H] 692.4136; found 692.4145.

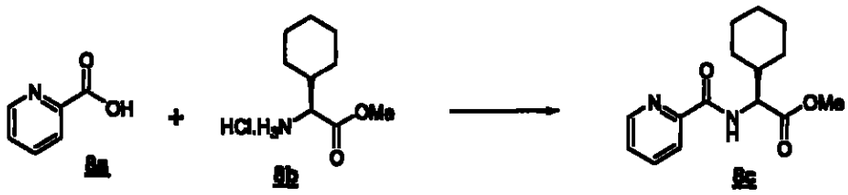
Preparative Example 8

97



8

Step A



8a 8b 8c

A solution of picolinic acid 8a (1.0 g) in 50 mL of dry DMF and 50 mL of dry dichloromethane was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 4.3 g). Cyclohexylglycine methyl ester hydrochloride (1.1 eq, 1.85 g) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 3.6 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 500 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (100 mL), aqueous 1N HCl (100 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (100 mL), and brine (100 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 5:95 to 35:65) to afford the product 8c (1.9 g, 85%) as a clear semi-solid.

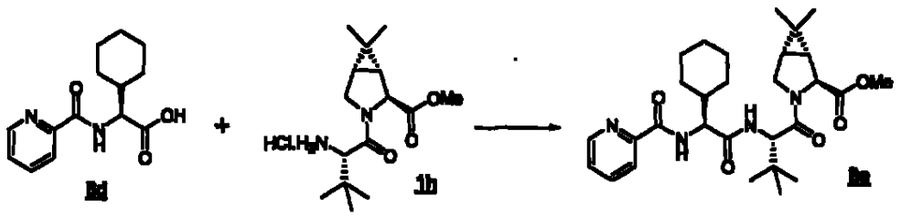
Step B



8c 8d

A solution of methyl ester 8c (1.9 g) in THF/MeOH/H2O (100:100:50) was treated with lithium hydroxide monohydrate (2.5 eq, 2.82 g) at 0 °C. The reaction mixture was stirred until all the starting material had been consumed as determined by TLC analysis (acetone/hexanes; 15:85). The reaction mixture was treated with 100 mL of aqueous 1N HCl (pH of the mixture became approximately 1) and all the volatiles were removed under reduced pressure. The residue was extracted with dichloromethane (3 x 100 mL). The combined organic extracts were dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The crude product 8d (1.6 g, 90%) was used without further purification.

Step C



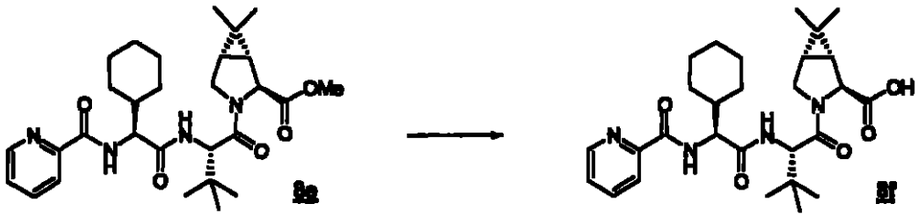
8d 1h

A solution of acid 8d (235 mg) in 10 mL of dry DMF and 10 mL of dichloromethane was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 480 mg). The amine salt 1h (1.1 eq, 300 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.4 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 100 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (20 mL), aqueous saturated

qq

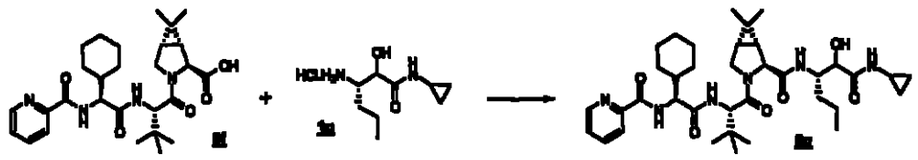
sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 5:95 to 4:6) to afford the product 8e (440 mg, 93%).

Step D



A solution of methyl ester 8e (440 mg) in 30 mL of a THF/MeOH/H2O mixture (1:1:1) was treated with lithium hydroxide monohydrate (2.5 eq, 88 mg) at 0 °C. The reaction mixture was stirred until all the starting material had been consumed as determined by TLC (acetone/hexanes; 3:7). The reaction mixture was treated with 20 mL of 1N aqueous HCl (pH of the mixture became approximately 1) and all the volatiles were removed under reduced pressure. The residue was extracted with dichloromethane (3 x 60 mL). The combined organic extracts were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated. The crude product 8f (419 mg, 98%) was used without further purification.

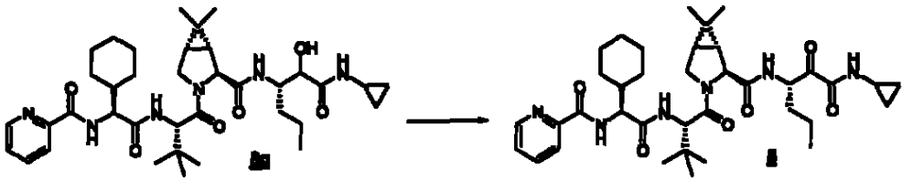
Step E



A solution of acid 8f (60 mg) in 2 mL of dry dichloromethane and 1 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 83 mg). The

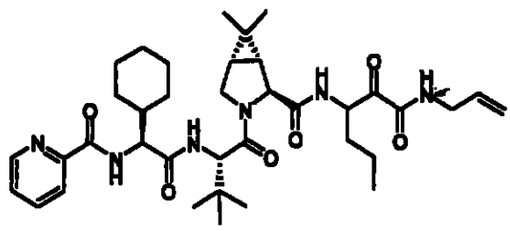
amine salt 1g (1.1 eq, 38 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.07 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 8g (105 mg) was used without further purification.

Step F



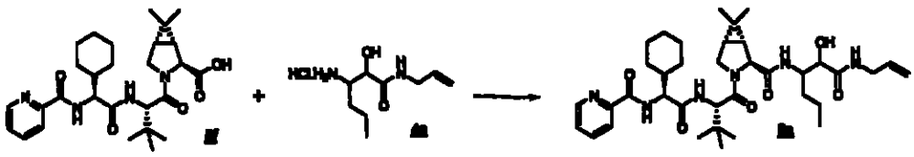
A solution of hydroxyamide 8g (0.156 mmol) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.3 eq, 152 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) was added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 45:55) to afford the product 8 as a solid which was dissolved in 0.5 mL of dichloromethane and 5 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 8 (59 mg, 56% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{37}H_{55}N_6O_8$ [M+H] 679.4183; found 679.4191.

Preparative Example 9



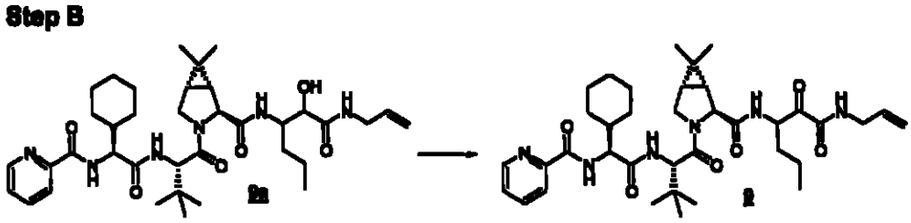
9

Step A



A solution of acid 8f (80 mg) in 2 mL of dry dichloromethane and 1 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 83 mg). The amine salt 4a (1.1 eq, 38 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.07 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 9a (105 mg) was used without further purification.

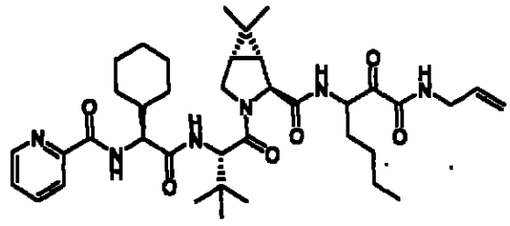
Step B



102

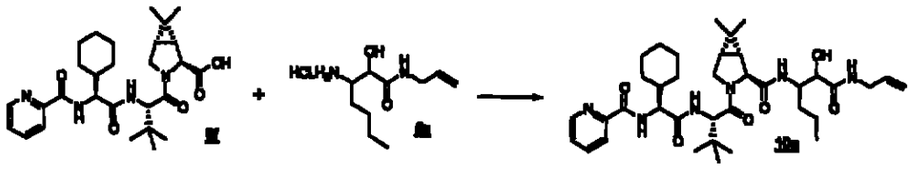
A solution of hydroxyamide 9a (0.156 mmol) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.3 eq, 152 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) was added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 4:6) to afford the product 9 as a solid which was dissolved in 0.5 mL of dichloromethane and 5 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 9 (68 mg, 64% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H]; 679.4183 found 679.4181.

Preparative Example 10



10

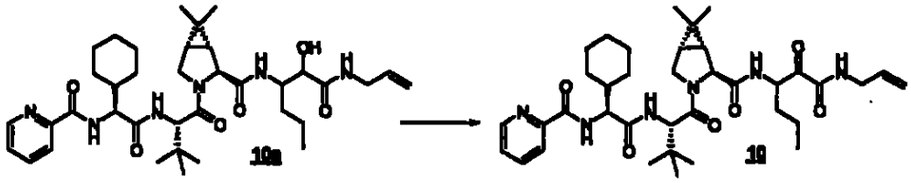
Step A



A solution of acid 8f (80 mg) in 2 mL of dry dichloromethane and 1 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 83 mg). The

amine salt 5a (1.1 eq, 41 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.07 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 10a (105 mg) was used without further purification.

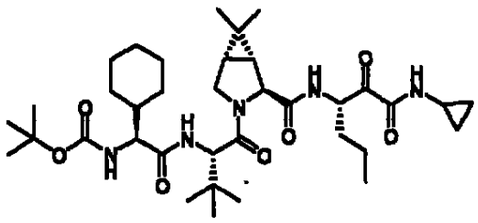
Step B



10a 10

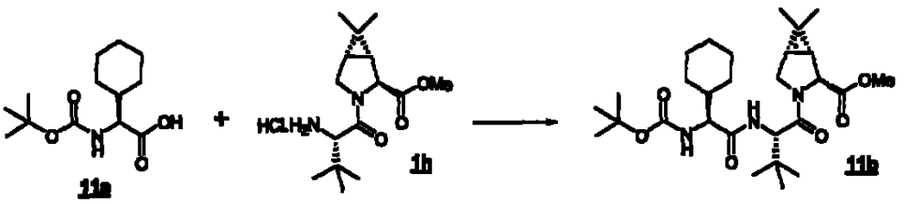
A solution of hydroxyamide 10a (0.156 mmol) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.3 eq, 152 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL) was added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 4:6) to afford the product 10 as a solid which was dissolved in 0.5 mL of dichloromethane and 5 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 10 (68 mg, 63% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{38}H_{57}N_6O_8$ [M+H] 693.4340; found 693.4310.

Preparative Example 11



11

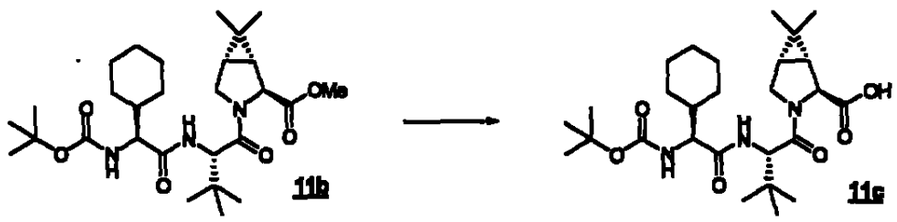
Step A



11a **1h** **11b**

A solution of N-Boc-cHex-Glycine **11a** (916 mg) in 20 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 1.89 g). The amine salt **1h** (1.1 eq, 1.2 g) was added in 30 mL of dry dichloromethane followed by N-methylmorpholine (4 eq, 1.55 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 250 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (100 mL), aqueous 1N HCl (50 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (50 mL), and brine (50 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 5:95 to 25:75) to afford the product **11b** (1.65 g, 89%) as a white solid.

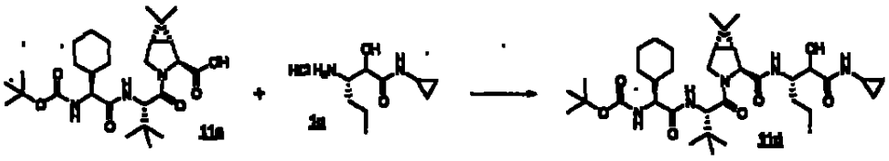
Step B



11b 11c

A solution of methyl ester 11b (1.64 mg) in 60 mL a THF/MeOH/H2O mixture (1:1:1) was treated with lithium hydroxide monohydrate (2.5 eq, 330 mg) at 0 °C. The cooling bath was removed and the reaction mixture was stirred until all the starting material had been consumed as determined by TLC (acetone/hexanes; 3:7). The reaction mixture was treated with 50 mL of 1N aqueous HCl (pH of the mixture became approx 1) and all the volatiles were removed under reduced pressure. The residue was extracted with dichloromethane (3 x 100 mL). The combined organic extracts were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated. The product 11c was obtained as a white solid (1.61 g, 98%) and used without further purification.

Step C

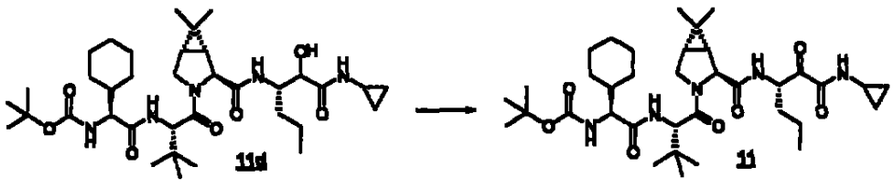


11a 1g 11d

A solution of acid 11c (248 mg) in 10 mL of dry dichloromethane and 5 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 120 mg). The amine salt 1g (1.1 eq, 120 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.22 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 150 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (40 mL), aqueous 1N HCl (20 mL), aqueous saturated

sodium bicarbonate solution (20 mL), and brine (20 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 11d (330 mg) was used without further purification.

Step D



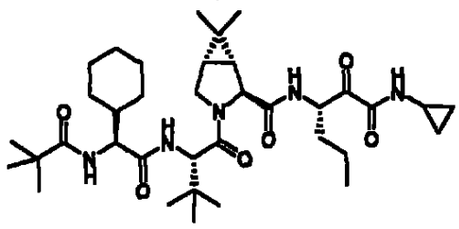
11d 11

A solution of hydroxyamide 11d (0.489 mmol) in 20 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.3 eq, 152 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL) was added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 4:6) to afford the product 11e as a solid which was dissolved in 1 mL of dichloromethane and 8 mL of hexane, the solvent was removed under reduced pressure to give the product 11e (280 mg, 85% for two steps) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{38}H_{60}N_5O_7$ [M+H] 674.4492; found 674.4507.

Preparative Example 12

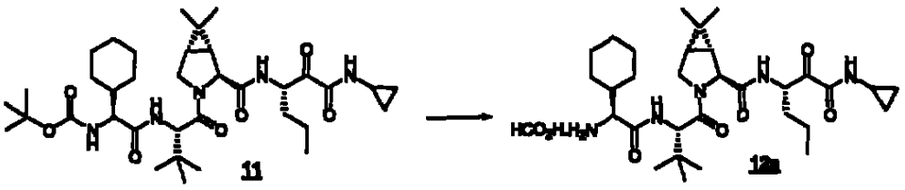
107

87



12

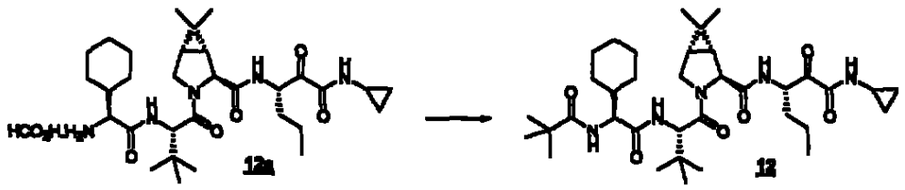
Step A



11 12a

The N-Boc protected amine 11 (80 mg) was dissolved in 5 mL of formic acid. The resulting solution was stirred at room temperature until all the starting material had been consumed as determined by TLC (acetone/hexanes; 3:7). After 4 h, the volatiles were removed under reduced pressure and the residue was placed under high vacuum. No further purification was done for the product 12a (70 mg, 98%).

Step B

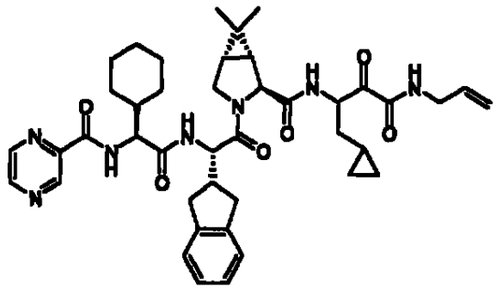


12a 12

The amine salt 12a (0.118 mmol) was dissolved in 5 mL of dry dichloromethane and cooled to 0 °C. N-methylmorpholine (2.5 eq, 0.032 mL, d 0.920) was added followed by pivalic anhydride (1.2 eq, 0.028 mL, d 0.910) in 2 mL of dry dichloromethane. The mixture was stirred overnight (temp 0 to

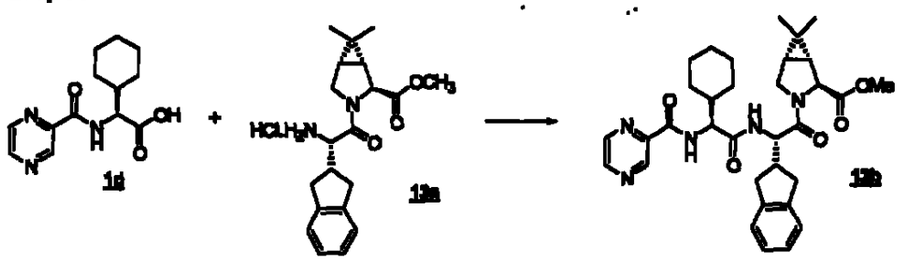
25 °C). The reaction mixture was diluted with 50 mL of dichloromethane. The solution was washed with 10 mL of aqueous 1M HCl, 10 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate solution, and 10 mL of brine. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 1:1) to afford the product 12 (28 mg, 36%) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{38}H_{50}N_8O_8$ [M+H] 658.4543; found 658.4558.

Preparative Example 13



13

Step A

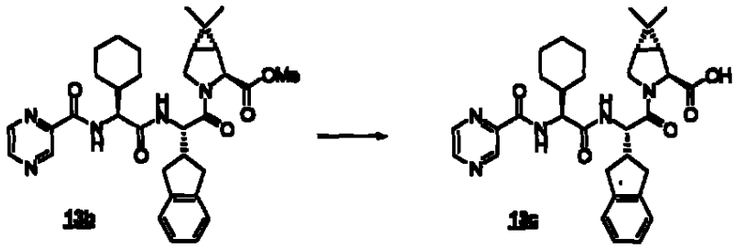


1d 13a 13b

A solution of acid 1d (90 mg) in 5 mL of dry dichloromethane and 3 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 180 mg). The amine hydrochloride 13a (1.0 eq, 128 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.15 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred

overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 80 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (15 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (15 mL), and brine (15 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 1:9 to 4:6) to give the product 13b (160 mg, 80%) as a white solid.

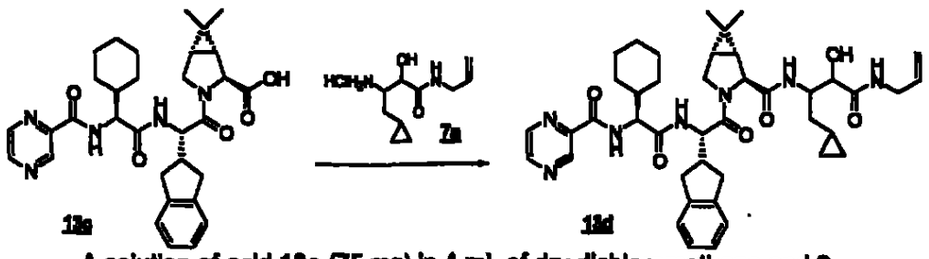
Step B



13b 13c

The methyl ester 13b (160 mg) was dissolved in 15 mL of a 1:1:1 mixture of THF/methanol/water and treated with lithium hydroxide monohydrate (2.5 eq, 28 mg) at 0 °C. The reaction mixture was gradually warmed up to room temperature and stirred for 2 h until all the starting material had been consumed. Aqueous 1M HCl (30 mL) was added and all the volatiles were removed in rotovap. The residue was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic extracts were dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated. The crude product 13c (150 mg, 98%) was used without further purification.

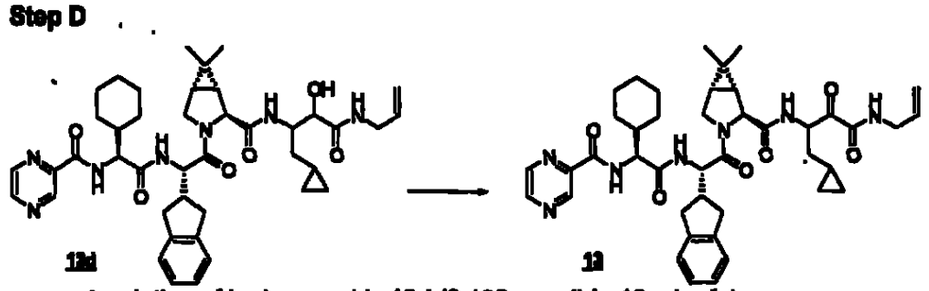
Step C



13c 7a 13d

A solution of acid 13c (75 mg) in 4 mL of dry dichloromethane and 2 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 69 mg). The amine hydrochloride 7a (1.2 eq, 37 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.06 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 13d was used without further purification.

Step D

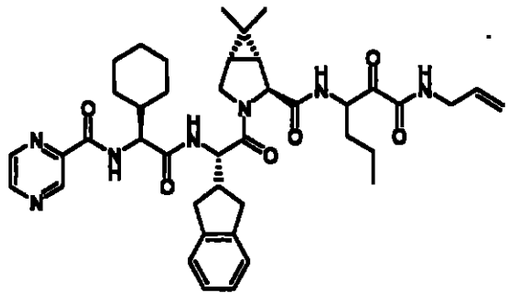


13d 13

A solution of hydroxyamide 13d (0.130 mmol) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.0 eq, 110 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (20 mL) was also added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was

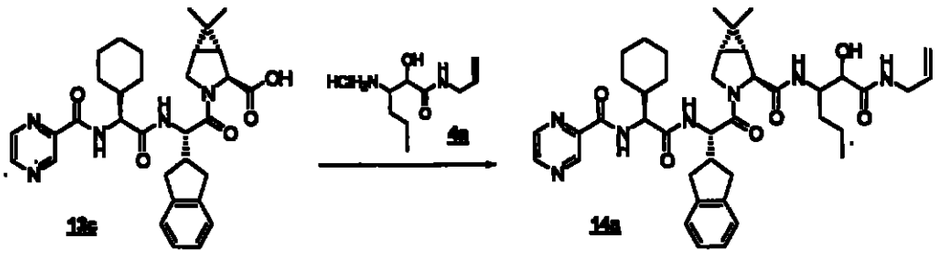
extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 5:5) to afford the product 13 (69 mg, 70% for two steps) as white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{42}H_{54}N_7O_6$ [M+H] 752.4136; found 752.4122.

Preparative Example 14



14

Step A



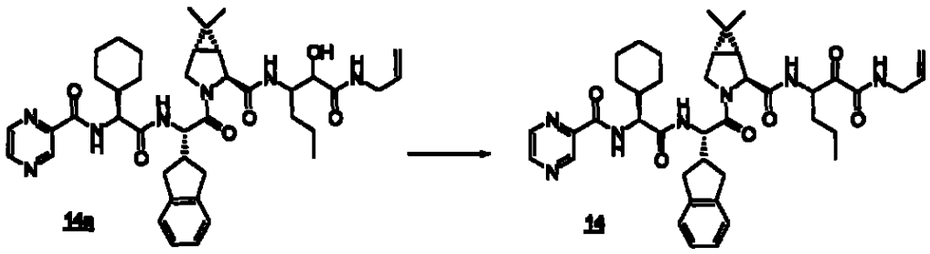
13c 4a 14a

A solution of acid 13c (75 mg) in 4 mL of dry dichloromethane and 2 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 69 mg). The amine hydrochloride 4a (1.2 eq, 35 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.06 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated

112

sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product **14a** was used without further purification.

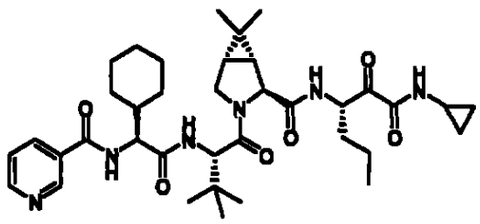
Step B



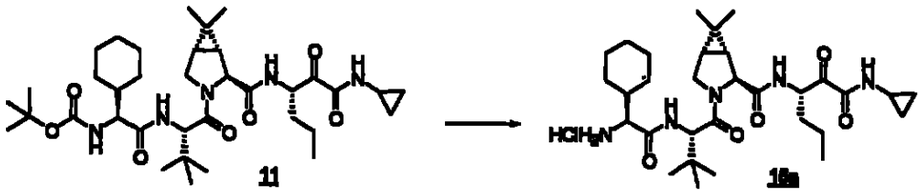
14a **14**

A solution of hydroxyamide **14a** (0.130 mmol) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.0 eq, 110 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate solution (20 mL) was also added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 5:5) to afford the product **14** (66 mg, 69% for two steps) as white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{41}H_{54}N_7O_8$ [M+H] 740.4136; found 740.4146.

Preparative Example 15



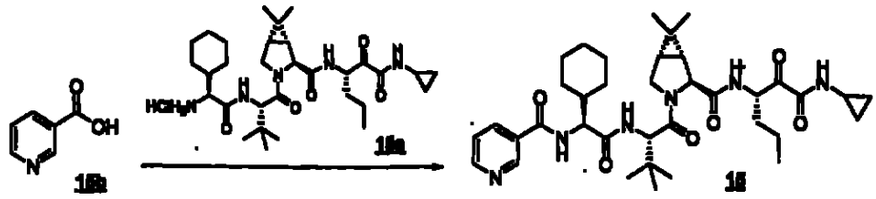
Step A



11 15a

The N-Boc protected amine 11 was dissolved in 5 mL of 4M HCl solution in dioxanes. The resulting solution was stirred at room temperature for about 45 min. All the volatiles were removed under reduced pressure to afford the product 15a (60 mg, 98%) as a white solid. No further purification was carried out for the product.

Step B

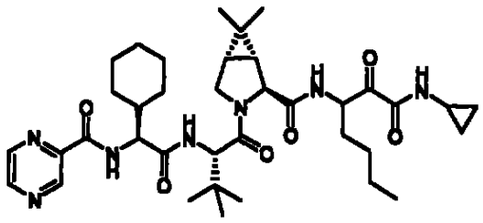


15b 15a 15

A solution of nicotinic acid 15b (12 mg) in 1 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1.4 eq, 54 mg). The amine hydrochloride 15a (1.0 eq, 62 mg) was added in 3 mL of dry dichloromethane followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.05 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate solution (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel (gradient:

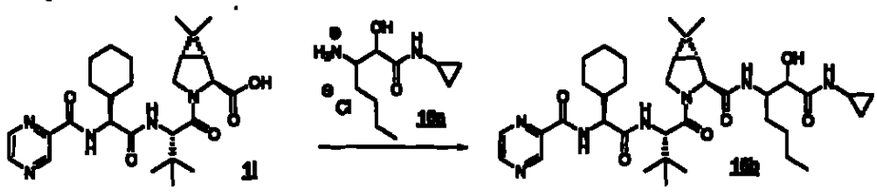
acetone/hexanes; 2:8 to 1:1) to give the product 15 (16 mg, 23%) as a white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{37}H_{55}N_6O_8$ [M+H] 679.4183; found 679.4193.

Preparative Example 16



16

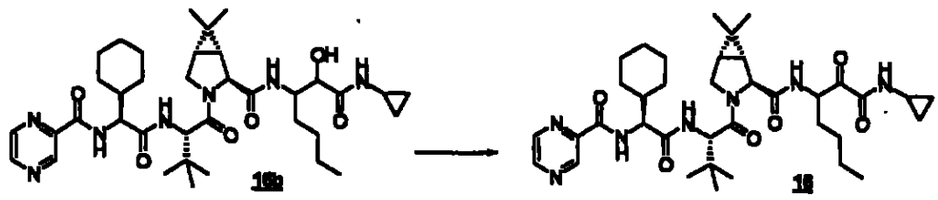
Step A



1J 16a 16b

A solution of acid 1J (80 mg) in 2 mL of dry dichloromethane and 2 mL of dry DMF was stirred at 0 °C and treated with HATU (1:4 eq, 83 mg). The amine hydrochloride 16a (1.2 eq, 40 mg) was added followed by N-methylmorpholine (4 eq, 0.07 mL, d 0.920). The reaction mixture was stirred overnight (temp 0 to 25 °C). All the volatiles were removed under vacuum and the residue was dissolved in 50 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with water (20 mL), aqueous 1N HCl (10 mL), aqueous saturated sodium bicarbonate (10 mL), and brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product 16b was used without further purification.

Step B



16b 16

A solution of hydroxyamide 16b (0.155 mmol) in 10 mL of dry dichloromethane was treated with Dess-Martin periodinane (2.0 eq, 131 mg). The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was treated with aqueous 1M sodium thiosulfate solution (10 mL) and stirred for 5 min. Aqueous saturated sodium bicarbonate (20 mL) was also added and stirring was continued for further 10 min. The mixture was extracted with dichloromethane (3 x 30 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (gradient: acetone/hexanes; 2:8 to 5:5) to afford the product 16 (55 mg, 51%) as white solid. HRMS (FAB) calcd for $C_{37}H_{56}N_7O_8$ [M+H] 694.4292; found 694.4310.

The present invention relates to novel HCV protease inhibitors. This utility can be manifested in their ability to inhibit the HCV NS2/NS4a serine protease. A general procedure used for such manifestation is detailed by the following *in vitro* assay.

Assay for HCV Protease Inhibitory Activity:

Spectrophotometric Assay: Spectrophotometric assay for the HCV serine protease was performed on the inventive compounds by following the procedure described by R. Zhang *et al*, *Analytical Biochemistry*, 270 (1999) 268-275, the disclosure of which is incorporated herein by reference. The assay based on the proteolysis of chromogenic ester substrates is suitable for the continuous monitoring of HCV NS3 protease activity. The substrates were derived from the P side of the NS5A-NS5B junction sequence (Ac-

DTEDVVX(Nva), where X = A or P) whose C-terminal carboxyl groups were esterified with one of four different chromophoric alcohols (3- or 4-nitrophenol, 7-hydroxy-4-methyl-coumarin, or 4-phenylazophenol). Illustrated below are the synthesis, characterization and application of these novel spectrophotometric ester substrates to high throughput screening and detailed kinetic evaluation of HCV NS3 protease inhibitors.

Materials and Methods:

Materials: Chemical reagents for assay related buffers were obtained from Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri). Reagents for peptide synthesis were from Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, California), Applied Biosystems (Foster City, California) and Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts). Peptides were synthesized manually or on an automated ABI model 431A synthesizer (from Applied Biosystems). UV/VIS Spectrometer model LAMBDA 12 was from Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut) and 96-well UV plates were obtained from Corning (Corning, New York). The prewarming block was from USA Scientific (Ocala, Florida) and the 96-well plate vortexer is from Labline Instruments (Melrose Park, Illinois). A Spectramax Plus microtiter plate reader with monochrometer was obtained from Molecular Devices (Sunnyvale, California).

Enzyme Preparation: Recombinant heterodimeric HCV NS3/NS4A protease (strain 1a) was prepared by using the procedures published previously (D. L. Sali *et al*, *Biochemistry*, 37 (1998) 3392-3401). Protein concentrations were determined by the Biorad dye method using recombinant HCV protease standards previously quantified by amino acid analysis. Prior to assay initiation, the enzyme storage buffer (50 mM sodium phosphate pH 8.0, 300 mM NaCl, 10% glycerol, 0.05% lauryl maltoside and 10 mM DTT) was exchanged for the assay buffer (25 mM MOPS pH 6.5, 300 mM NaCl, 10%

glycerol, 0.05% lauryl maltoside, 5 μM EDTA and 5 μM DTT) utilizing a Biorad Bio-Spin P-6 prepacked column.

Substrate Synthesis and Purification: The synthesis of the substrates was done as reported by R. Zhang *et al*, (*ibid.*)-and is initiated by anchoring Fmoc-Nva-OH to 2-chlorotrityl chloride resin using a standard protocol (K. Barlos *et al, Int. J. Pept. Protein Res.*, 37 (1991), 513-520). The peptides were subsequently assembled, using Fmoc chemistry, either manually or on an automatic ABI model 431 peptide synthesizer. The N-acetylated and fully protected peptide fragments were cleaved from the resin either by 10% acetic acid (HOAc) and 10% trifluoroethanol (TFE) in dichloromethane (DCM) for 30 min, or by 2% trifluoroacetic acid (TFA) in DCM for 10 min. The combined filtrate and DCM wash was evaporated azeotropically (or repeatedly extracted by aqueous Na_2CO_3 solution) to remove the acid used in cleavage. The DCM phase was dried over Na_2SO_4 and evaporated.

The ester substrates were assembled using standard acid-alcohol coupling procedures (K. Holmber *et al, Acta Chem. Scand.*, B33 (1979) 410-412). Peptide fragments were dissolved in anhydrous pyridine (30-60 mg/ml) to which 10 molar equivalents of chromophore and a catalytic amount (0.1 eq.) of para-toluenesulfonic acid (pTSA) were added. Dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 3 eq.) was added to initiate the coupling reactions. Product formation was monitored by HPLC and could be found to be complete following 12-72 hour reaction at room temperature. Pyridine solvent was evaporated under vacuum and further removed by azeotropic evaporation with toluene. The peptide ester was deprotected with 95% TFA in DCM for two hours and extracted three times with anhydrous ethyl ether to remove excess chromophore. The deprotected substrate was purified by reversed phase HPLC on a C3 or C8 column with a 30% to 60% acetonitrile gradient (using six column volumes). The overall yield following HPLC

purification was approximately 20-30%. The molecular mass can be confirmed by electrospray ionization mass spectroscopy. The substrates were stored in dry powder form under desiccation.

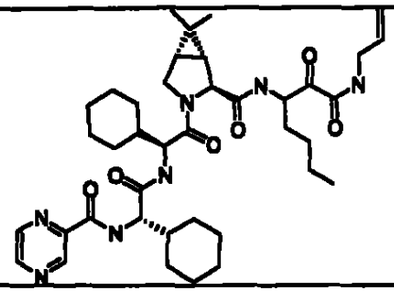
Spectra of Substrates and Products: Spectra of substrates and the corresponding chromophore products were obtained in the pH 6.5 assay buffer. Extinction coefficients were determined at the optimal off-peak wavelength in 1-cm cuvettes (340 nm for 3-Np and HMC, 370 nm for PAP and 400 nm for 4-Np) using multiple dilutions. The optimal off-peak wavelength was defined as that wavelength yielding the maximum fractional difference in absorbance between substrate and product (product OD - substrate OD)/substrate OD).

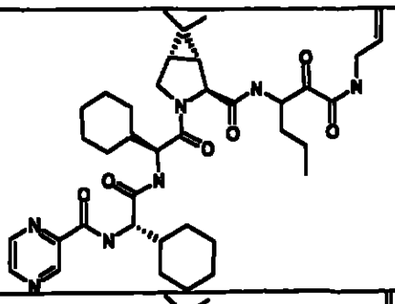
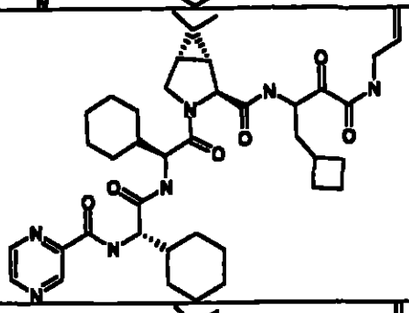
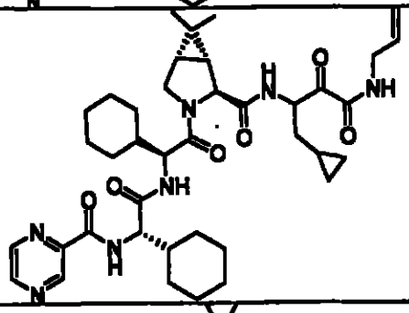
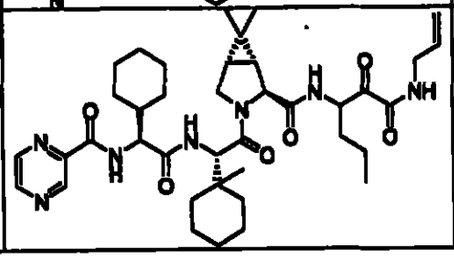
Protease Assay: HCV protease assays were performed at 30°C using a 200 µl reaction mix in a 96-well microtiter plate. Assay buffer conditions (25 mM MOPS pH 6.5, 300 mM NaCl, 10% glycerol, 0.05% lauryl maltoside, 5 µM EDTA and 5 µM DTT) were optimized for the NS3/NS4A heterodimer (D. L. Sali *et al*, *Ibid.*)). Typically, 150 µl mixtures of buffer, substrate and inhibitor were placed in wells (final concentration of DMSO ≤4 % v/v) and allowed to preincubate at 30 °C for approximately 3 minutes. Fifty µls of prewarmed protease (12 nM, 30°C) in assay buffer, was then used to initiate the reaction (final volume 200 µl). The plates were monitored over the length of the assay (60 minutes) for change in absorbance at the appropriate wavelength (340 nm for 3-Np and HMC, 370 nm for PAP, and 400 nm for 4-Np) using a Spectromax Plus microtiter plate reader equipped with a monochrometer (acceptable results was obtained with plate readers that utilize cutoff filters). Proteolytic cleavage of the ester linkage between the Nva and the chromophore was monitored at the appropriate wavelength against a no enzyme blank as a control for non-enzymatic hydrolysis. The evaluation of substrate kinetic parameters was performed over a 30-fold substrate

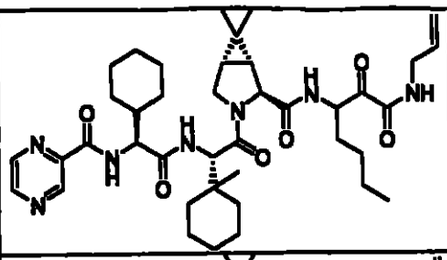
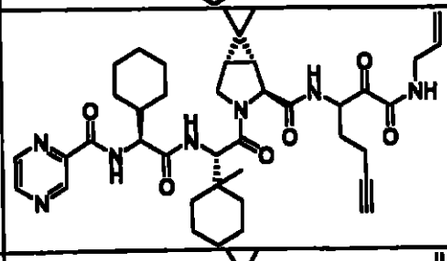
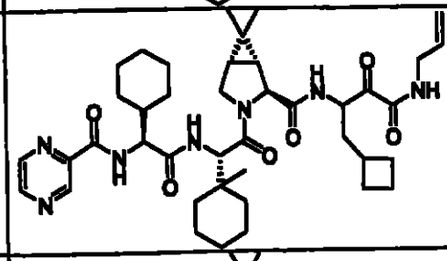
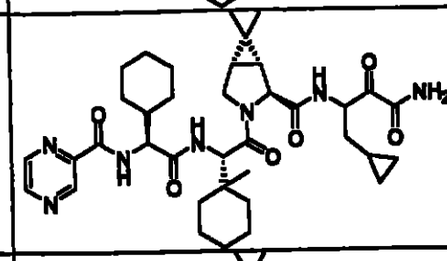
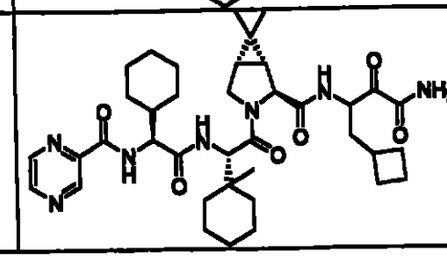
concentration range (~6-200 μM). Initial velocities were determined using linear regression and kinetic constants are obtained by fitting the data to the Michaelis-Menten equation using non-linear regression analysis (Mac Curve Fit 1.1, K. Raner). Turnover numbers (k_{cat}) were calculated assuming the enzyme is fully active.

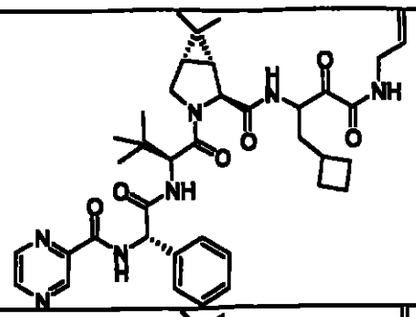
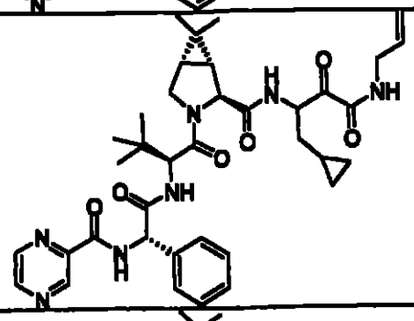
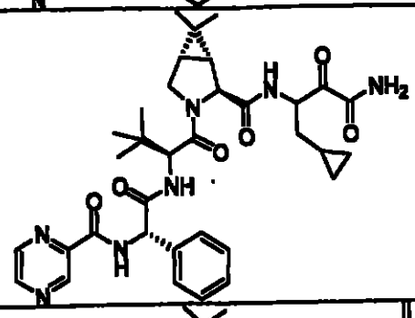
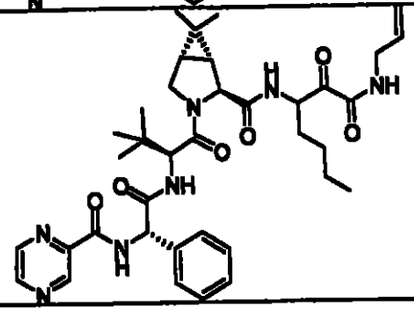
Evaluation of Inhibitors and Inactivators: The inhibition constants (K_i) for the competitive inhibitors Ac-D-(D-Gla)-L-I-(Cha)-C-OH (27), Ac-DTEDVVA(Nva)-OH and Ac-DTEDVVP(Nva)-OH were determined experimentally at fixed concentrations of enzyme and substrate by plotting v_o/v_i vs. inhibitor concentration ($[I]_o$) according to the rearranged Michaelis-Menten equation for competitive inhibition kinetics: $v_o/v_i = 1 + [I]_o/(K_i(1 + [S]_o/K_m))$, where v_o is the uninhibited initial velocity, v_i is the initial velocity in the presence of inhibitor at any given inhibitor concentration ($[I]_o$) and $[S]_o$ is the substrate concentration used. The resulting data were fitted using linear regression and the resulting slope, $1/(K_i(1+[S]_o/K_m)$, was used to calculate the K_i^* value. The thus-obtained K_i^* values for some of the inventive compounds are shown in Table 2 and Table 3.

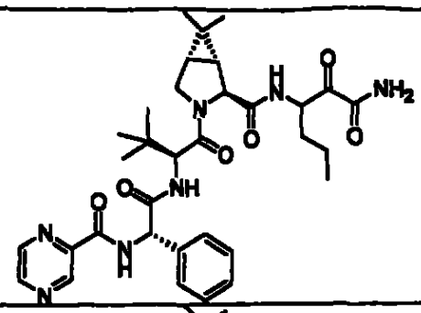
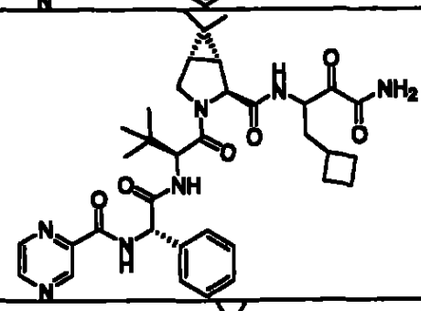
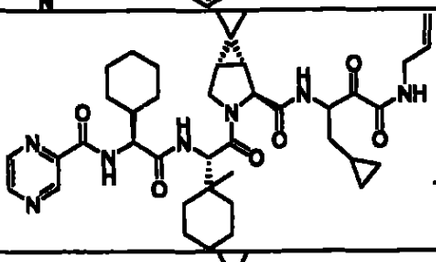
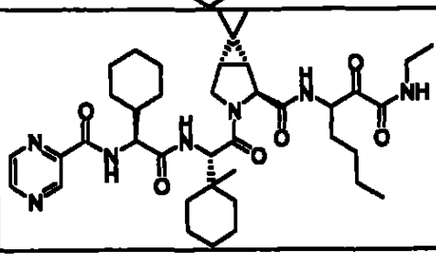
Table 2

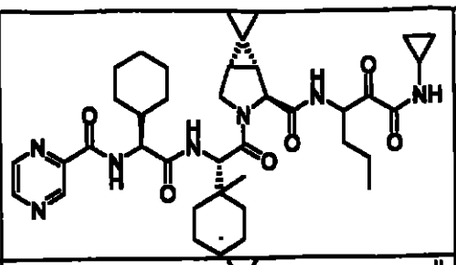
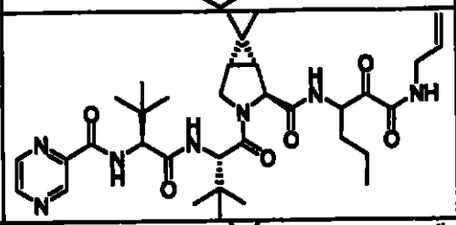
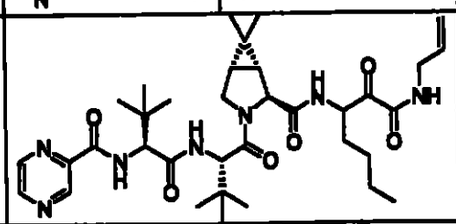
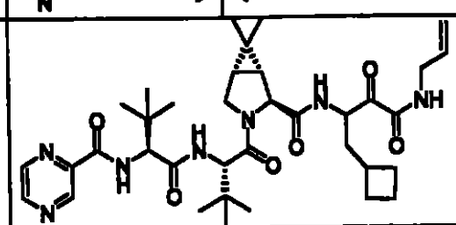
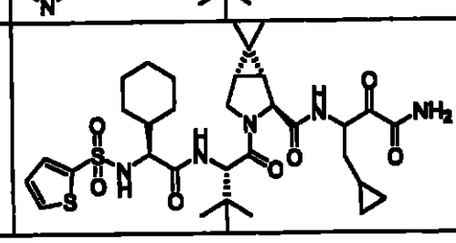
Entry in Table	Structure	Ki*
1		A

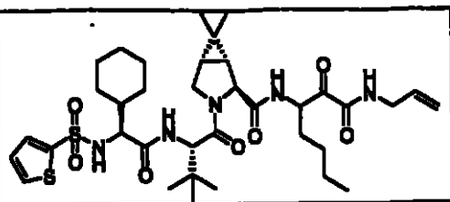
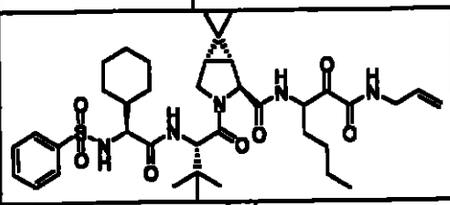
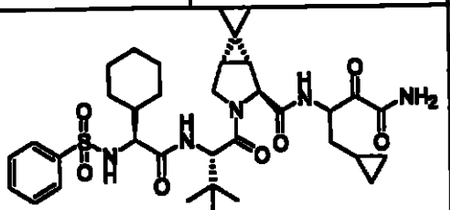
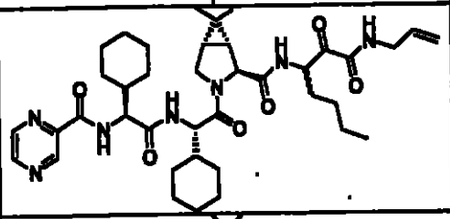
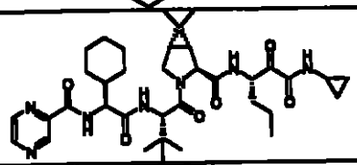
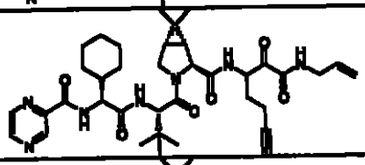
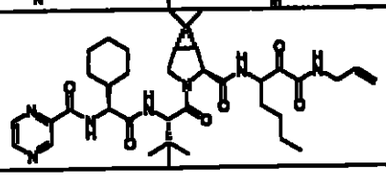
2		A
3		A
4		A
5		A

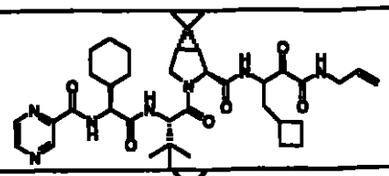
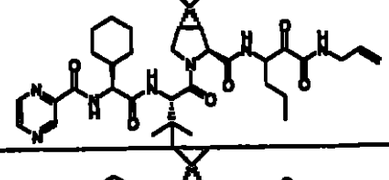
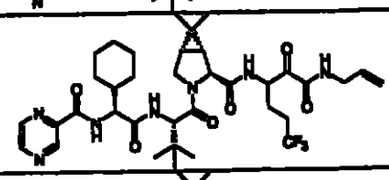
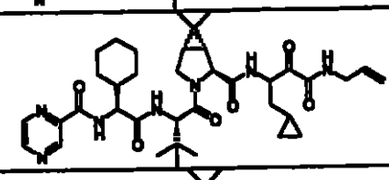
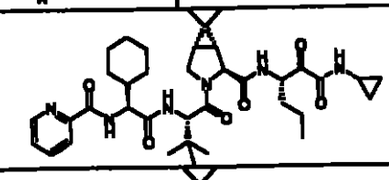
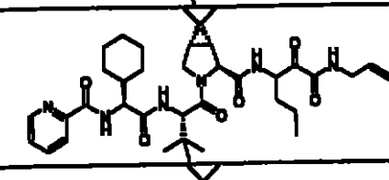
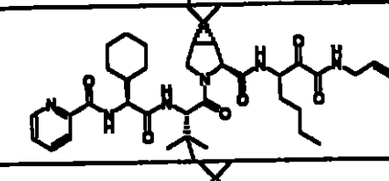
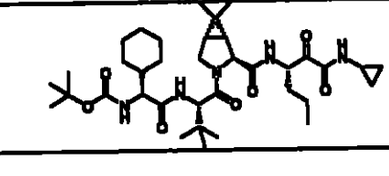
6		A
7		A
8		A
9		A
10		A

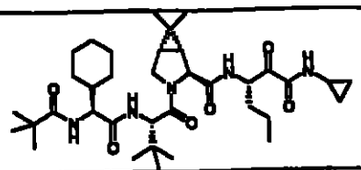
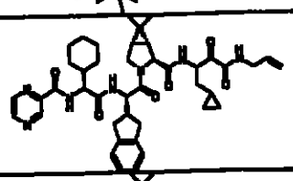
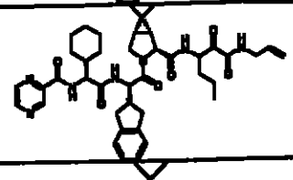
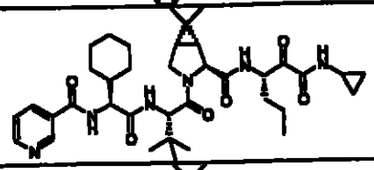
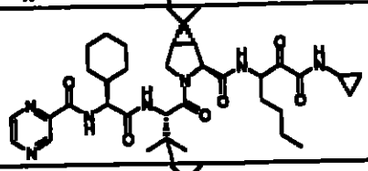
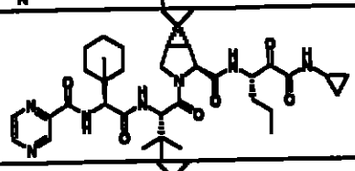
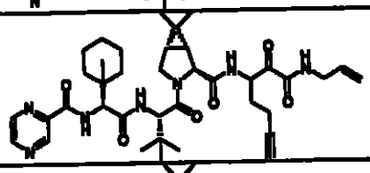
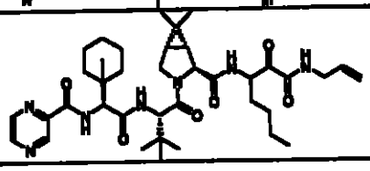
11		B
12		A
13		A
14		A

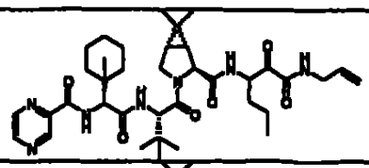
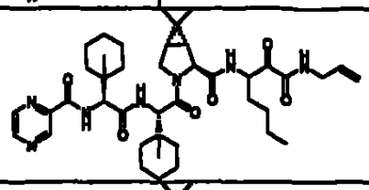
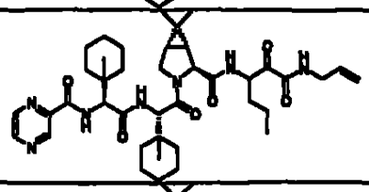
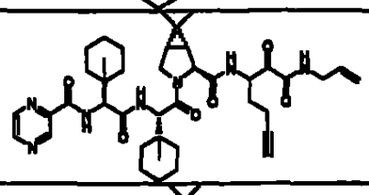
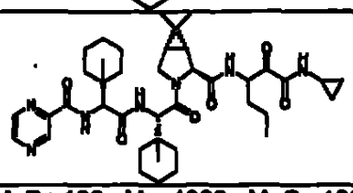
15		A
16		A
17		A
18		A

19		A
20		A
21		B
22		B
23		A

24		B
25		B
26		A
27		A
28		A
29		A
30		A

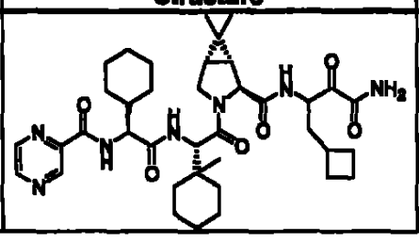
31		A
32		A
33		A
34		A
35		A
36		A
37		A
38		B

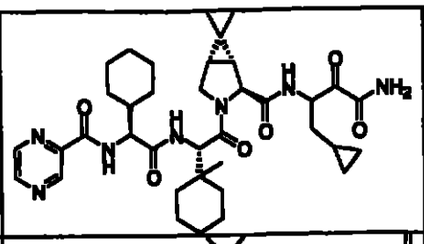
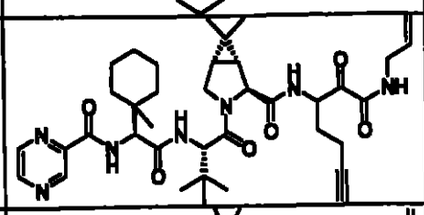
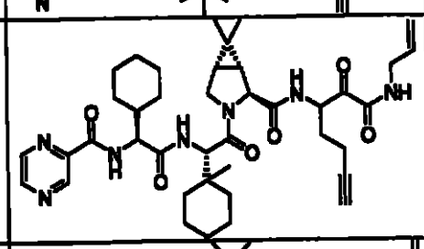
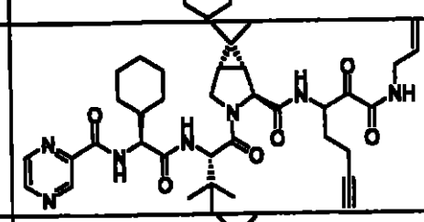
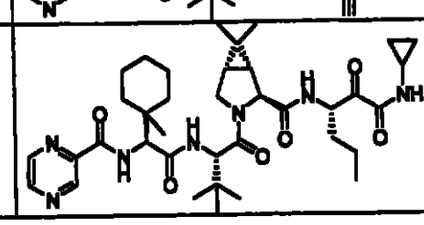
39		A
40		A
41		A
42		A
43		A
44		A
45		A
46		A

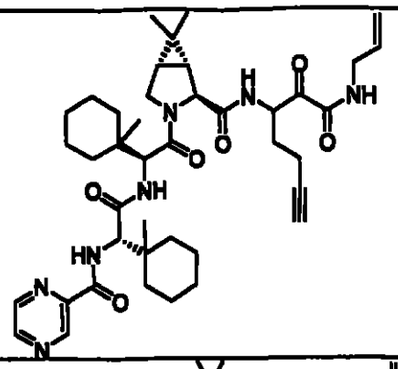
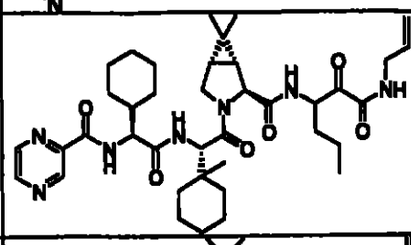
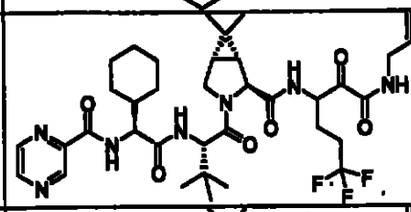
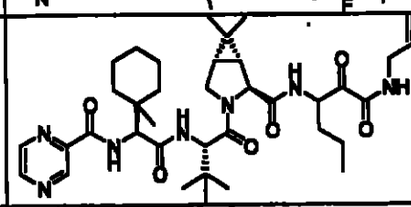
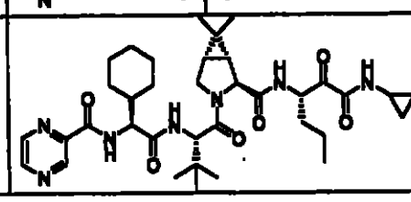
47		A
18		A
49		A
50		A
51		A

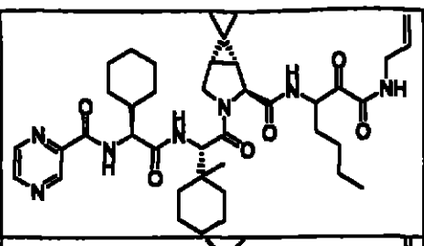
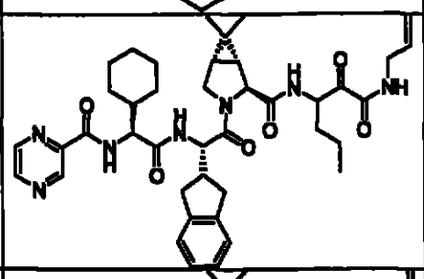
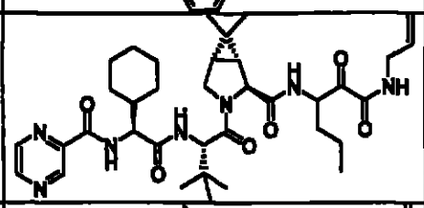
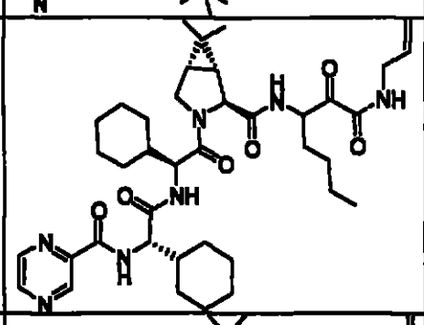
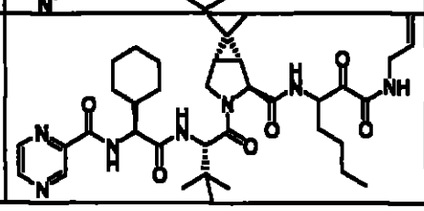
Range A≤100 nM; B >100 nM ≤1000 nM; C> 1000 nM.

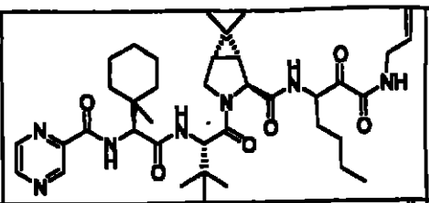
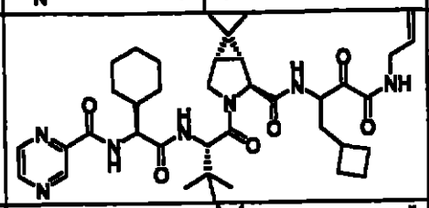
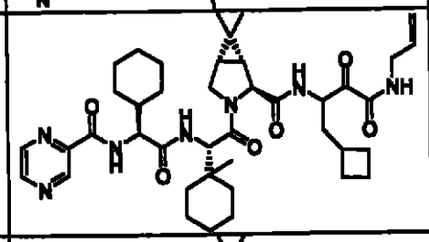
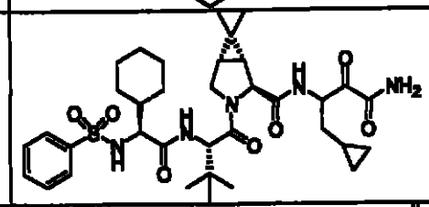
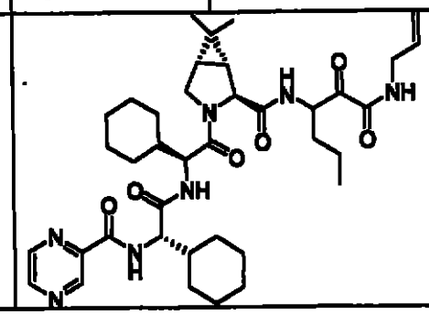
Table 3

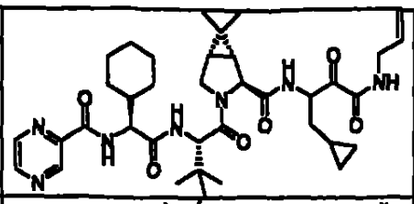
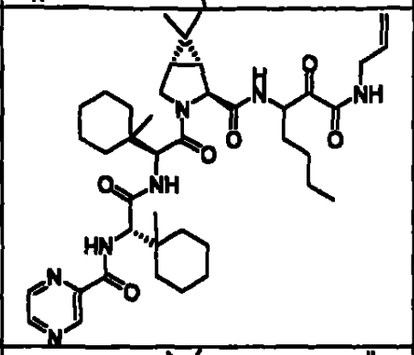
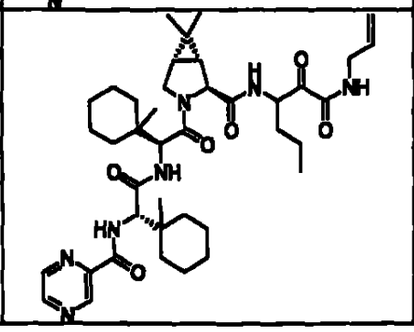
Entry	Structure	Ki* (nM)
1		3.2

2		4
3		4
4		5
5		6
6		7

7		7
8		9
9		12
10		12
11		13

12		13
13		13
14		14
15		16
16		16

17		17
18		18
19		19
20		20
21		22

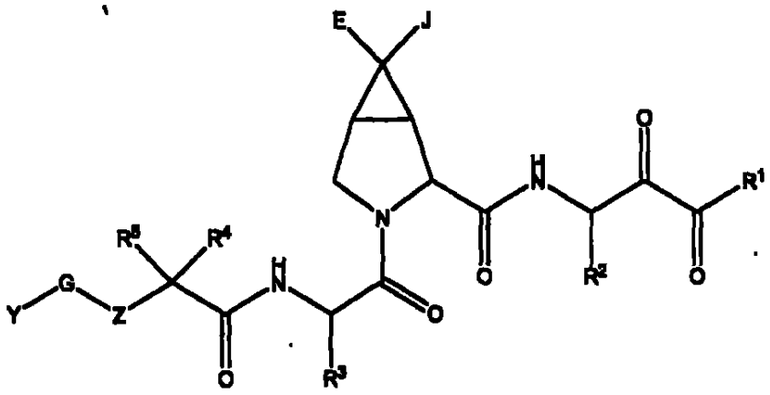
22		22
23		22
24		23

While the present invention has been described with in conjunction with the specific embodiments set forth above, many alternatives, modifications and other variations thereof will be apparent to those of ordinary skill in the art. All such alternatives, modifications and variations are intended to fall within the spirit and scope of the present invention.

CLAIMS

What is claimed is:

1. A compound, or enantiomers, stereoisomers, rotamers, tautomers, diastereomers, or racemates of said compound, or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or ester of said compound, said compound having the general structure shown in Formula I:



Formula I

wherein:

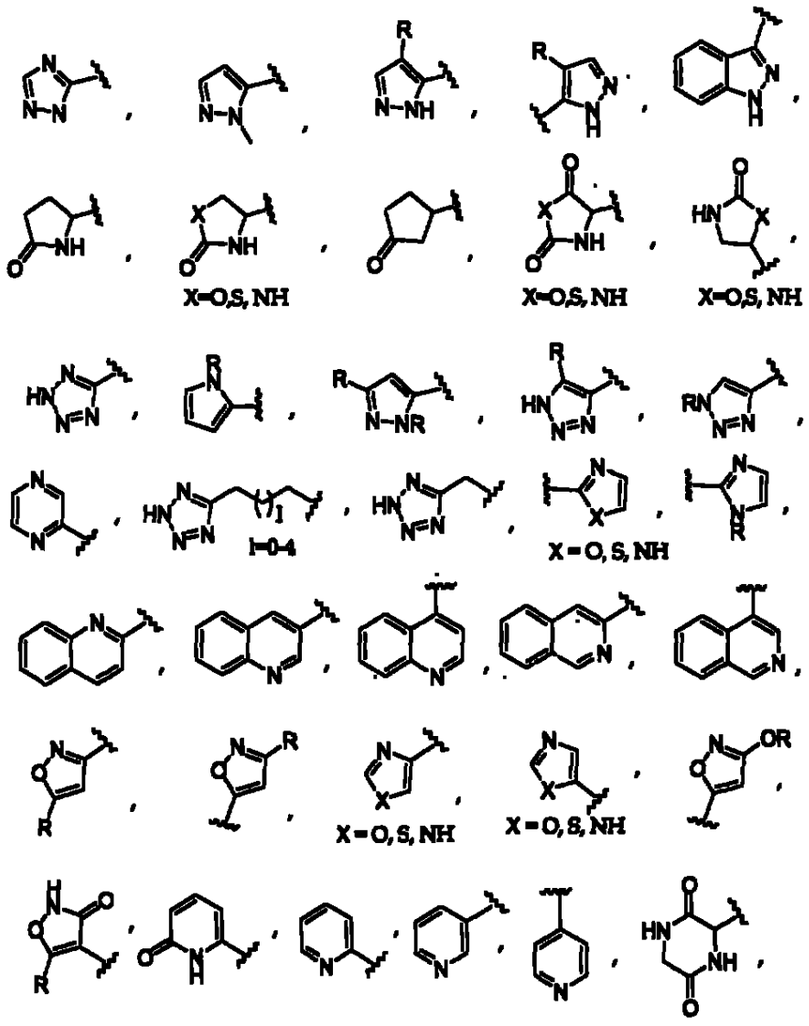
R^1 is H, OR^8, NR^9R^{10}, or CHR^9R^{10}, wherein R^8, R^9 and R^{10} can be the same or different, each being independently selected from the group consisting of H, alkyl-, aryl-, heteroalkyl-, heteroaryl-, cycloalkyl-, cycloalkyl-, arylalkyl-, and heteroarylalkyl;

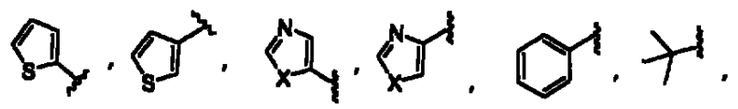
E and J can be the same or different, each being independently selected from the group consisting of R, OR, NHR, NRR^7, SR, halo, and $S(O_2)R$, or E and J can be directly connected to each other to form either a three to eight-membered cycloalkyl, or a three to eight-membered heterocyclyl moiety;

Z is N(H), N(R), or O, with the proviso that when Z is O, G is present or absent and if G is present with Z being O, then G is C(=O);

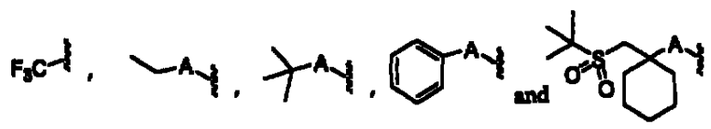
G maybe present or absent, and if G is present, G is C(=O) or $S(O_2)$, and when G is absent, Z is directly connected to Y;

Y is selected from the group consisting of:





X = O, S, NH



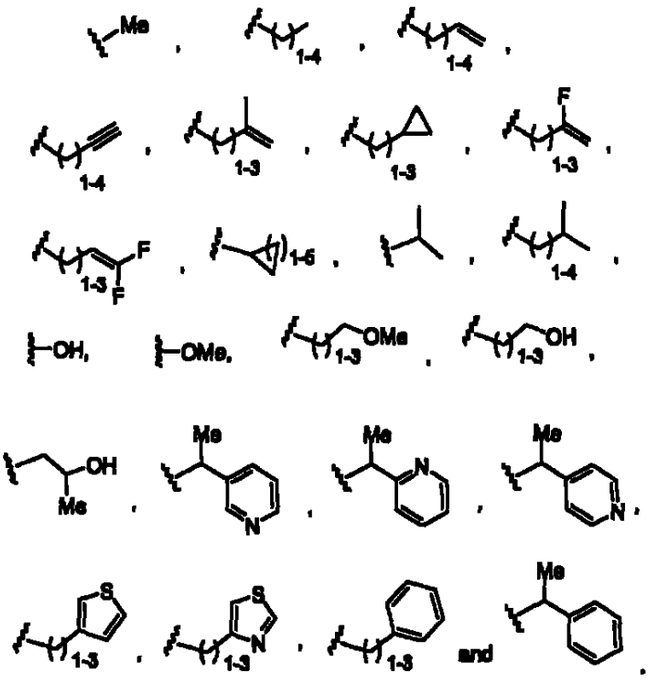
A = O, NH ;

R, R^7, R^2, R^3, R^4 and R^5 can be the same or different, each being independently selected from the group consisting of H, alkyl-, alkenyl-, alkynyl-, cycloalkyl-, heteroalkyl-, heterocyclyl-, aryl-, heteroaryl-, (cycloalkyl)alkyl-, (heterocyclyl)alkyl-, aryl-alkyl-, and heteroaryl-alkyl-, wherein each of said heteroalkyl, heteroaryl and heterocyclyl independently has one to six oxygen, nitrogen, sulfur, or phosphorus atoms;

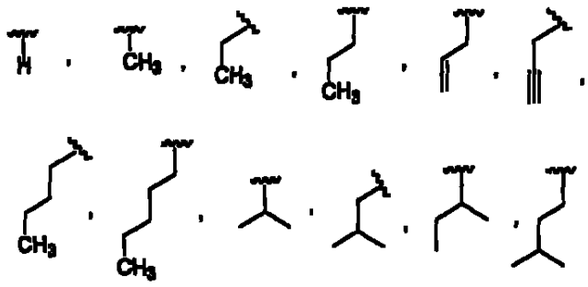
wherein each of said alkyl, heteroalkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, heteroaryl, cycloalkyl and heterocyclyl moieties can be unsubstituted or optionally independently substituted with one or more moieties selected from the group consisting of alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, aralkyl, cycloalkyl, heterocyclyl, halo, hydroxy, thio, alkoxy, aryloxy, alkylthio, arylthio, amino, amido, ester, carboxylic acid, carbamate, urea, ketone, aldehyde, cyano, nitro, sulfonamido, sulfoxide, sulfone, sulfonyl urea, hydrazide, and hydroxamate.

2. The compound of claim 1, wherein R^1 is NR^9R^{10}, and R^9 is H, R^{10} is H or R^{14}, wherein R^{14} is alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cycloalkyl, alkyl-aryl-, alkyl-heteroaryl-, aryl-alkyl-, alkenyl, alkynyl or heteroaryl-alkyl-.

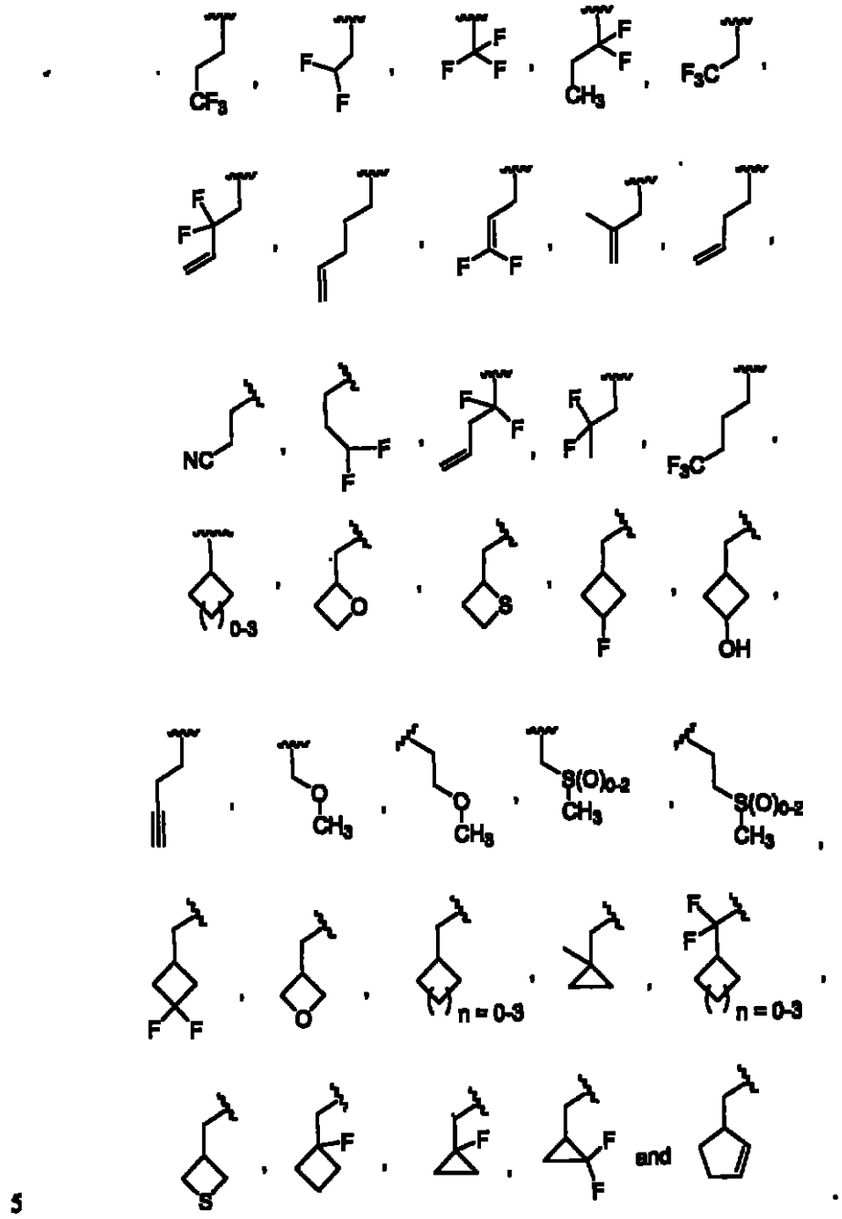
3. The compound of claim 2, wherein R^{14} is selected from the group consisting of:



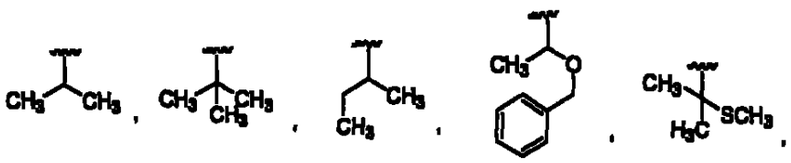
4. The compound of claim 1, wherein R^2 is selected from the group consisting of the following moieties:

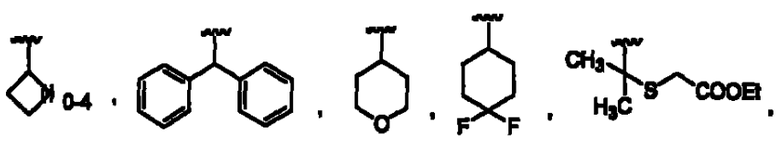


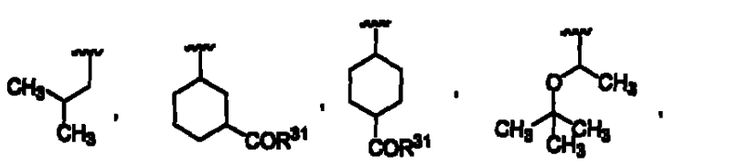
5

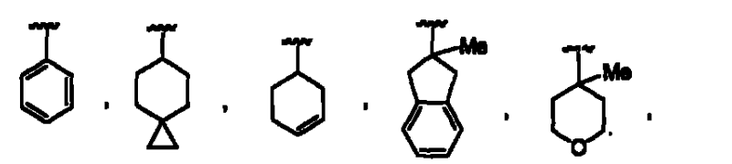

CF3
F
F
F
F
F
CH3
F3C
F
F
F
F
NC
F
F
F
F
F
F3C
0-3
O
S
F
OH
O
CH3
O
CH3
S(O)0-2
CH3
S(O)0-2
CH3
F
F
n = 0-3
F
F
n = 0-3
S
F
F
F
F
and

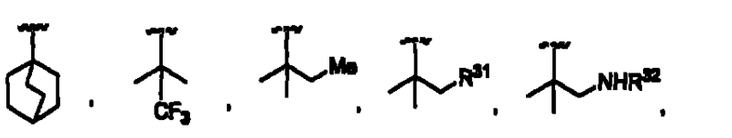
5. The compound of claim 1, wherein R^3 is selected from the group consisting of:

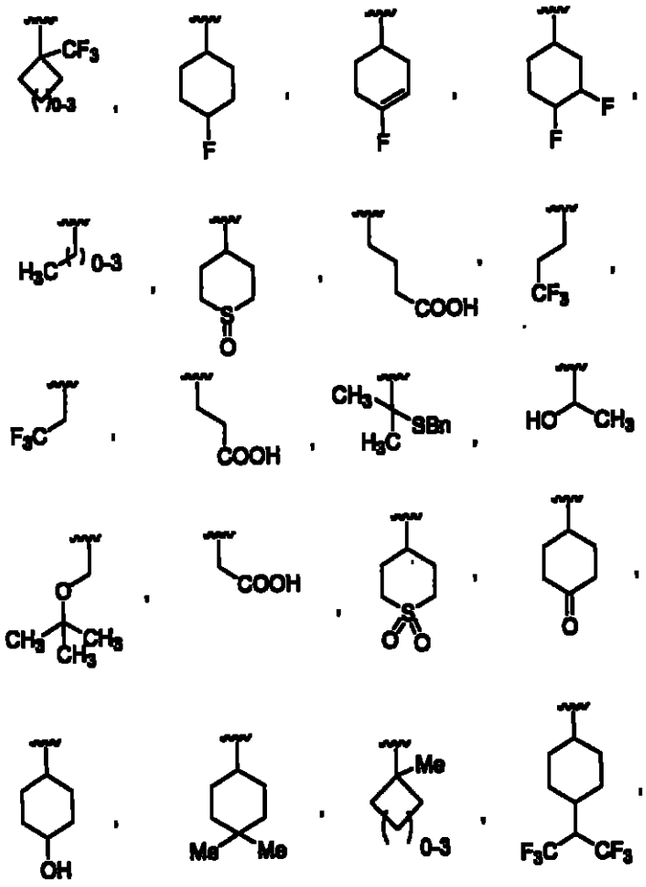


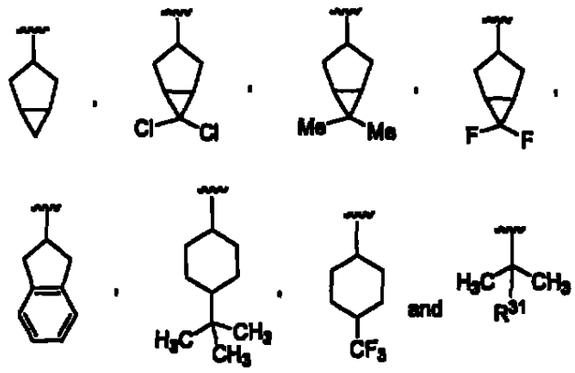








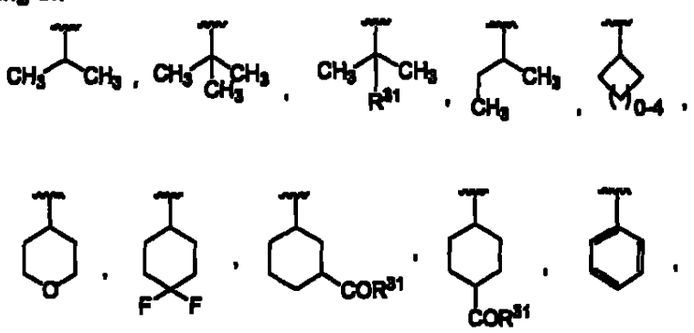


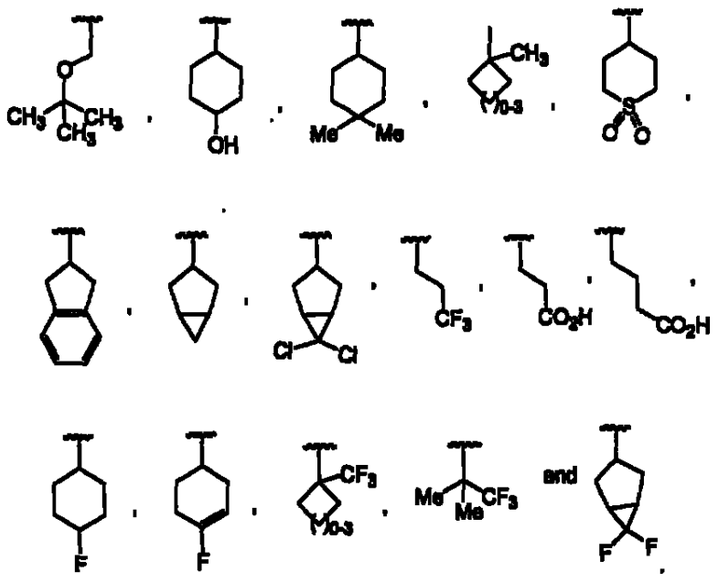


wherein R^{31} is OH or O-alkyl; and

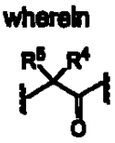
R^{32} is H, $C(O)CH_3$, C(O)OtBu or C(O)N(H)tBu.

6. The compound of claim 5, wherein R^3 is selected from the group consisting of:

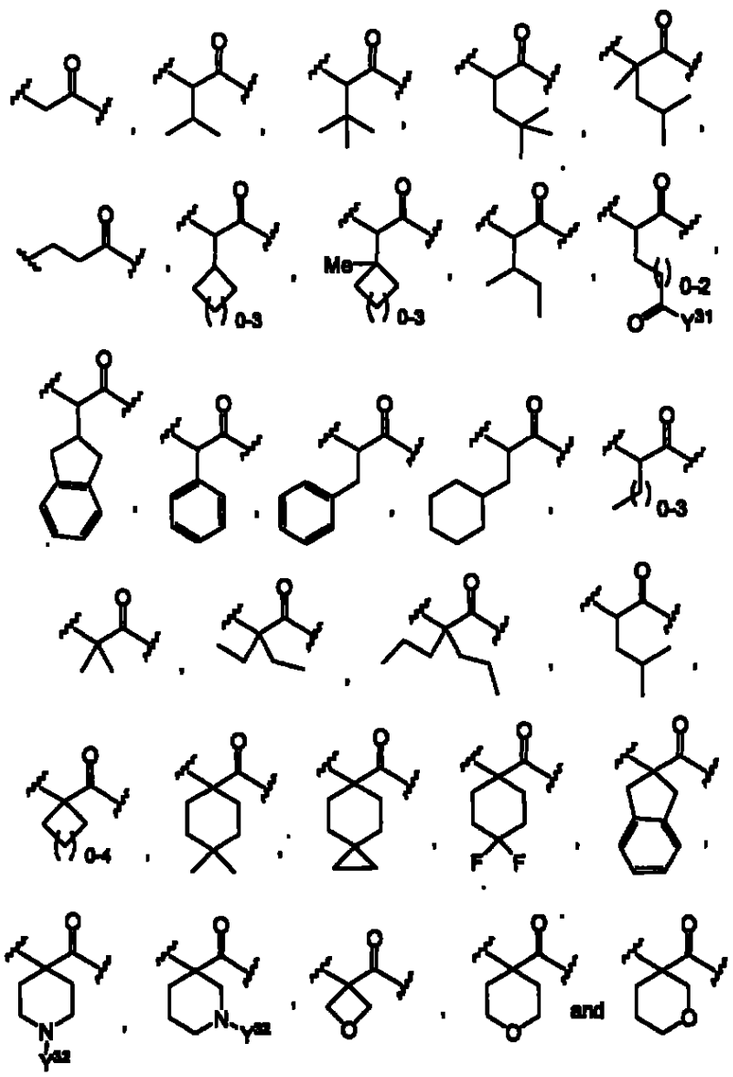




7. The compound of claim 1, wherein



is selected from the group consisting of:

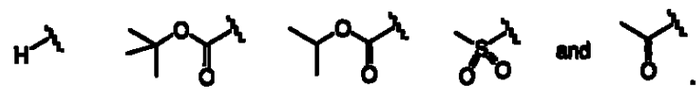


wherein

Y^{31} is selected from the group consisting of: OR, NHR and NRR^7

and

Y^{32} is selected from the group consisting of:



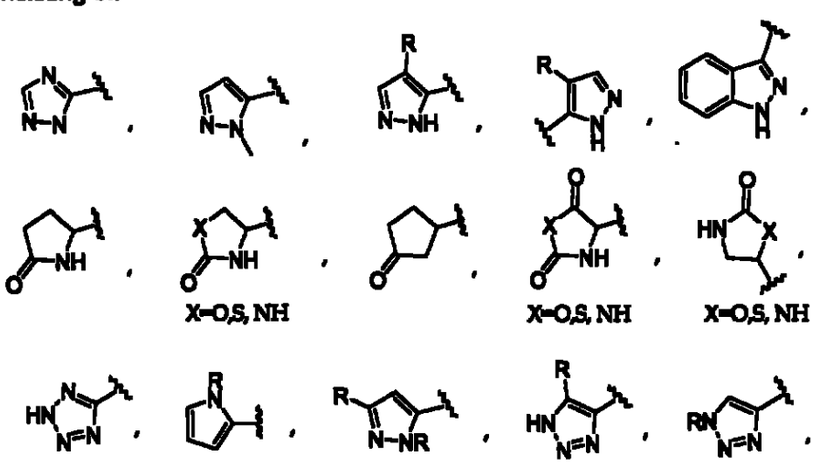
8. The compound of claim 1, wherein Z is NH.

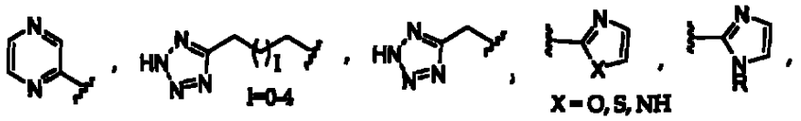
9. The compound of claim 1, wherein Z is N(R).

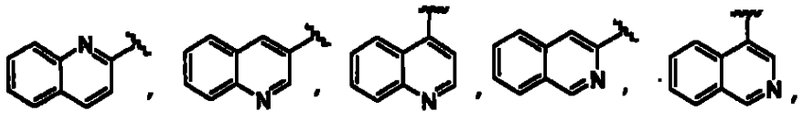
10. The compound of claim 1, wherein Z is O, G is present or absent and if G is present G is C(=O).

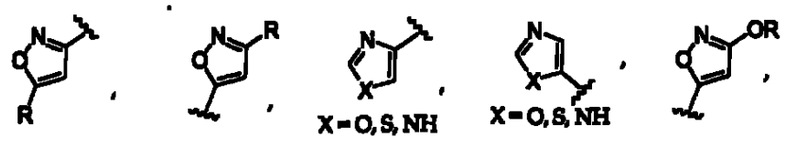
11. The compound of claim 1, wherein G is present and is C(=O) or $S(O_2)$.

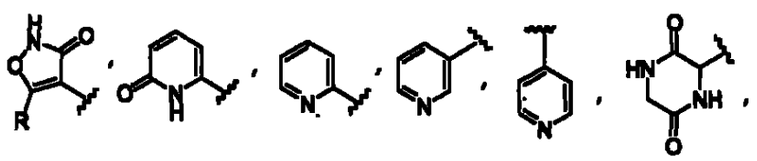
12. The compound of claim 1, wherein Y is selected from the group consisting of:

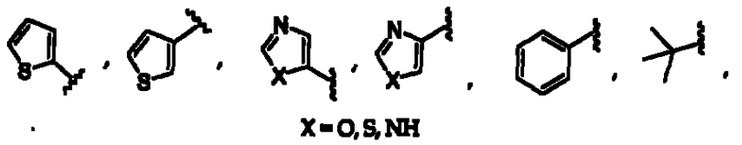


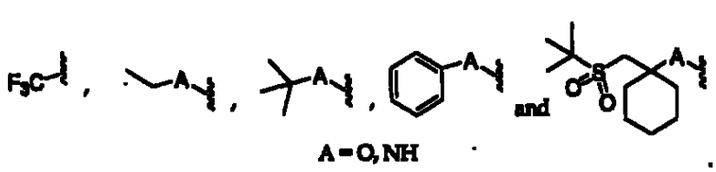




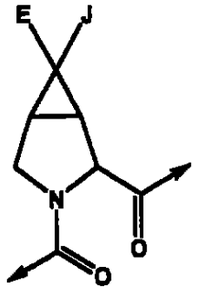




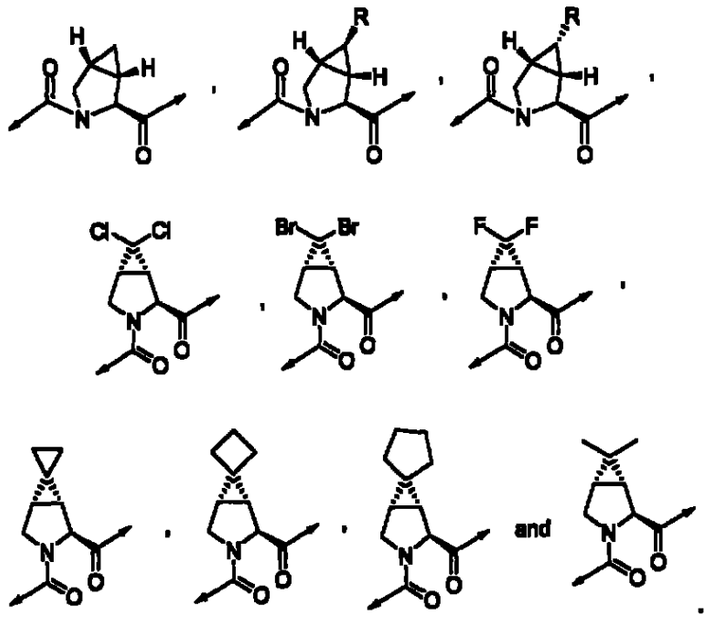




13. The compound of claim 1, wherein:



is selected from the group consisting of:



14. The compound of claim 1, wherein G is absent.

15. A pharmaceutical composition comprising as an active ingredient at least one compound of claim 1.

16. The pharmaceutical composition of claim 15 for use in treating disorders associated with HCV.

17. The pharmaceutical composition of claim 15 additionally comprising at least one pharmaceutically acceptable carrier.

18. The pharmaceutical composition of claim 17, additionally containing at least one antiviral agent.

19. The pharmaceutical composition of claim 18, still additionally containing at least one interferon.

20. The pharmaceutical composition of claim 19, wherein said at least one antiviral agent is ribavirin and said at least one interferon is α-interferon or pegylated interferon.

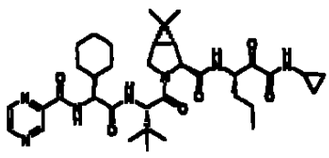
21. A method of treating disorders associated with the HCV, said method comprising administering to a patient in need of such treatment a pharmaceutical composition which comprises therapeutically effective amounts of at least one compound of claim 1.

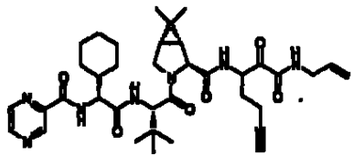
22. The method of claim 21, wherein said administration is oral or subcutaneous.

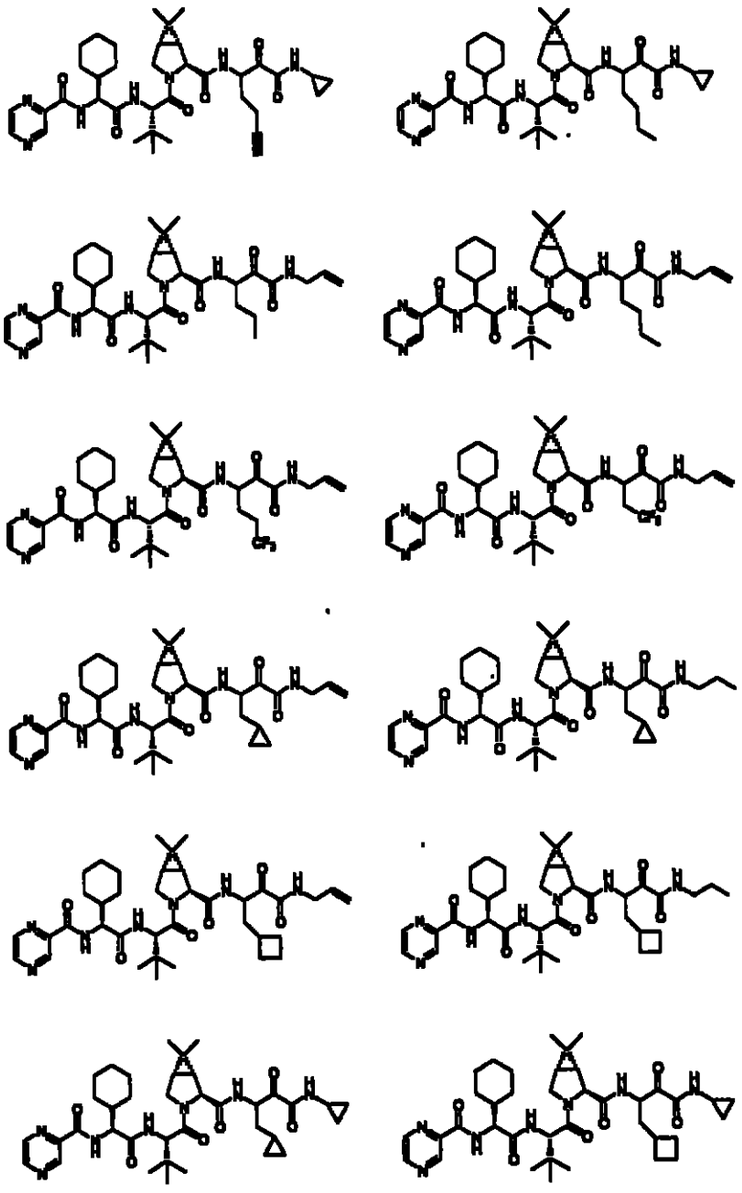
23. The use of a compound of claim 1 for the manufacture of a medicament to treat disorders associated with the HCV.

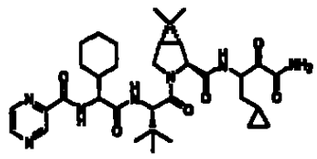
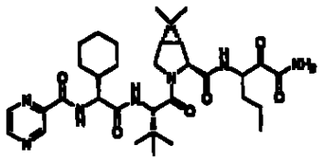
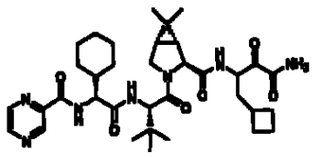
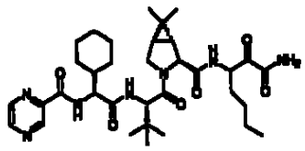
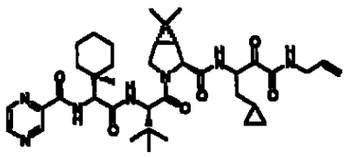
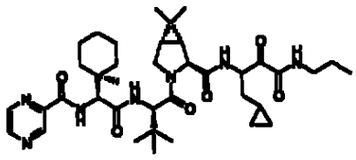
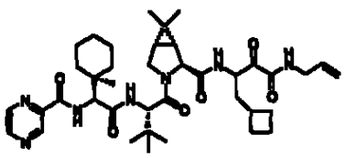
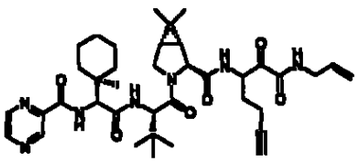
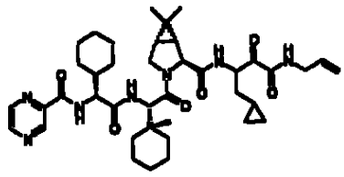
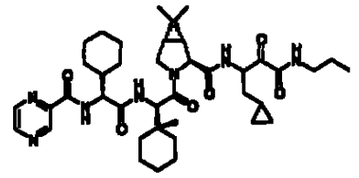
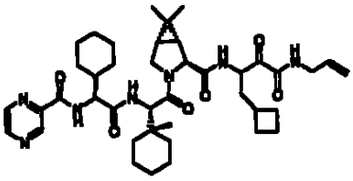
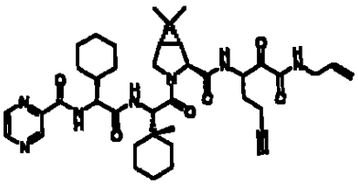
24. A method of preparing a pharmaceutical composition for treating the disorders associated with the HCV, said method comprising bringing into intimate contact at least one compound of claim 1 and at least one pharmaceutically acceptable carrier.

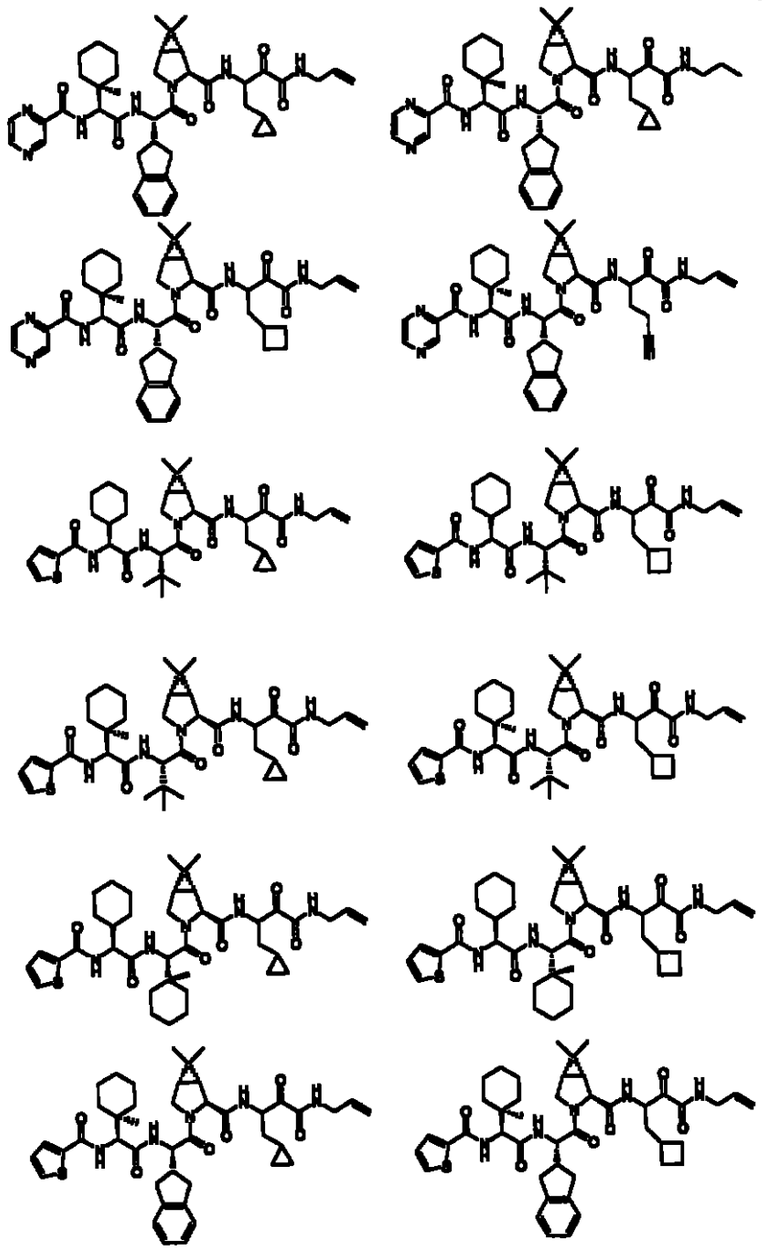
25. A compound exhibiting HCV protease inhibitory activity, or enantiomers, stereoisomers, rotamers, tautomers, diastereomers, or racemates of said compound, or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or ester of said compound, said compound being selected from the compounds of structures listed below:

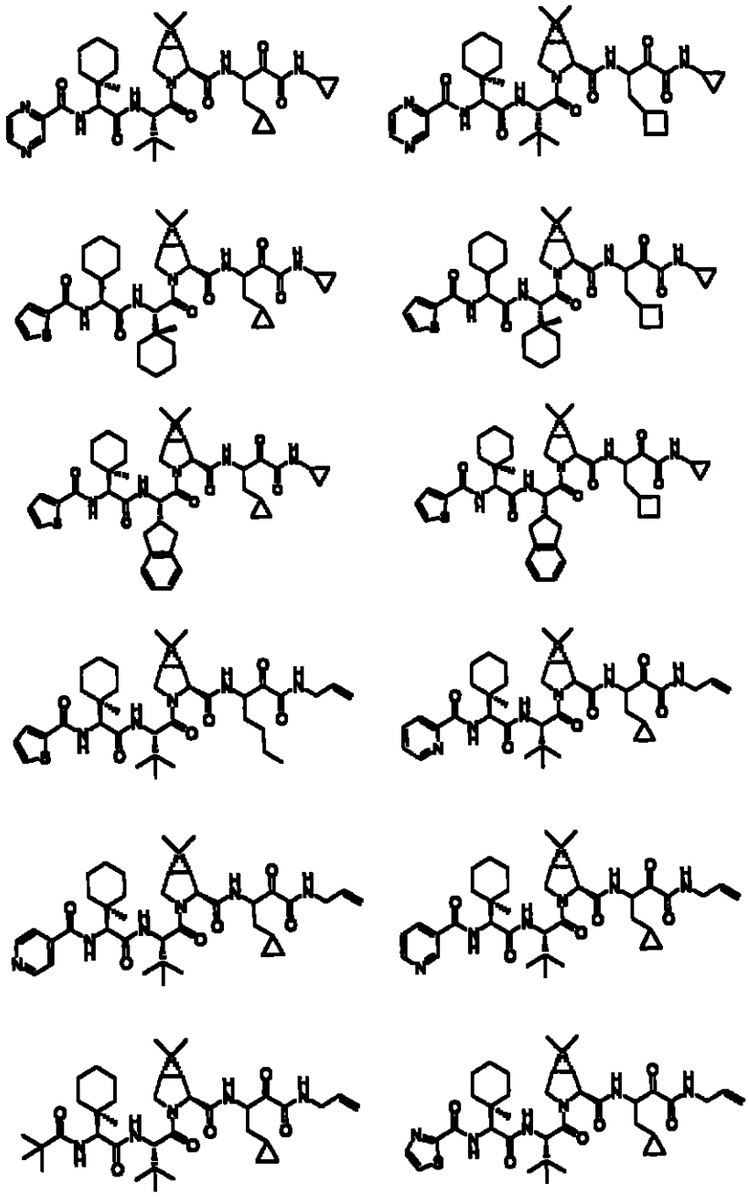


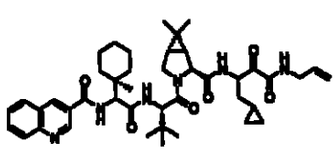
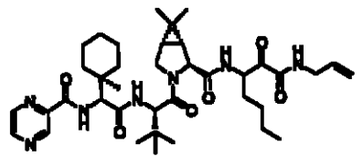
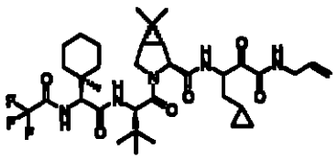
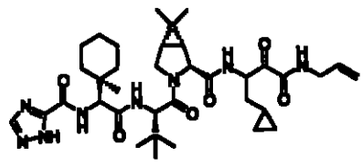
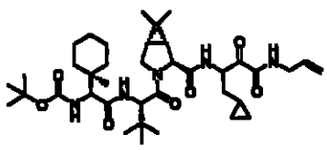
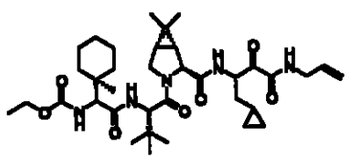
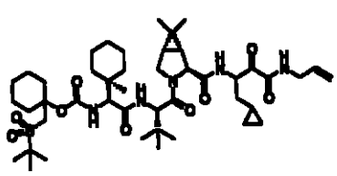
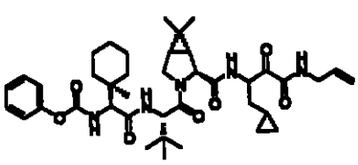
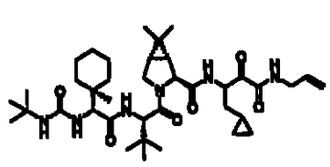
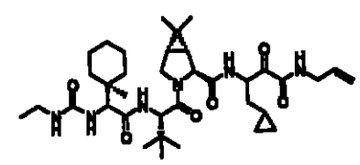
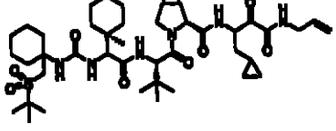
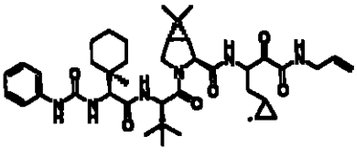


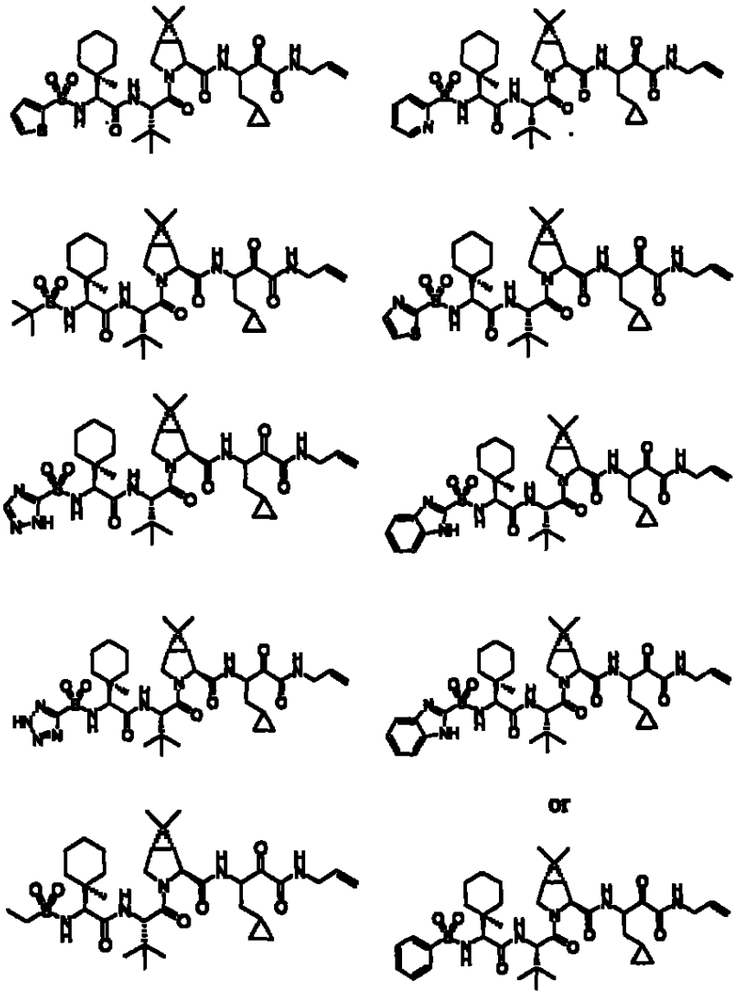




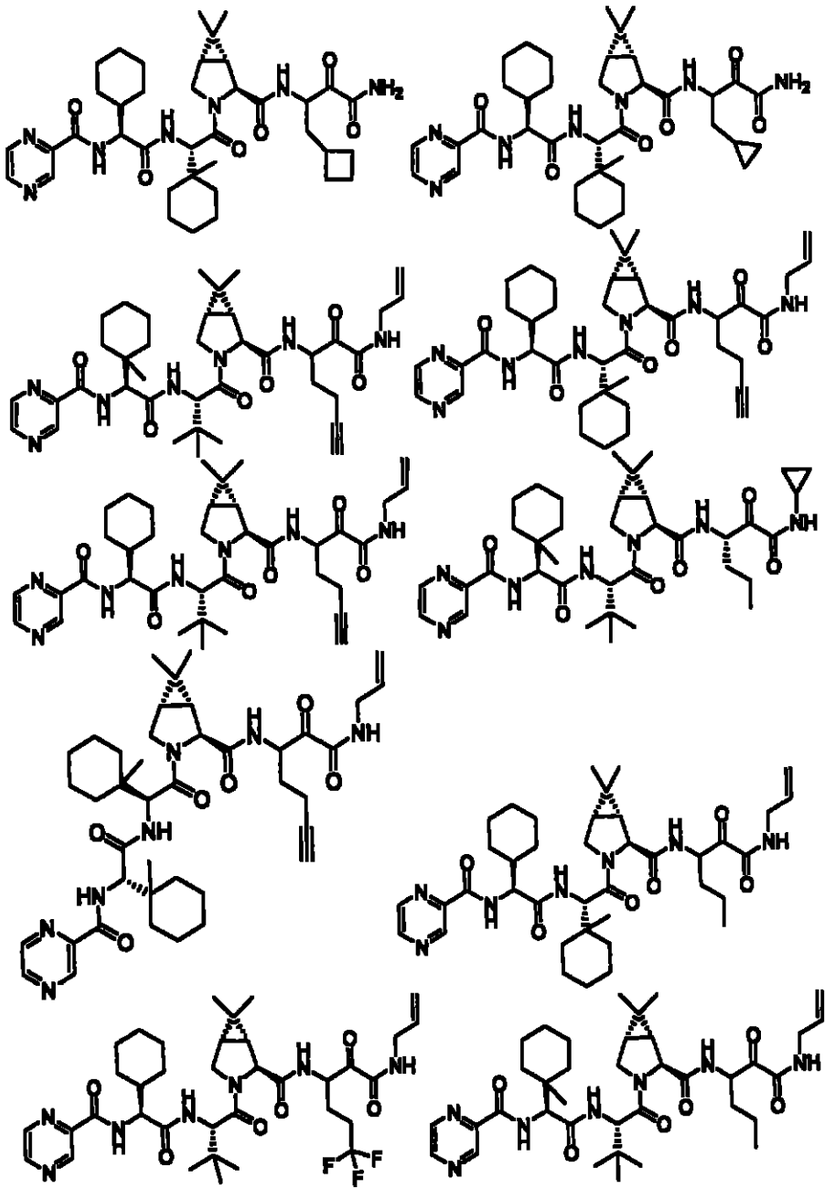


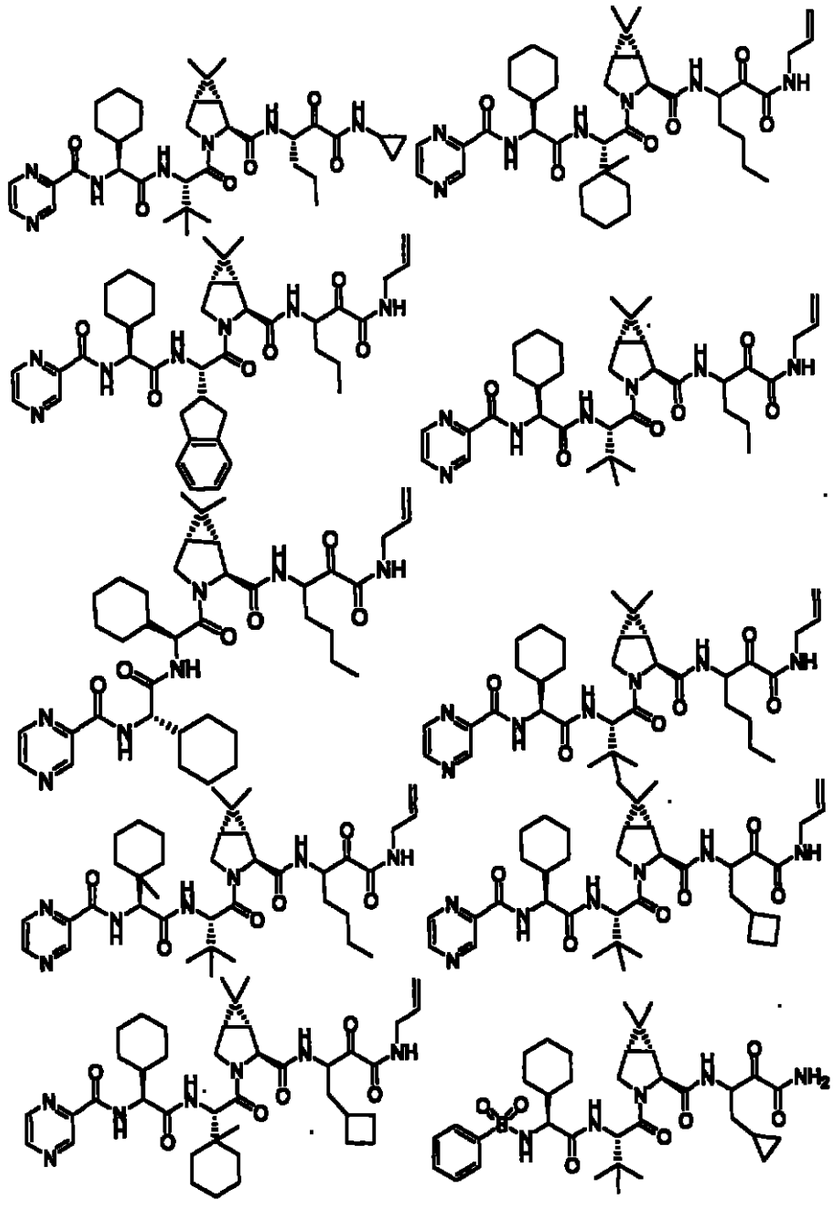


or

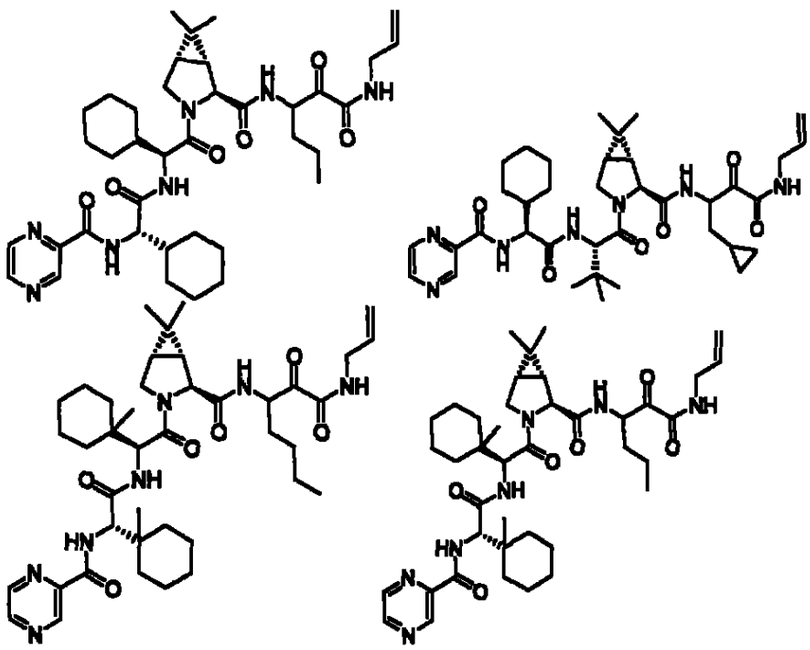
26. A compound, or enantiomers, stereoisomers, rotamers, tautomers, diastereomers, or racemates of said compound, or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or ester of said compound, said compound being selected from the compounds of structures listed below:



5



5



27. A pharmaceutical composition for treating disorders associated with the HCV, said composition comprising therapeutically effective amount of one or more compounds in claim 26 and a pharmaceutically acceptable carrier.

28. The pharmaceutical composition of claim 27, additionally containing at least one antiviral agent.

29. The pharmaceutical composition of claim 28, still additionally containing at least one interferon or PEG-interferon alpha conjugate.

30. The pharmaceutical composition of claim 29, wherein said at least one antiviral agent is ribavirin and said at least one interferon is α-interferon or pegylated interferon.

31. A method of treatment of a hepatitis C virus associated disorder, comprising administering an effective amount of one or more compounds of claim 26.

32. A method of modulating the activity of hepatitis C virus (HCV) protease, comprising contacting HCV protease with one or more compounds of claim 26.

33. A method of treating, preventing, or ameliorating one or more symptoms of hepatitis C (HCV), comprising administering a therapeutically effective amount of one or more compounds of claim 26.

34. The method of claim 33, wherein the HCV protease is the NS3/NS4a protease.

35. The method of claim 33, wherein the compound or compounds inhibit HCV NS3/NS4a protease.

36. A method of modulating the processing of hepatitis C virus (HCV) polypeptide, comprising contacting a composition containing the HCV polypeptide under conditions in which said polypeptide is processed with one or more compounds of claim 26.

37. A compound of claim 1in purified form.

INO6139-AR-nf

158

Memoria Descriptiva

de la

Patente de Invención

Sobre

"NUEVOS INHIBIDORES DE LA NS3/NS4A SERINA PROTEASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C"

Solicitada por:

SCHERING CORPORATION, *residente en* ***2000 Galloping Hill Road Kenilworth, Nueva Jersey 07033-0530, E. U. DE NORTEAMERICA.***

211814
US/RF

159

NUEVOS INHIBIDORES DE LA NS3/NS4A SERINA PROTEASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de proteasas del virus de la hepatitis C ("VHC"), composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de tales inhibidores, métodos para preparar tales inhibidores y métodos para utilizar tales inhibidores para tratar la hepatitis C y trastornos relacionados. Esta invención además revela nuevos compuestos macrocíclicos como inhibidores de la NS3/NS4a serina proteasa del VHC. La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisoria estadounidense Acta número 60/528845 presentada el 11 de diciembre de 2003.

Antecedentes de la Invención

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus de ARN de hebra simple en sentido positivo que ha sido considerado como el principal agente causal de la hepatitis no-A no-B (NANBH), particularmente en la NANBH asociada a la sangre (BB-NANBH) (*ver* Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 89/04669 y Publicación de Solicitud de Patente Europea No. EP 381 216). La NANBH debe distinguirse de otros tipos de enfermedad hepática inducida por virus, tal como el virus de la hepatitis A (VHA), el virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis delta (VHD), el citomegalovirus (CMV) y el virus Epstein-Barr (EBV), como así también de otras formas de enfermedad hepática tales como el alcoholismo y la cirrosis biliar primaria.

C. 211814
D. P. G.

Recientemente, una proteasa del VHC para el procesamiento de polipéptidos y replicación viral ha sido identificada, clonada y expresada; (*ver,* por ejemplo, la Patente Estadounidense No. 5.712.145). Esta poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos contiene, desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal, una proteína de nucleocápside (C), proteínas

160

de envoltura (E1 y E2) y varias proteínas no estructurales (NS1, 2, 3, 4a, 5a y 5b). La NS3 es una proteína de aproximadamente 68 kda, codificada por aproximadamente 1893 nucleótidos del genoma del VHC, y tiene dos dominios distintos: (a) un dominio de serina proteasa que consiste en aproximadamente 200 de los aminoácidos N-terminales y (b) un dominio de ATPasa dependiente de ARN en el extremo C-terminal de la proteína. La proteasa NS3 es considerada un miembro de la familia de quimotripsinas debido a las similitudes en la secuencia proteica, la estructura tridimensional global y el mecanismo de catálisis. Otras enzimas del tipo quimotripsina son la elastasa, el factor Xa, la *trombina*, la tripsina, la plasmina, la uroquinasa, tPA y PSA. La NS3 serina proteasa del VHC es responsable de la proteólisis del polipéptido (poliproteína) en las uniones NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a y NS5a/NS5b y de este modo es responsable de generar cuatro proteínas virales durante la replicación viral. Esto ha hecho de la NS3 serina proteasa un blanco atractivo para la quimioterapia antiviral. Los compuestos de la invención pueden inhibir tal proteasa. También pueden modular el procesamiento del polipéptido del virus de la hepatitis C (VHC).

Se ha determinado que la proteína NS4a, un polipéptido de aproximadamente 6 kda, es un co-factor para la actividad de serina proteasa de NS3. La auto-ruptura de la unión NS3/NS4a por la NS3/NS4a serina proteasa ocurre intramolecularmente (es decir, en *cis*) mientras que los otros sitios de ruptura se procesan intramolecularmente (es decir, en *trans*).

El análisis de los sitios de ruptura naturales para la proteasa del VHC reveló la presencia de cisteína en P1 y serina en P1' y que estos residuos se conservan estrictamente en las uniones NS4a/NS4b, NS4b/NS5a y NS5a/NS5b. La unión NS3/NS4a contiene una treonina en P1 y una serina en P1'. La sustitución Cys→Thr en NS3/NS4a se postula para explicar el requerimiento del

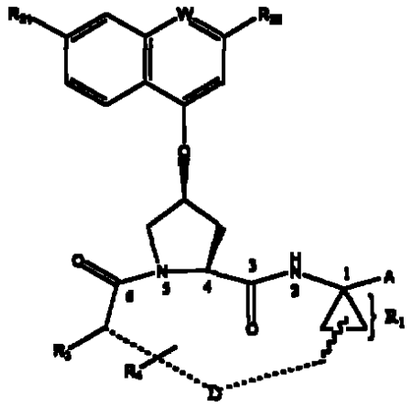
procesamiento *cis* más que el *trans* en esta unión. *Ver,* por ejemplo, Pizzi et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 91:888-892, Failla et al. (1996) Folding & Design 1:35-42. El sitio de ruptura de NS3/NS4a también es más tolerante a la mutagénesis que los otros sitios. *Ver,* por ejemplo, Kollykhalov et al. (1994) J. Virol. 68:7525-7533. También se ha hallado que se requieren residuos acídicos en la región corriente arriba del sitio de ruptura para una ruptura eficiente. *Ver,* por ejemplo, Komoda et al. (1994) J. Virol. 68:7351-7357.

Los inhibidores de la proteasa del VHC que han sido informados incluyen antioxidantes (*ver,* Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 98/14181), ciertos péptidos y análogos peptídicos (*ver,* Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 98/17679, Landro et al. (1997) Biochem. 36:9340-9348, Ingallinella et al. (1998) Biochem. 37:8906-8914, Llinàs-Brunet et al. (1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:1713-1718), inhibidores basados en el polipéptido eglin c de 70 aminoácidos (Martin et al. (1998) Biochem. 37:11459-11468, la afinidad de los inhibidores seleccionada del inhibidor de tripsina secretora pancreática (hPSTI-C3) y repertorios de minibodies (MBip) (Dimasi et al. (1997) J. Virol. 71:7461-7469), cV_HE2 (un fragmento de anticuerpo de dominio variable "camelizado") (Martin et al.(1997) Protein Eng. 10:607-614), y α1-antiquimotripsina (ACT) (Elzouki et al.) (1997) J. Hepat. 27:42-28). Recientemente se ha revelado una ribozima diseñada para destruir selectivamente el ARN del virus de la hepatitis C (*ver, BioWorld Today* 9(217): 4 (Noviembre 10, 1998)).

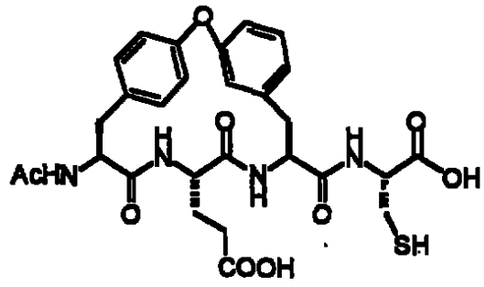
También se hace referencia a las Publicaciones PCT No. WO 98/17679, publicada el 30 de abril de 1998 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496, publicada el 28 de mayo de 1998 (F. Hoffmann-La Roche AG); y WO 99/07734, publicada el 18 de febrero de 1999 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd.).

El VHC se ha vinculado a la cirrosis del hígado y a la inducción del carcinoma hepatocelular. El pronóstico para los pacientes que sufren de la infección por VHC es normalmente pobre. La infección por VHC es más difícil de tratar que otras formas de hepatitis debido a la falta de inmunidad o remisión asociada con la infección por VHC. Los datos actuales indican un porcentaje de supervivencia inferior al 50% en los cuatro años posteriores al diagnóstico de cirrosis. Los pacientes diagnosticados con carcinoma hepatocelular resecable localizado tienen un porcentaje de supervivencia de cinco años del 10 al 30%, mientras que los pacientes con carcinoma hepatocelular no resecable localizado tienen un porcentaje de supervivencia de cinco años inferior al 1%.

Se hace referencia al documento WO 00/59929 (US 6.608.027, Cesionario: Boehringer Ingelheim (Canadá) Ltd.; Publicada Octubre 12 de 2000) que revela los derivados peptídicos de fórmula:



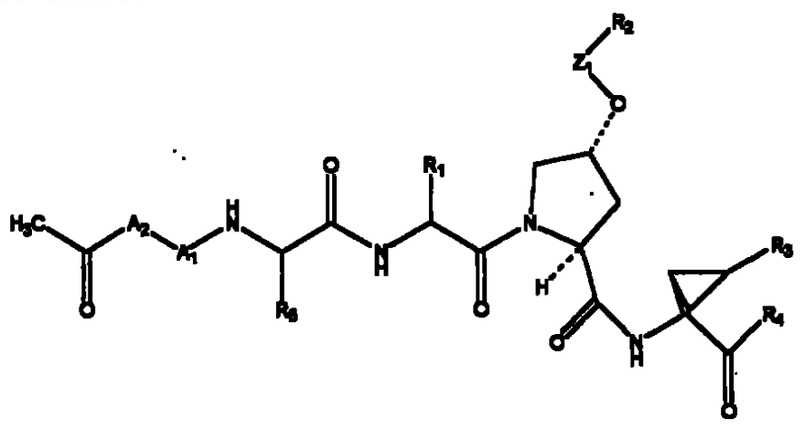
Se hace referencia a A. Marchetti *et al*, *Synlett*, S1, 1000-1002 (1999), que describe la síntesis de análogos bicíclicos de un inhibidor de la NS3 proteasa del VHC. Un compuesto revelado en la misma tiene la fórmula:



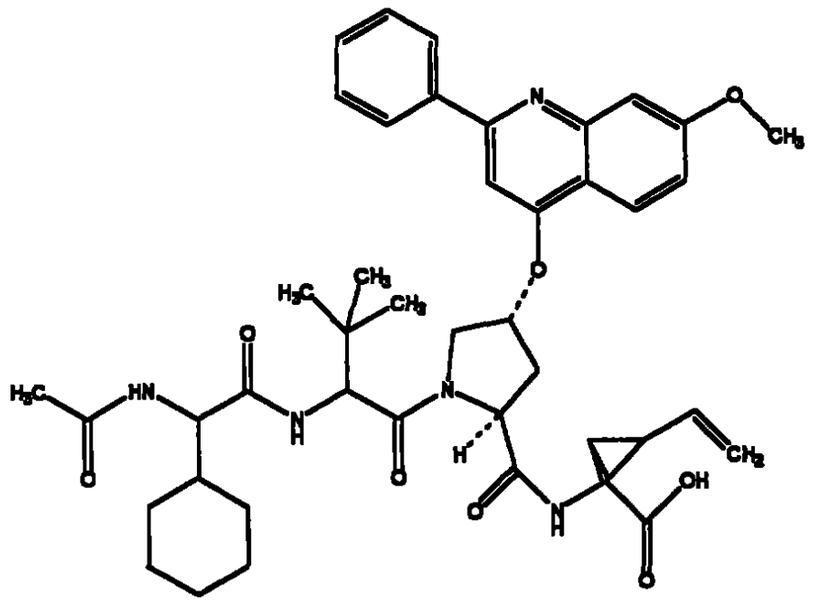
168

También se hace referencia a W. Han *et al*, *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett*, (2000) 10, 711-713, que describe la preparación de ciertas α-cetoamidas, α-cetoésteres y α-dicetonas que contienen funcionalidades alilo y etilo.

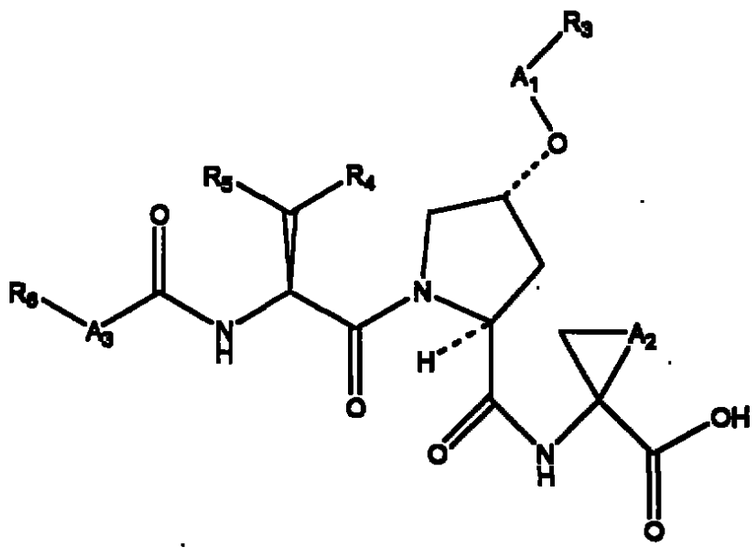
También se hace referencia a WO 00/09558 (Cesionario: B ehringer Ingelheim Limited; Publicada Febrero 24 de 2000), que revela derivados peptídicos de fórmula:



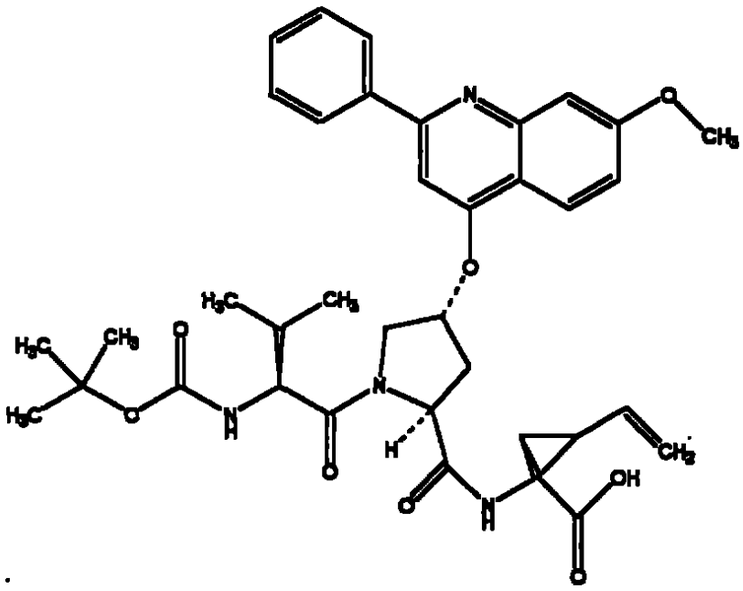
donde se definen los diversos elementos. Un compuesto ilustrativo de esa serie es:



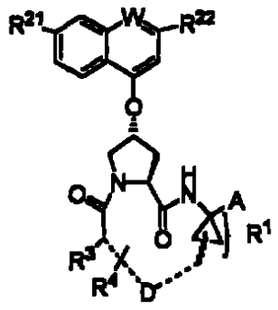
También se hace referencia a WO 00/09543 (Cesionario: Boehringer Ingelheim Limited; Publicada Febrero 24 de 2000), que revela derivados peptídicos de fórmula:



donde se definen los diversos elementos. Un compuesto ilustrativo de esa serie es:



También se hace referencia a la Solicitud Estadounidense 6.608.027 (Boehringer Ingelheim, Canadá) que revela inhibidores de NS3 proteasa del tipo:

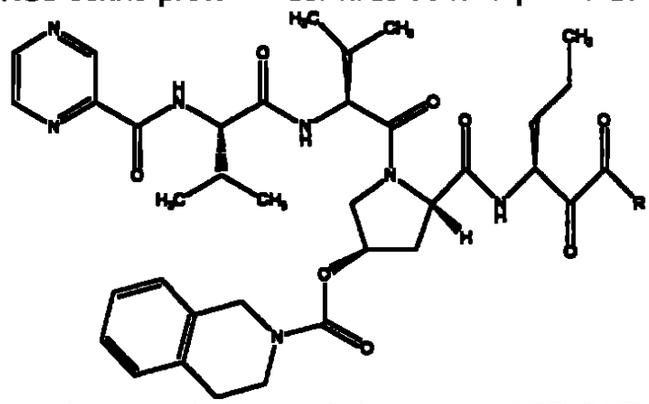


165

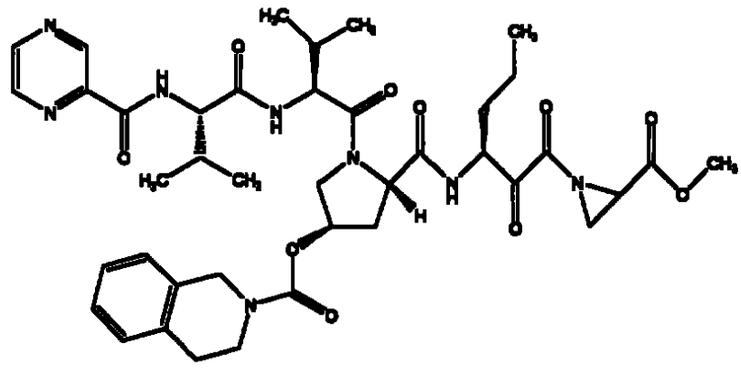
donde se definen los diversos restos.

Las terapias actuales para la hepatitis C incluyen el interferón-α (INF_α) y terapia de combinación con ribavirina e interferón. *Ver,* por ejemplo, Beremguer et al. (1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2):98-112. Estas terapias adolecen de un bajo porcentaje de respuesta sostenido y frecuentes efectos colaterales. *Ver,* por ejemplo, Hoofnagle et al. (1997) N. Engl. J. Med. 336:347. Actualmente, no se dispone de ninguna vacuna para la infección por el VHC.

Además se hace referencia a WO 01/74768 (Cesionario: Vertex Pharmaceuticals Inc) publicada el 11 de octubre de 2001, que revela ciertos compuestos de la siguiente fórmula general (R está definido en la misma) como inhibidores de la NS3-serina proteasa del virus de la hepatitis C:

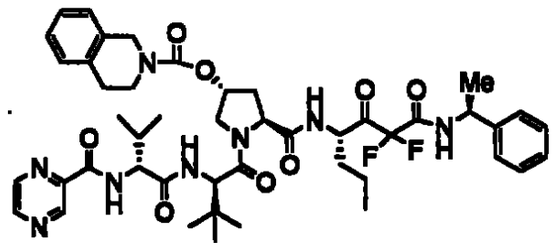


Un compuesto específico revelado en el documento WO 01/74768 mencionado anteriormente tiene la siguiente fórmula:

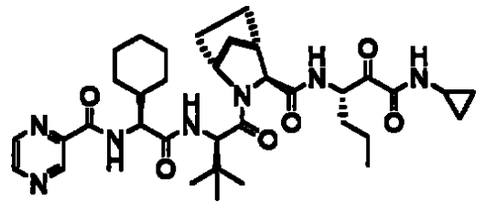


166

También se hace referencia a WO02/18369 (Eli Lilly & Company), que revela inhibidores de proteasas. Un compuesto ilustrativo revelado en la misma tiene la estructura:



También se hace referencia a WO03/006490 (Vertex Pharmaceuticals), que revela inhibidores de proteasas bicíclicos con grupos puente. Un compuesto ilustrativo revelado en la misma tiene la estructura:



Las Publicaciones PCT WO 01/77113, WO 01/081325, WO 02/08198, WO 02/08256, WO 02/08187, WO 02/08244, WO 02/48172, WO 02/08251 y la Solicitud de Patente Estadounidense, Acta No. 10/052.386, presentada el 18 de enero de 2002, revelan varios tipos de péptidos y/u otros compuestos como inhibidores de NS3/NS4a serina proteasa del virus de la hepatitis C. Más aun, las solicitudes estadounidenses pendientes Acta No. 60/506.637 presentada el 26 de septiembre de 2003, 60/497.749 presentada el 26 de agosto de 2003 y 60/523.715 presentada el 20 de noviembre de 2003 revelan diversos tipos de inhibidores de proteasas. Las descripciones de esas solicitudes se incorporan a la presente como referencia

Existe la necesidad de nuevos tratamientos y terapias para la infección por VHC. Existe la necesidad de compuestos útiles en el tratamiento o prevención o alivio de uno o más síntomas de la hepatitis C.

167

Existe la necesidad de métodos de tratamiento o prevención o alivio de uno o más síntomas de la hepatitis C.

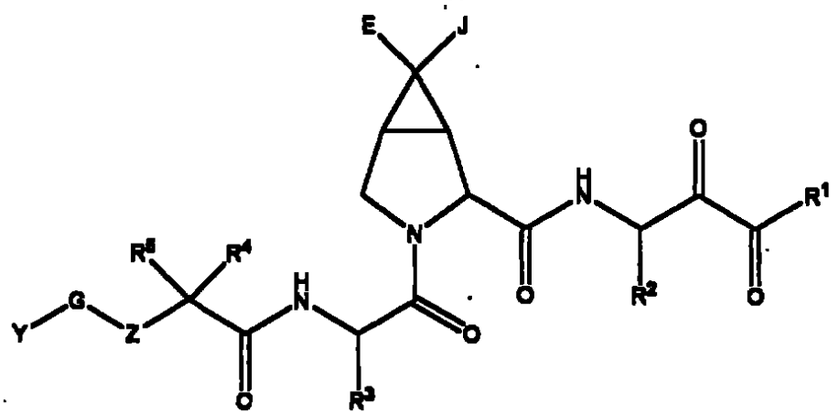
Existe la necesidad de métodos para modular la actividad de las serina proteasas, particularmente la NS3/NS4a serina proteasa del VHC, utilizando los compuestos provistos en la misma.

Existe la necesidad de métodos para modular el procesamiento del polipéptido de VHC utilizando los compuestos provistos en la presente.

Breve Descripción de la Invención

La publicación WO 02/08244 antes mencionada revela ampliamente varios compuestos. Los Solicitantes hallaron que un tipo específico de compuestos exhibe sorprendentemente una buena actividad inhibidora de la NS3/NS4a serina proteasa del VHC. De este modo, en sus muchas realizaciones, la presente invención provee una nueva clase de inhibidores de la proteasa del VHC, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de los compuestos, métodos para preparar formulaciones farmacéuticas que comprenden uno o más de tales compuestos, y métodos de tratamiento o prevención del VHC o alivio de uno o más de los síntomas de la hepatitis C utilizando uno o más de tales compuestos o una o más de tales formulaciones. También se proveen métodos para modular la interacción de un polipéptido de VHC con la proteasa del VHC. Entre los compuestos provistos en la presente, se prefieren los compuestos que inhiben la actividad de la NS3/NS4a serina proteasa del VHC. De este modo, la presente invención revela un compuesto, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros, o racematos de dicho compuesto, o una sal, solvato o éster aceptable para uso farmacéutico de dicho compuesto, teniendo dicho compuesto la estructura general que se muestra en la Fórmula I:

168



Fórmula I

en la cual:

R^1 es H, OR^8, NR^9R^{10}, o CHR^9R^{10}, donde R^8, R^9 y R^{10} pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por H, alquilo-, arilo-, heteroalquilo-, heteroarilo-, cicloalquilo-, cicloalquilo-, arilalquilo-y heteroarilalquilo;

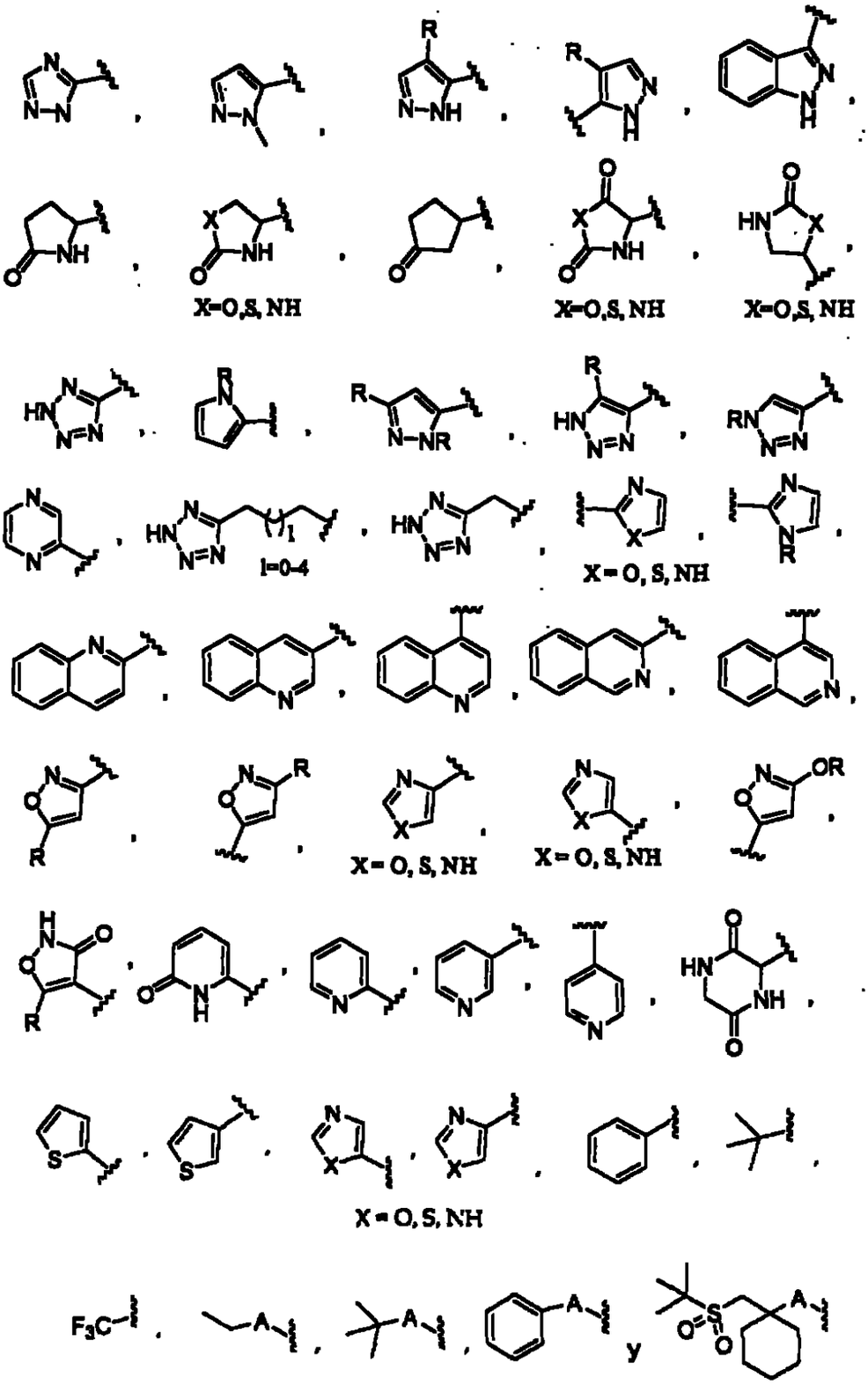
E y J pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por R, OR, NHR, NRR^7, SR, halo y $S(O_2)R$, o E y J pueden conectarse directamente entre sí para formar un cicloalquilo de tres a ocho miembros, o un resto heterociclilo de tres a ocho miembros;

Z es N(H), N(R) u O, con la salvedad de que cuando Z es O, G está presente o ausente y si G está presente cuando Z es O, entonces G es C(=O);

G puede estar presente o ausente, y si G está presente, G es C(=O) o $S(O_2)$, y cuando G está ausente, Z está directamente conectado a Y;

Y se selecciona del grupo integrado por:

169



R, R^7, R^2, R^3, R^4 y R^5 pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por H, alquilo-, alquenilo-, alquinilo-, cicloalquilo-, heteroalquilo-, heterociclilo-, arilo-, heteroarilo-, (cicloalquil)alquilo-, (heterociclil)alquilo-, aril-alquilo-, y heteroaril-alquilo-, donde cada uno de dichos heteroalquilo, heteroarilo y heterociclilo tiene en forma independiente de uno a seis átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre o fósforo; donde cada uno de dichos restos alquilo, heteroalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterociclilo pueden estar no sustituidos u opcionalmente sustituidos en forma independiente con uno o más restos seleccionados del grupo integrado por alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxi, tio, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro, sulfonamido, sulfóxido, sulfona, sulfonil urea, hidrazida e hidroxamato.

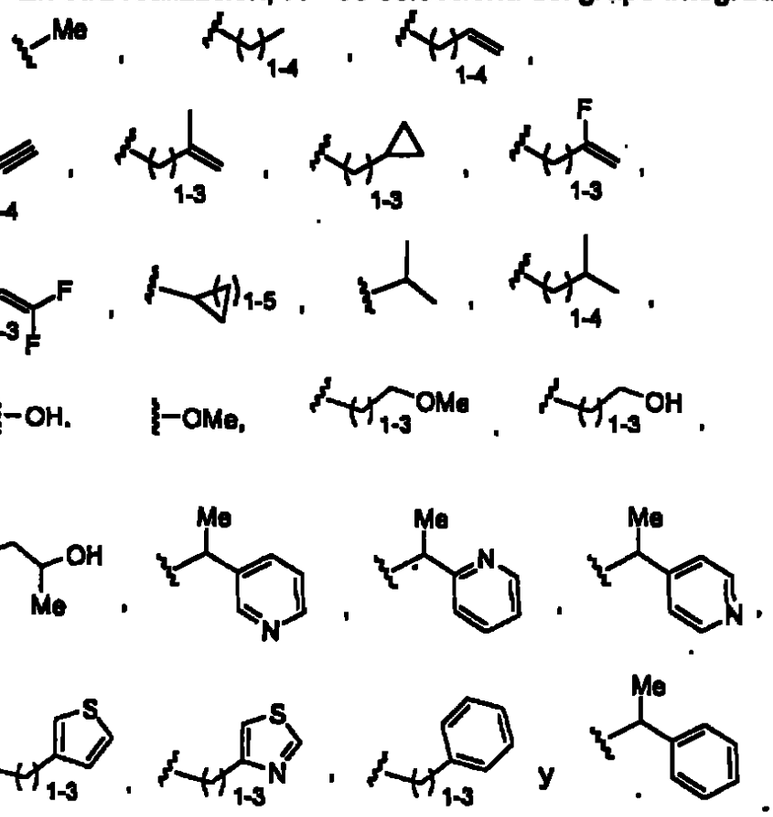
Los compuestos representados por la Fórmula 1, por sí mismos o en combinación con uno o más agentes adecuados adicionales descriptos en la presente, pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades tales como VHC, VIH, (SIDA o Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida), y trastornos relacionados, como así también para modular la actividad de la proteasa del virus de la hepatitis C (VHC), prevenir el VHC, o aliviar uno o más síntomas de la hepatitis C. Tal modulación, tratamiento, prevención o alivio puede realizarse con los compuestos de la invención como así también con composiciones farmacéuticas o formulaciones que comprenden tales compuestos. Sin limitarse a la teoría, se cree que la proteasa del VHC puede ser la NS3 o NS4a proteasa. Los compuestos de la invención pueden inhibir tal proteasa. Además pueden modular el procesamiento del polipéptido del virus de la hepatitis C (VHC).

Descripción Detallada

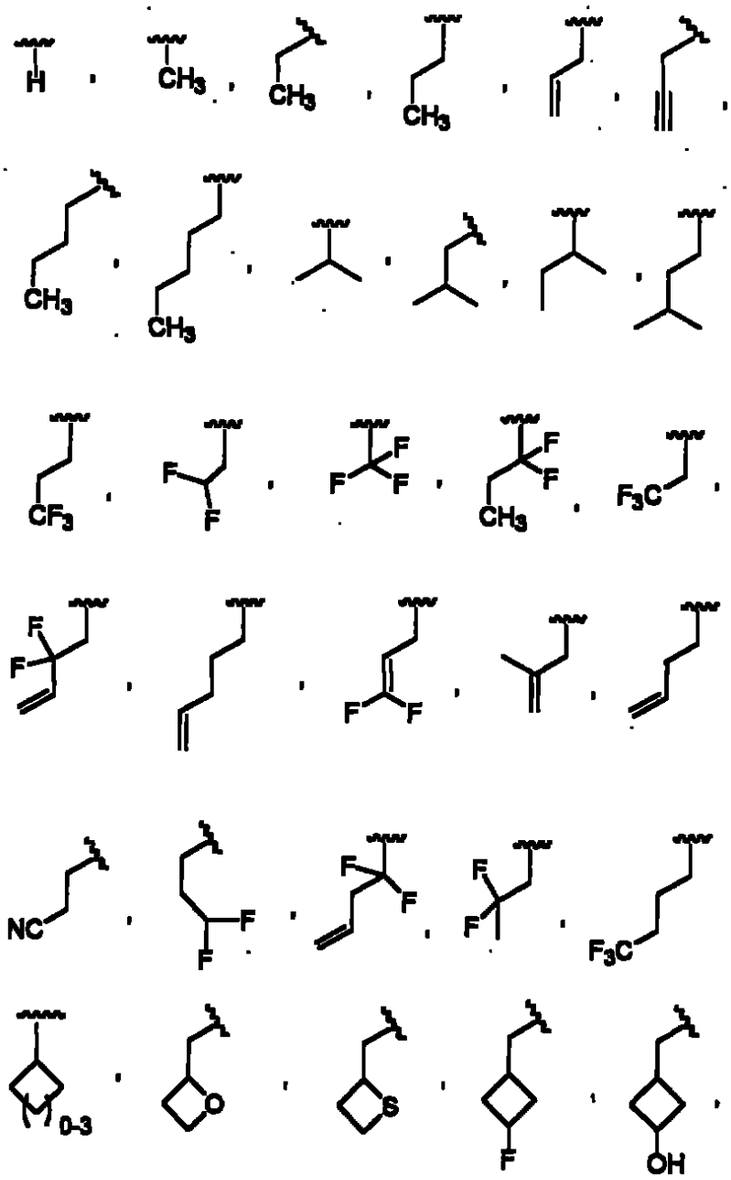
En una realización, la presente invención revela compuestos que están representados por la Fórmula 1 o su sal, solvato o éster aceptable para uso farmacéutico, donde los diversos restos son como se definieron anteriormente.

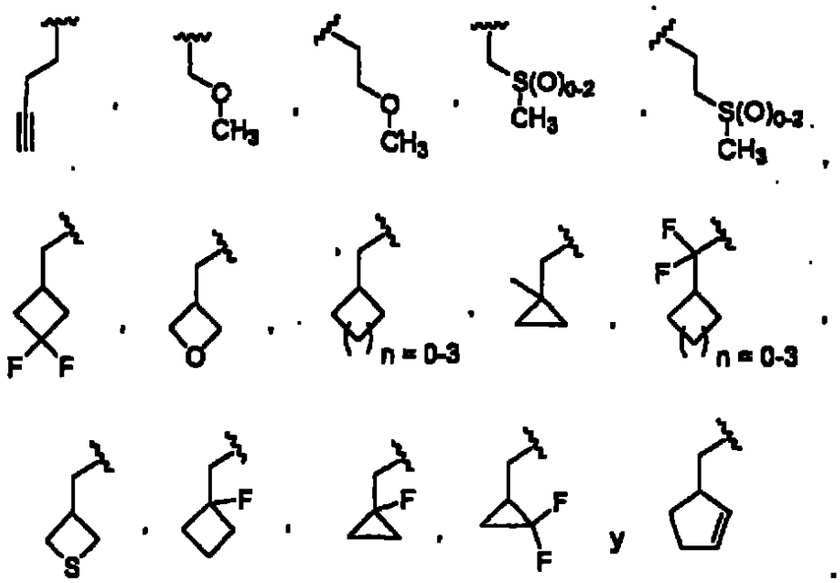
En otra realización, R^1 es NR^9R^{10}, donde R^9 es H, R^{10} es H o R^{14}, donde R^{14} es alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquil-arilo-, alquil-heteroarilo-, aril-alquilo-, alquenilo, alquinilo o heteroaril-alquilo-.

En otra realización, R^{14} se selecciona del grupo integrado por:



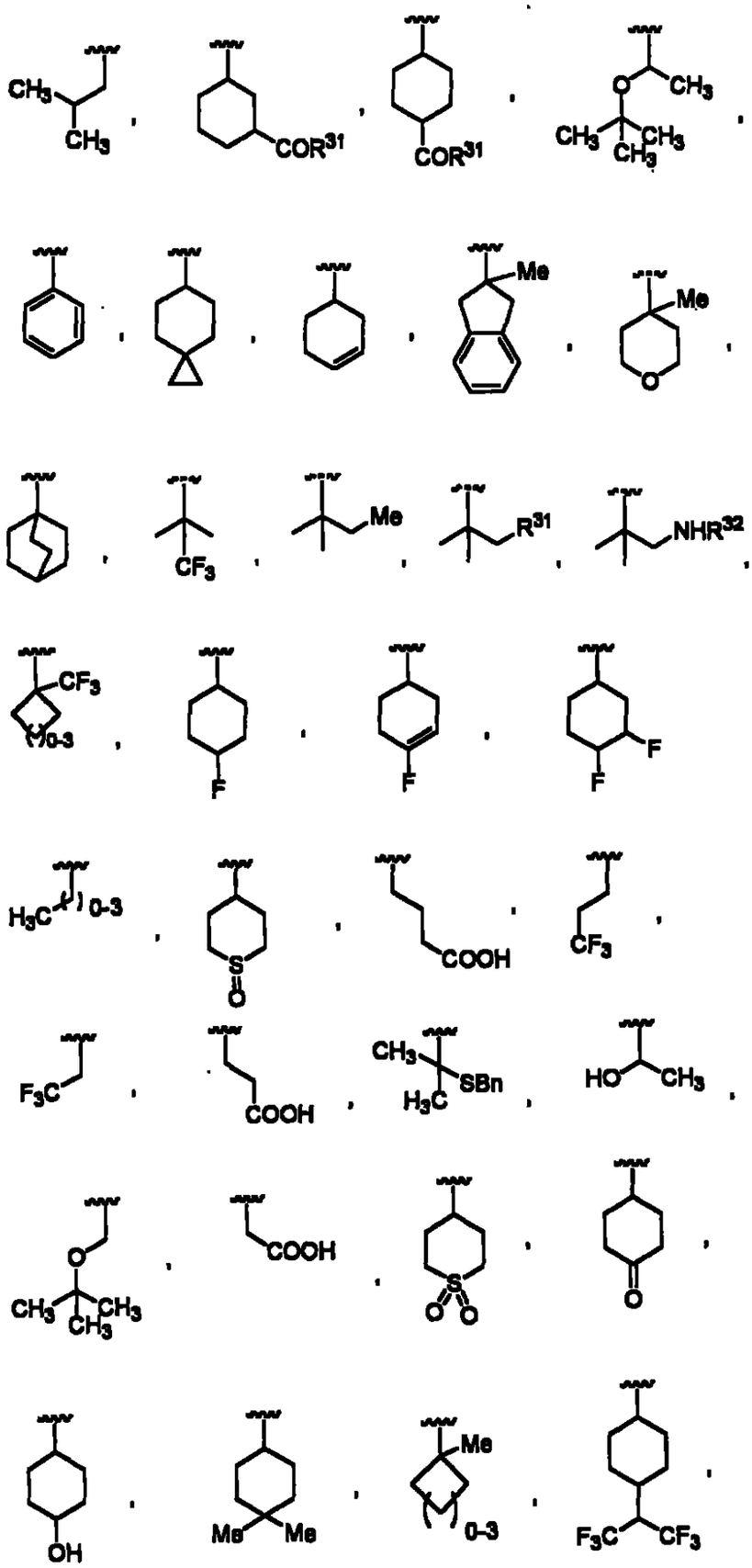
En otra realización, R^2 se selecciona del grupo integrado por los siguientes restos:

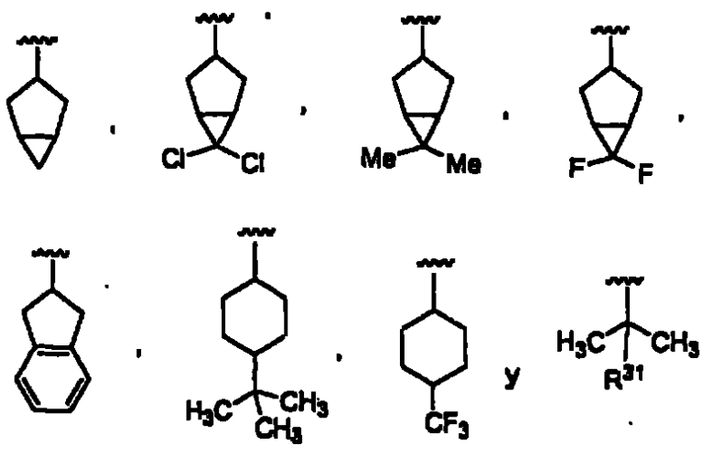

H
CH3
CH3
CH3
CH3
CH3
CF3
F
F
F
F
F
CH3
F3C
F
F
F
F
NC
F
F
F
F
F
F3C
0-3
O
S
F
OH



En otra realización, R^3 se selecciona del grupo integrado por:



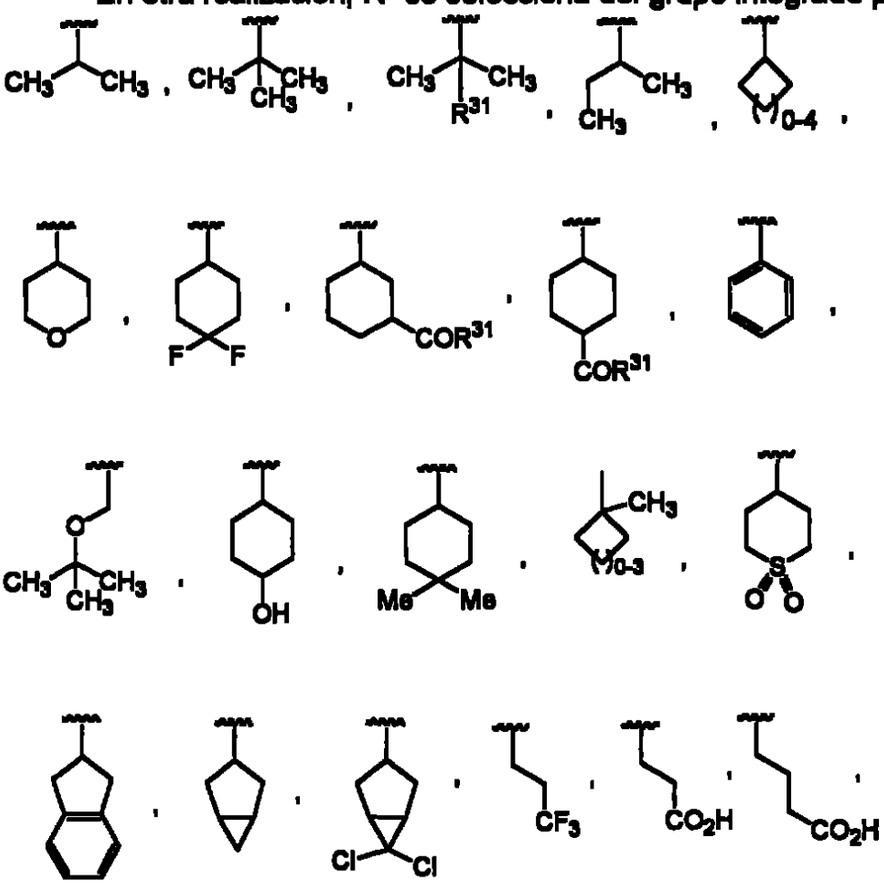

CH3
CH3
COR31
COR31
O
CH3
CH3
CH3
CH3
Me
Me
O
Me
CF3
R31
NHR32
CF3
0-3
F
F
F
F
H3C
0-3
S
O
COOH
CF3
F3C
COOH
CH3
SBn
H3C
HO
CH3
O
CH3
CH3
CH3
COOH
S
O
O
O
OH
Me
Me
Me
0-3
F3C
CF3

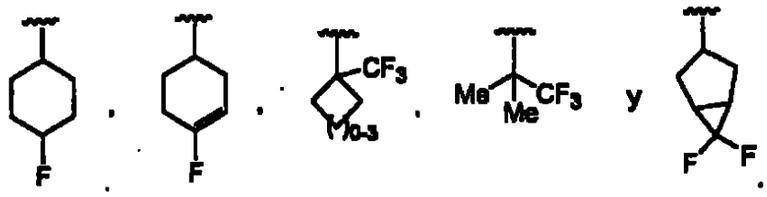


donde R^{31} es OH u O-alquilo; y

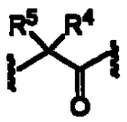
R^{32} es H, C(O)CH_3, C(O)OtBu o C(O)N(H)tBu.

En otra realización, R^3 se selecciona del grupo integrado por:

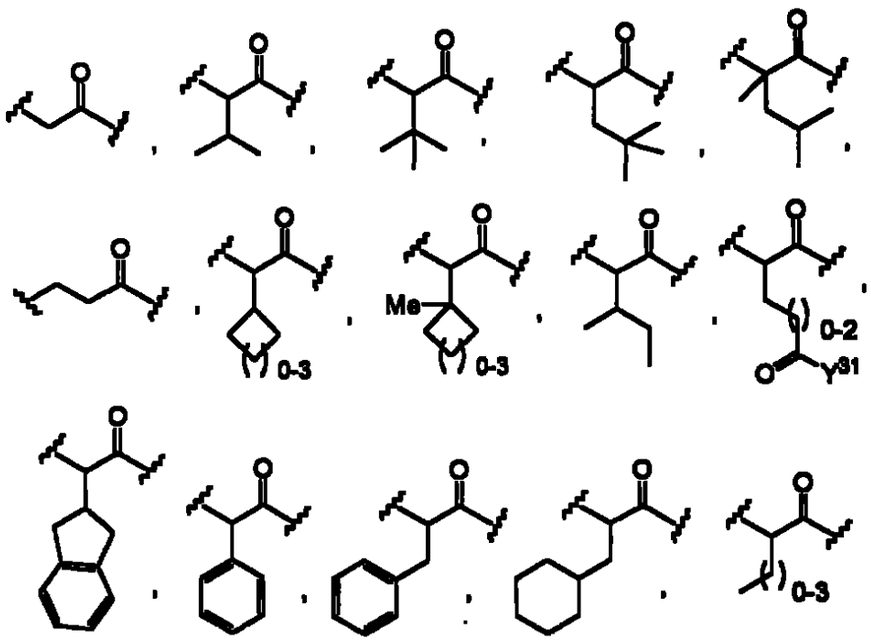


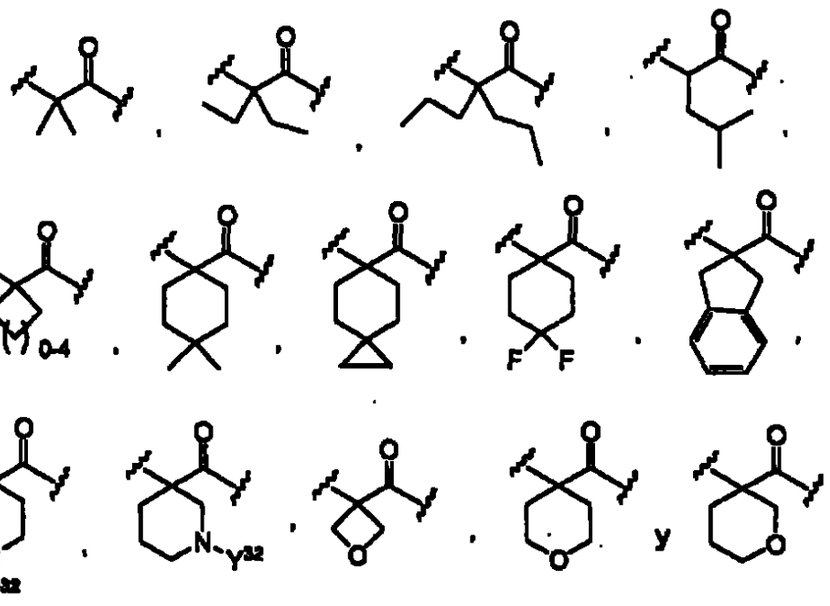


En otra realización, el resto



se selecciona del grupo integrado por:



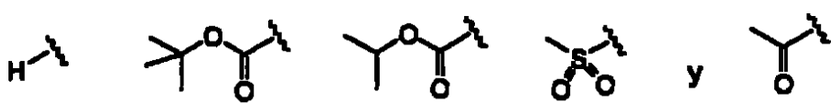


donde

Y^{31} se selecciona del grupo integrado por: OR, NHR y NRR^7

e

Y^{32} se selecciona del grupo integrado por:



En otra realización, Z es NH.

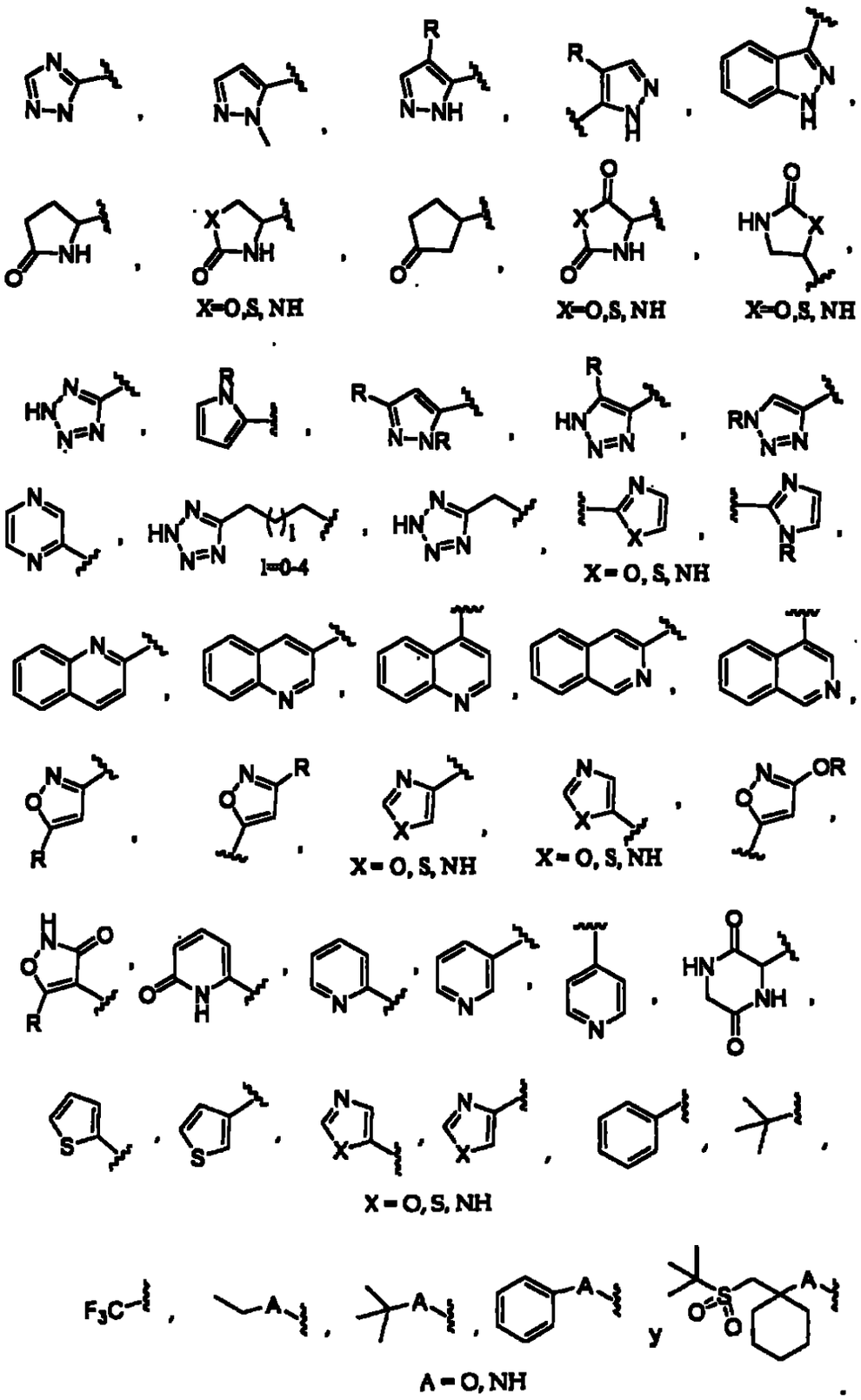
En otra realización, Z es N(R).

En otra realización, Z es O; cuando Z es O, entonces G puede estar presente o ausente, y si G está presente cuando Z es O, entonces G es C(=O).

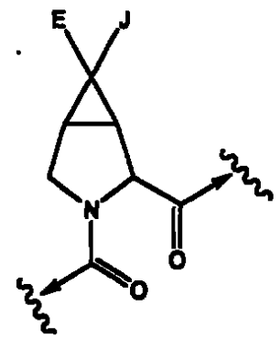
En otra realización, G está presente y G es C(=O) o $S(O_2)$.

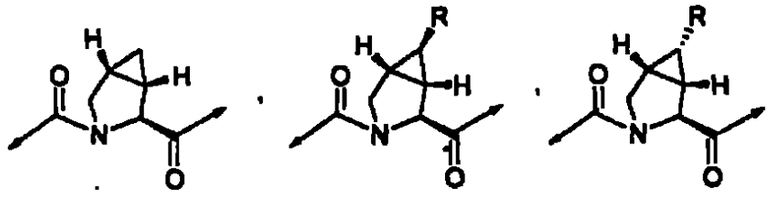
En otra realización, G está ausente.

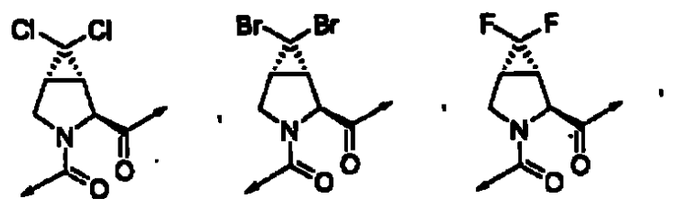
En otra realización, Y se selecciona del grupo integrado por:

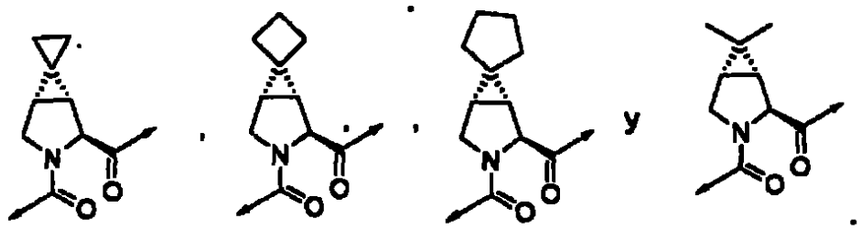


En otra realización, el resto:

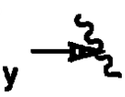






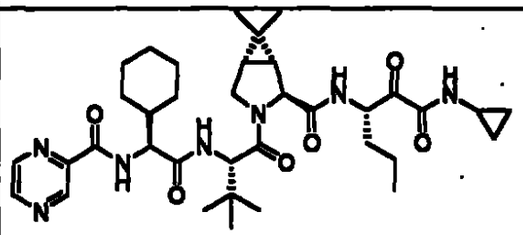
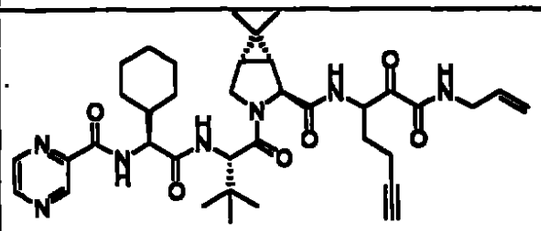
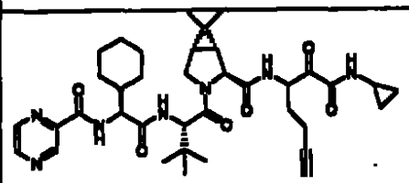
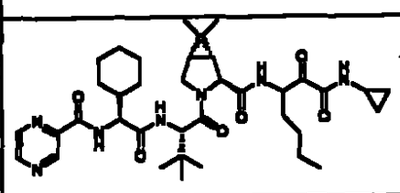
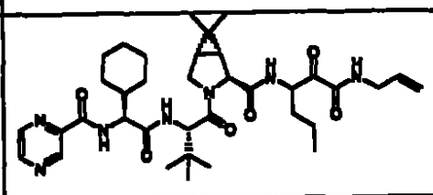
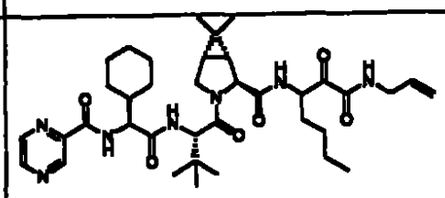
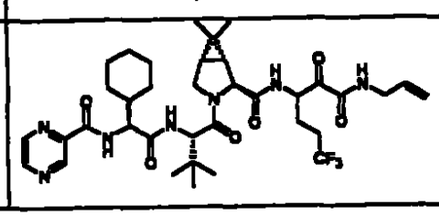


se selecciona del grupo integrado por:

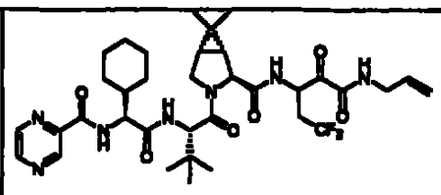
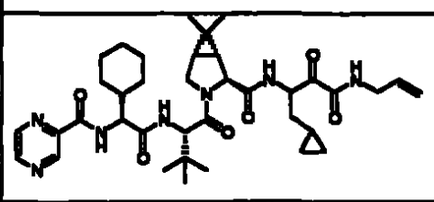
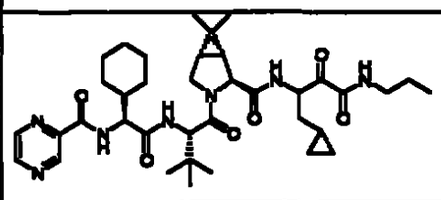
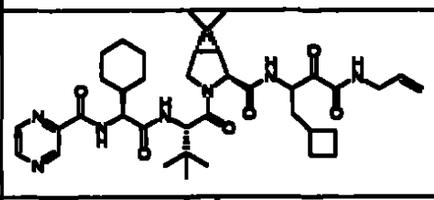
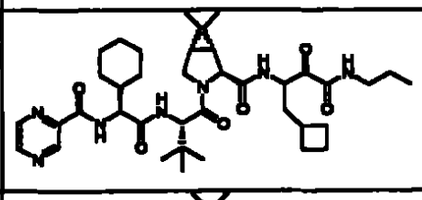
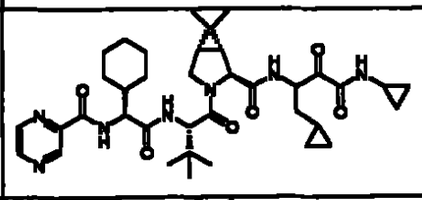
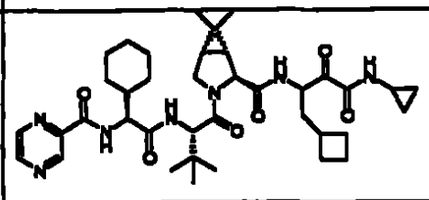
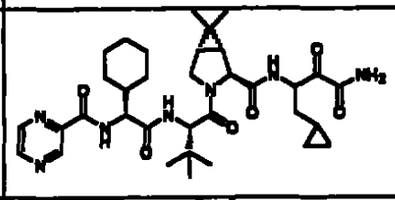
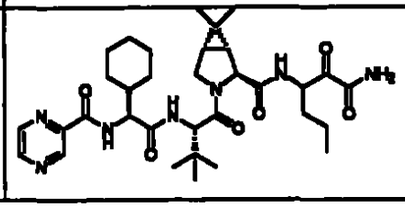
En general, los símbolos que contienen flechas en un resto  y  representan los puntos conectores del resto a las posiciones respectivas que se muestran en la estructura progenitora, por ejemplo en la Fórmula I.

Aun otra realización de la invención revela algunos de los compuestos de la invención de Fórmula I en la Tabla 1. También se revela en la Tabla 1 la

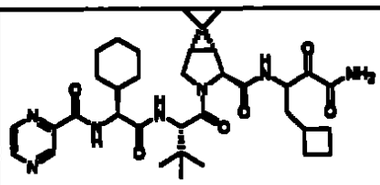
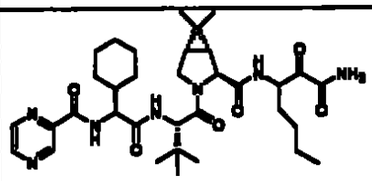
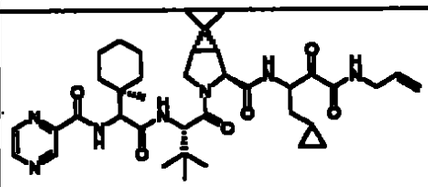
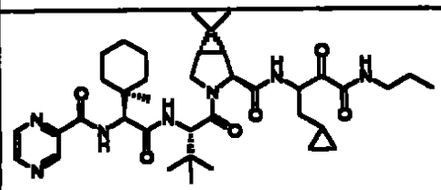
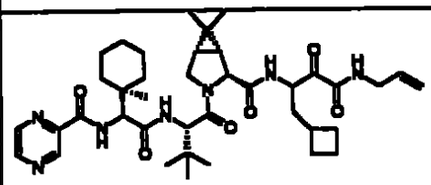
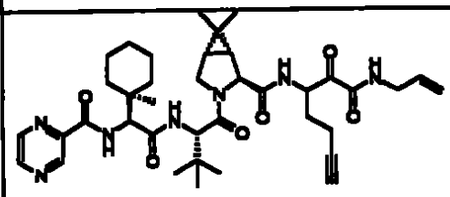
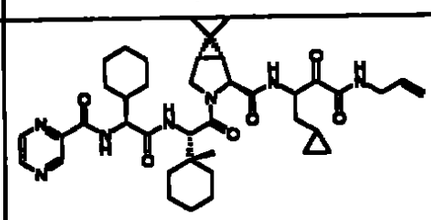
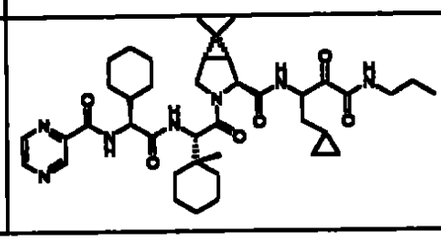
Tabla I

Entrada	Estructura	Ki* (nM)
1		10
2		6
3		
4		
5		
6		
7		

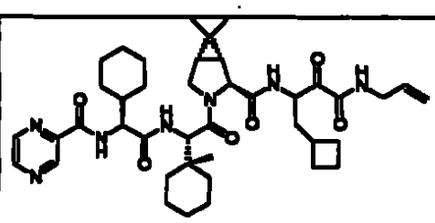
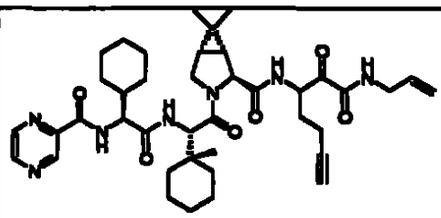
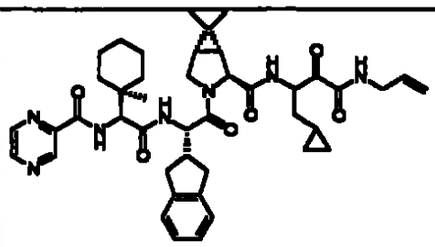
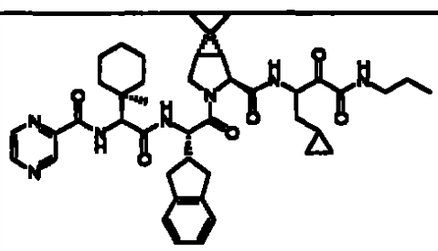
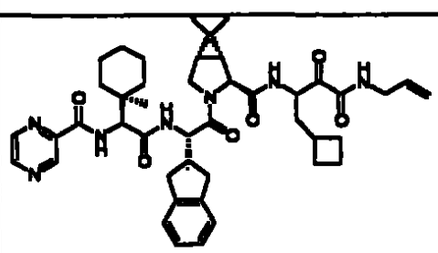
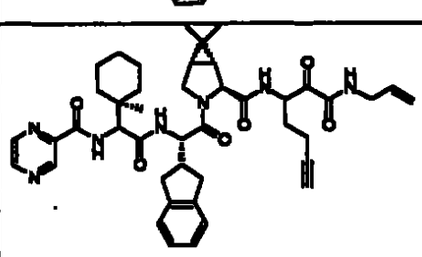
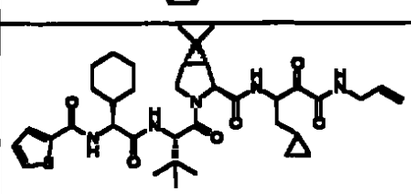
181

8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		

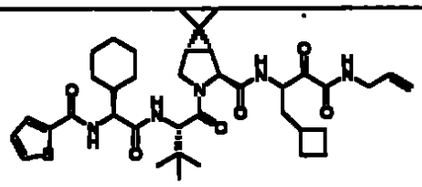
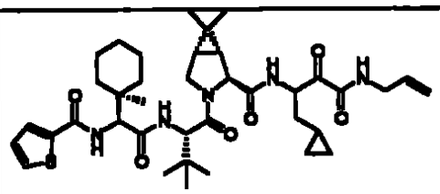
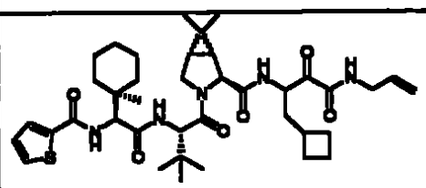
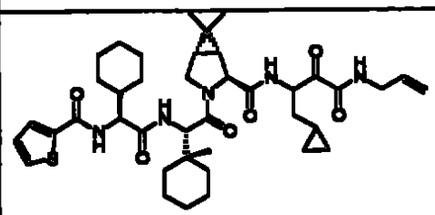
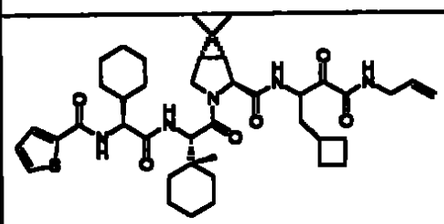
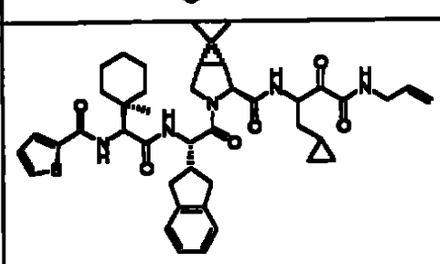
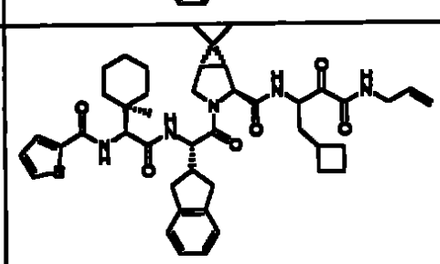
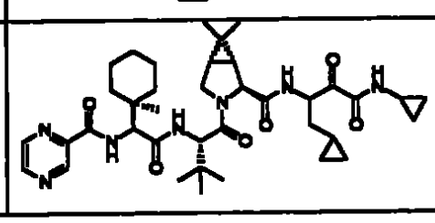
182

17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		

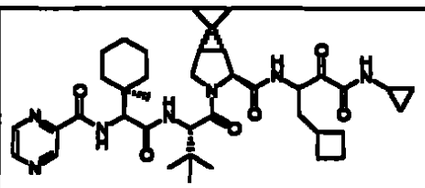
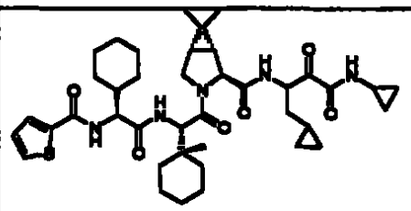
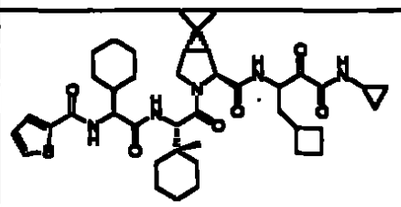
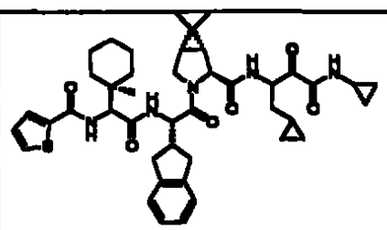
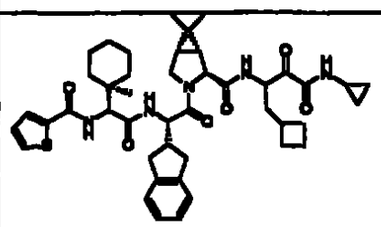
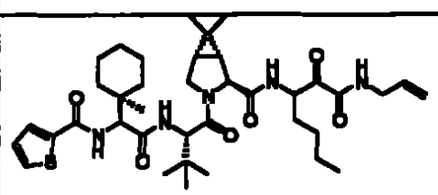
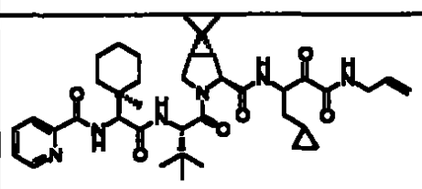
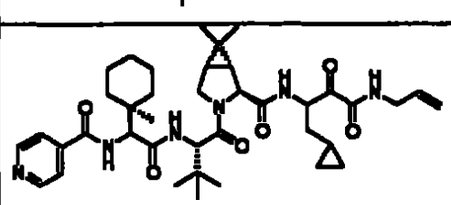
183

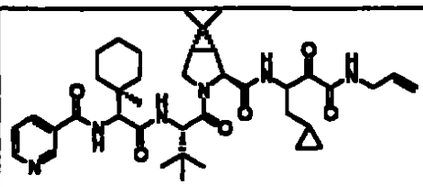
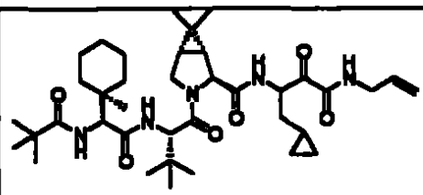
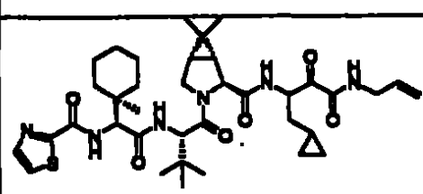
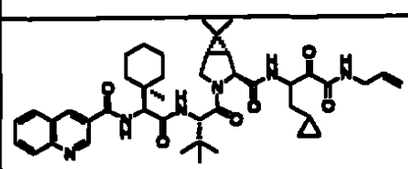
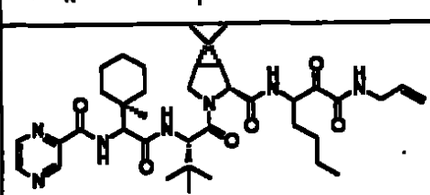
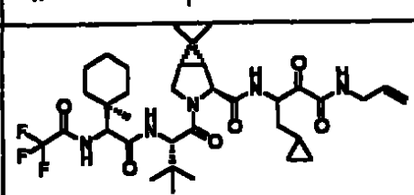
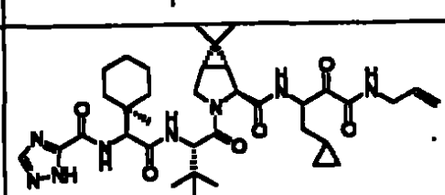
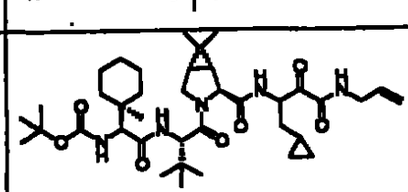
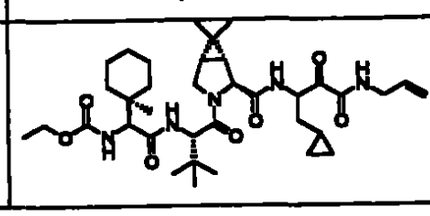
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		

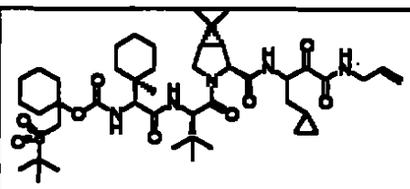
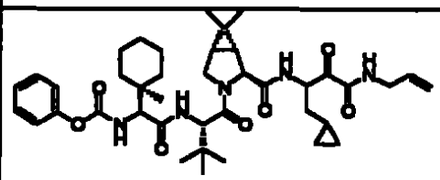
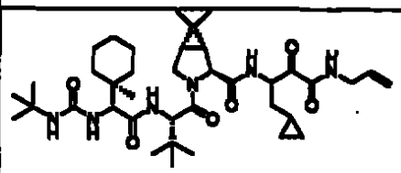
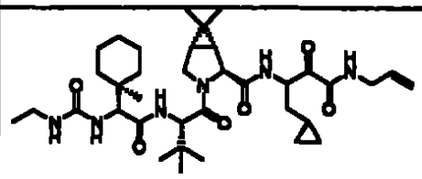
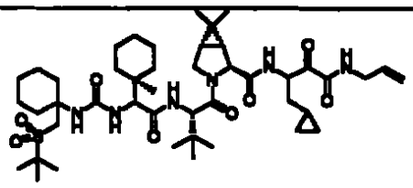
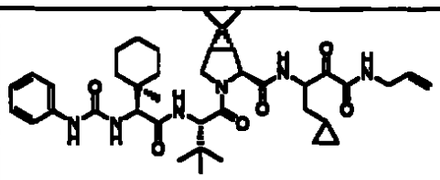
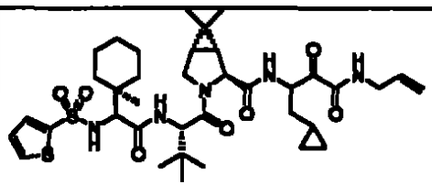
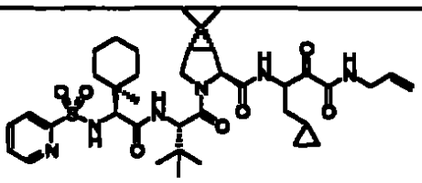
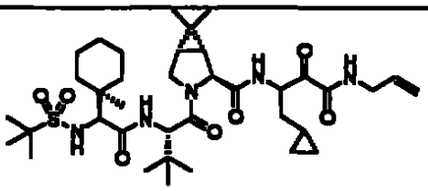
184

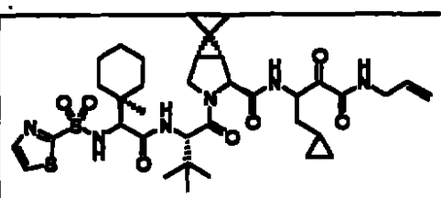
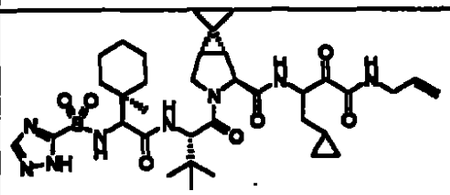
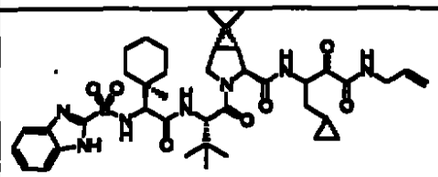
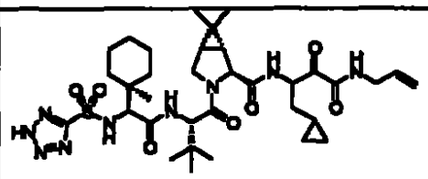
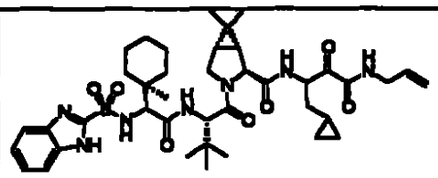
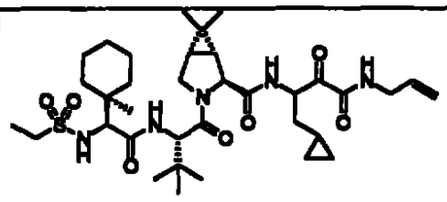
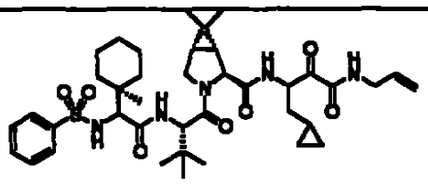
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		

185

40		
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		

48		
49		
50		
51		
52		
53		
54		
55		
56		

57		
58		
59		
60		
61		
62		
63		
64		
65		

66		
67		
68		
69		
70		
71		
72		

Tal como se utilizó anteriormente y a lo largo de la presente revelación, los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, tendrán los siguientes significados:

"Paciente" incluye tanto seres humanos como animales.

"Mamífero" significa seres humanos y otros animales mamíferos.

"Alquilo" significa un grupo hidrocarbonado alifático que puede ser de cadena recta o ramificada y comprende aproximadamente 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo preferidos contienen aproximadamente 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo más preferidos contienen aproximadamente 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono en la cadena. Ramificada significa que uno o más grupos alquilo inferior tal como metilo, etilo o propilo, se unen a una cadena de alquilo lineal. "Alquilo inferior" significa un grupo que tiene aproximadamente 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono en la cadena que puede ser recta o ramificada. El término "alquilo sustituido" significa que el grupo alquilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, cada sustituyente se selecciona en forma independiente del grupo integrado por halo, alquilo, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxi, alcoxi, alquiltio, amino, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), $-N(alquilo)_2$, $-N(alquilo)_2$, carboxi y –C(O)O-alquilo. Ejemplos no limitantes de grupos alquilo adecuados incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo y t-butilo.

"Alquenilo" significa un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que puede ser recto o ramificado y comprende aproximadamente 2 a aproximadamente 15 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquenilo preferidos tienen aproximadamente 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono en la cadena; y más preferentemente aproximadamente 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono en la cadena. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo inferior tal como metilo, etilo o propilo, se unen a una cadena alquenilo lineal. " alquenilo inferior" significa aproximadamente 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono en la cadena que puede ser recta o ramificada. El término "alquenilo sustituido" significa que el grupo alquenilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes que pueden

ser iguales o diferentes, cada sustituyente se selecciona en forma independiente del grupo integrado por halo, alquilo. arilo, cicloalquilo, ciano, alcoxi y –S(alquilo). Ejemplos no limitantes de grupos alquenilo adecuados incluyen etenilo, propenilo, n-butenilo, 3-metilbut-2-enilo, n-pentenilo, octenilo y decenilo.

"Alquinilo" significa un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono y que puede ser recta o ramificada y comprende aproximadamente 2 a aproximadamente 15 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquinilo preferidos tienen aproximadamente 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono en la cadena; y más preferentemente aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono en la cadena. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo inferior tal como metilo, etilo o propilo, se unen a una cadena de alquilo lineal. "Alquinilo inferior" significa aproximadamente 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono en la cadena que puede ser recta o ramificada. Ejemplos no limitantes de grupos alquinilo adecuados incluyen etinilo, propinilo, 2-butinilo y 3-metilbutinilo. El término " alquinilo sustituido" significa que el grupo alquinilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, cada sustituyente se selecciona en forma independiente del grupo integrado por alquilo, arilo y cicloalquilo.

"Arilo" significa un sistema anular monocíclico o multicíclico aromático que comprende aproximadamente 6 a aproximadamente 14 átomos de carbono, preferentemente aproximadamente 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono. El grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más "sustituyentes del sistema anular" que pueden ser iguales o diferentes, y son como se definieron en la presente. Ejemplos no limitantes de grupos arilo adecuados incluyen fenilo y naftilo.

"Heteroarilo" significa un sistema anular monocíclico o multicíclico que comprende aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos del anillo, preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos del anillo, en el cual uno o más de los átomos del anillo es un elemento diferente a carbono, por ejemplo nitrógeno, oxígeno o azufre, solo o en combinación. Heteroarilos preferidos contienen aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos del anillo. El "heteroarilo" puede estar opcionalmente sustituido con uno o más "sustituyentes del sistema anular" que pueden ser iguales o diferentes, y son como se definieron anteriormente. El prefijo aza, oxa o tia antes del nombre raíz heteroarilo significa que al menos un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre respectivamente, está presente como un átomo de anillo. Un átomo de nitrógeno de un heteroarilo puede oxidarse opcionalmente al correspondiente N-óxido. Ejemplos no limitantes de heteroarilos adecuados incluyen piridilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirimidinilo, piridona (incluyendo piridonas N-sustituidas), isoxazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, furazanilo, pirrolilo, pirazolilo, triazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, pirazinilo, piridazinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, oxindolilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, benzofurazanilo, indolilo, azaindolilo, benzoimidazolilo, benzotienilo, quinolinilo, imidazolilo, tienopiridilo, quinazolinilo, tienopirimidilo, pirrolopiridilo, imidazopiridilo, isoquinolinilo, benzoazaindolilo, 1,2,4-triazinilo, benzotiazolilo y similares. El término "heteroarilo" además se refiere a restos heteroarilo parcialmente saturados, por ejemplo, tetrahidroisoquinolilo, tetrahidroquinolilo y similares.

"Aralquilo" o "arilalquilo" significa un grupo aril-alquilo- en el cual el arilo y alquilo son como se describieron previamente. Los aralquilos preferidos comprenden un grupo alquilo inferior. Ejemplos no limitantes de grupos aralquilo preferidos incluyen bencilo, 2-fenetilo y naftalenilmetilo. El enlace al resto progenitor es a través del alquilo.

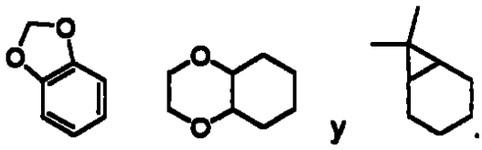
"Alquilarilo" significa un grupo alquil-arilo- en el cual el alquilo y arilo son como se describieron previamente. Los alquilarilos preferidos comprenden un grupo alquilo inferior. Un ejemplo no limitante de un grupo alquilarilo adecuado es tolilo. El enlace al resto progenitor es a través del arilo.

"Cicloalquilo" significa un sistema anular mono- o multicíclico no aromático que comprende aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos de carbono. Los anillos cicloalquilo preferidos contienen aproximadamente 5 a aproximadamente 7 átomos del anillo. El cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más "sustituyentes del sistema anular" que pueden ser iguales o diferentes, y son como se definieron anteriormente. Ejemplos no limitantes de cicloalquilos monocíclicos adecuados incluyen ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares. Ejemplos no limitantes de cicloalquilos multicíclicos adecuados incluyen 1-decalinilo, norbornilo, adamantilo y similares, como así también especies parcialmente saturadas tales como, por ejemplo, indanilo, tetrahidronaftilo y similares.

"Halógeno" o "halo" significa flúor, cloro, bromo, o yodo. Se prefieren flúor, cloro y bromo.

"Sustituyente del sistema anular" significa un sustituyente unido a un sistema anular aromático o no aromático que, por ejemplo, reemplaza un hidrógeno disponible en el sistema anular. Los sustituyentes del sistema anular pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, heteroarilalquenilo, heteroarilalquinilo, alquilheteroarilo, hidroxi, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, aroilo, halo, nitro, ciano, carboxi, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio,

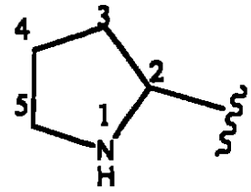
heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterociclilo, -C(=N-CN)-NH_2, -C(=NH)-NH_2, -C(=NH)-NH(alquilo), Y_1Y_2N-, Y_1Y_2N-alquilo-, $Y_1Y_2NC(O)$-, $Y_1Y_2NSO_2$- y -$SO_2NY_1Y_2$, donde Y_1 y Y_2 pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan en forma independiente del grupo integrado por hidrógeno, alquilo, arilo, cicloalquilo, y aralquilo. "Sustituyente del sistema anular" además puede significar un resto único que reemplaza simultáneamente dos hidrógenos disponibles en átomos de carbono adyacentes (un H sobre cada átomo) en un sistema anular. Ejemplos de tales restos son metilendioxi, etilendioxi, -$C(CH_3)_2$- y similares que forman restos tales como, por ejemplo:



"Heterociclilo" significa un sistema anular monocíclico o multicíclico saturado no aromático que comprende aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos del anillo, preferentemente aproximadamente 5 a aproximadamente 10 átomos del anillo, en el cual uno o más de los átomos en el sistema anular es un elemento diferente a carbono, por ejemplo nitrógeno, oxígeno o azufre, solo o en combinación. No existen átomos de oxígeno y/o azufre adyacentes presentes en el sistema anular. Los heterociclilos preferidos contienen aproximadamente 5 a aproximadamente 6 átomos del anillo. El prefijo aza, oxa o tia antes del nombre raíz de heterociclilo significa que al menos un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre respectivamente está presente como un átomo del anillo. Cualquier –NH en un anillo heterociclilo puede existir protegido tal como, por ejemplo, un grupo -N(Boc), -N(CBz), -N(Tos) y similares; tales protecciones además se consideran parte de esta invención. El heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más "sustituyentes del sistema anular" que pueden ser iguales o diferentes, y son como se definieron en la presente. El átomo de nitrógeno o azufre del

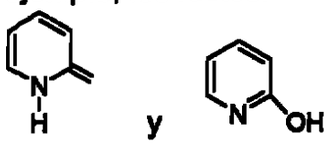
heterociclilo puede estar opcionalmente oxidado al correspondiente N-óxido, S-óxido o S,S-dióxido. Ejemplos no limitantes de anillos heterociclilo monocíclicos adecuados incluyen piperidilo, pirrolidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tiazolidinilo, 1,4-dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, lactama, lactona, y similares.

Debe observarse que en los sistemas anulares que contienen heteroátomos de esta invención, no hay grupos hidroxilo en los átomos de carbono adyacentes a un N, O o S, como tampoco hay grupos N o S en el carbono adyacente a otro heteroátomo. De este modo, por ejemplo, en el anillo:



no hay -OH unido directamente a los carbonos marcados 2 y 5.

También debe observarse que las formas tautoméricas tales como, por ejemplo, los restos:



se consideran equivalentes en ciertas realizaciones de esta invención.

"Alquinilalquilo" significa un grupo alquinil-alquilo- en el cual el alquinilo y alquilo son como se describieron previamente. Los alquinilalquilos preferidos contienen un alquinilo inferior y un grupo alquilo inferior. El enlace al resto progenitor es a través del alquilo. Ejemplos no limitantes de grupos alquinilalquilo adecuados incluyen propargilmetilo.

"Heteroaralquilo" significa un grupo heteroaril-alquilo- en el cual el heteroarilo y alquilo son como se describieron previamente. Los heteroaralquilos preferidos contienen un grupo alquilo inferior. Ejemplos no limitantes de grupos

aralquilo incluyen piridilmetilo, y quinolin-3-ilmetilo. El enlace al resto progenitor es a través del alquilo.

"Hidroxialquilo" significa un grupo HO-alquilo- en el cual el alquilo es como se definió previamente. Los hidroxialquilos preferidos contienen alquilo inferior. Ejemplos no limitantes de grupos hidroxialquilo adecuados incluyen hidroximetilo y 2-hidroxietilo.

"Acilo" significa un grupo H-C(O)-, alquilo-C(O)- o cicloalquilo-C(O)-, en el cual los diversos grupos son como se describieron previamente. El enlace al resto progenitor es a través del carbonilo. Los acilos preferidos contienen un alquilo inferior. Ejemplos no limitantes de grupos acilo adecuados incluyen formilo, acetilo y propanoílo.

"Aroílo" significa un grupo aril-C(O)- en el cual el grupo arilo es como se describió previamente. El enlace al resto progenitor es a través del carbonilo. Ejemplos no limitantes de grupos adecuados incluyen benzoílo y 1- naftoílo.

"Alcoxi" significa un grupo alquil-O- en el cual el grupo alquilo es como se describió previamente. Ejemplos no limitantes de grupos alcoxi adecuados incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi y n-butoxi. El enlace al resto progenitor es a través del oxígeno del éter.

"Ariloxi" significa un grupo aril-O- en el cual el grupo arilo es como se describió previamente. Ejemplos no limitantes de grupos ariloxi adecuados incluyen fenoxi y naftoxi. El enlace al resto progenitor es a través del oxígeno del éter.

"Aralquiloxi" significa un grupo aralquil-O- en el cual el grupo aralquilo es como se describió previamente. Ejemplos no limitantes de grupos aralquiloxi adecuados incluyen benciloxi y 1- o 2-naftalenmetoxi. El enlace al resto progenitor es a través del oxígeno del éter.

"Alquiltio" significa un grupo alquil-S- en el cual el grupo alquilo es como se describió previamente. Ejemplos no limitantes de grupos alquiltio adecuados incluyen metiltio y etiltio. El enlace al resto progenitor es a través del azufre.

"Ariltio" significa un grupo aril-S- en el cual el grupo arilo es como se describió previamente. Ejemplos no limitantes de grupos ariltio adecuados incluyen feniltio y naftiltio. El enlace al resto progenitor es a través del azufre.

"Aralquiltio" significa un grupo aralquil-S- en el cual el grupo aralquilo es como se describió previamente. Un ejemplo no limitante de un grupo aralquiltio adecuado es benciltio. El enlace al resto progenitor es a través del azufre.

"Alcoxicarbonilo" significa un grupo alquil-O-C(O)-. Ejemplos no limitantes de grupos alcoxicarbonilo incluyen metoxicarbonilo y etoxicarbonilo. El enlace al resto progenitor es a través del carbonilo.

"Ariloxicarbonilo" significa un grupo aril-O-C(O)-. Ejemplos no limitantes de grupos ariloxicarbonilo adecuados incluyen fenoxicarbonilo y naftoxicarbonilo. El enlace al resto progenitor es a través del carbonilo.

"Aralcoxicarbonilo" significa un grupo aralquil-O-C(O)-. Un ejemplo no limitante de un grupo aralcoxicarbonilo adecuado es benciloxicarbonilo. El enlace al resto progenitor es a través del carbonilo.

"Alquilsulfonilo" significa un grupo alquil-$S(O_2)$-. Los grupos preferidos son aquellos en los cuales el grupo alquilo es alquilo inferior. El enlace al resto progenitor es a través del sulfonilo.

"Arilsulfonilo" significa un grupo aril-$S(O_2)$-. El enlace al resto progenitor es a través del sulfonilo.

El término "sustituido" significa que uno o más hidrógenos en el átomo designado se reemplaza con una selección del grupo indicado, siempre que la valencia normal del átomo designado bajo las circunstancias existentes no se exceda, y que la sustitución dé por resultado un compuesto estable. Las

combinaciones de los sustituyentes y/o variables son permitidas sólo si tales combinaciones dan por resultado compuestos estables. Por "compuesto estable" o "estructura estable" se entiende un compuesto que es lo suficientemente fuerte como para sobrevivir al aislamiento en un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción, y la formulación en un agente terapéutico eficaz.

El término "uno o más" o "al menos uno", cuando indica la cantidad de sustituyentes, compuestos, agentes de combinación y similares, se refiere al menos a uno, y hasta la cantidad máxima de sustituyentes, compuestos, agentes de combinación y similares permitidos para uso químico y físico, que están presentes o se adicionan, dependiendo del contexto. Tales técnicas y conocimiento son bien conocidos por los expertos en la técnica.

El término "opcionalmente sustituido" significa la sustitución opcional con los grupos, radicales o restos especificados.

El término "aislado" o "en forma aislada" para un compuesto se refiere al estado físico de dicho compuesto después de ser aislado de un proceso de síntesis o fuente natural o su combinación. El término "purificado" o "en forma purificada" para un compuesto se refiere al estado físico de dicho compuesto después de haberse obtenido de un proceso o procesos de purificación descriptos en la presente o conocidos por el experto en la técnica, en suficiente pureza a ser caracterizable por técnicas analíticas estándar descriptas en la presente o bien conocidas por los expertos en la técnica.

Debe observarse además que se presume que cualquier heteroátomo con valencias no satisfechas en el texto, esquemas, ejemplos y tablas en la presente, tiene el(los) átomo(s) de hidrógeno para satisfacer las valencias .

Cuando un grupo funcional en un compuesto se denomina "protegido", esto significa que el grupo está en forma modificada para evitar reacciones colaterales no deseadas en el sitio protegido cuando el compuesto se somete a una reacción.

198

Los grupos protectores adecuados serán reconocidos por los expertos en la técnica así como también por referencia a libros de texto estándar tales como, por ejemplo, T. W. Greene *et al*, *Protective Groups in organic Synthesis* (1991), Wiley, New York.

Cuando cualquier variable (por ejemplo, arilo, heterociclo, R^2, etc.) ocurre más de una vez en cualquier constituyente o en la Fórmula 1, su definición en cada aparición es independiente de su definición en otra aparición.

Tal como se utiliza en la presente, el término "composición" abarca un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como también cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Se contemplan además en la presente profármacos y solvatos de los compuestos de la invención. El término "profármaco", tal como se emplea en la presente, denota un compuesto que es un precursor de fármaco que, al administrarlo a un sujeto, se somete a una conversión química por procesos metabólicos o químicos para dar un compuesto de Fórmula 1 o su sal y/o solvato. Se provee una discusión sobre profármacos en T. Higuchi y V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems* (1987) 14 de la A.C.S. Symposium Series, y in *Bioreversible Carriers in Drug Design*, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association & Pergamon Press, las cuales se incorporan a la presente en su totalidad como referencia.

"Solvato" significa una asociación física de un compuesto de esta invención con uno o más moléculas de solvente. Esta asociación física involucra grados variables de unión iónica y covalente, incluyendo la unión de hidrógeno. En ciertas circunstancias el solvato podrá aislarse, por ejemplo cuando una o más moléculas de solvente se incorporan en la retícula de cristal del sólido cristalino. "Solvato"

abarca tanto solvatos aislables como los de fase solución. Ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen etanolatos, metanolatos, y similares. "Hidrato" es un solvato donde la molécula de solvente es H_2O.

"Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se utiliza para describir una cantidad de compuesto o una composición de la presente invención eficaz para inhibir la(s) CDK(s) y de este modo producir el efecto terapéutico, de alivio, inhibidor o preventivo deseado.

Los compuestos de Fórmula 1 pueden formar sales que están además dentro del alcance de esta invención. Se hace referencia a un compuesto de fórmula 1 para incluir referencia a sus sales, a menos que se indique lo contrario. El término "sal(es)", tal como se emplea en la presente, denota sales ácidas formadas con ácidos inorgánicos y/u orgánicos, así como también sales básicas formadas con bases inorgánicas y/u orgánicas. Además, cuando un compuesto de Fórmula 1 contiene un resto básico, tal como, pero sin limitación, una piridina o imidazol, y un resto ácido, tal como, pero sin limitarse a un ácido carboxílico, se pueden formar zwiteriones ("sales internas") y se incluyen dentro del término "sal(es)" tal como se utiliza en la presente. Se prefieren las sales aceptables para uso farmacéutico (es decir no-tóxicas, aceptables para uso fisiológico), si bien otras sales también son útiles. Se pueden formar sales de los compuestos de fórmula 1, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de fórmula 1 con una cantidad de ácido o base, tal como una cantidad equivalente, en un medio tal como uno en el cual la sal precipita o en un medio acuoso seguido de liofilización.

Ejemplos de sales de adición con ácidos incluyen acetatos, ascorbatos, benzoatos, bencensulfonatos, bisulfatos, boratos, butiratos, citratos, alcanforatos, alcanforsulfonatos, fumaratos, clorhidratos, bromhidratos, yodhidratos, lactatos, maleatos, metansulfonatos, naftalensulfonatos, nitratos, oxalatos, fosfatos, propionatos, salicilatos, succinatos, sulfatos, tartratos, tiocianatos,

toluensulfonatos (también conocidos como tosilatos) y similares. Más aún, los ácidos que en general se consideran adecuados para la formación de sales útiles para uso farmacéutico a partir de compuestos farmacéuticos básicos se mencionan, por ejemplo, en P. Stahl *et al*, Camille G. (eds.) *Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.* (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge *et al*, *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201-217; Anderson *et al*, *The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, New York; y en *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C. en su sitio web). Estas revelaciones se incorporan a la presente como referencia.

Ejemplos de sales básicas incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio, litio y potasio, sales de metales alcalino térreos tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas (por ejemplo, aminas orgánicas) tales como diciclohexilaminas, t-butil aminas, y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina y similares. Grupos básicos que contienen nitrógeno se pueden cuaternizar con agentes tales como haluros de alquilo inferior (por ejemplo cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo y butilo), dialquil sulfatos (por ejemplo sulfatos de dimetilo, dietilo y dibutilo), haluros de cadena larga (por ejemplo cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo y estearilo), haluros de aralquilo (por ejemplo bromuros de bencilo y fenetilo), y otros.

Todas estas sales de ácidos y sales de bases son sales aceptables para uso farmacéutico dentro del alcance de la invención y todas las sales de ácidos y de bases se consideran equivalentes a las formas libres de los compuestos correspondientes a los fines de la invención.

Los ésteres aceptables para uso farmacéutico de los presentes compuestos incluyen los siguientes grupos: (1) ésteres de ácido carboxílico

201

obtenidos por esterificación de los grupos hidroxi, en los cuales el resto no carbonílico de la porción del ácido carboxílico del grupo éster del alquilo de cadena recta o ramificada (por ejemplo acetilo, n-propilo, t-butilo o n-butilo), alcoxialquilo (por ejemplo, metoximetilo), aralquilo (por ejemplo bencilo), ariloxialquilo (por ejemplo fenoximetilo), arilo (por ejemplo fenilo opcionalmente sustituido con, por ejemplo, halógeno, alquilo C_{1-4}, o alcoxi C_{1-4} o amino); (2) ésteres de sulfonato, tales como los de alquilo o aralquilsulfonilo (por ejemplo metansulfonilo); (3) ésteres de aminoácidos (por ejemplo L-valilo o L-isoleucilo); (4) ésteres de fosfonato y (5) mono-, di- o trifosfato ésteres. Los ésteres fosfato pueden ser adicionalmente esterificados, por ejemplo, por un alcohol C_{1-20} o un derivado reactivo del mismo, o por un 2,3-di (C_{6-24})acil glicerol.

Los compuestos de Fórmula 1, y sus sales, solvatos, ésteres y profármacos, pueden existir en su forma tautomérica (por ejemplo como una amida o imino éter). Todas las formas tautoméricas se contemplan en la presente como parte de la presente invención.

Todos los estereoisómeros (por ejemplo isómeros geométricos, isómeros ópticos y similares) de los presentes compuestos (incluyendo los de las sales, solvatos y profármacos de los compuestos como así también las sales y solvatos de los profármacos), tales como los que pueden existir debido a los carbonos asimétricos sobre varios sustituyentes, incluyendo formas enantioméricas (que pueden existir aún en ausencia de carbonos asimétricos), formas rotaméricas, atropoisómeros, y formas diastereoméricas, se consideran dentro del alcance de la presente invención, como son los isómeros de posición (tales como, por ejemplo, 4-piridilo y 3-piridilo). Los estereoisómeros individuales de los compuestos de la invención pueden, por ejemplo, estar sustancialmente libres de otros isómeros, o pueden estar mezclados, por ejemplo, como racematos o con otros u otros estereoisómeros seleccionados. Los centros quirales de la presente

invención pueden tener la configuración S o R según lo definido por la *IUPAC* 1974 Recommendations. El uso de los términos "sal", "solvato" "profármaco" y similares, se aplica igualmente a la sal, solvato y *profármaco de enantiómeros*, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, isómeros posicionales, racematos o profármacos de los compuestos de la invención.

Los compuestos de Fórmula 1, y sus sales, solvatos y profármacos, pueden existir en sus formas polimórficas. Las formas polimórficas de los compuestos de Fórmula I, y de las sales, solvatos y profármacos de los compuestos de Fórmula I, se incluyen en la presente invención.

Toda forma o formas polimórficas se contemplan en la presente como parte de la presente invención.

Debe entenderse que la utilidad de los compuestos de Fórmula 1 para las aplicaciones terapéuticas mencionadas en la presente es aplicable a cada compuesto por sí mismo o a la combinación o combinaciones de uno o más compuestos de Fórmula 1 según se ilustra, por ejemplo, en el próximo párrafo inmediato. El mismo entendimiento se aplica también a la(las) composición(composiciones) farmacéuticas que comprenden tal o tales compuestos y al(a los) método(s) de tratamiento que involucran tal o tales compuestos.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden tener propiedades farmacológicas; en particular, los compuestos de Fórmula 1 pueden ser inhibidores de la proteasa del VHC, cada compuesto solo o uno o más compuestos de Fórmula 1 pueden combinarse con uno o más compuestos seleccionados de dentro de la Fórmula 1. El(los) compuesto(s) pueden ser útiles para tratar enfermedades tales como, por ejemplo, VHC, VIH, (SIDA, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida), y trastornos relacionados, como así también para

modular la actividad de la proteasa del virus de la hepatitis C (VHC), prevenir el VHC, o aliviar uno o más síntomas de la hepatitis C.

Los compuestos de Fórmula 1 pueden utilizarse para la fabricación de un medicamento para tratar trastornos asociados con la proteasa de VHC, por ejemplo el método comprende poner en contacto íntimo un compuesto de Fórmula 1 con un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En otra realización, esta invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto o los compuestos de la invención como componente activo. Las composiciones farmacéuticas generalmente comprenden, de manera adicional, por lo menos un diluyente vehículo, excipiente o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico (denominados en forma colectiva aquí materiales vehículo). Debido a su actividad inhibidora del VHC, tales composiciones farmacéuticas poseen utilidad en el tratamiento de la hepatitis C y trastornos relacionados.

Incluso en otra realización, la presente invención describe métodos para preparar composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención como componente activo. En las composiciones farmacéuticas y los métodos de la presente invención, los componentes activos se administrarán, normalmente, mezclados con materiales vehículo apropiados seleccionados de manera apropiada con respecto a la forma de administración pretendida, es decir comprimidos orales, cápsulas (ya sea rellenas con sólidos, rellenas con semisólidos o rellenas con líquidos), polvos para constitución, geles orales, elixires, gránulos dispersables, jarabes, suspensiones y similares, y consistentes con prácticas farmacéuticas convencionales. Por ejemplo, para administración oral en forma de comprimidos o cápsulas, el componente farmacológico activo puede combinarse con cualquier vehículo inerte no tóxico aceptable desde el punto de vista farmacéutico, tal como lactosa, almidón, sacarosa, celulosa,

estearato de magnesio, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, talco, manitol, alcohol etílico (formas-líquidas) y similares. Más aún, cuando se desean o se necesitan, también pueden incorporarse aglutinantes, lubricantes, agentes desintegrantes y agentes colorantes apropiados en la mezcla. Los polvos y los comprimidos pueden estar formados de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 95 por ciento de la composición de la invención.

Los aglutinantes apropiados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, edulcorantes a base de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y ceras. Entre los lubricantes pueden mencionarse para usar en estas formas de dosificación, ácido bórico, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, y similares. Los desintegrantes incluyen almidón, metilcelulosa, goma guar y similares.

Los agentes saborizantes y edulcorantes y los conservantes pueden incluirse también cuando corresponda. Algunos de los términos mencionados anteriormente, es decir, desintegrantes, diluyentes, lubricantes, aglutinantes y similares, se describen a continuación en mayor detalle.

En forma adicional, las composiciones de la presente invención pueden formularse en forma de liberación prolongada para proporcionar la velocidad de liberación controlada de cualquiera de uno o más de los componentes o componentes activos para optimizar los efectos terapéuticos, es decir actividad inhibidora de VHC y similares. Las formas de dosificación apropiadas para liberación prolongada incluyen comprimidos estratificados que contienen capas de diferentes velocidades de desintegración o matrices poliméricas de liberación controlada impregnadas con los componentes activos y con forma de comprimido o cápsulas que contienen dichas matrices poliméricas porosas impregnadas o encapsuladas.

Las preparaciones de forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Como ejemplo puede mencionarse agua o soluciones de agua-propilenglicol para inyecciones parenterales o el agregado de edulcorantes u opacantes para soluciones orales, suspensiones y emulsiones. Las preparaciones de forma líquida pueden incluir, además, soluciones para administración intranasal.

Las preparaciones en aerosol para inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo, que pueden estar en combinación con un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico tal como gas comprimido inerte, por ej. nitrógeno.

Para preparar supositorios, primero se funde una cera de bajo punto de fusión tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos tales como manteca de cacao, y el componente activo se dispersa de manera homogénea con agitación o un mezclado similar. La mezcla homogénea fundida se vierte, luego, en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y por consiguiente solidificar.

Se incluyen, además, preparaciones en forma sólida que tienen como finalidad convertirse, inmediatamente antes de usar, en preparaciones de forma líquida ya sea para administración oral o parenteral. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

Los compuestos de la invención pueden administrarse también por vía transdérmica. Las composiciones transdérmicas pueden tener la forma de cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones y pueden incluirse en un parche transdérmico del tipo de matriz o de depósito que son convencionales en el arte para este fin.

Los compuestos de la invención pueden administrarse, además, por vía oral, endovenosa, intranasal o subcutánea.

Los compuestos de la invención pueden comprender, además, preparaciones que se encuentran en una forma de dosificación unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias de tamaño apropiado que contienen cantidades apropiadas de los componentes activos, por ej., una cantidad efectiva para lograr la finalidad deseada.

La cantidad de la composición activa de la invención en una preparación de dosis unitaria puede variarse o ajustarse generalmente desde aproximadamente 1,0 miligramo hasta aproximadamente 1.000 miligramos, con preferencia desde aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 950 miligramos, con mayor preferencia desde aproximadamente 1,0 hasta aproximadamente 500 miligramos, y normalmente desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 250 miligramos, de acuerdo con la aplicación particular. La dosis real empleada puede variar dependiendo de la edad, el sexo, el peso del paciente y la gravedad de la afección tratada. Dichas técnicas son conocidas para aquellas personas con experiencia en el arte.

Generalmente, la forma de dosificación oral para humanos que contiene los componentes activos puede adminsitrarse 1 o 2 veces por día. La cantidad y la frecuencia de la administración se regulará de acuerdo con el criterio del médico tratante. Un régimen generalmente recomendado de dosificación diaria para administración oral puede variar desde aproximadamente 1,0 miligramo hasta aproximadamente 1.000 miligramos por día, en una o varias dosis.

A continuación se describen algunos términos útiles:

Cápsula - se refiere a un contenedor o envase especial hecho con metil celulosa, alcoholes polivinílicos o gelatinas desnaturalizadas o almidón para retener o contener las composiciones que comprenden los componentes activos. Las cápsulas de recubrimiento duro se realizan generalmente con mezclas de gelatinas de piel de cerdo y hueso de resistencia de gel relativamente elevada. La

cápsulas misma puede contener pequeñas cantidades de colorantes, agentes opacantes, plastificantes y conservantes.

Comprimido - se refiere a una forma de dosificación sólida comprimida o moldeada que contiene los componentes activos con diluyentes apropiados. El comprimido puede prepararse por compresión de mezclas o granulaciones obtenidas por granulación en húmedo, granulación en seco o por compactación.

Gel oral - se refiere a los componentes activos dispersos o solubilizados en una matriz hidrofílica semisólida.

Polvo para constitución se refiere a mezclas de polvos que contienen los componentes activos y diluyentes apropiados que pueden suspenderse en agua o jugos.

Diluyente - se refiere a sustancias que usualmente conforman la mayor porción de la composición o forma de dosificación. Los diluyentes apropiados incluyen azúcares tales como lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; almidones derivados del maíz, trigo, arroz y papa; y celulosas tales como celulosa microcristalina. La cantidad de diluyente en la composición puede variar desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 90% en peso de la composición total, con preferencia desde aproximadamente 25 hasta aproximadamente 75%, con mayor preferencia desde aproximadamente 30 hasta aproximadamente 60% en peso, incluso con mayor preferencia desde aproximadamente 12 hasta aproximadamente 60%.

Desintegrante - se refiere a materiales agregados a la composición para ayudar a romper (desintegrar) y liberar los medicamentos. Los desintegrantes apropiados incluyen almidones; almidones modificados "solubles en agua fría" tales como carboximetil almidón sódico; gomas naturales o sintéticas tales como acacia, caraya, guar, tragacanto y agar; derivados de celulosa tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica; celulosas microcristalinas y celulosas

microcristalinas entrecruzadas tales como croscarmelosa sódica; alginatos tales como ácido algínico y alginato de sodio; arcillas tales como bentonitas; y mezclas efervescentes. La proporción de desintegrante en la composición puede variar desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 15% en peso de la composición, con mayor preferencia desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 10% en peso.

Aglutinante - se refiere a sustancias que aglutinan o "pegan" los polvos y los hacen cohesivos para formar gránulos, sirviendo así como el "adhesivo" de la formulación. Los aglutinantes agregan fuerza cohesiva ya disponible en el agente diluyente o aglomerante. Los aglutinantes apropiados incluyen azúcares tales como sacarosa; almidones derivados de maíz, trigo, arroz y papa; gomas naturales tales como acacia, gelatina y tragacanto; derivados de algas marinas tales como ácido algínico, alginato de sodio y alginato de amonio y calcio; materiales que contienen celulosa tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropilmetilcelulosa; polivinilpirrolidona; e inorgánicos tales como silicato de magnesio y aluminio. La proporción de aglutinante en la composición puede variar desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 20% en peso de la composición, con mayor preferencia desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 10% en peso, incluso con mayor preferencia desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 6% en peso.

Lubricante - se refiere a una sustancia agregada a la forma de dosificación para permitir que el comprimido, los gránulos, etc. luego de haberse comprimido, se liberen del molde o matriz reduciendo la fricción o roce. Los lubricantes apropiados incluyen estearatos metálicos tales como estearato de magnesio, estearato de calcio o estearato de potasio; ácido esteárico; ceras de alto punto de fusión; y lubricantes solubles en agua tales como cloruro de sodio, benzoato de sodio, acetato de sodio, oleato de sodio, polietilenglicoles y d'l-leucina. Los

lubricantes normalmente se agregan en el último paso antes de la compresión, ya que deben estar presentes en las superficies de los gránulos y entre ellos y las partes de la prensa para comprimidos. La proporción de lubricante en la composición puede variar desde aproximadamente 0,2 hasta aproximadamente 5% en peso de la composición, con preferencia desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 2%, con mayor preferencia desde aproximadamente 0,3 hasta aproximadamente 1,5% en peso.

Deslizante - material que evita la aglomeración y mejora las características de fluidez de las granulaciones, de modo que el flujo sea suave y uniforme. Los deslizantes apropiados incluyen dióxido de silicio y talco. La proporción de deslizante en la composición puede variar desde aproximadamente 0,1% hasta aproximadamente 5% en peso de la composición total, con preferencia desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 2% en peso.

Agentes colorantes - excipientes que proporcionan coloración a la composición o la forma de dosificación. Dichos excipientes pueden incluir colorantes de grado alimenticio o colorantes de grado alimenticio adsorbidos sobre un adsorbente apropiado tal como arcilla u óxido de aluminio. La proporción de agente colorante puede variar desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 5% en peso de la composición, con preferencia desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 1%.

Biodisponibilidad - se refiere a la velocidad y medida en que el ingrediente farmacológico activo o resto terapéutico se absorbe en la circulación sistémica a partir de una forma de dosificación administrada, en comparación con un estándar o control.

Los métodos convencionales para preparar comprimidos son conocidos. Dichos métodos incluyen métodos en seco tales como compresión directa y compresión de granulación producida por compactación, o métodos en húmedo u

210

otros procedimientos especiales. Los métodos convencionales para realizar otras formas de administración tales como, por ejemplo, cápsulas, supositorios y similares son asimismo conocidos.

Otra realización de la invención describe el uso de los compuestos de la invención o composiciones farmacéuticas descritos anteriormente para el tratamiento de enfermedades tales como, por ejemplo, hepatitis C y similares. El método comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto o composición farmacéutica de la invención a un paciente que tiene dicha enfermedad o enfermedades y que necesita dicho tratamiento.

Incluso en otra realización, los compuestos de la invención pueden utilizarse para el tratamiento del VHC en humanos en modalidad de monoterapia o en una modalidad de terapia combinada (por ej. combinación dual, combinación triple, etc.) tales como, por ejemplo, en combinación con agentes antivirales y/o inmunomoduladores. Algunos ejemplos de dichos agentes antivirales y/o inmunomoduladores incluyen Ribavirin (de Schering-Plough Corporation, Madison, New Jersey) y Levovirin™ (de ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, California), VP 50406™ (de Viropharma, Incorporated, Exton, Pennsylvania), ISIS 14803™ (de ISIS Pharmaceuticals, Carlsbad, California), Heptazyme™ (de Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, Colorado), VX 497™ (de Vertex Pharmaceuticals, Cambridge, Massachusetts), Thymosin™ (de SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, California), Maxamine™ (Maxim Pharmaceuticals, San Diego, California), mofetil micofenolato (de Hoffman-LaRoche, Nutley, New Jersey), interferón (tal como, por ejemplo, interferón-alfa, conjugados de PEG-interferón alfa) y similares. Los "conjugados de PEG-interferón alfa" son moléculas de interferón alfa unidas de manera covalente a una molécula de PEG. Los conjugados de PEG-interferón alfa ilustrativos incluyen interferón alfa-2a (Roferon™, de Hoffman La-Roche, Nutley, New Jersey) en forma de interferón

211

alfa-2a pegilado (por ej., comercializado con la marca Pegasys™), interferón alfa-2b (Intron™, de Schering-Plough Corporation) en forma de interferón alfa-2b pegilado (por ej., comercializado con el nombre comercial PEG-Intron™), interferón alfa-2c (Berofor Alfa™, de Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania) o interferón de consenso como se define por determinación de una secuencia de consenso de interferones alfa naturales (Infergen™, de Amgen, Thousand Oaks, California).

Como se indicó anteriormente, la invención incluye también tautómeros, rotámeros, enantiómeros y otros estereoisómeros de los compuestos de la invención. De este modo, como lo apreciará una persona con experiencia en el arte, algunos de los compuestos de la invención pueden existir en formas isoméricas apropiadas. Dichas variaciones se consideran dentro del alcance de la invención.

Otra realización de la invención describe un método de preparación de los compuestos descritos aquí. Los compuestos pueden prepararse por varias técnicas conocidas en el arte. Los procedimientos ilustrativos se definen en los siguientes esquemas de reacción. Las ilustraciones no deben considerarse limitantes del alcance de la invención que se define en las reivindicaciones anexas. Las vías mecanísticas y estructuras análogas alternativas serán obvias para los expertos en el arte.

Se debe entender que aunque los siguientes esquemas ilustrativos describen la preparación de algunos compuestos representativos de la invención, la sustitución apropiada de cualquiera de los aminoácidos tanto naturales como no naturales dará lugar a la formación de los compuestos deseados en base a dicha sustitución. Tales variaciones se consideran dentro del alcance de la invención.

212

Para los procedimientos descritos a continuación, se usan las siguientes abreviaturas: --

THF: Tetranidrofurano

DMF: N,N-Dimetilformamida

EtOAc: Acetato de etilo

AcOH: Ácido acético

HOOBt: 3-Hidroxi-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona

EDCI: 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida clorhidrato

NMM: N-Metilmorfolina

ADDP: 1,1'-(Azodicarbobil)dipiperidina

DEAD: Dietilazodicarboxilato

MeOH: Metanol

EtOH: Etanol

Et2O: Dietil éter

DMSO: Dimetilsulfóxido

HOBt: N-Hidroxibenzotriazol

PyBrOP: Bromo-tris-pirrolidinfosfonio hexafluorofosfato

DCM: Diclorometano

DCC: 1,3-Diciclohexilcarbodiimida

TEMPO: 2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloxi

Phg: Fenilglicina

Chg: Ciclohexilglicina

Bn: Bencilo

Bzl: Bencilo

Et: Etilo

Ph: Fenilo

iBoc: isobutoxicarbonilo

213

iPr: isopropilo

^{t}Bu o Bu^{t}: ter-Butilo

Boc: ter-Butiloxicarbonilo

Cbz: Benciloxicarbonilo

Cp: Ciclopentildienilo

Ts: p-toluensulfonilo

Me: Metilo

HATU: hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio

DMAP: 4-N,N-Dimetilaminopiridina

BOP : Benzotriazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)hexafluorofosfato

PCC: Clorocromato de piridinio

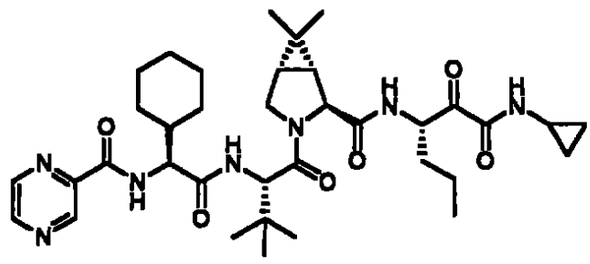
KHMDS: Hexametildisilazida de Potasio o Bis(trimetilsililamida) de potasio

NaHMDS: Hexametildisilazida de Sodio o Bis(trimetilsililamida) de sodio

LiHMDS: Hexametildisilazida de Litio o Bis(trimetilsililamida) de litio

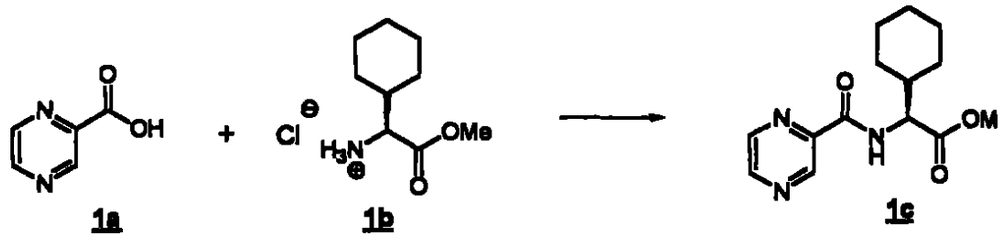
10% Pd/C: Paladio sobre carbón al 10% (en peso).

Ejemplo de Preparación 1



1

Paso A

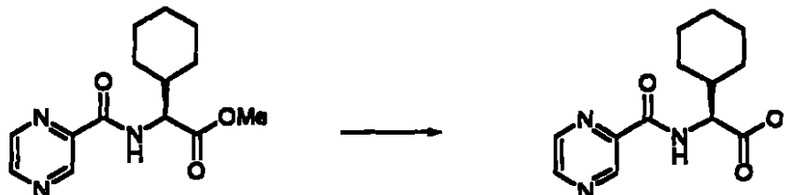


1a 1b 1c

214

Una solución de ácido pirazincarboxílico **1a** (3 g) en 150 ml de diclorometano anhidro y 150 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 6,03 g). Se agregó clorhidrato de L-ciclohexilglicina **1b** (1,2 eq, 6,03 g) en pequeñas porciones. Luego, se agregó N-metilmorfolina (4 eq, 10 ml, d 0,920) gota a gota. La mezcla de reacción se entibió en forma gradual hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 20 h. Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 500 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (100 ml), HCl 1N acuoso (100 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml), y salmuera (100 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 5:95 a 3:7) para obtener el producto como un sólido blanco.

Paso B

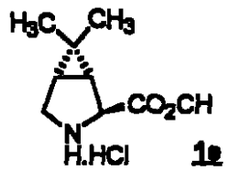


1c **1d**

Una solución del metil éster **1c** (6,5 g) en 270 ml de una mezcla 1:1:1 de THF/MeOH/agua se enfrió hasta 0°C y se trató con hidróxido de litio monohidrato (2,5 eq, 2,45 g). Se agitó la mezcla y se monitoreó por TLC (acetona/hexanos; 2:8). Una vez que se había consumido la totalidad del material inicial, la mezcla de reacción se trató con 100 ml de HCl 1N acuoso y se concentró la mezcla en el evaporador rotativo. Se agregó diclorometano (250 ml) y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (3 x 80 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para obtener el producto como un sólido blanco.

Paso C

215

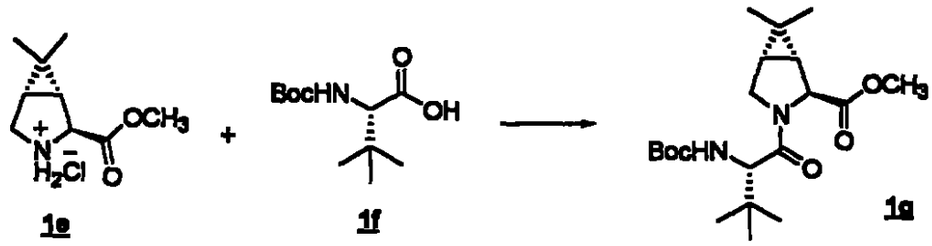


1e

El aminoéster **1e** se preparó siguiendo el método de R. Zhang and J. S. Madalengoitia (*J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 330), con la excepción de que el grupo Boc se escindió por reacción del aminoácido protegido con Boc con HCl metanólico (HCl 4M en dioxano se empleó también para la desprotección).

(Nota: En una variación de la síntesis mencionada, se reemplazó el iluro de sulfonio con el correspondiente iluro de fosfonio).

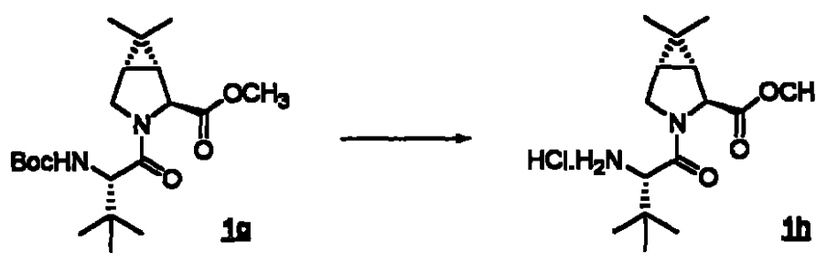
Paso D



1e 1f 1g

Una solución de Boc-ter-Leu **1f** (Fluka, 5,0 g, 21,6 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro/DMF (50 ml, 1:1) se enfrió hasta 0°C y se trató con el clorhidrato de amina **1f** (5,3 g, 25,7 mmol), NMM (6,5 g, 64,8 mmol) y reactivo BOP (11,6 g, 25,7 mmol). La reacción se agitó a temp. amb. durante 24h, se diluyó con HCl acuoso (1 M) y se extrajo con CH_2Cl_2. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con HCl acuoso 1M, $NaHCO_3$ saturado, salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron *al vacío* y se purificaron por cromatografía (SiO_2, Acetona/Hexano 1:5) para obtener **1g** como un sólido incoloro.

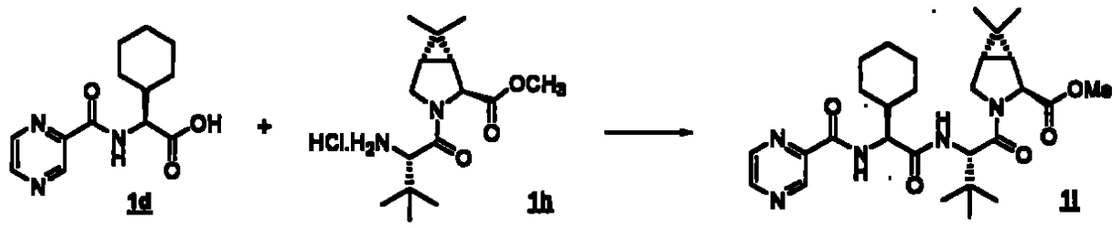
Paso E



1g 1h

Una solución del metil éster **1g** (4,0 g, 10,46 mmol) se disolvió en HCl 4M en dioxano y se agitó a temp. amb. durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el clorhidrato de amina **1h**, que se usó sin purificación.

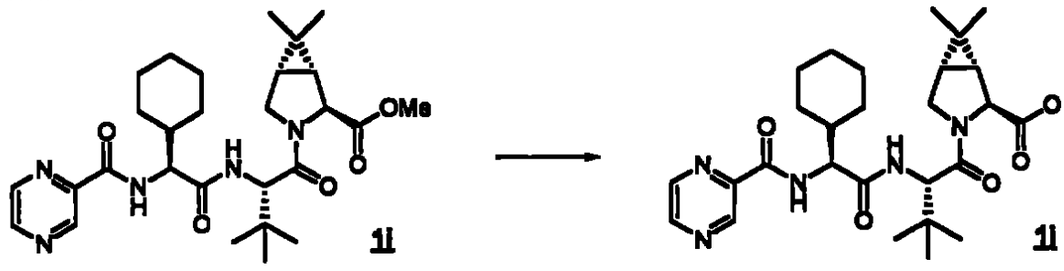
Paso F



1d 1h 1l

Una solución del ácido **1d** (100 mg) en 5 ml de diclorometano anhidro y 5 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 202 mg). Se agregó el clorhidrato de amina **1h** (1,2 eq, 146 mg). Luego, se agregó también N-metilmorfolina (4 eq, 0,17 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó a 0°C hasta la mañana siguiente. Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 80 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 4:6) para obtener el producto **1l** como un sólido blanco.

Paso G



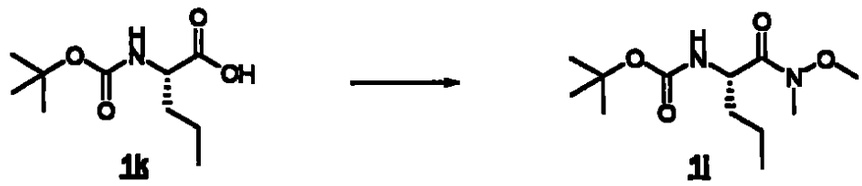
1l 1l

Una solución del metil éster **1l** (180 mg) en 9 ml de una mezcla 1:1:1 de THF/MeOH/agua se enfrió hasta 0°C y se trató con hidróxido de litio monohidrato

277

(2,5 eq, 35 mg). Se agitó la mezcla y se monitoreó por TLC (acetona/hexanos; 3:7). Una vez que se había consumido la totalidad del material inicial, la mezcla de reacción se trató con 50 ml de HCl 1N acuoso y se concentró la mezcla sobre el evaporador rotativo. Se agregó diclorometano (80 ml) y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (3 x 50 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para obtener el producto **1j** como un sólido blanco.

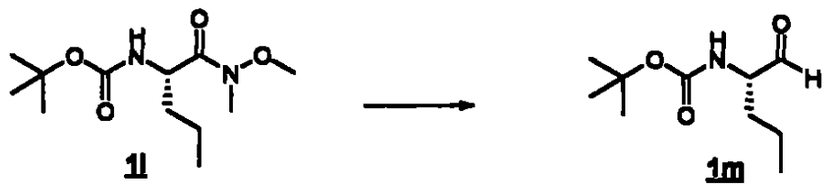
Paso H



1k **1l**

Una solución del ácido **1k** (2 g) en 100 ml de diclorometano anhidro y 5 ml de DMF se trató con N,O-dimetilhidroxilamina clorhidrato (1,1 eq, 986 mg), reactivo BOP (1,1 eq, 4,47 g), y N-metilmorfolina (3,3 eq, 3,3 ml, d 0,920) en ese orden. Se calentó la mezcla hasta 50°C hasta la mañana siguiente. La mezcla de reacción se concentró hasta la mitad de su volumen y se diluyó con 400 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (80 ml), HCl acuoso 1M (80 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (80 ml), y salmuera (80 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 5:95 a 3:7) para obtener el producto **1l** como un aceite translúcido.

Paso I

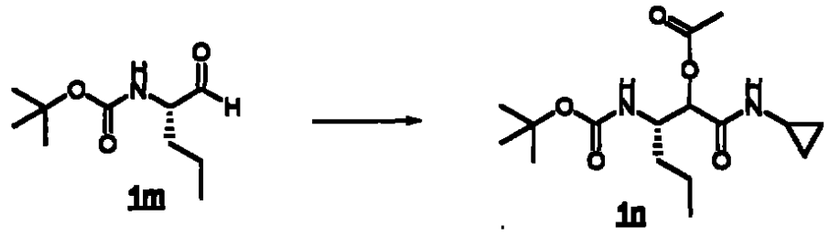


1l **1m**

218

Una solución de amida 1l (2,2 g) en 100 ml de THF anhidro se enfrió hasta °C. Se agregó gota a gota solución de hidruro doble de litio y aluminio (1,3 eq). Se retiró el baño refrigerante luego de 5 min y se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente. El análisis por TLC (acetato de etilo/hexanos; 2:8) mostró que se había consumido todo el material inicial. El exceso de LAH se desactivó cuidadosamente con el agregado de gotas de hidrógeno sulfato de sodio acuoso saturado. Se diluyó la mezcla con 200 ml de éter y se agregó hidrógeno sulfato de sodio acuoso saturado en pequeñas porciones hasta que precipitó un sólido blanco. Se filtró la mezcla a través de celite y se lavó el filtrado con 50 ml de salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetato de etilo/hexanos; 5:95 a 4:6) para obtener el producto aldehídico 1m como un aceite incoloro.

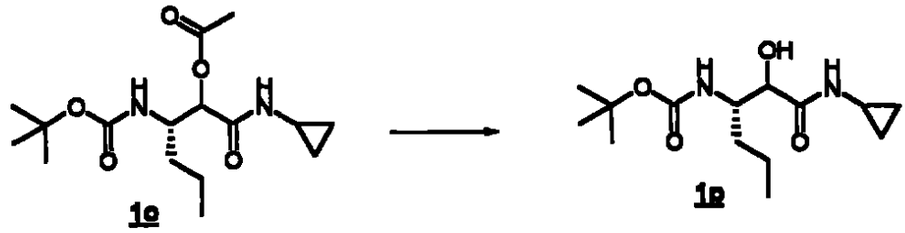
Paso J



1m 1n

Una solución del aldehído 1m (1,8 g) en 100 ml de diclorometano anhidro se trató con isonitrilo (1,1 eq, 680 mg) y ácido acético (2 eq, 1,02 ml, d 1,0149). Se agitó la mezcla hasta la mañana siguiente. Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetato de etilo/hexanos; 2:8 a 6:4) para obtener el producto 1n como un sólido blanco.

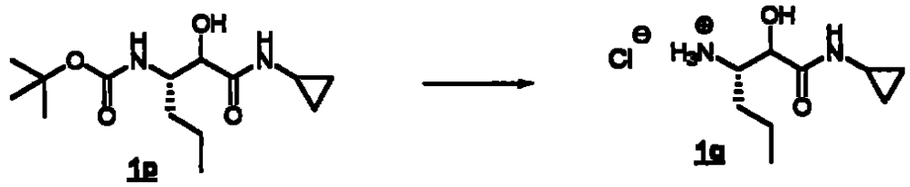
Paso K



1o 1p

Una solución del acetato **1o** (1,6 g) en 60 ml de una mezcla 1:1:1 de THF/MeOH/agua se trató con hidróxido de litio monohidrato y se agitó durante aproximadamente 1 h hasta que se había consumido todo el material inicial según lo determinó el análisis por TLC (acetato de etilo/hexanos; 1:1). Se eliminaron los volátiles en evaporador rotativo y se diluyó el residuo con diclorometano (150 ml). Se separaron las fases y se diluyó la fase acuosa con 30 ml de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con diclorometano (3 x 80 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para obtener el producto **1p** como un sólido blanco.

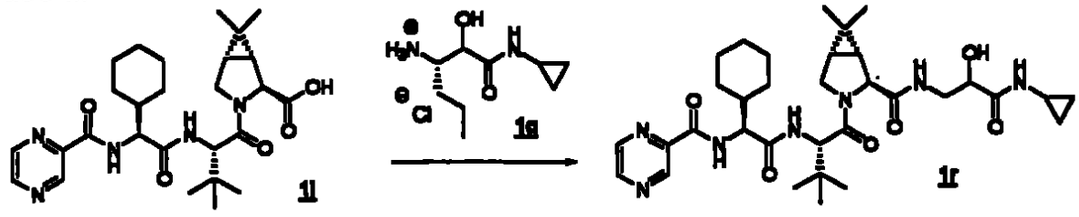
Paso L



1p **1q**

La amina N-Boc protegida **1p** (1,5 g) se disolvió en 20 ml de HCl 4M en dioxano. La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 1 h hasta que se había consumido todo el material inicial. Se eliminaron todos los volátiles al vacío para obtener el producto **1q** como un sólido blanco.

Paso M

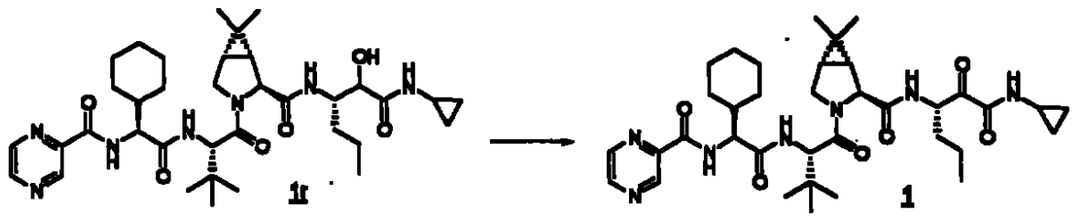


1l **1q** **1r**

Una solución del ácido **1l** (50 mg) en 2 ml de diclorometano anhidro y 2 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 52 mg). Se agregó clorhidrato de amina **1q** (1,2 eq, 26 mg). Luego, se agregó también N-metilmorfolina (4 eq, 0,042 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó a 0°C hasta la mañana siguiente. Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 80 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml),

HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto 1r se usó sin purificación adicional.

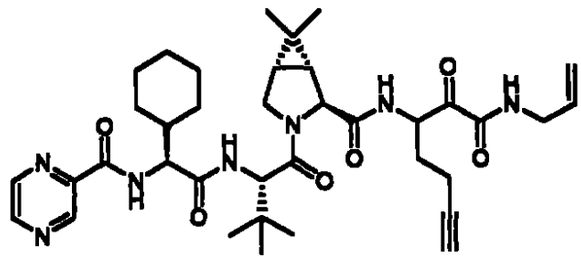
Paso N



1r 1

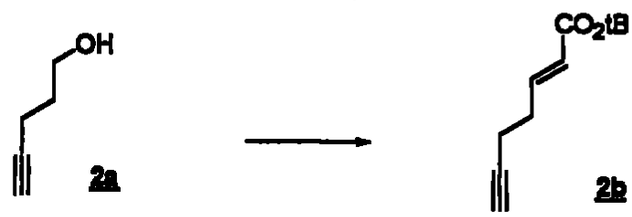
Una solución del alcohol 1r (65 mg) en 5 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 121 mg). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 45 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se agitó durante 15 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 20 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 5:5) para obtener el producto 1 como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{38}H_{54}N_7O_8$ [M+H] 680,4136; experimental 680,4131.

Ejemplo de Preparación 2



2

Paso A



2a 2b

A una solución de 4-pentin-1-ol, **2a** (4,15 g; Aldrich) se agregó periodinano de Dess-Martin (30,25g; Aldrich) y la mezcla resultante se agitó durante 45 min. antes del agregado de (ter-Butoxicarbonilometilen)trifenilfosforano. (26,75 g; Aldrich). La reacción oscura resultante se agitó hasta la mañana siguiente, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con sulfito de sodio acuoso, bicarbonato de sodio acuoso saturado, agua, salmuera y se secó. Se eliminaron los volátiles a presión reducida y se purificó el residuo por cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo al 1% en hexanos como eluyente para dar el compuesto deseado **2b** (3,92g). Se obtuvieron además algunas fracciones impuras pero se dejaron de lado en este momento.

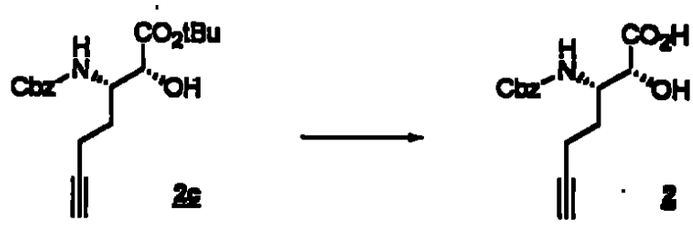
Paso B



2b 2c

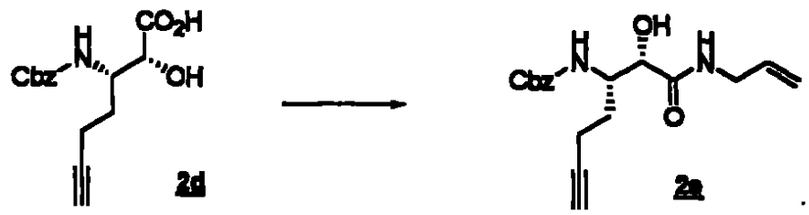
Usando el alqueno **2b** (1,9 g) en *n*-propanol (20ml; Aldrich)), carbamato de bencilo (4,95g; Aldrich) en *n*-propanol (40ml), NaOH (1,29g) en agua (79ml), hipoclorito de ter-butilo (3,7ml), (DHQ)2PHAL (0,423g; Aldrich)) en *n*-propanol (37,5ml), y osmiato de potasio:dihidrato (0,1544g; Aldrich) y el procedimiento expuesto en *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* (1998), 35, (23/24), pp. 2813-7, dio un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:Hexanos (1:5) para dar el amino alcohol deseado **2c** (1,37 g, 37%) como un sólido blanco.

Paso C



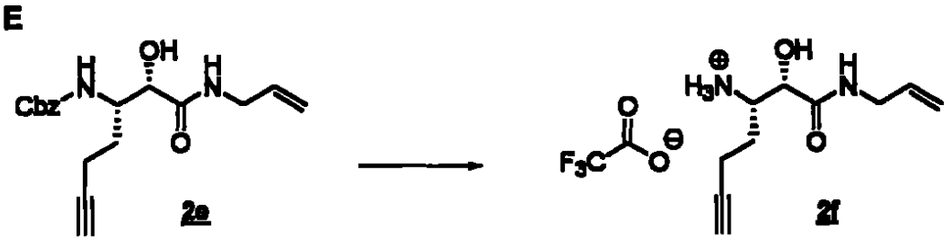
Al éster 2c (0,700g) se agregó HCl 4M en dioxano (20ml; Aldrich) y la mezcla resultante se dejó reposar a temperatura ambiente hasta la mañana siguiente. Se eliminaron los volátiles a presión reducida para dar el ácido 2d (0,621g) como un sólido blanco.

Paso D



Se agregaron reactivo BOP (3,65 g; Sigma) seguido de trietilamina (3,45 ml) a una solución en diclorometano (20 ml) del ácido carboxílico 2d (2,00 g) y alil amina (0,616 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó hasta la mañana siguiente. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y HCl acuoso al 10%. Se separó la fase orgánica, se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado, agua, se secó (sulfato de magnesio). El producto de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando (EtOAc:Hexanos; 70:30) como eluyente para dar la amida deseada 2e (1,73 g) como un aceite amarillo viscoso.

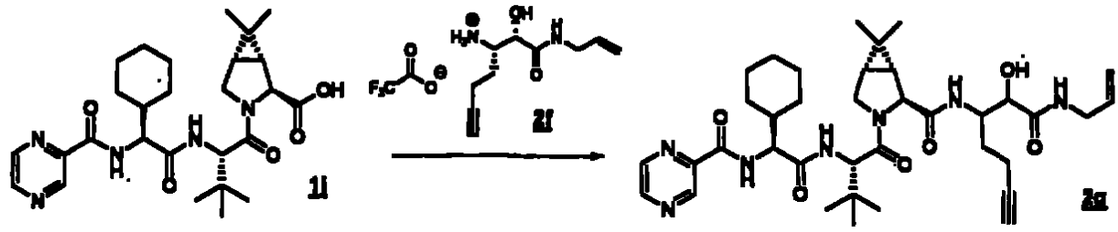
Paso E



Una solución de N-Cbz amina 2e (85,8 mg) en 5 ml de una mezcla 4:1 de ácido trifluoroacético/sulfuro de metilo se agitó a temperatura ambiente durante

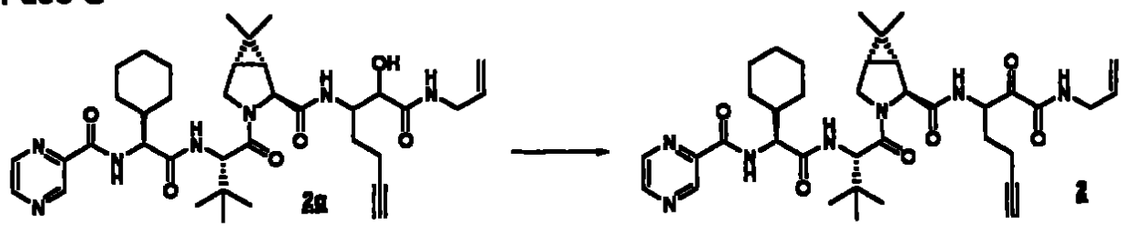
aproximadamente 3 h. Se eliminaron todos los volátiles a presión reducida. El producto **2f** se sometió a alto vacío durante aproximadamente 3 h y se usó sin purificación adicional.

Paso F



Una solución del ácido **1J** (50 mg) en 2 ml de diclorometano anhidro y 2 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 72 mg). La sal de amina **2f** (1,3 eq, 72 mg) se agregó en diclorometano. Luego, se agregó también N-metilmorfolina (4 eq, 0,042 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 80 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto **2g** se usó sin purificación adicional.

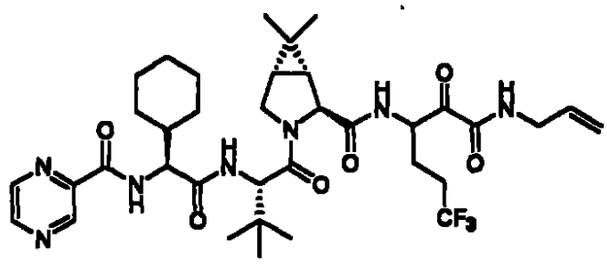
Paso G



Una solución de la hidroxiamida **2g** (67 mg) en 5 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 123 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 45 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml) y se agitó durante 15 min. Se extrajo la mezcla con

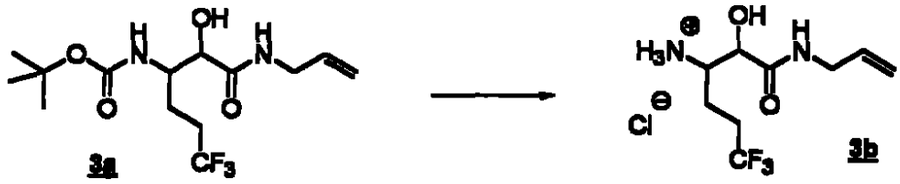
diclorometano (3 x 20 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 4:6) para obtener el producto 2 como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{34}H_{52}N_7O_6$ [M+H] 690,3979; experimental 690,3995.

Ejemplo de Preparación 3



3

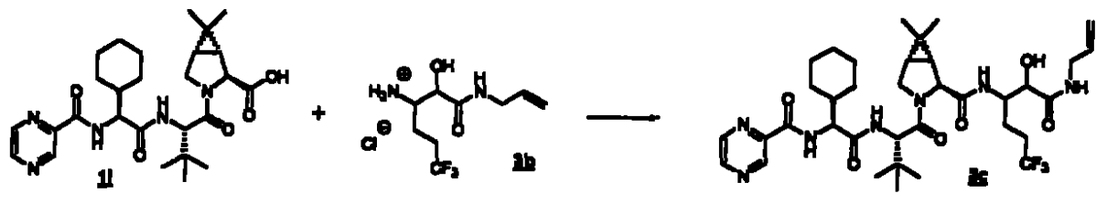
Paso A



3a 3b

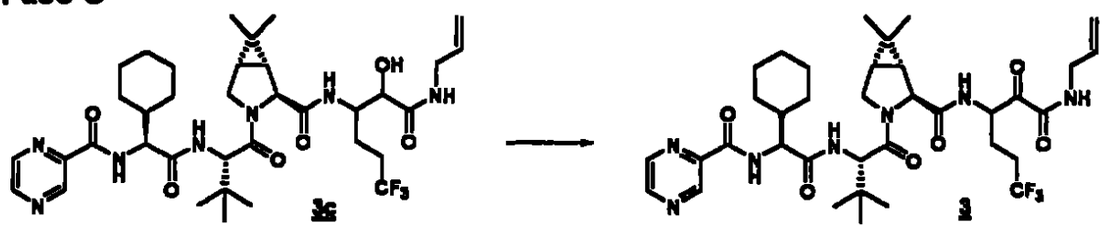
La amina N-Boc protegida 3a (3 g) se disolvió en 60 ml de solución 4M de HCl en dioxanos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se había consumido todo el material inicial según la determinación realizada por TLC (acetato de etilo/hexanos; 6:4). Luego de 2h, se eliminaron todos los volátiles a presión reducida para obtener el producto 3b (2,4 g, 98%) como un sólido blanco que se usó sin purificación adicional.

Paso B



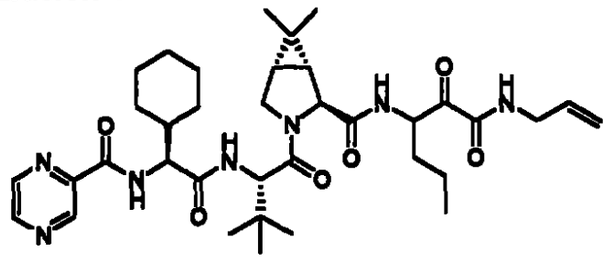
Una solución del ácido 1j (150 mg) en 3 ml de diclorometano anhidro y 3 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 155 mg). El clorhidrato de amina 3b (88 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,13 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl acuoso 1N (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (8 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 3c (210 mg) se usó sin purificación adicional.

Paso C



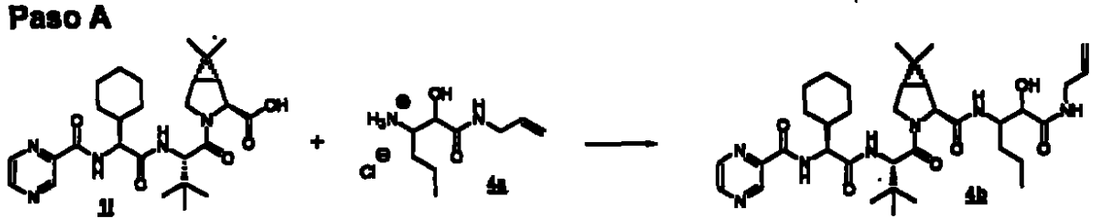
Una solución de la hidroxiamida 3c (214 mg) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 371 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó también solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 45:55) para obtener el producto 3 como semisólido que se disolvió en 2 ml de diclorometano y 10 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto 3 como un sólido blanco (150 mg, 70% para dos pasos). HRMS (FAB) calculado para $C_{38}H_{51}F_3N_7O_6$ [M+H] 734,3853; experimental 734,3850.

Ejemplo de Preparación 4



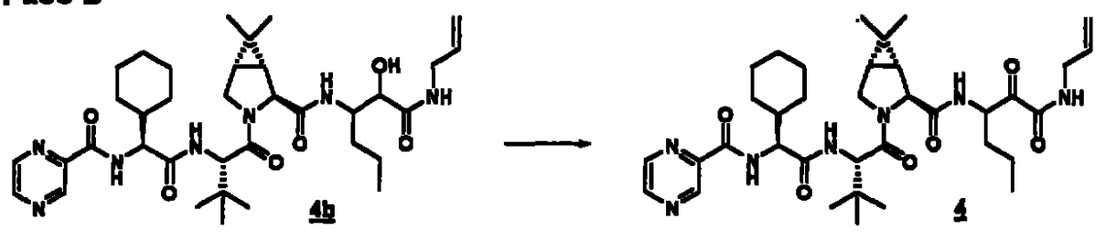
4

Paso A



Una solución del ácido 1J (150 mg) en 3 ml de diclorometano anhidro y 3 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 155 mg). El clorhidrato de amina 4a (71 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,13 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml), y salmuera (8 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 4b (190 mg) se usó sin purificación adicional.

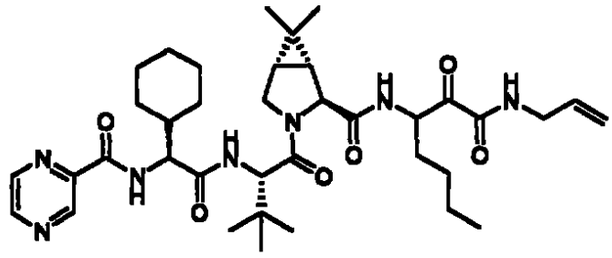
Paso B



Una solución de la hidroxiamida 4b (199 mg) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 371 mg). La mezcla de

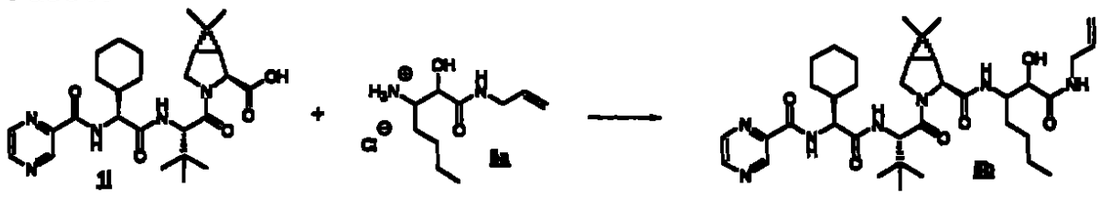
reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó también solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 4:6) para obtener el producto 4 como semisólido que se disolvió en 2 ml de diclorometano y 10 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto 4 (150 mg, 76% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{38}H_{54}N_7O_6$ [M+H] 680,4136; experimental 680,4165.

Ejemplo de Preparación 5



5

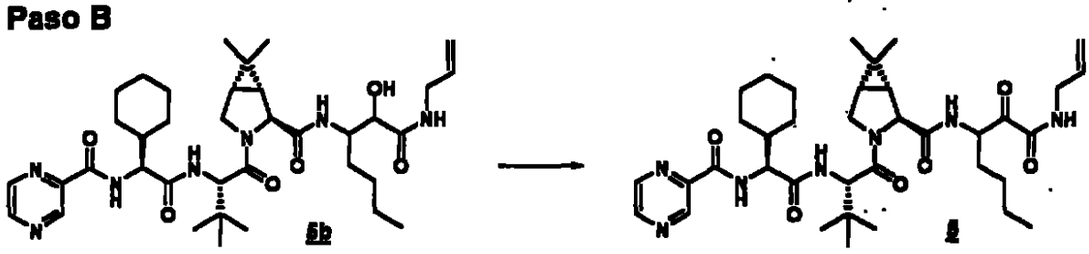
Paso A



Una solución del ácido 1J (150 mg) en 3 ml de diclorometano anhidro y 3 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 155 mg). El clorhidrato de amina **5a** (76 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,13 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl 1N

acuoso (10 ml), bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml), y salmuera (8 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto **5b** (200 mg) se usó sin purificación adicional.

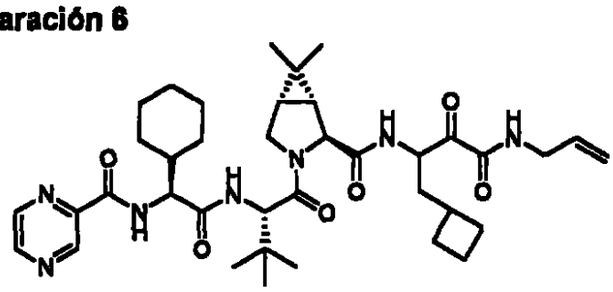
Paso B



5b **5**

Una solución de la hidroxiamida **5b** (202 mg) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 371 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó también solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 45:55) para obtener el producto **5** como semisólido que se disolvió en 2 ml de diclorometano y 10 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto **5** (170 mg, 84% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{37}H_{56}N_7O_6$ [M+H] 694,4292; experimental 694,4294.

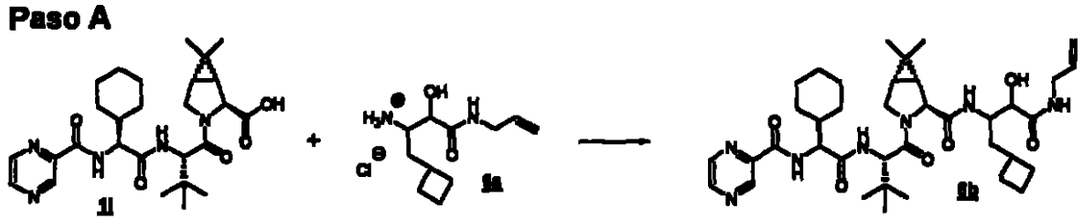
Ejemplo de Preparación 6



6

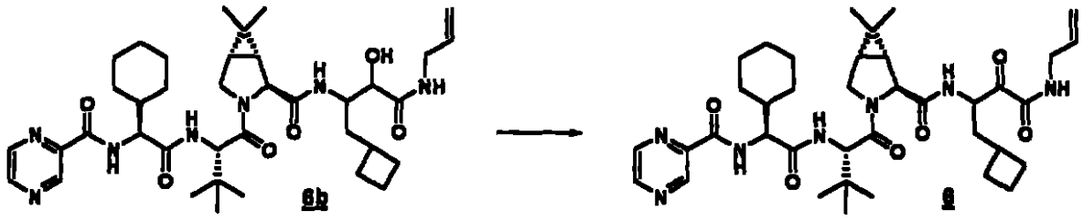
229

Paso A



Una solución del ácido 1J (150 mg) en 3 ml de diclorometano anhidro y 3 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 155 mg). El clorhidrato de amina 6a (80 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,13 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp. 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml), y salmuera (8 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 6b (205 mg) se usó sin purificación adicional.

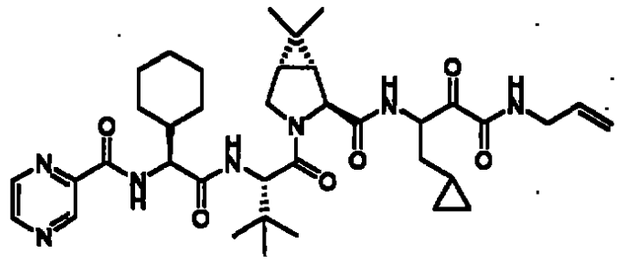
Paso B



Una solución de la hidroxiamida 6b (206 mg) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 371 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml) también y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 45:55) para obtener el

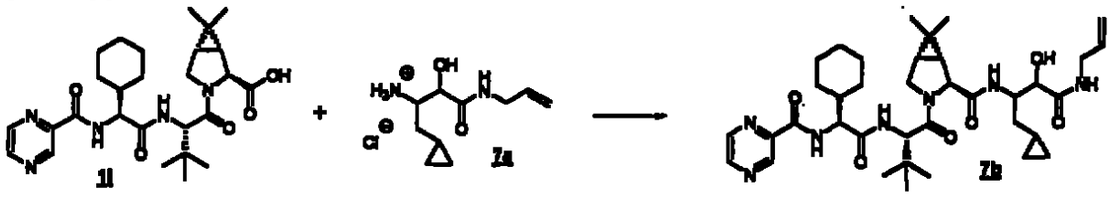
producto 6 como semisólido que se disolvió en 2 ml de diclorometano y 10 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto 6 (169 mg, 82% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{38}H_{56}N_7O_6$ [M+H] 706,4292; experimental 706,4280.

Ejemplo de Preparación 7



7

Paso A

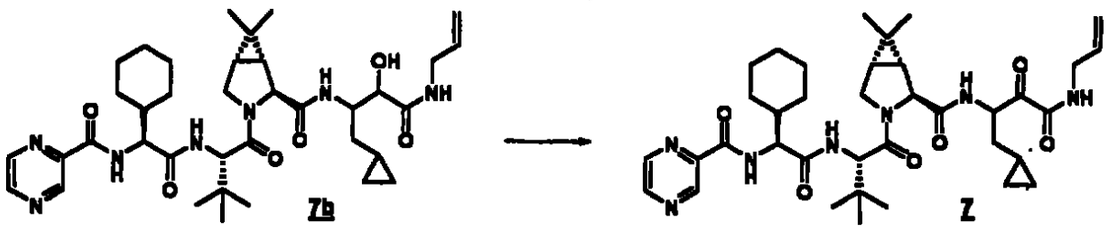


1J 7a 7b

Una solución del ácido 1J (80 mg) en 3 ml de diclorometano anhidro y 3 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 83 mg). El clorhidrato de amina 7a (1,1 eq, 40 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,07 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (10 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (8 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 7b (105 mg) se usó sin purificación adicional.

Paso B

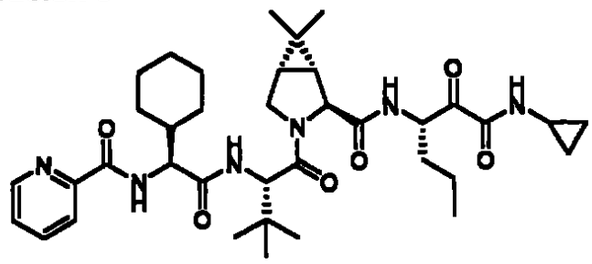
231



7b Z

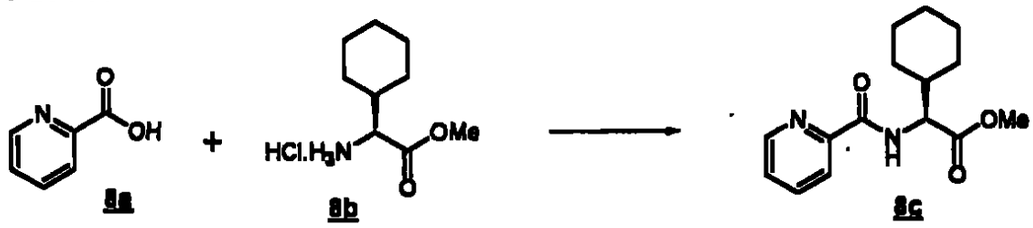
Una solución de la hidroxiamida **7b** (108 mg) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (3 eq, 198 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 45:55) para obtener el producto 7 como semisólido que se disolvió en 2 ml de diclorometano y 10 ml de hexano. Se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto 7 (86 mg, 80% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{37}H_{54}N_7O_6$ [M+H] 692,4136; experimental 692,4145.

Ejemplo de Preparación 8



8

Paso A



8a 8b 8c

Una solución del ácido picolínico 8a (1,0 g) en 50 ml de DMF anhidra y 50 ml de diclorometano anhidro se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 4,3 g). Se agregó metil éter de ciclohexilglicina, clorhidrato (1,1 eq, 1,85 g) seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 3,6 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 500 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (100 ml), HCl 1N acuoso (100 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml), y salmuera (100 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 5:95 a 35:65) para obtener el producto 8c (1,9 g, 85%) como un semisólido translúcido.

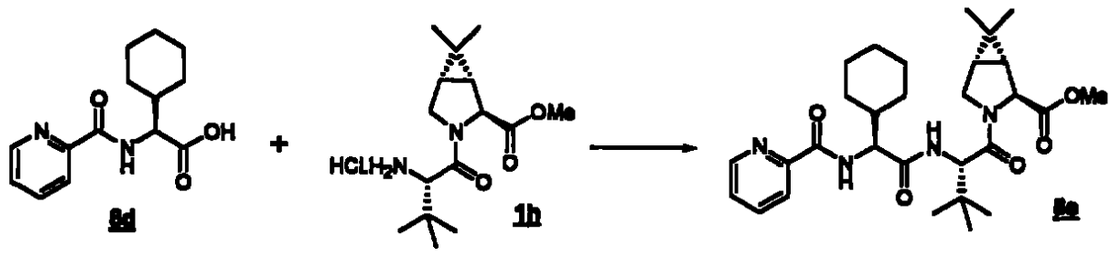
Paso B



8c 8d

Una solución del metil éster 8c (1,9 g) en THF/MeOH/H2O (100:100:50) se trató con hidróxido de litio monohidrato (2,5 eq, 2,82 g) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó hasta que se había consumido todo el material inicial según lo determinó el análisis por TLC (acetona/hexanos; 15:85). La mezcla de reacción se trató con 100 ml de HCl 1N acuoso (pH de la mezcla fue de aproximadamente 1) y se eliminaron todos los volátiles a presión reducida. Se extrajo el residuo con diclorometano (3 x 100 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto 8d (1,6 g, 90%) se usó sin purificación adicional.

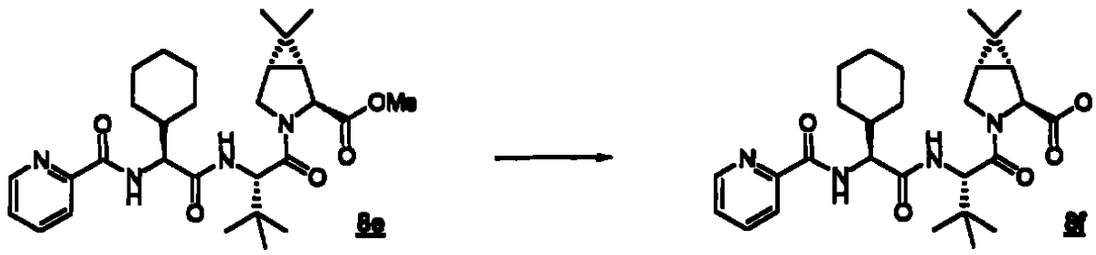
Paso C



8d 1h 8e

Una solución del ácido 8d (235 mg) en 10 ml de DMF anhidra y 10 ml de diclorometano se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 480 mg). La sal de amina 1h (1,1 eq, 300 mg) se agregó seguida de N-metilmorfolina (4 eq, 0,4 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 100 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (20 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 5:95 a 4:6) para obtener el producto 8e (440 mg, 93%).

Paso D

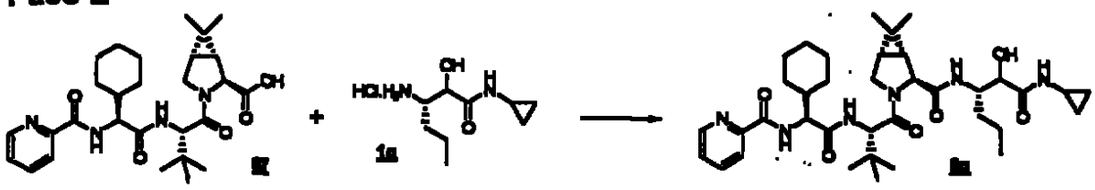


8e 8f

Una solución del metil éster 8e (440 mg) en 30 ml de una mezcla de THF/MeOH/H2O (1:1:1) se trató con hidróxido de litio monohidrato (2,5 eq, 88 mg) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó hasta que se había consumido todo el material inicial según la determinación realizada por TLC (acetona/hexanos; 3:7). La mezcla de reacción se trató con 20 ml de HCl acuoso 1N (pH de la mezcla fue de aproximadamente 1) y se eliminaron todos los volátiles a presión reducida. Se extrajo el residuo con diclorometano (3 x 60 ml). Se secaron los extractos

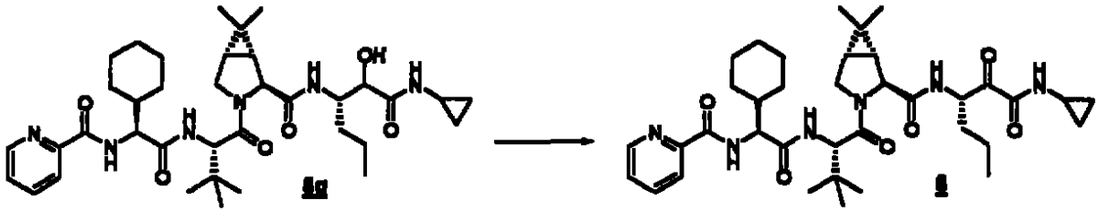
orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto 8f (419 mg, 98%) se usó sin purificación adicional.

Paso E



Una solución del ácido 8f (80 mg) en 2 ml de diclorometano anhidro y 1 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 83 mg). La sal de amina 1g (1,1 eq, 38 mg) se agregó seguida de N-metilmorfolina (4 eq, 0,07 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 8g (105 mg) se usó sin purificación adicional.

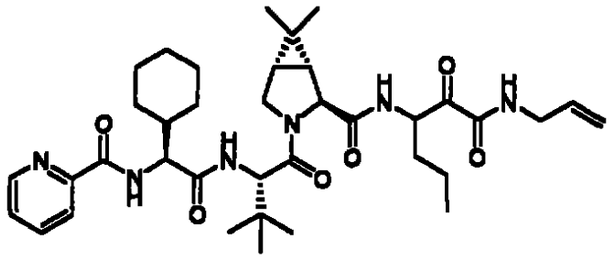
Paso F



Una solución de la hidroxiamida 8g (0,156 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,3 eq, 152 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre

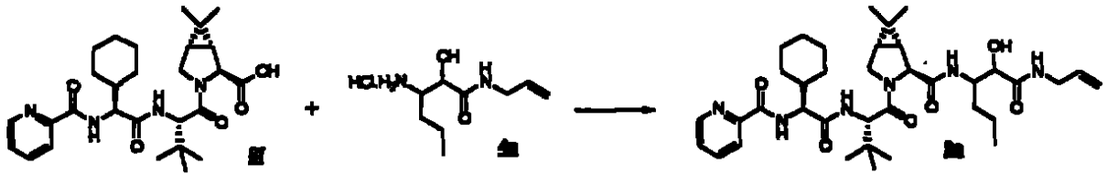
sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 45:55) para obtener el producto 8 como un sólido que se disolvió en 0,5 ml de diclorometano y 5 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto 8 (59 mg, 56% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H] 679,4183; experimental 679,4191.

Ejemplo de Preparación 9



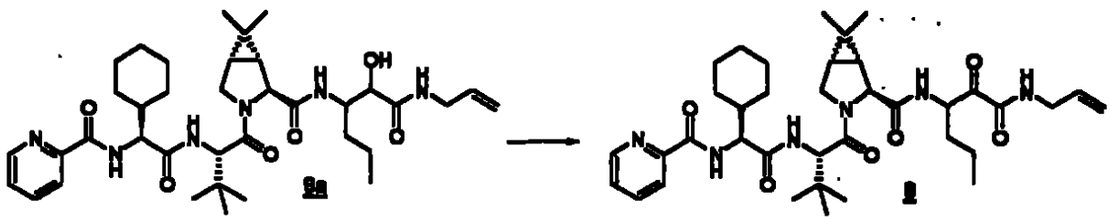
9

Paso A



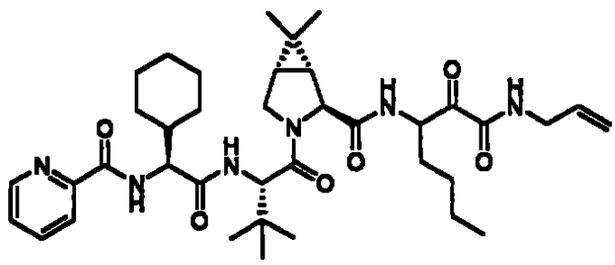
Una solución del ácido 8f (80 mg) en 2 ml de diclorometano anhidro y 1 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 83 mg). La sal de amina 4a (1,1 eq, 38 mg) se agregó seguida de N-metilmorfolina (4 eq, 0,07 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl acuoso 1N (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 9a (105 mg) se usó sin purificación adicional.

Paso B



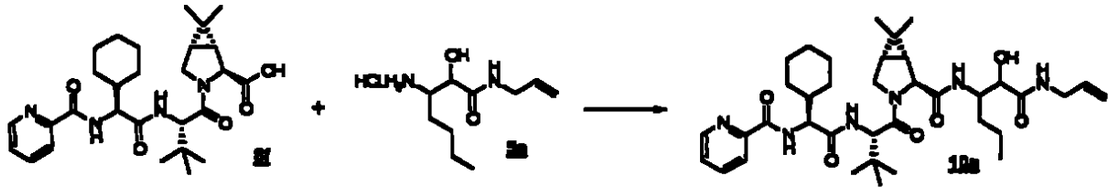
Una solución de la hidroxiamida **9a** (0,156 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,3 eq, 152 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 4:6) para obtener el producto **9** como un sólido que se disolvió en 0,5 ml de diclorometano y 5 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto **9** (68 mg, 64% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H]: 679,4183; experimental 679,4181.

Ejemplo de Preparación 10



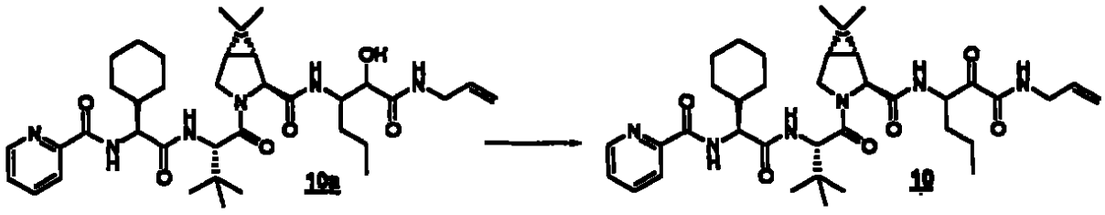
10

Paso A



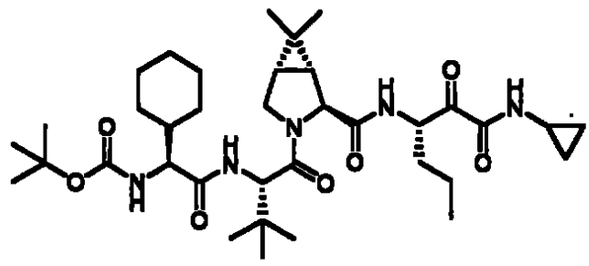
Una solución del ácido 8f (80 mg) en 2 ml de diclorometano anhidro y 1 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 83 mg). La sal de amina 5a (1,1 eq, 41 mg) se agregó seguida de N-metilmorfolina (4 eq, 0,07 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto **10a** (105 mg) se usó sin purificación adicional.

Paso B



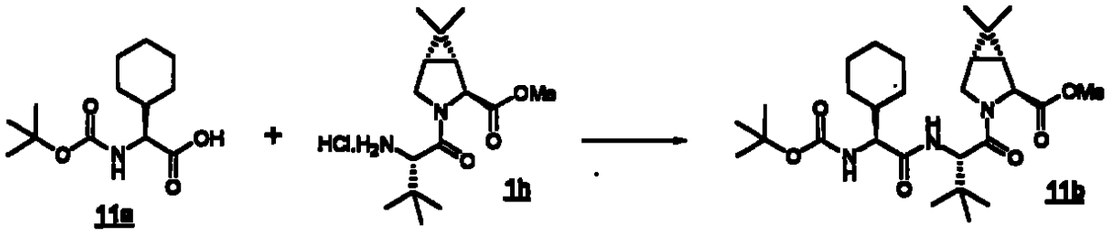
Una solución de la hidroxiamida **10a** (0,156 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,3 eq, 152 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 4:6) para obtener el producto **10** como un sólido que se disolvió en 0,5 ml de diclorometano y 5 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto **10** (68 mg, 63% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{38}H_{57}N_6O_8$ [M+H] 693,4340; experimental 693,4310.

Ejemplo de Preparación 11



11

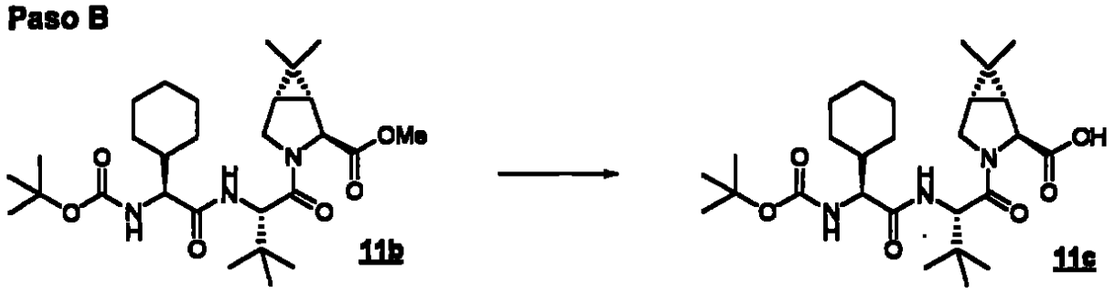
Paso A



11a **1h** **11b**

Una solución de N-Boc-cHex-Glicina **11a** (916 mg) en 20 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 1,89 g). La sal de amina **1h** (1,1 eq, 1,2 g) se agregó en 30 ml de diclorometano anhidro seguida de N-metilmorfolina (4 eq, 1,55 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 250 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (100 ml), HCl 1N acuoso (50 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (50 ml), y salmuera (50 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 5:95 a 25:75) para obtener el producto **11b** (1,65 g, 89%) como un sólido blanco.

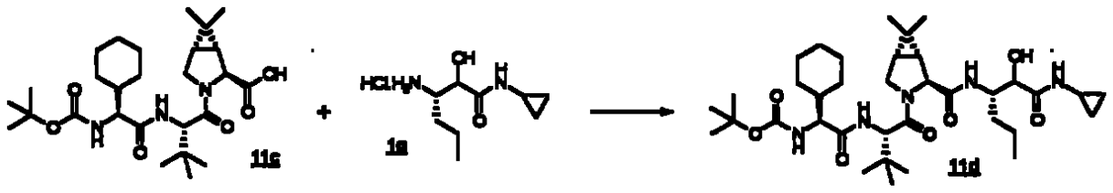
Paso B



11b **11c**

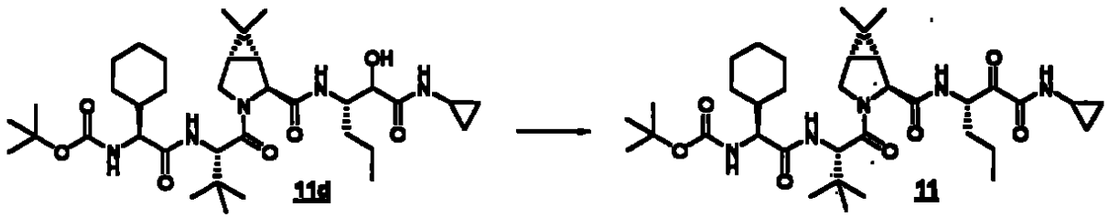
Una solución del metil éster **11b** (1,64 mg) en 60 ml a THF/MeOH/H2O mezcla (1:1:1) se trató con hidróxido de litio monohidrato (2,5 eq, 330 mg) a 0°C. Se retiró el baño de frío y la mezcla de reacción se agitó hasta que se había consumido todo el material inicial según la determinación realizada por TLC (acetona/hexanos; 3:7). La mezcla de reacción se trató con 50 ml de HCl acuoso 1N (pH de la mezcla fue de aprox. 1) y se eliminaron todos los volátiles a presión reducida. Se extrajo el residuo con diclorometano (3 x 100 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El producto **11c** was obtained como un sólido blanco (1,61 g, 98%) y se usó sin purificación adicional.

Paso C



Una solución de ácido **11c** (248 mg) en 10 ml de diclorometano anhidro y 5 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 120 mg). Se agregó la sal de amina 1g (1,1 eq, 120 mg) seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,22 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 150 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (40 ml), HCl 1N acuoso (20 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (20 ml), y salmuera (20 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto **11d** (330 mg) se usó sin purificación adicional.

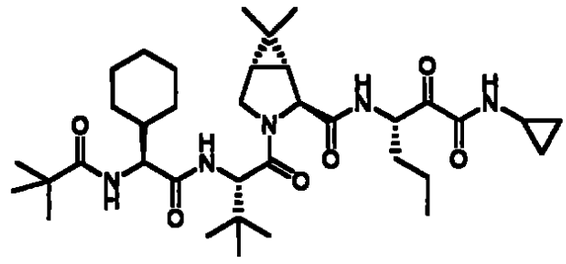
Paso D



11d 11

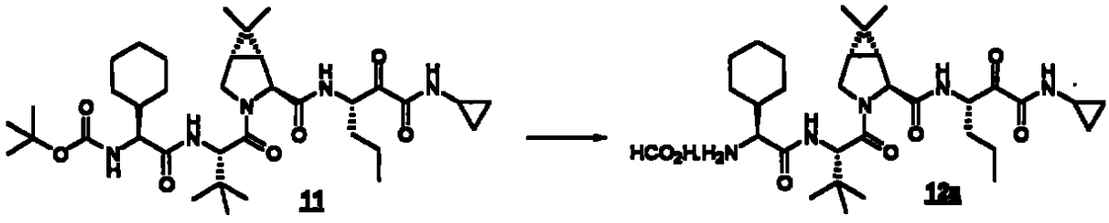
Una solución de la hidroxiamida **11d** (0,489 mmol) en 20 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,3 eq, 152 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 4:6) para obtener el producto **11e** como un sólido que se disolvió en 1 ml de diclorometano y 8 ml de hexano, se eliminó el solvente a presión reducida para dar el producto **11e** (280 mg, 85% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{36}H_{60}N_5O_7$ [M+H]: 674,4492; experimental 674,4507.

Ejemplo de Preparación 12



12

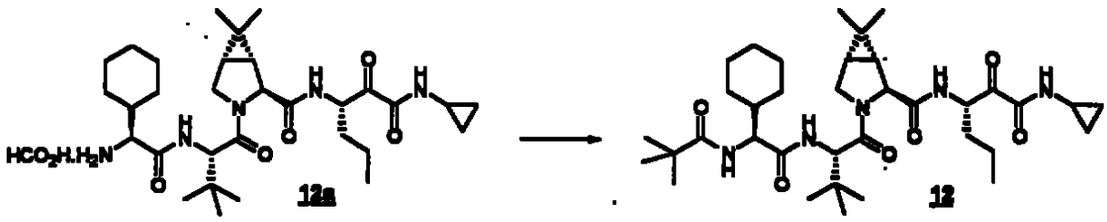
Paso A



11 12a

La amina N-Boc protegida 11 (80 mg) se disolvió en 5 ml de ácido fórmico. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente hasta que se había consumido todo el material inicial según la determinación realizada por TLC (acetona/hexanos; 3:7). Luego de 4 h, se eliminaron los volátiles a presión reducida y el residuo se colocó bajo alto vacío. No se realizó purificación adicional para el producto 12a (70 mg, 98%).

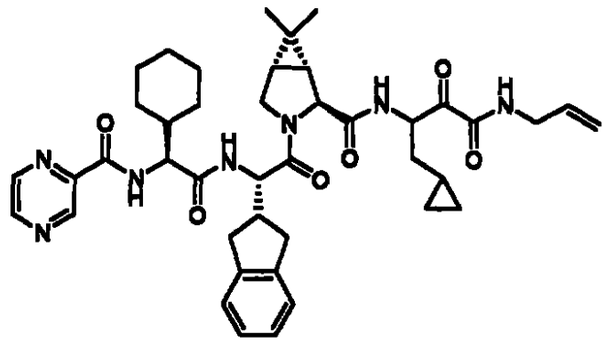
Paso B



La sal de amina 12a (0,118 mmol) se disolvió en 5 ml de diclorometano anhidro y se enfrió hasta 0°C. Se agregó N-metilmorfolina (2,5 eq, 0,032 ml, d 0,920) seguida de anhídrido piválico (1,2 eq, 0,028 ml, d 0,910) en 2 ml de diclorometano anhidro. Se agitó la mezcla hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). La mezcla de reacción se diluyó con 50 ml de diclorometano. Se lavó la solución con 10 ml de HCl acuoso 1M, 10 ml de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, y 10 ml de salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 1:1) para obtener el producto 12 (28 mg, 36%) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{36}H_{60}N_5O_6$ [M+H] 658,4543; experimental 658,4558.

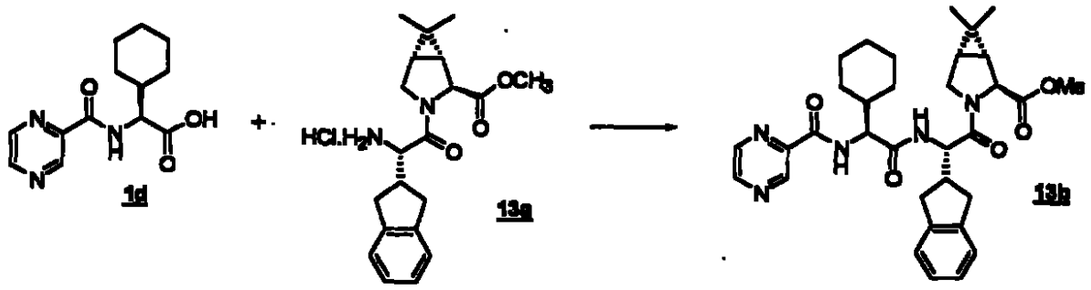
Ejemplo de Preparación 13

242



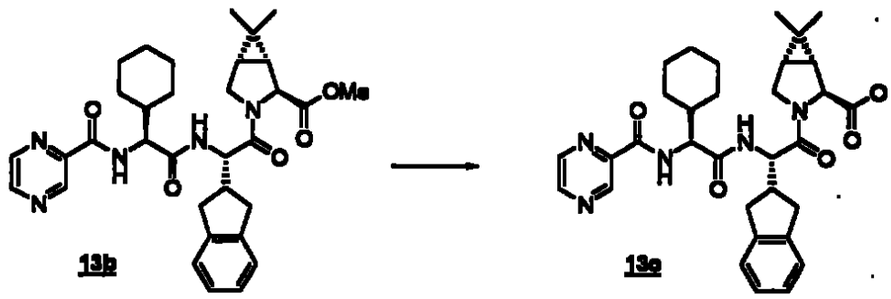
13

Paso A



Una solución del ácido **1d** (90 mg) en 5 ml de diclorometano anhidro y 3 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 180 mg). El clorhidrato de amina **13a** (1,0 eq, 128 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,15 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 80 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (15 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (15 ml), y salmuera (15 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 1:9 a 4:6) para dar el producto **13b** (160 mg, 80%) como un sólido blanco.

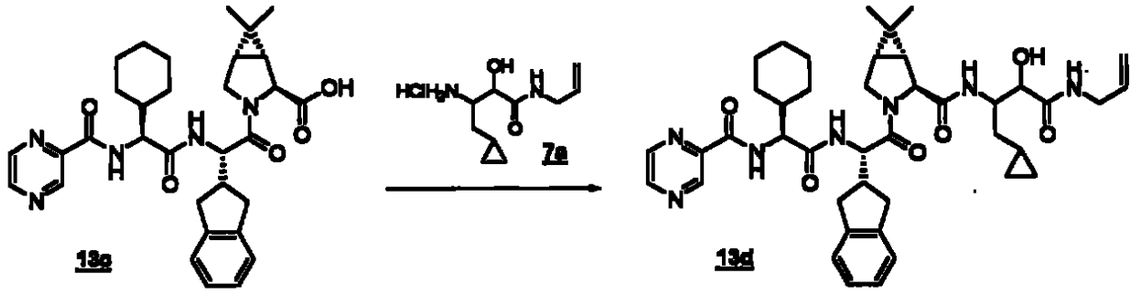
Paso B



13b 13c

El metil éster **13b** (160 mg) se disolvió en 15 ml de una mezcla 1:1:1 de THF/metanol/agua y se trató con hidróxido de litio monohidrato (2,5 eq, 28 mg) a 0°C. La mezcla de reacción se entibió en forma gradual up hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 2 h hasta que se había consumido todo el material inicial. Se agregó HCl acuoso 1M (30 ml) y se eliminaron todos los volátiles en evaporador rotativo. Se extrajo el residuo con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto **13c** (150 mg, 98%) se usó sin purificación adicional.

Paso C

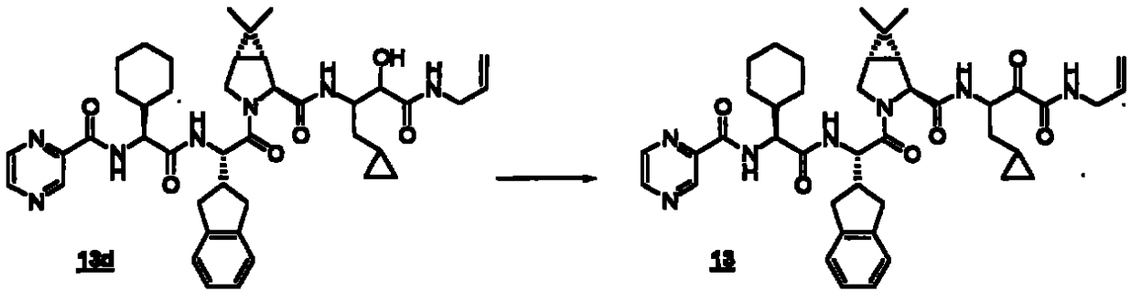


13c 7a 13d

Una solución del ácido **13c** (75 mg) en 4 ml de diclorometano anhidro y 2 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 69 mg). El clorhidrato de amina **7a** (1,2 eq, 37 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,06 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y

salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto **13d** se usó sin purificación adicional.

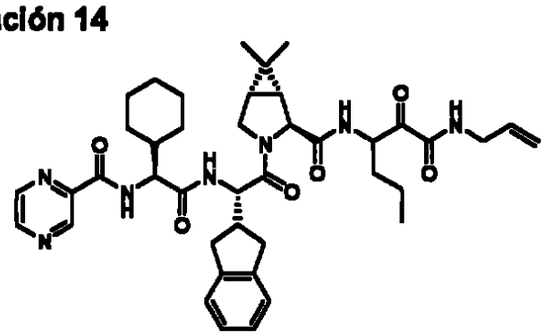
Paso D



13d **13**

Una solución de la hidroxiamida **13d** (0,130 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,0 eq, 110 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (20 ml) se agregó también y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 5:5) para obtener el producto **13** (69 mg, 70% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{42}H_{54}N_7O_6$ [M+H]: 752,4136; experimental 752,4122.

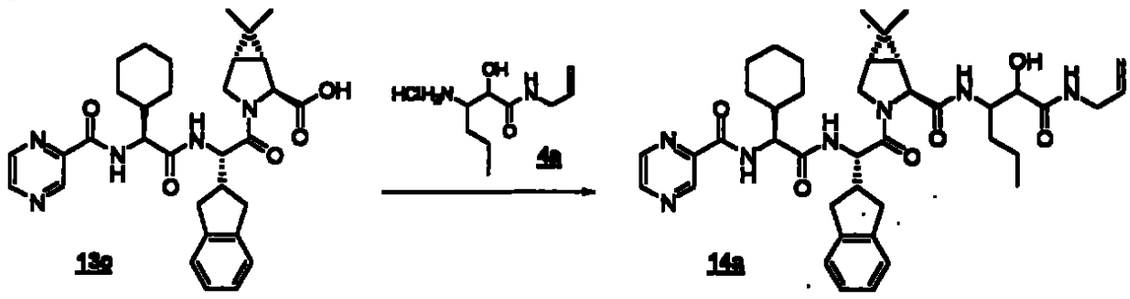
Ejemplo de Preparación 14



14

245

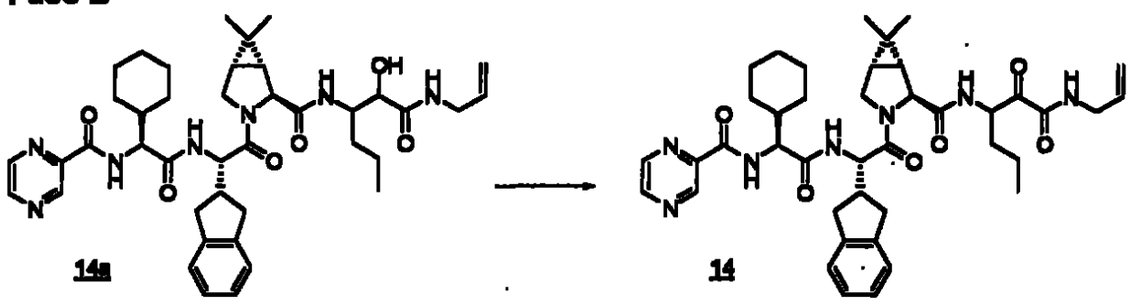
Paso A



13c 4a 14a

Una solución del ácido 13c (75 mg) en 4 ml de diclorometano anhidro y 2 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 69 mg). El clorhidrato de amina 4a (1,2 eq, 35 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,06 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto 14a se usó sin purificación adicional.

Paso B

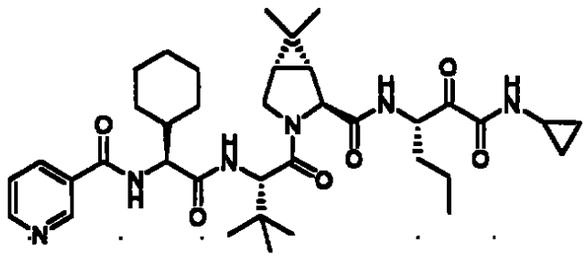


14a 14

Una solución de la hidroxiamida 14a (0,130 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,0 eq, 110 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (20 ml) se agregó

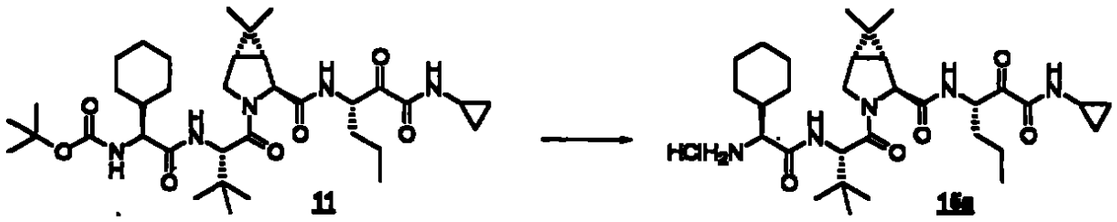
también y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 5:5) para obtener el producto 14 (66 mg, 69% para dos pasos) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{41}H_{54}N_7O_6$ [M+H] 740,4136; experimental 740,4146.

Ejemplo de Preparación 15



15

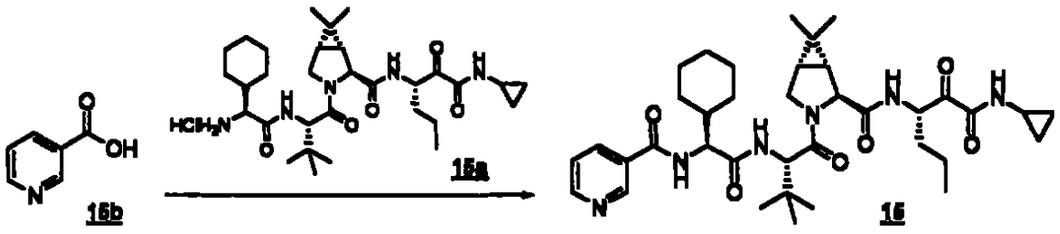
Paso A



11 15a

La amina N-Boc protegida 11 se disolvió en 5 ml de solución 4M de HCl en dioxanos. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 45 min. Se eliminaron todos los volátiles a presión reducida para obtener el producto 15a (60 mg, 98%) como un sólido blanco. No se llevó a cabo purificación adicional para el producto.

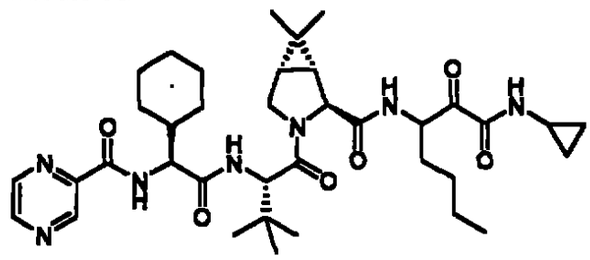
Paso B



15b 15a 15

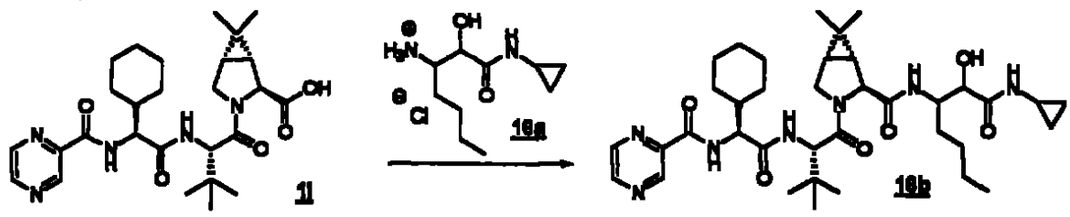
Una solución del ácido nicotínico **15b** (12 mg) en 1 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 54 mg). El clorhidrato de amina **15a** (1,0 eq, 62 mg) se agregó en 3 ml de diclorometano anhidro seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,05 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 1:1) para dar el producto **15** (16 mg, 23%) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H] 679,4183; experimental 679,4193.

Ejemplo de Preparación 16



16

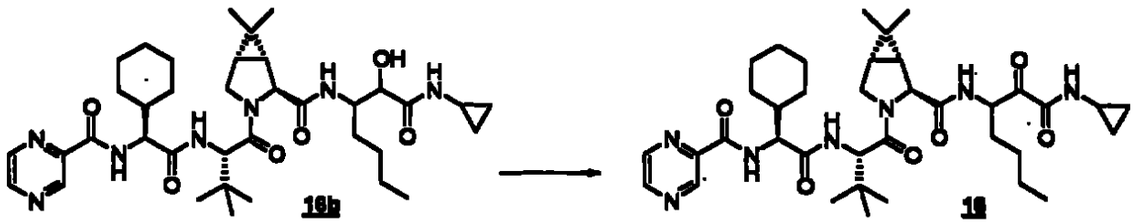
Paso A



Una solución del ácido **1J** (80 mg) en 2 ml de diclorometano anhidro y 2 ml de DMF anhidra se agitó a 0°C y se trató con HATU (1,4 eq, 83 mg). El clorhidrato de amina **16a** (1,2 eq, 40 mg) se agregó seguido de N-metilmorfolina (4 eq, 0,07 ml, d 0,920). La mezcla de reacción se agitó hasta la mañana siguiente (temp 0 a 25°C). Se eliminaron todos los volátiles al vacío y se disolvió el residuo en 50 ml

de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con agua (20 ml), HCl 1N acuoso (10 ml), bicarbonato de sodio acuoso saturado (10 ml), y salmuera (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto **16b** se usó sin purificación adicional.

Paso B



Una solución de la hidroxiamida **16b** (0,155 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro se trató con periodinano de Dess-Martin (2,0 eq, 131 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató la mezcla con solución acuosa 1M de tiosulfato de sodio (10 ml) y se agitó durante 5 min. Se agregó también bicarbonato de sodio acuoso saturado (20 ml) y se continuó con la agitación durante un adicional de 10 min. Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 x 30 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (gradiente: acetona/hexanos; 2:8 a 5:5) para obtener el producto **16** (55 mg, 51%) como un sólido blanco. HRMS (FAB) calculado para $C_{37}H_{58}N_7O_8$ [M+H] 694,4292; experimental 694,4310.

La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de la proteasa del VHC. Esta utilidad puede manifestarse en su capacidad de inhibir la NS2/NS4a serina proteasa del VHC. Un procedimiento general usado para dicha manifestación se detalla a través del ensayo *in vitro* que sigue.

<u>Ensayo para Determinar la Actividad Inhibidora de la Proteasa del VHC:</u>

<u>Ensayo espectrofotométrico:</u> El ensayo espectrofotométrico para la serina proteasa del VHC se realizó sobre los compuestos de la invención siguiendo el

procedimiento descrito por R. Zhang *et al*, *Analytical Biochemistry*, 270 (1999) 268-275, cuya descripción se incorpora aquí a modo de referencia. El ensayo, basado en la proteólisis de sustratos cromogénicos con grupos éster, es apropiado para el monitoreo continuo de la actividad de NS3 proteasa del VHC. Los sustratos derivaron del lado P de la secuencia de unión NS5A-NS5B (Ac-DTEDVVX(Nva), donde X = A o P) cuyos grupos carboxilo C-terminales se esterificaron con uno de cuatro alcoholes cromóforos diferentes (3- o 4-nitrofenol, 7-hidroxi-4-metil-cumarina o 4-fenilazofenol). A continuación se ilustran la síntesis, caracterización y aplicación de estos nuevos sustratos espectrofotométricos con grupos éster a la selección sistemática de alto rendimiento y la evaluación cinética detallada de los inhibidores de la NS3 proteasa del VHC.

Materiales y Métodos:

Materiales: Los reactivos químicos para buffers relacionados con el ensayo se obtuvieron de Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri). Los reactivos para la síntesis de péptidos fueron de Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, California), Applied Biosystems (Foster City, California) y Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts). Los péptidos se sintetizaron en forma manual o en un sintetizador automatizado ABI modelo 431A (de Applied Biosystems). El UV/VIS Spectrometer modelo LAMBDA 12 fue de Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut) y las placas UV de 96 pocillos se obtuvieron de Corning (Corning, New York). El bloque de precalentamiento fue de USA Scientific (Ocala, Florida) y el vortexer para la placa de 96 pocillos es de Labline Instruments (Melrose Park, Illinois). Se obtuvo un lector de placas de microtitulación Spectramax Plus con monocromador de Molecular Devices (Sunnyvale, California).

Preparación de las Enzimas: Se preparó NS3/NS4A proteasa de VHC heterodimérica recombinante (cepa 1a) usando los procedimientos publicados con

anterioridad (D. L. Sali *et al*, *Biochemistry*, 37 (1998) 3392-3401). Se determinaron las concentraciones de proteínas por el método del colorante Biorad usando proteasa recombinante de estándares de VHC cuantificados previamente por análisis de aminoácidos. Antes de iniciar el ensayo, se intercambió el buffer de almacenamiento (fosfato de sodio 50 mM pH 8,0, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, lauril maltósido 0,05% y DTT 10 mM) por el buffer de ensayo (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, lauril maltósido al 0,05%, EDTA 5 µM y DTT 5 µM) utilizando una columna pre-empacada Biorad Bio-Spin P-6.

Síntesis del sustrato y purificación: La síntesis de los sustratos se realizó como lo informó R. Zhang *et al*, (*ibid.*) y se inicia anclando Fmoc-Nva-OH a resina de cloruro de 2-clorotritilo usando un protocolo estándar (K. Barlos *et al*, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 37 (1991), 513-520). Se montaron posteriormente los péptidos, usando química de Fmoc, ya sea en forma manual o en un sintetizador de péptidos automático ABI modelo 431. Los fragmentos de péptido N-acetilados y totalmente protegidos se disociaron de la resina ya sea por ácido acético al 10% (HOAc) y trifluoroetanol al 10% (TFE) en diclorometano (DCM) durante 30 min, o por ácido trifluoroacético al 2% (TFA) en DCM durante 10 min. El filtrado combinado y lavado de DCM se evaporó azeotrópicamente (o se extrajo reiteradamente con solución acuosa de Na_2CO_3) para eliminar el ácido usado en la ruptura. La fase de DCM se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó.

Los ésteres sustratos se ensamblaron usando procedimientos de acoplamiento ácido-alcohol estándar (K. Holmber *et al*, *Acta Chem. Scand.*, B33 (1979) 410-412). Se disolverion los fragmentos de péptido en piridina anhidra (30-60 mg/ml) a los cuales se agregaron 10 equivalentes molares de cromóforo y una cantidad catalítica (0,1 eq.) de ácido para-toluensulfónico (pTSA). Se agregó diciclohexilcarbodiimida (DCC, 3 eq.) para iniciar las reacciones de acoplamiento. La formación de producto se monitoreó por HPLC y se encontró que era completa

luego de 12-72 horas de reacción a temperatura ambiente. Se evaporó el solvente piridínico al vacío y se eliminó adicionalmente por evaporación azeotrópica con tolueno. El éster peptídico se desprotonó con TFA al 95% en DCM durante dos horas y se extrajo tres veces con etil éter anhidro para eliminar el exceso de cromóforo. El sustrato desprotegido se purificó por HPLC de fase reversa en una columna C3 o C8 con un gradiente de acetonitrilo de 30% a 60% (usando seis volúmenes de columna). El rendimiento global luego de la purificación por HPLC fue de aproximadamente 20-30%. La masa molecular puede confirmarse por espectroscopia de masa por ionización con electroaspersión. Los sustratos se almacenaron en forma de polvo seco con desecación.

Espectros de Sustratos y Productos: Los espectros de los sustratos y los productos cromóforos correspondientes se obtuvieron en el buffer de ensayo de pH 6,5. Se determinaron los coeficientes de extinción a la longitud de onda óptima del pico principal en cubetas de 1 cm (340 nm para 3-Np y HMC, 370 nm para PAP y 400 nm para 4-Np) usando diluciones múltiples. La longitud óptima del pico principal se definió como la longitud de onda que produjo la diferencia fraccional máxima en absorbancia entre el sustrato y el producto (DO del producto – DO del sustrato)/DO del sustrato).

Ensayo de Proteasa: Se realizaron ensayos de proteasa de VHC a 30°C usando una mezcla de reacción de 200 µl en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Las condiciones del buffer de ensayo (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, lauril maltósido al 0,05%, EDTA 5 µM y DTT 5 µM) se optimizaron para el heterodímero NS3/NS4A (D. L. Sali *et al*, *ibid.*)). Normalmente, se colocaron mezclas de 150 µl de buffer, sustrato e inhibidor en los pocillos (concentración final de DMSO ≤ 4% v/v) y se dejó pre-incubar a 30°C durante aproximadamente 3 minutos. Luego se usaron cincuenta µl de proteasa precalentada (12 nM, 30°C) en buffer de ensayo para iniciar la reacción (volumen

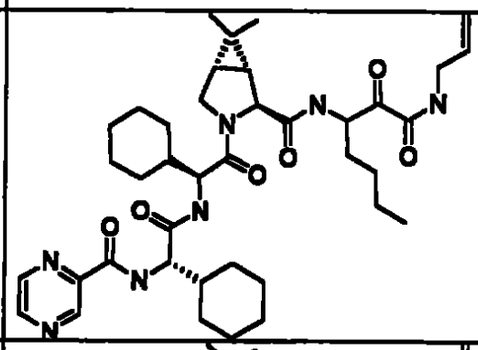
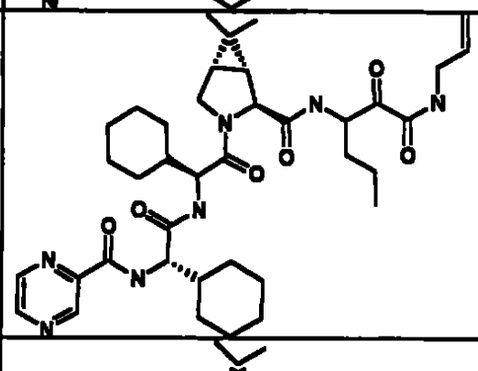
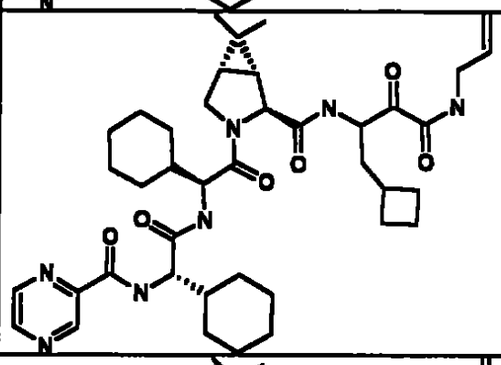
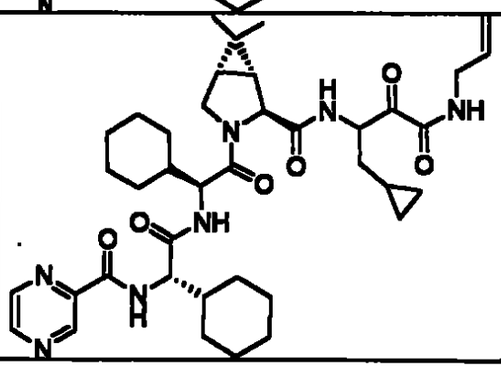
252

final 200 µl). Se monitorearon las placas mientras duró el ensayo (60 minutos) para determinar el cambio en la absorbancia a la longitud de onda apropiada (340 nm para 3-Np y HMC, 370 nm para PAP, y 400 nm para 4-Np) usando una placa de microtitulación Spectromax Plus equipada con un monocromador (se obtuvieron resultados aceptables con lectores de placa que utilizan filtros de corte). Se monitoreó la ruptura proteolítica del enlace éster entre el Nva y el cromóforo a la longitud de onda apropiada contra un blanco sin enzimas como control para la hidrólisis no enzimática. La evaluación de los parámetros cinéticos del sustrato se realizó en un rango de concentración de sustrato de un factor 30 (~6-200 µM). Las velocidades iniciales se determinaron usando regresión lineal y las constantes cinéticas se obtuvieron adaptando los datos a la ecuación de Michaelis-Menten usando análisis de regresión no lineal (Mac Curve Fit 1,1, K. Raner). Se calcularon los números resultantes (k_{cat}) suponiendo que la enzima es completamente activa.

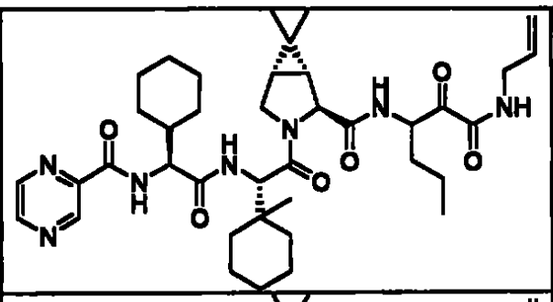
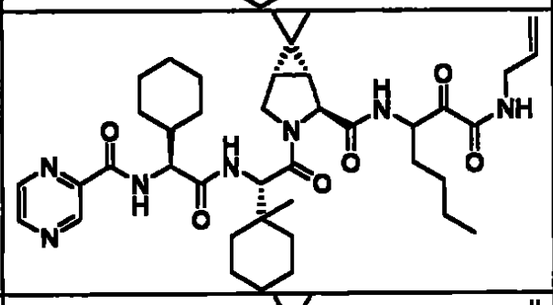
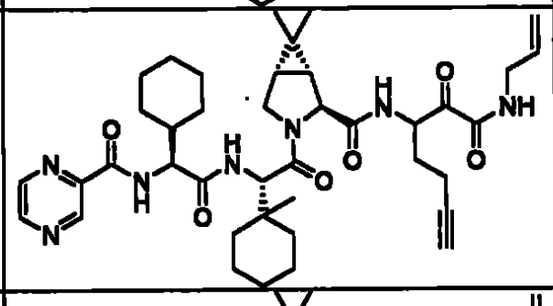
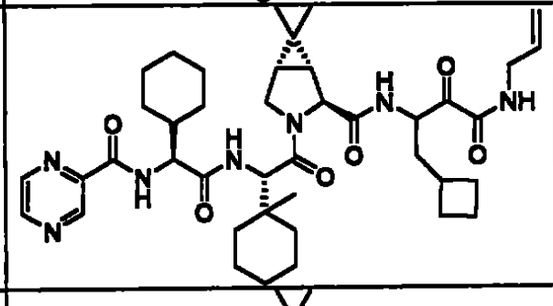
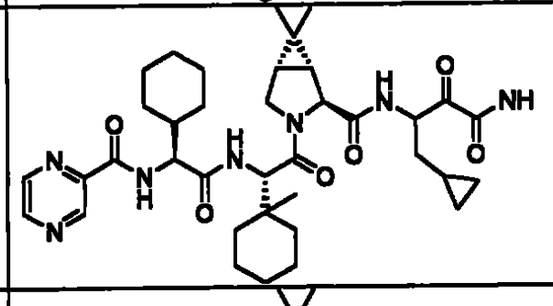
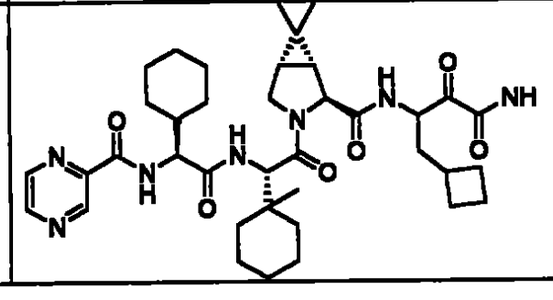
Evaluación de Inhibidores e Inactivadores: Se determinaron experimentalmente las constantes de inhibición (K_i) para los inhibidores competitivos Ac-D-(D-Gla)-L-I-(Cha)-C-OH (27), Ac-DTEDVVA(Nva)-OH y Ac-DTEDVVP(Nva)-OH a concentraciones fijas de enzima y sustrato trazando un gráfico de v_o/v_i vs. concentración de inhibidor ($[I]_o$) de acuerdo con la ecuación reordenada de Michaelis-Menten para una cinética de inhibición competitiva: $v_o/v_i = 1 + [I]_o /(K_i (1 + [S]_o /K_m))$, donde v_o es la velocidad inicial no inhibida, v_i es la velocidad inicial en presencia de inhibidor a una concentración de inhibidor determinada ($[I]_o$) y $[S]_o$ es la concentración usada de sustrato. Se ajustaron los datos resultantes usando regresión lineal y se usó la pendiente resultante, $1/(K_i(1+[S]_o/K_m)$, para calcular el valor de Ki*. Los valores así obtenidos de Ki* para algunos de los compuestos de la invención se muestran en la **Tabla 2** y en la **Tabla 3**.

253

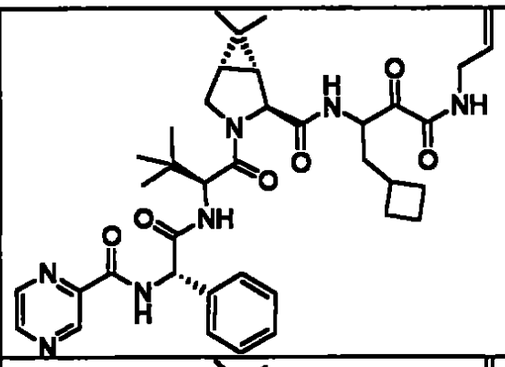
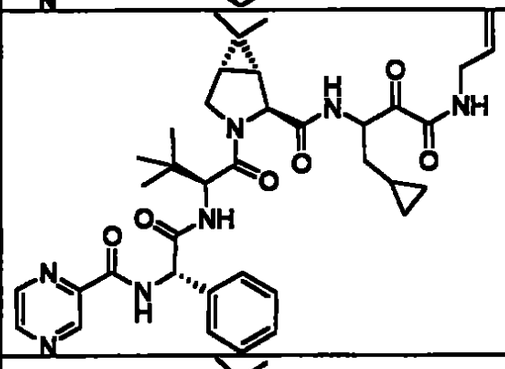
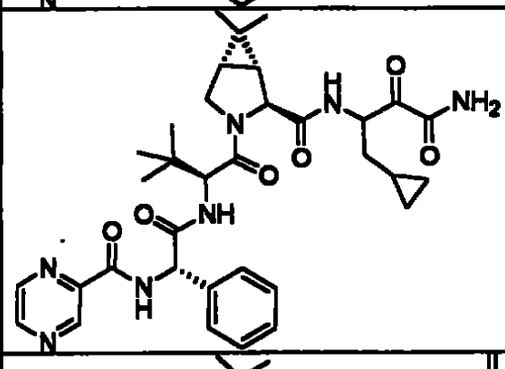
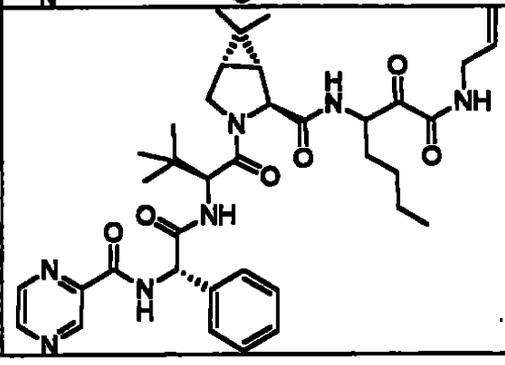
Tabla 2

Entrada en Tabla	Estructura	Ki*
1		A
2		A
3		A
4		A

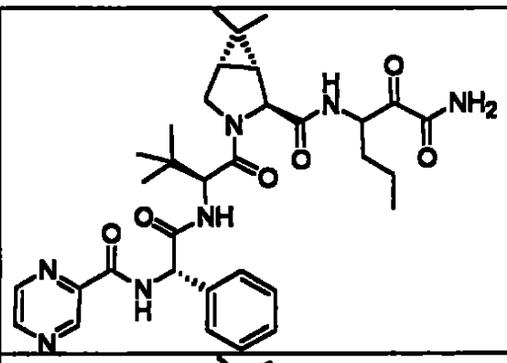
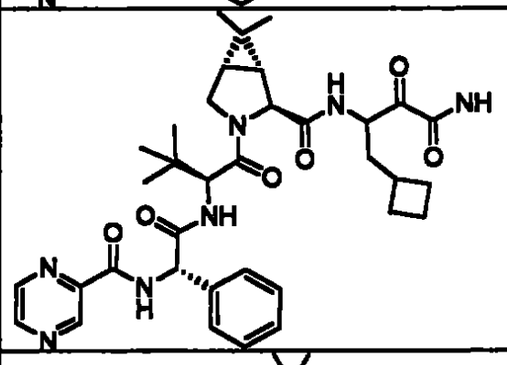
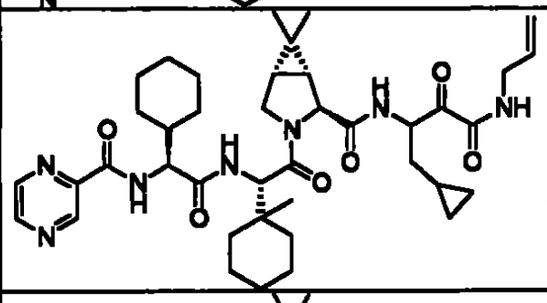
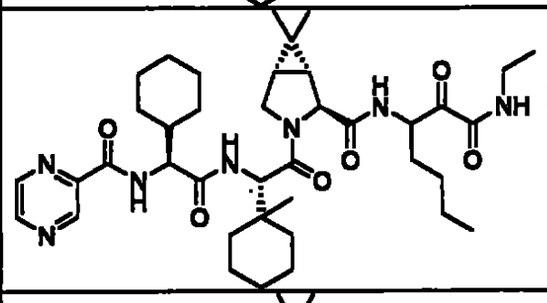
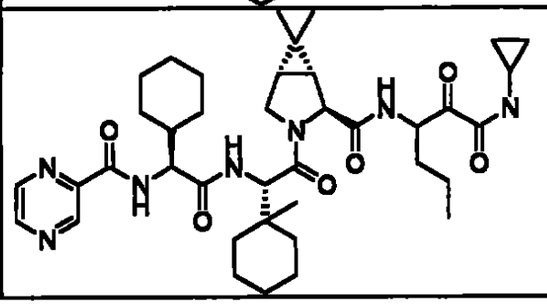
254

5		A
6		A
7		A
8		A
9		A
10		A

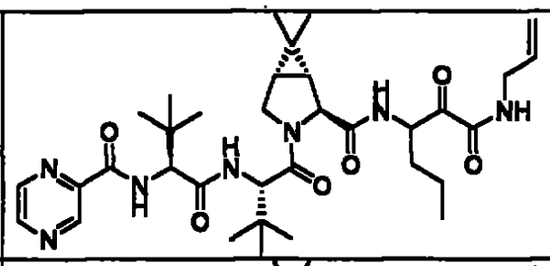
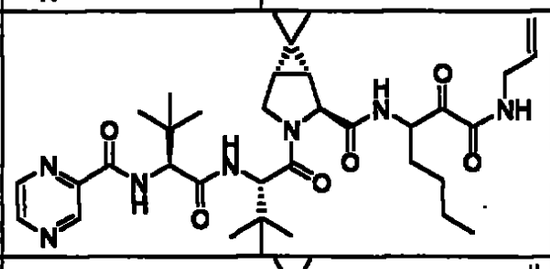
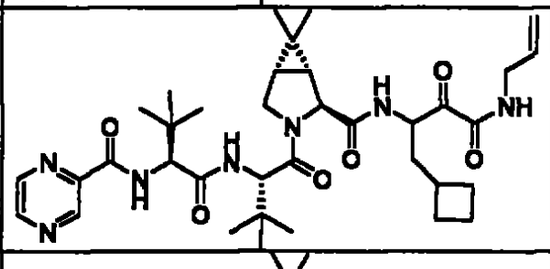
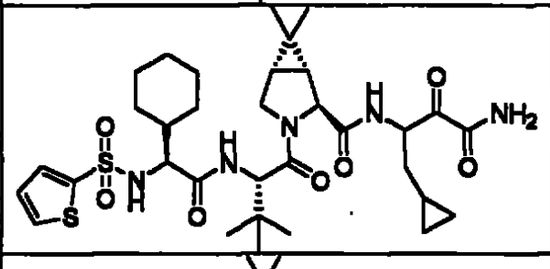
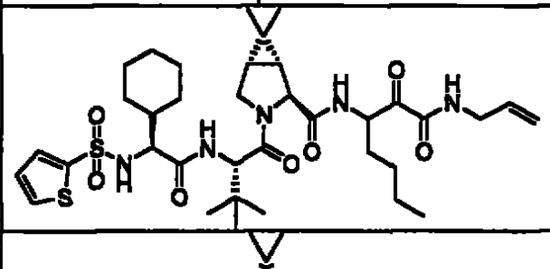
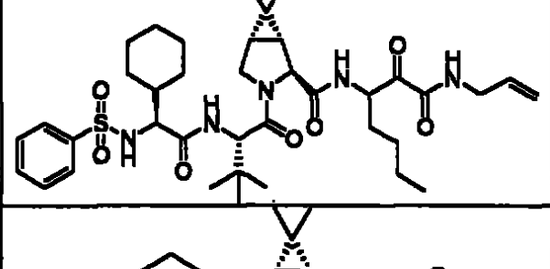
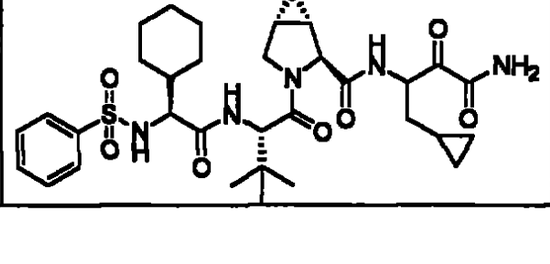
255

11		B
12		A
13		A
14		A

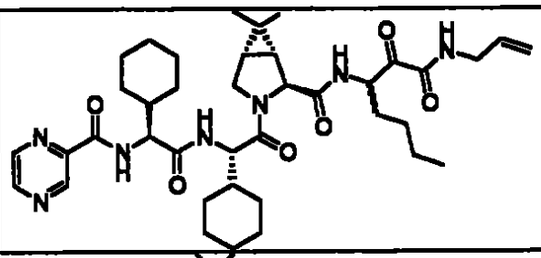
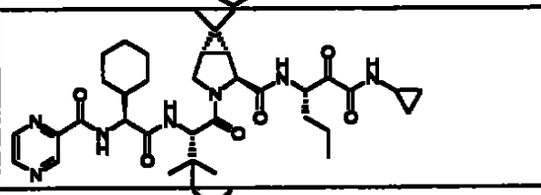
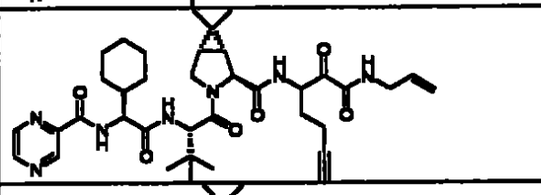
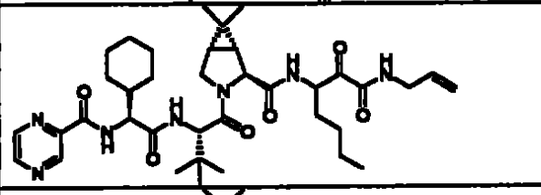
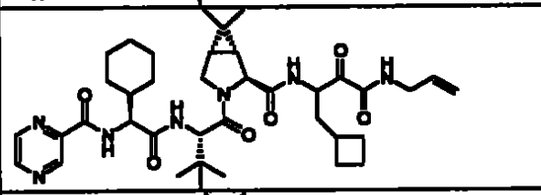
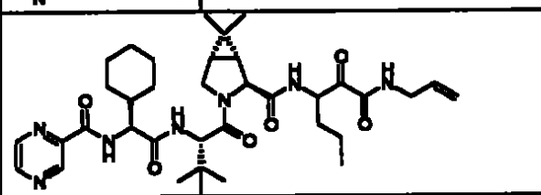
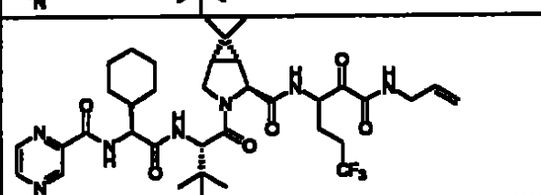
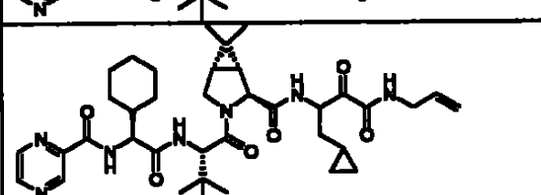
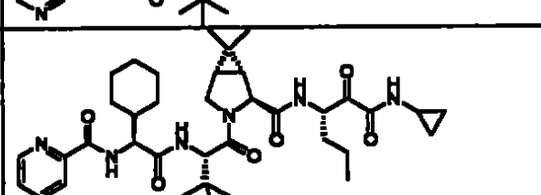
256

15		A
16		A
17		A
18		A
19		A

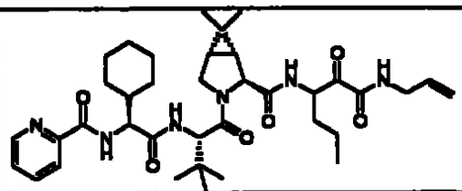
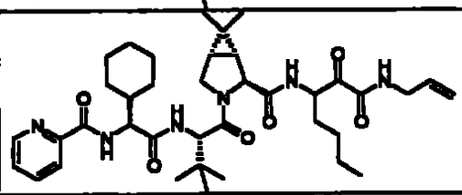
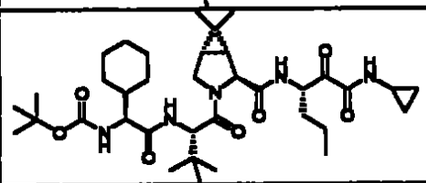
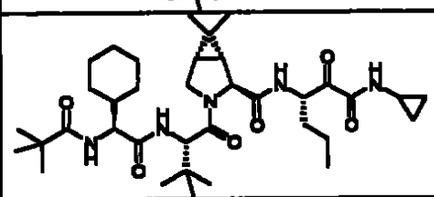
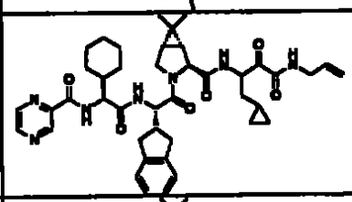
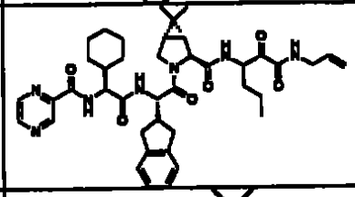
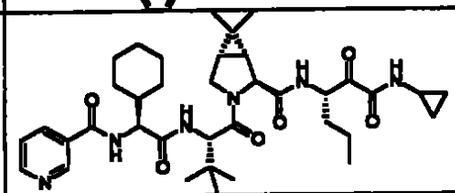
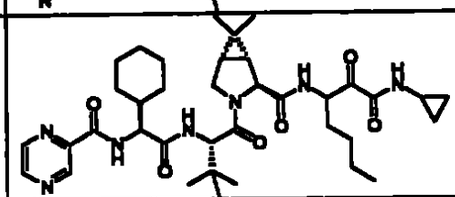
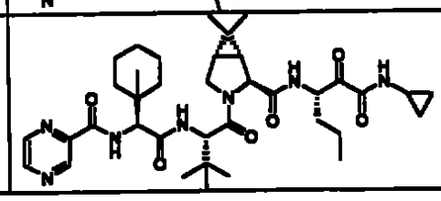
257

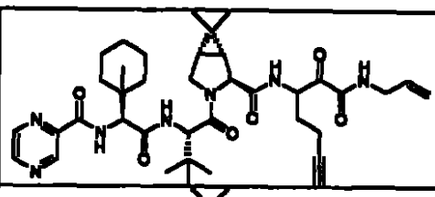
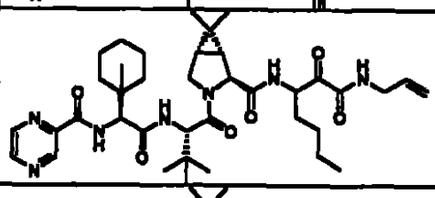
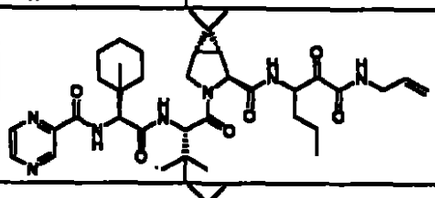
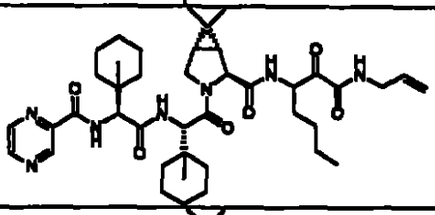
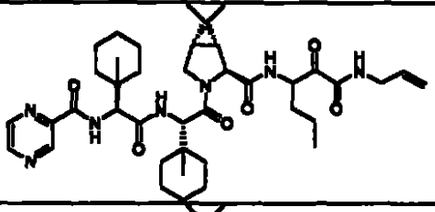
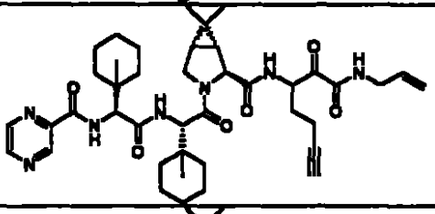
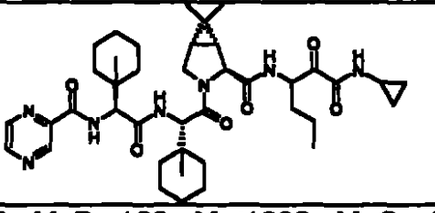
20		A
21		B
22		B
23		A
24		B
25		B
26		A

25$

27		A
28		A
29		A
30		A
31		A
32		A
33		A
34		A
35		A

259

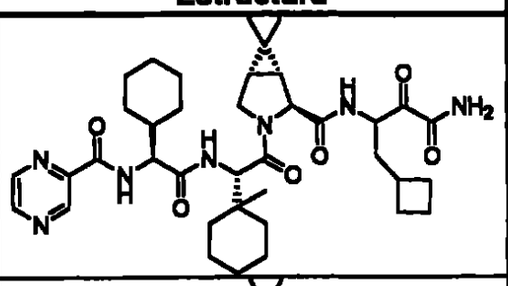
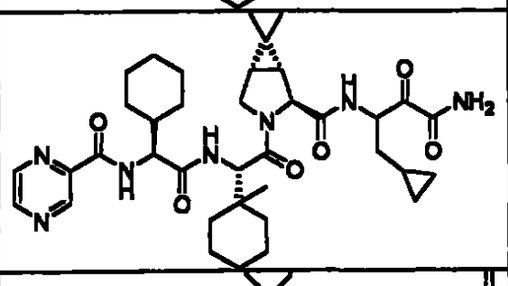
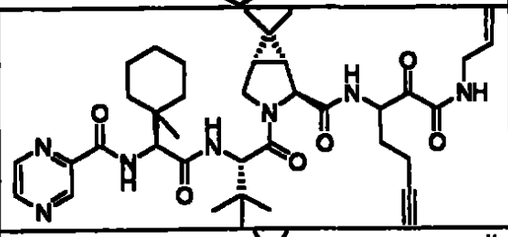
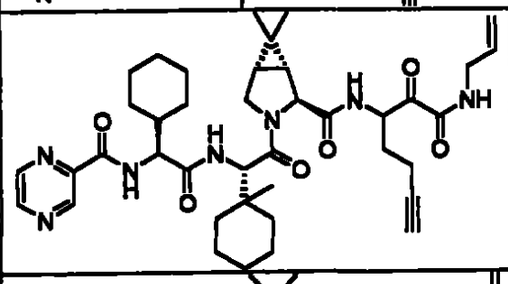
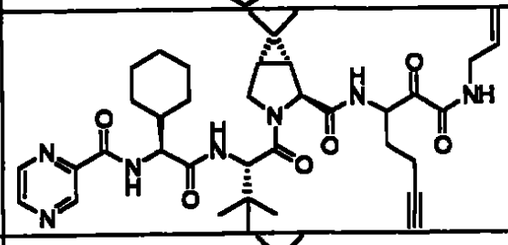
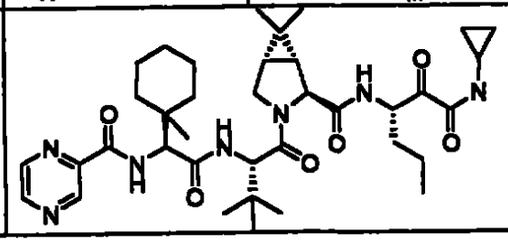
36		A
37		A
38		B
39		A
40		A
41		A
42		A
43		A
44		A

45		A
46		A
47		A
18		A
49		A
50		A
51		A

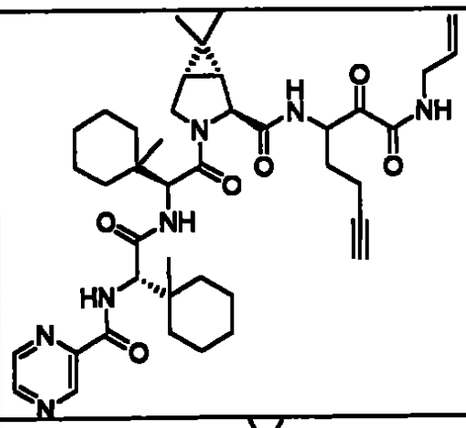
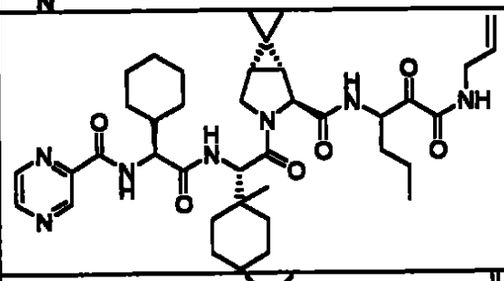
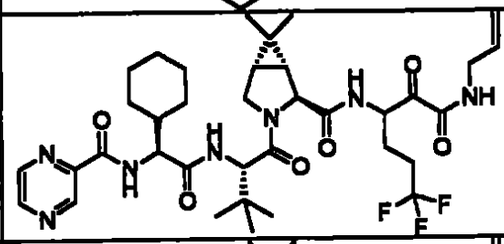
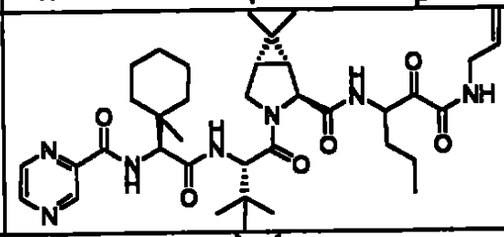
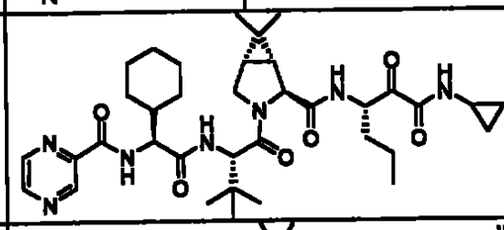
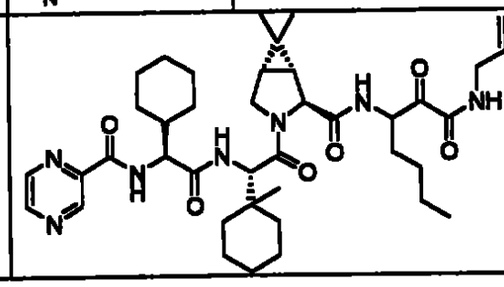
Rango A≤100 nM; B >100 nM ≤1000 nM; C> 1000 nM.

261

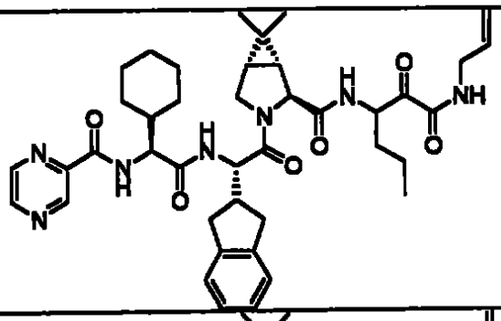
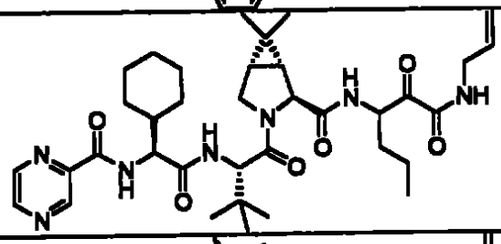
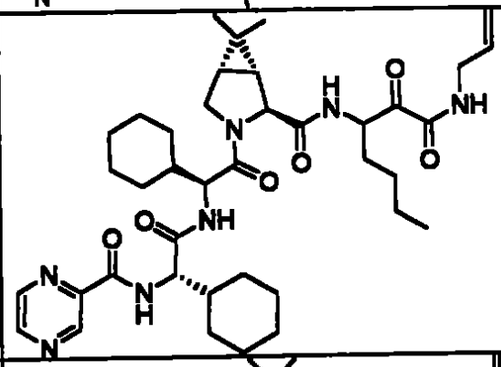
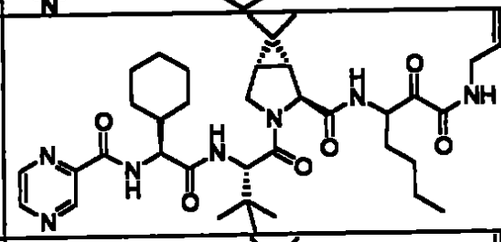
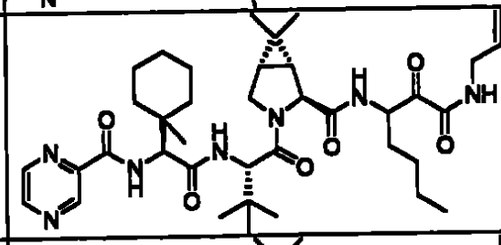
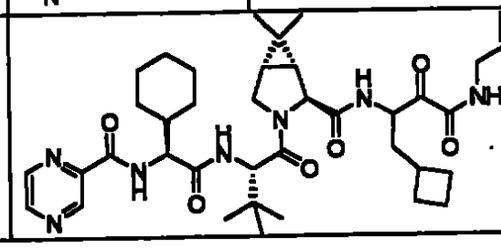
Tabla 3

Entrada	Estructura	Ki* (nM)
1		3,2
2		4
3		4
4		5
5		6
6		7

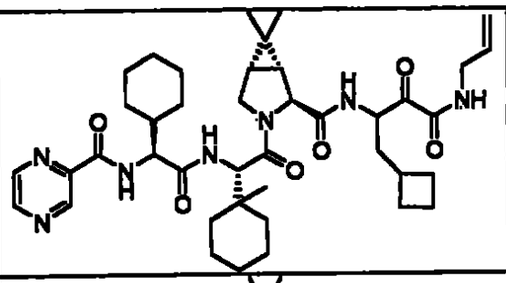
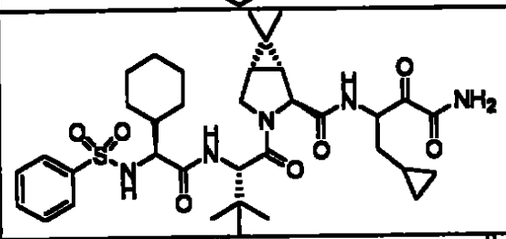
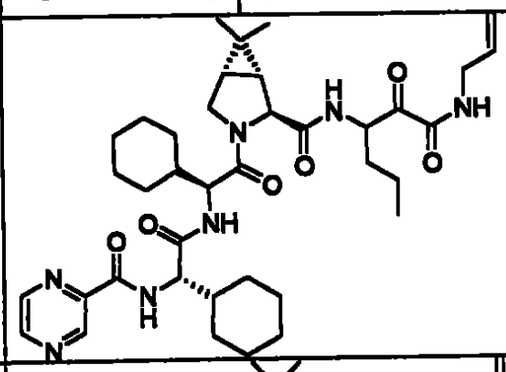
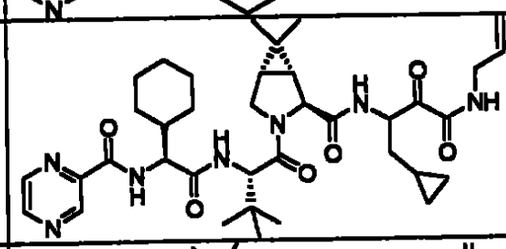
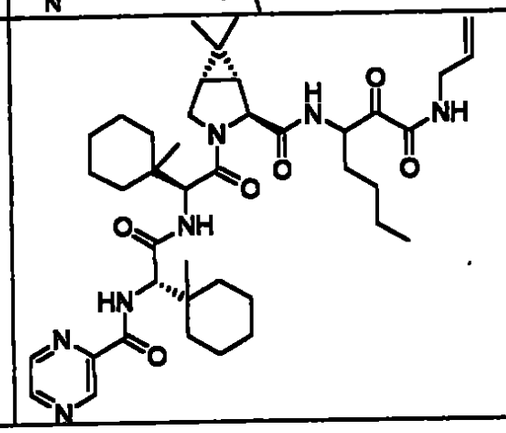
262

7		7
8		9
9		12
10		12
11		13
12		13

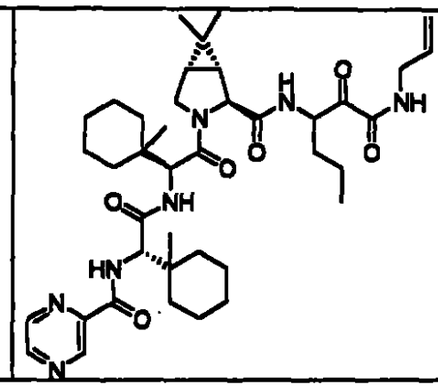
263

13		13
14		14
15		16
16		16
17		17
18		18

264

19		19
20		20
21		22
22		22
23		22

265

24		23

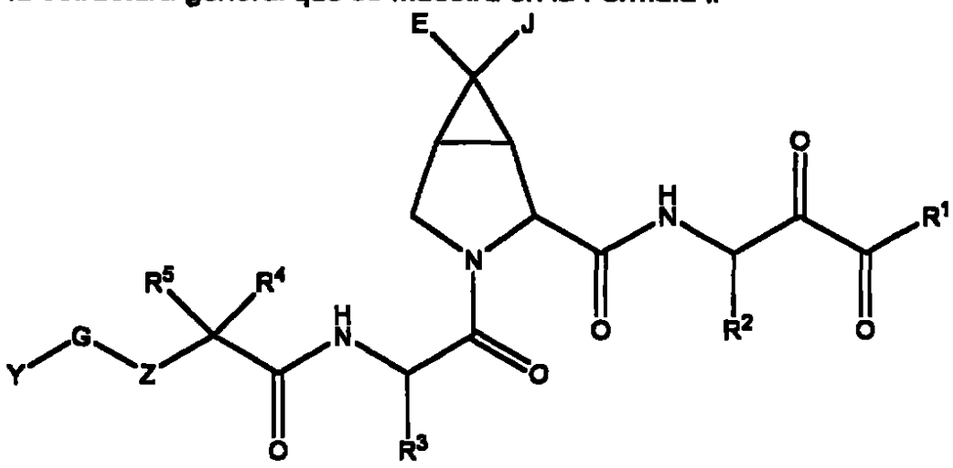
Aunque la presente invención ha sido descripta en conjunto con las realizaciones específicas establecidas anteriormente, muchas alternativas, modificaciones y otras variantes de las mismas serán evidentes para los expertos en la técnica. Todas estas alternativas, modificaciones y variantes deberán caer dentro del espíritu y alcance de la presente invención.

266

REIVINDICACIONES

Habiendo así descripto y determinado la naturaleza de la presente invención y la forma como la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara reivindicar como de propiedad y derecho exclusivo:

1. Un compuesto, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos de dicho compuesto, o una sal, solvato o éster aceptable para uso farmacéutico de dicho compuesto, teniendo dicho compuesto la estructura general que se muestra en la Fórmula I:



Fórmula I

en la cual:

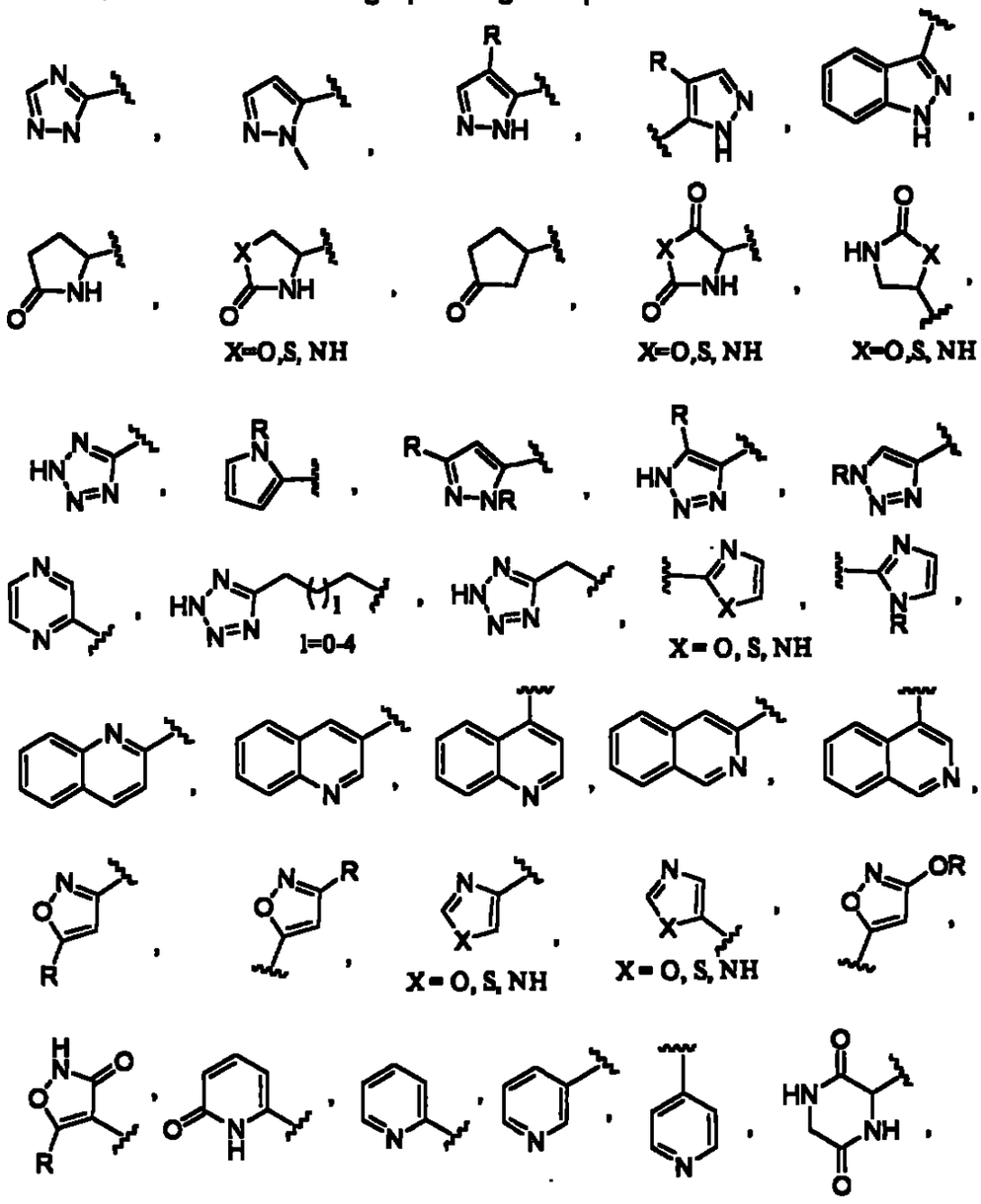
R^1 es H, OR^8, NR^9R^{10} o CHR^9R^{10}, donde R^8, R^9 y R^{10} pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por H, alquilo-, arilo-, heteroalquilo-, heteroarilo-, cicloalquilo-, cicloalquilo-, arilalquilo-, y heteroarilalquilo;

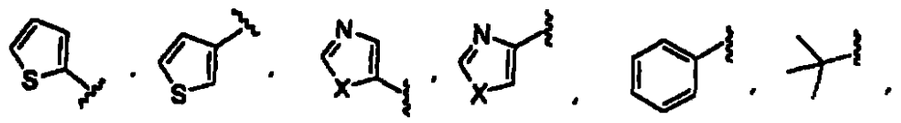
E y J pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por R, OR, NHR, NRR^7, SR, halo y $S(O_2)R$, o E y J pueden conectarse directamente entre sí para formar ya sea un cicloalquilo de tres a ocho miembros, o un resto heterociclilo de tres a ocho miembros;

Z es N(H), N(R) u O, con la salvedad de que cuando Z sea O, G esté presente o ausente y si G está presente cuando Z es O, entonces G es C(=O);

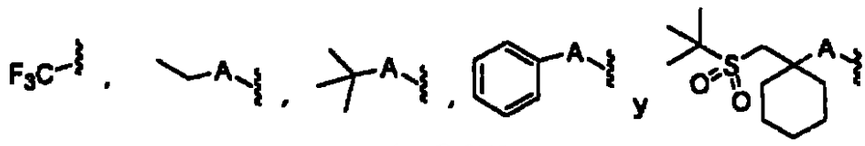
G puede estar presente o ausente, y si G está presente, G es C(=O) o $S(O_2)$, y cuando G está ausente, Z está directamente conectado a Y;

Y se selecciona del grupo integrado por:





X = O, S, NH



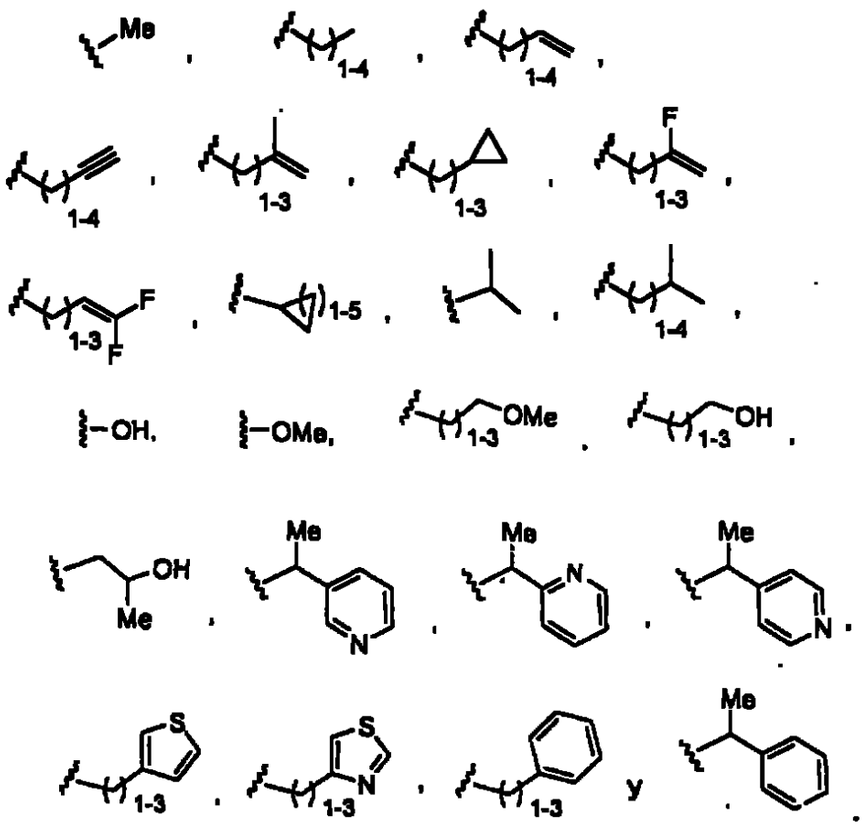
A = O, NH

R, R^7, R^2, R^3, R^4 y R^5 pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada uno en forma independiente del grupo integrado por H, alquilo-, alquenilo-, alquinilo-, cicloalquilo-, heteroalquilo-, heterociclilo-, arilo-, heteroarilo-, (cicloalquil)alquilo-, (heterociclil)alquilo-, aril-alquilo- y heteroaril-alquilo-, donde cada uno de dichos heteroalquilo, heteroarilo y heterociclilo en forma independiente tiene de uno a seis átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo; donde cada uno de dichos restos alquilo, heteroalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterociclilo pueden estar no sustituidos u opcionalmente sustituidos en forma independiente con uno o más restos seleccionados del grupo integrado por alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxi, tio, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro, sulfonamido, sulfóxido, sulfona, sulfonil urea, hidracida e hidroxamato.

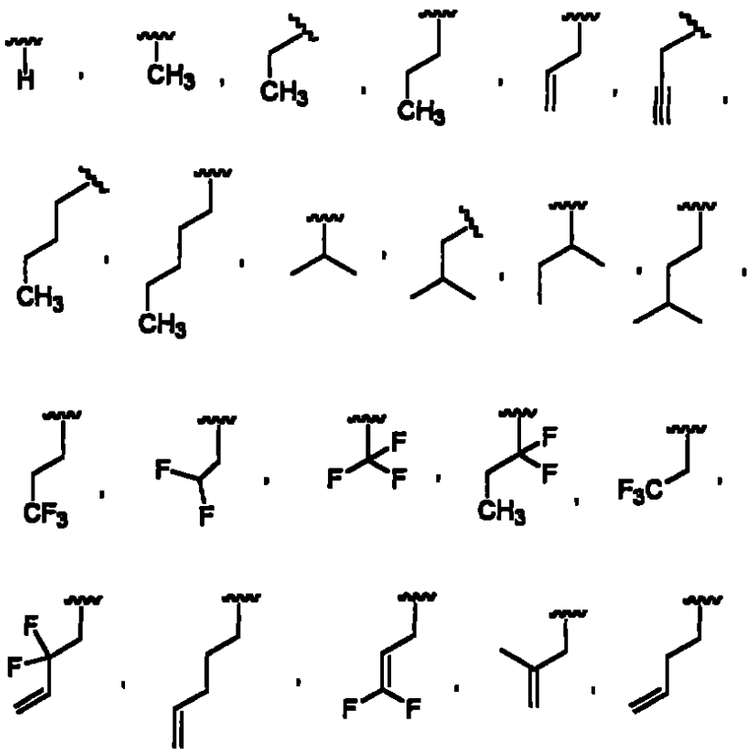
2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R^1 es NR^9R^{10} y R^9 es H, R^{10} es H o R^{14}, donde R^{14} es alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquil-arilo-, alquil-heteroarilo-, aril-alquilo-, alquenilo, alquinilo o heteroaril-alquilo-.

3. El compuesto de la reivindicación 2, donde R^{14} se selecciona del grupo integrado por:

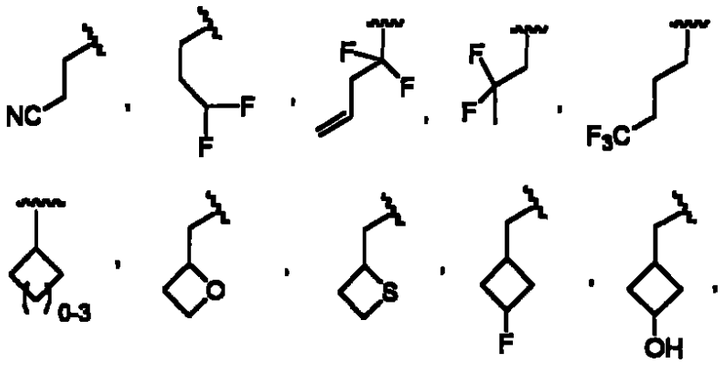
269

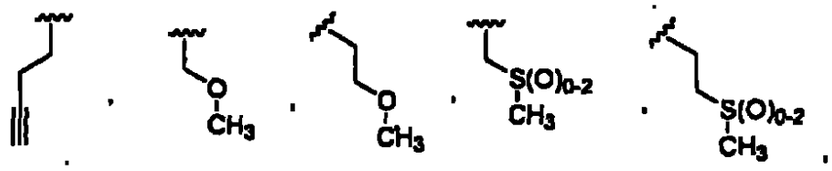


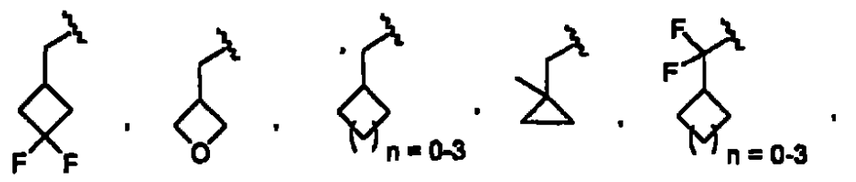
4. El compuesto de la reivindicación 1, donde R^2 se selecciona del grupo integrado por los siguientes restos:

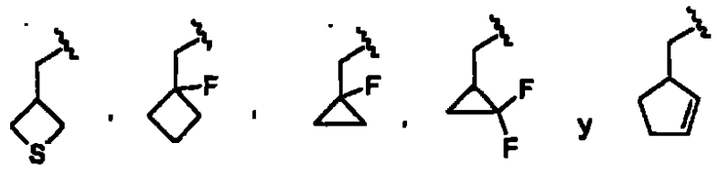


220

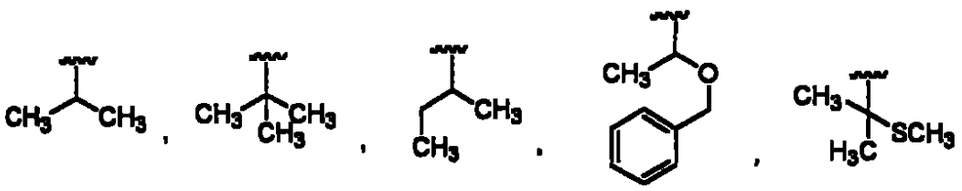


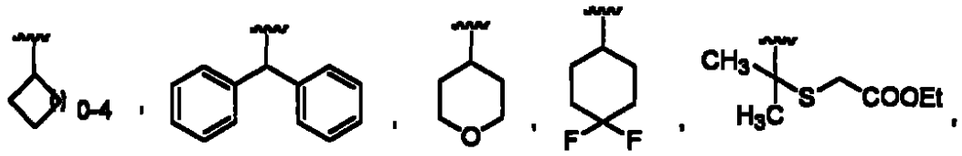


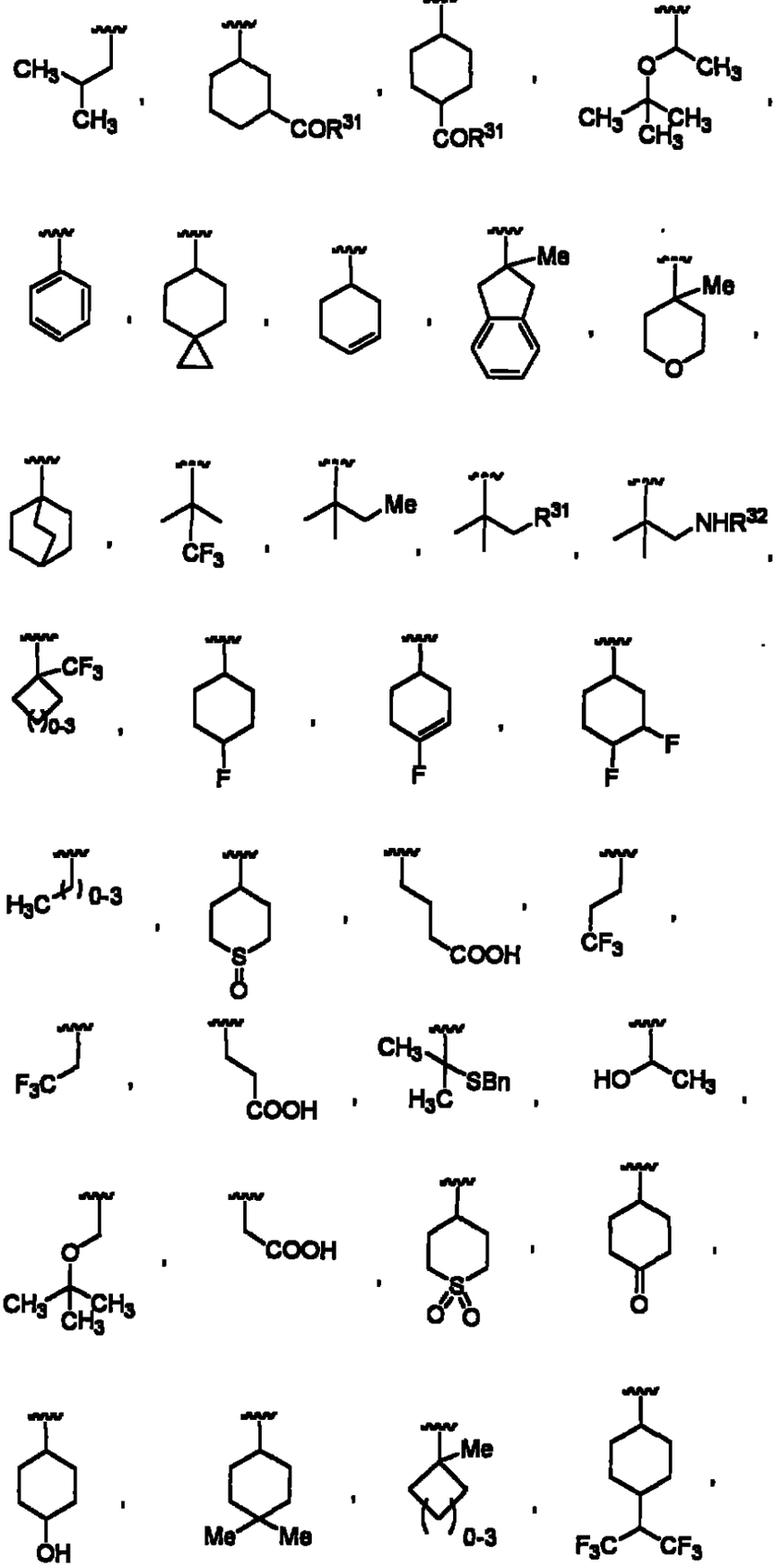


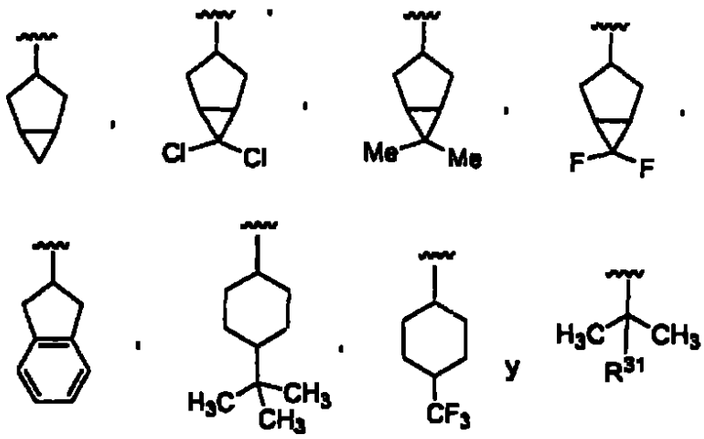


5. El compuesto de la reivindicación 1, donde R^3 se selecciona del grupo integrado por:





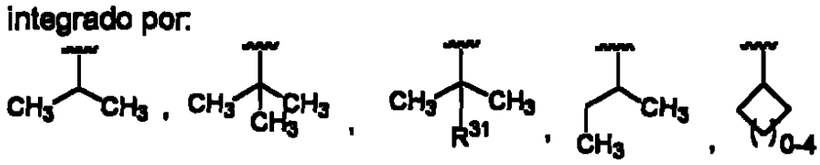

CH3
CH3
COR31
COR31
O
CH3
CH3
CH3
Me
Me
O
CF3
Me
R31
NHR32
CF3
0-3
F
F
F
F
H3C
0-3
S
O
COOH
CF3
F3C
COOH
CH3
SBn
H3C
HO
CH3
O
CH3
CH3
CH3
COOH
S
O
O
O
OH
Me
Me
Me
0-3
F3C
CF3

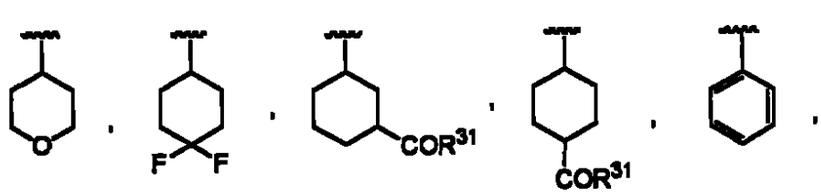


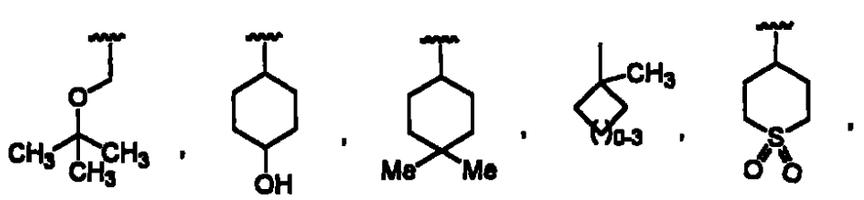
donde R^{31} es OH u O-alquilo; y

R^{32} es H, $C(O)CH_3$, C(O)OtBu o C(O)N(H)tBu.

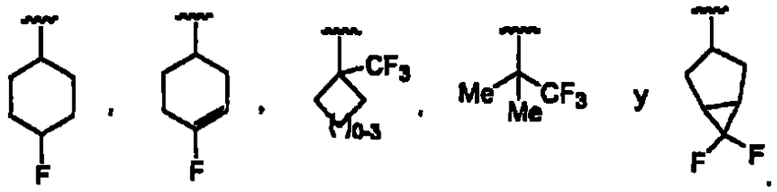
6. El compuesto de la reivindicación 5, donde R^3 se selecciona del grupo integrado por:



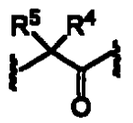




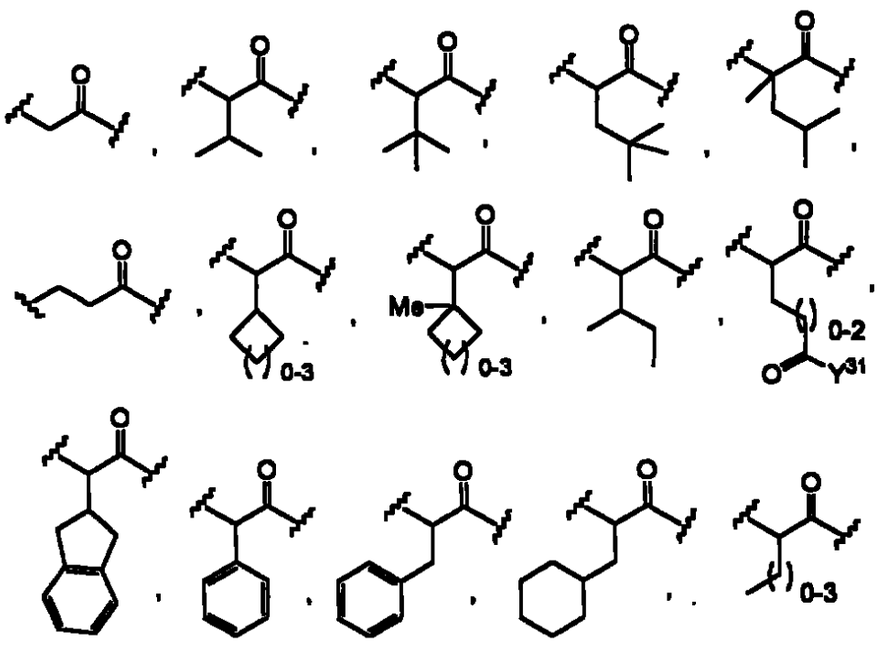
223

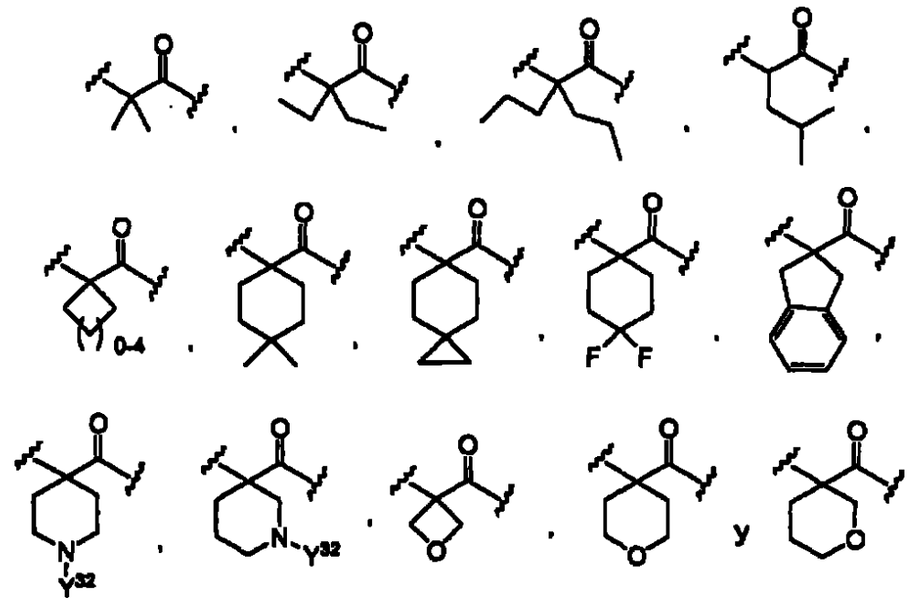


7. El compuesto de la reivindicación 1, donde



se selecciona del grupo integrado por:





donde

Y^{31} se selecciona del grupo integrado por: OR, NHR y NRR^7

e

Y^{32} se selecciona del grupo integrado por:



8. El compuesto de la reivindicación 1, donde Z es NH.

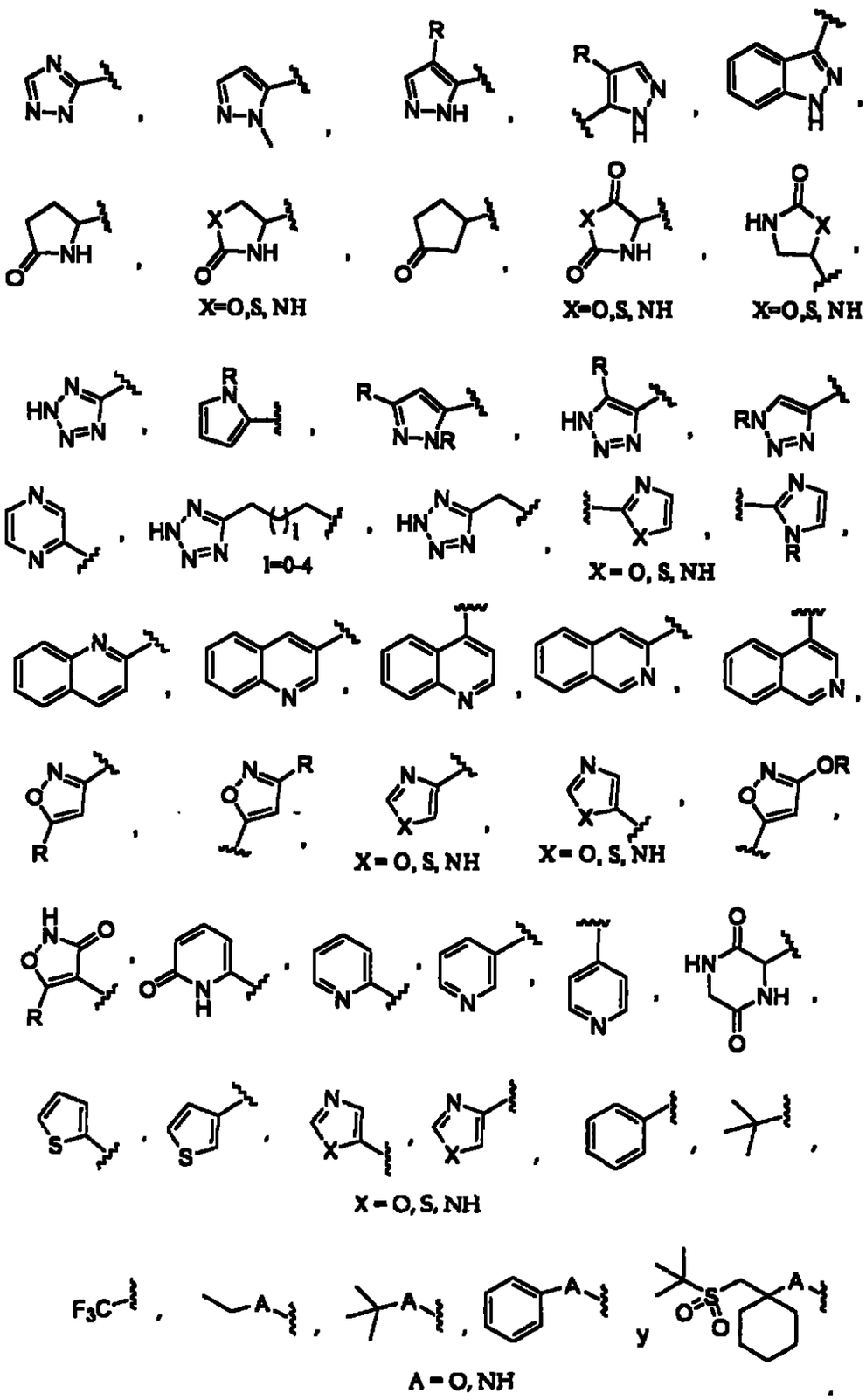
9. El compuesto de la reivindicación 1, donde Z es N(R).

10. El compuesto de la reivindicación 1, donde Z es O, G está presente o ausente y si G está presente G es C(=O).

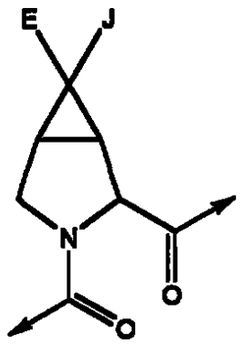
11. El compuesto de la reivindicación 1, donde G está presente y es C(=O) o $S(O_2)$.

12. El compuesto de la reivindicación 1, donde Y se selecciona del grupo integrado por:

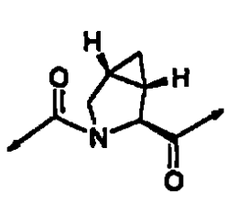
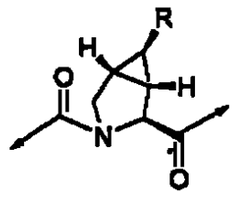
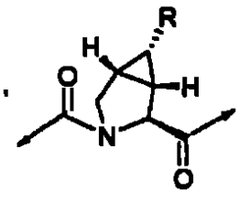
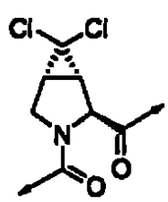
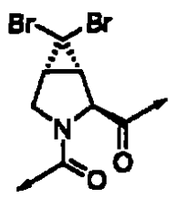
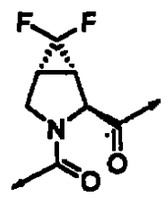
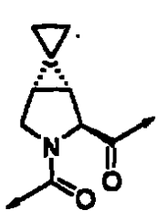
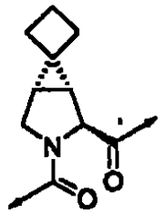
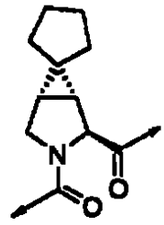
275



13. El compuesto de la reivindicación 1, donde:



se selecciona del grupo integrado por:










y

14. El compuesto de la reivindicación 1, donde G está ausente.

15. Una composición farmacéutica que comprende como componente activo al menos un compuesto de la reivindicación 1.

16. Una composición farmacéutica de la reivindicación 15 para el uso en el tratamiento de trastornos asociados con el VHC.

17. La composición farmacéutica de la reivindicación 15 que comprende además al menos un vehículo aceptable para uso farmacéutico.

277

18. La composición farmacéutica de la reivindicación 17, que contiene además al menos un agente antiviral.

19. La composición farmacéutica de la reivindicación 18, que aún además contiene al menos un interferón.

20. La composición farmacéutica de la reivindicación 19, donde dicho al menos un agente antiviral es ribavirina y dicho al menos un interferón es α-interferón o interferón pegilado.

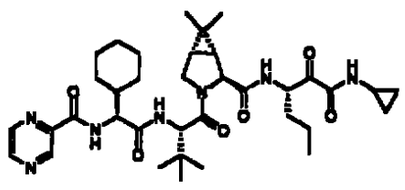
21. Un método para tratar trastornos asociados con el VHC, comprendiendo dicho método la administración a un paciente que necesita tal tratamiento de una composición farmacéutica que comprende cantidades terapéuticamente eficaces de al menos un compuesto de la reivindicación 1.

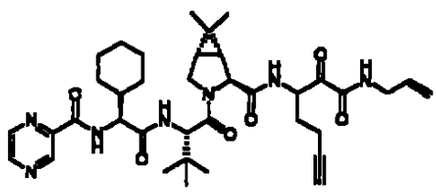
22. El método de la reivindicación 21, donde dicha administración es oral o subcutánea.

23. El uso de un compuesto de la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para tratar trastornos asociados con el VHC.

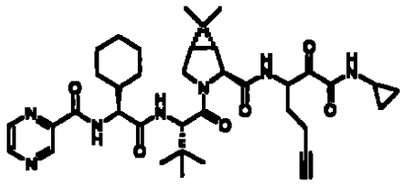
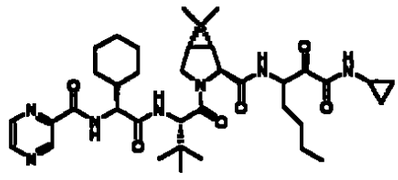
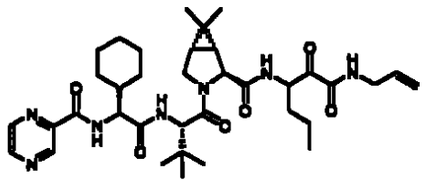
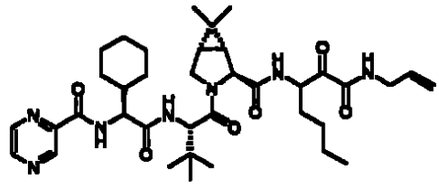
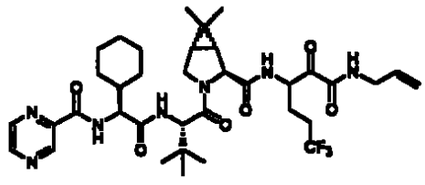
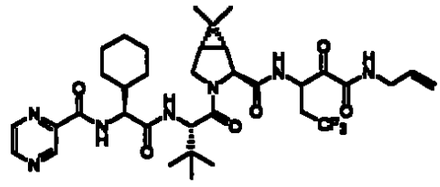
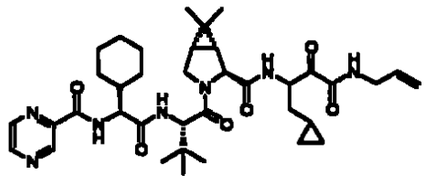
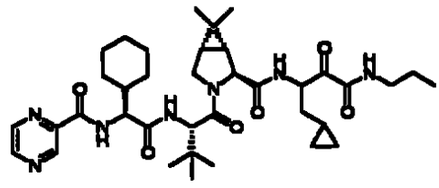
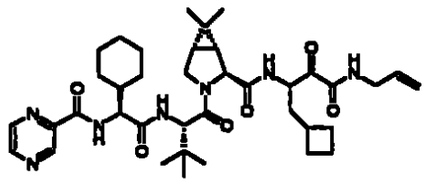
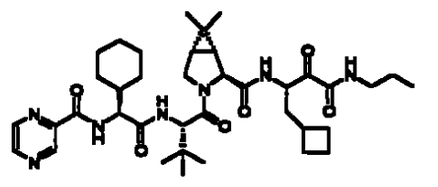
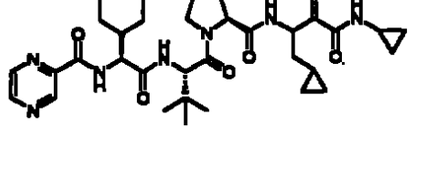
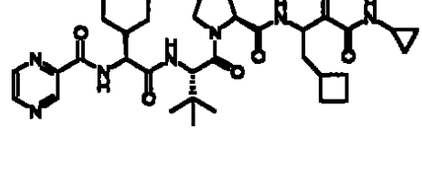
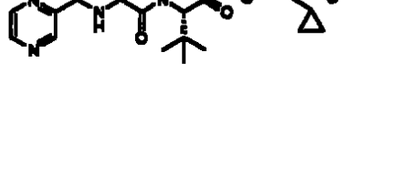
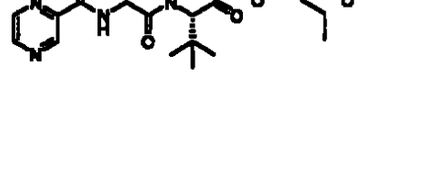
24. Un método para preparar una composición farmacéutica para tratar los trastornos asociados con el VHC, comprendiendo dicho método poner en contacto íntimo al menos un compuesto de la reivindicación 1 y al menos un vehículo aceptable para uso farmacéutico.

25. Un compuesto que exhibe actividad inhibidora de la proteasa del VHC, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos de dicho compuesto, o una sal, solvato o éster aceptable para uso farmacéutico de dicho compuesto, seleccionándose dicho compuesto de los compuestos de las estructuras enumeradas a continuación:

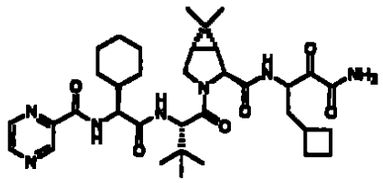
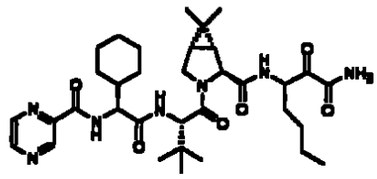
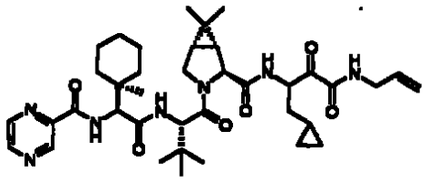
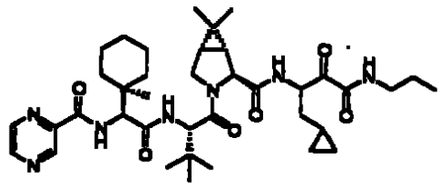
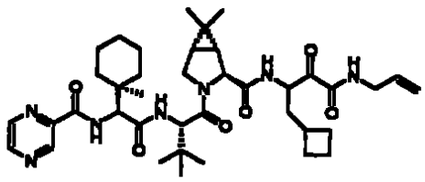
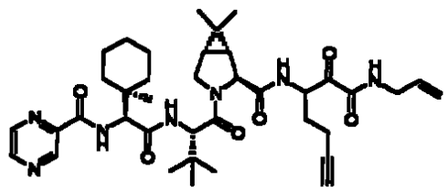
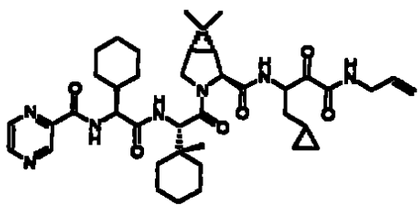
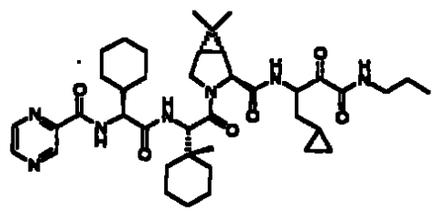
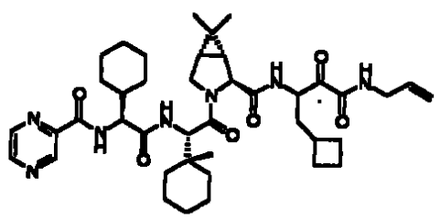
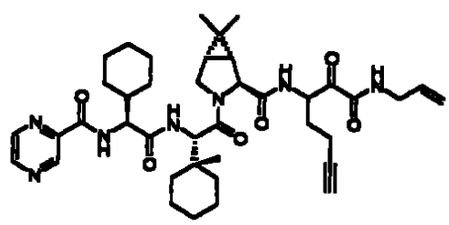
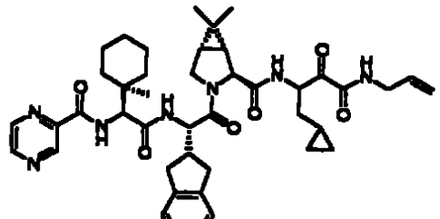
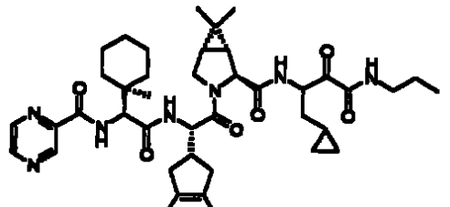
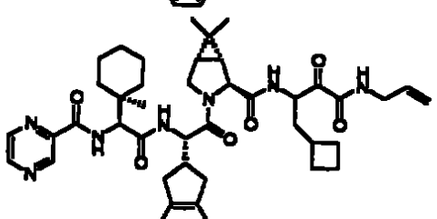
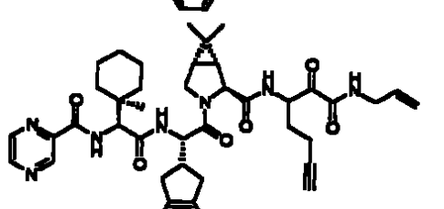


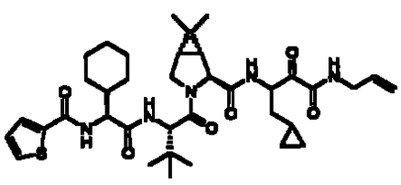
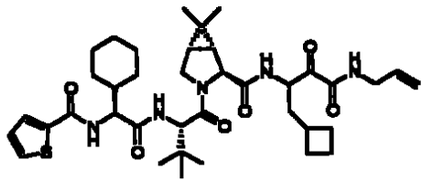
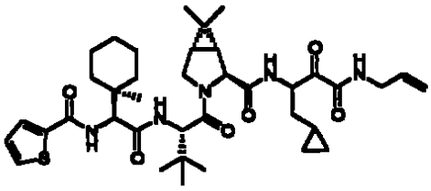
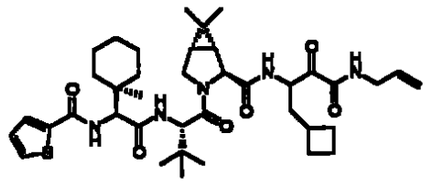
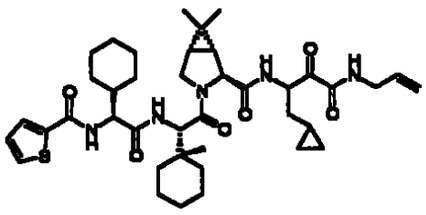
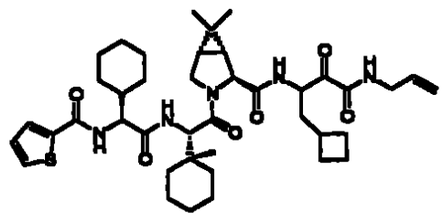
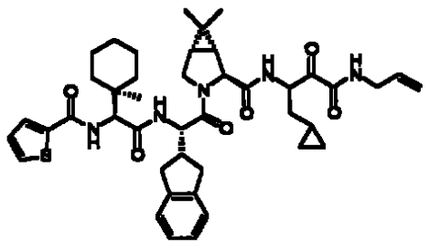
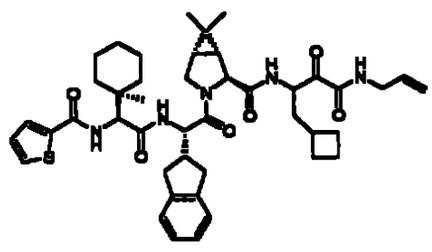
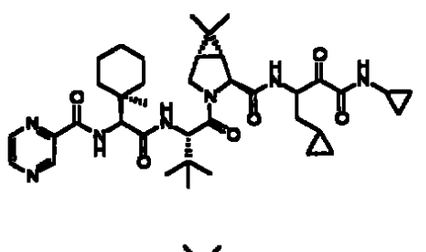
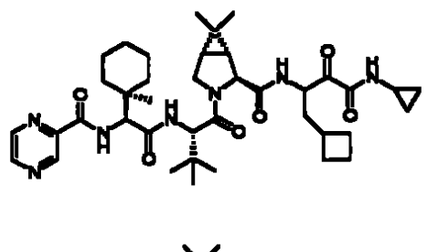


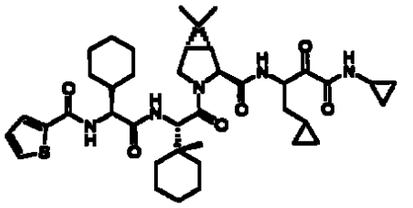
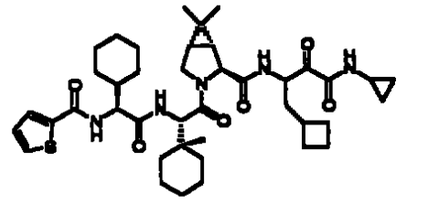
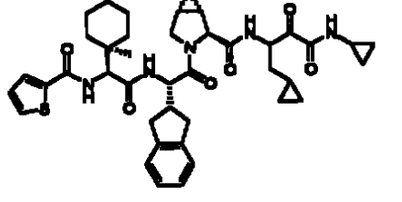
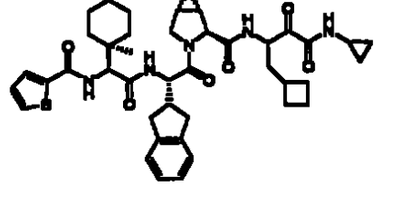
278

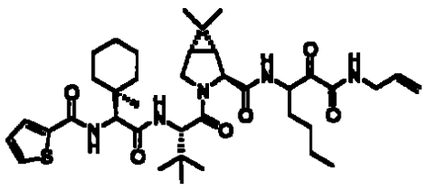
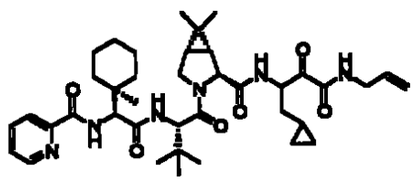
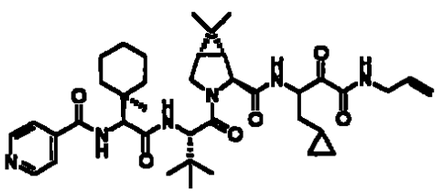
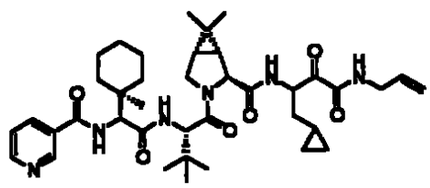
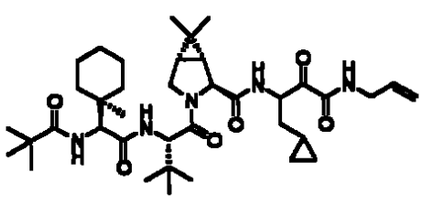
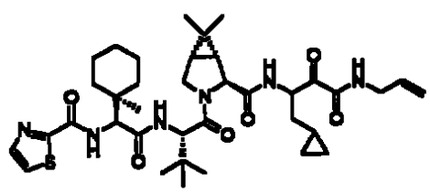
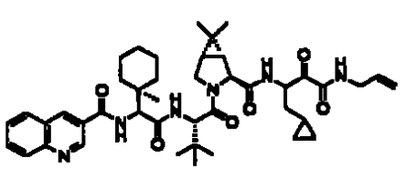
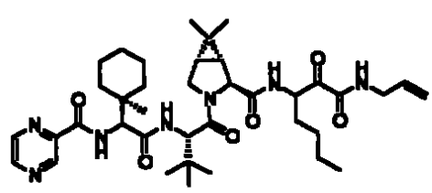















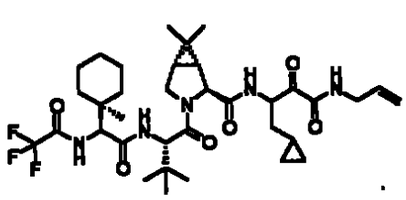
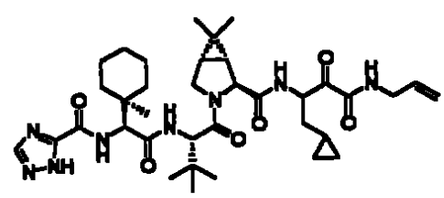
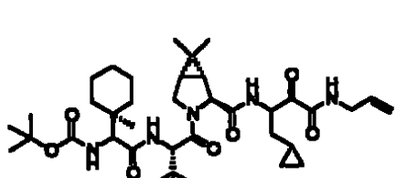
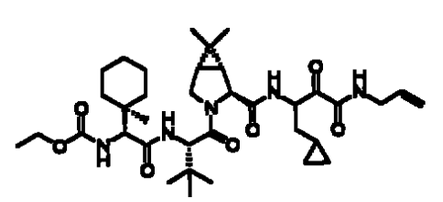
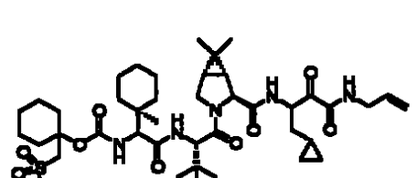
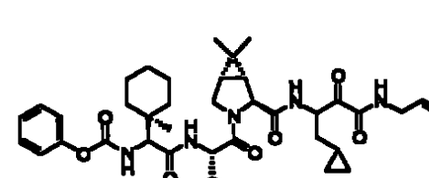
279

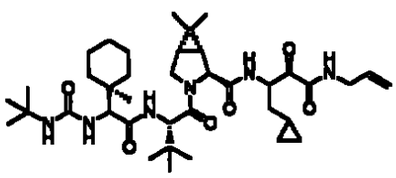











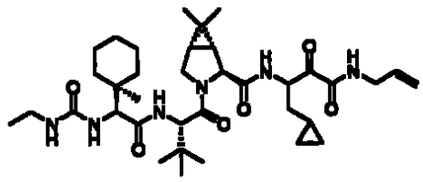





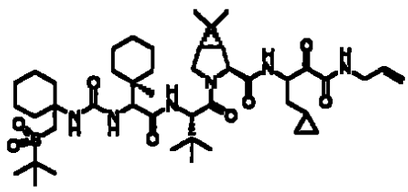









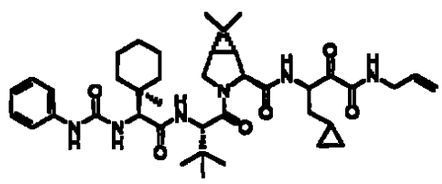







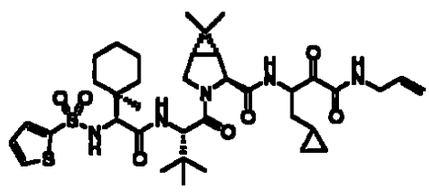
282

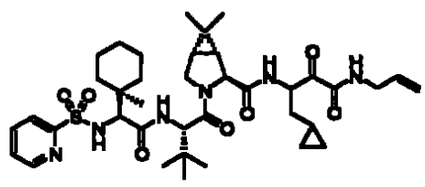


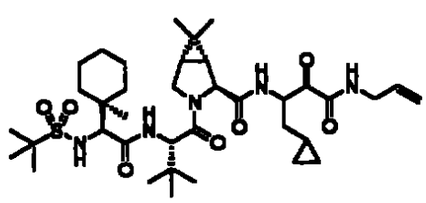


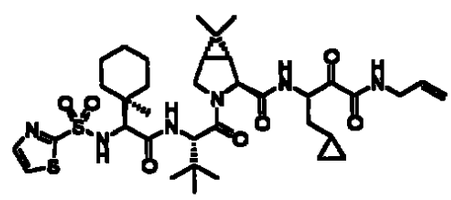


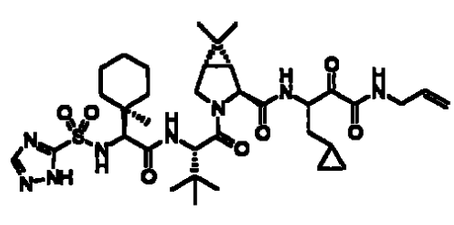


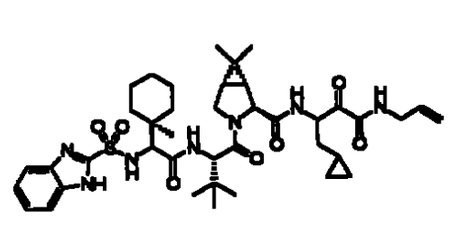


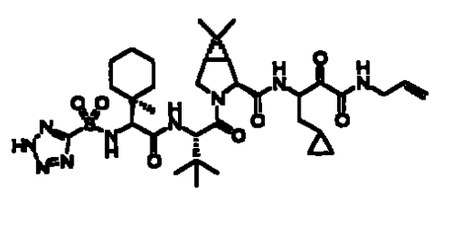


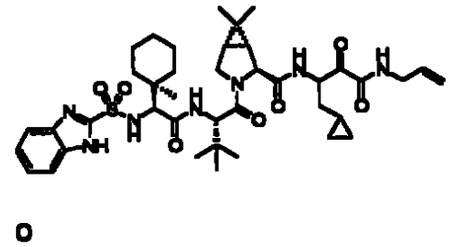


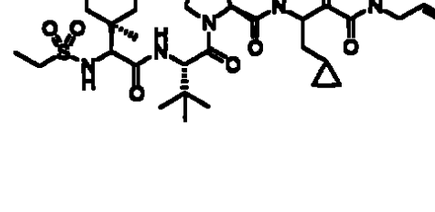


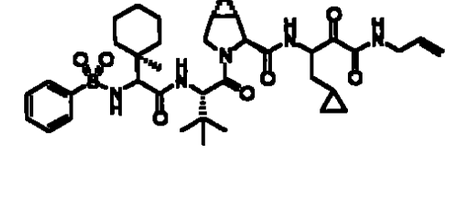






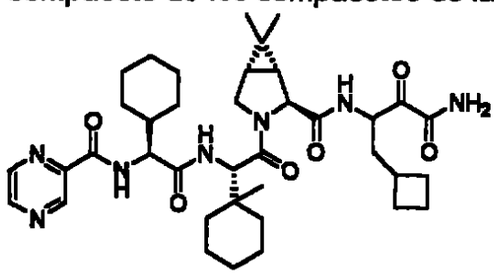


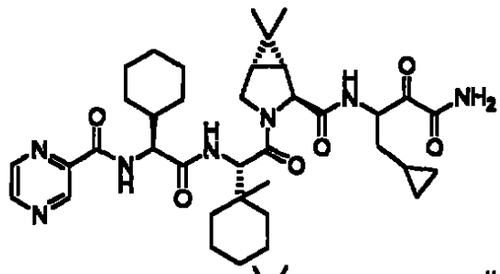


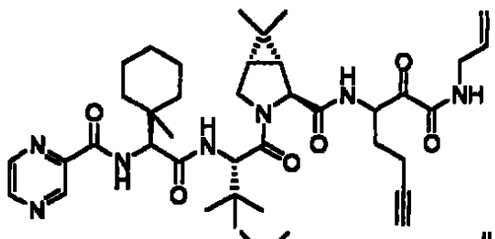


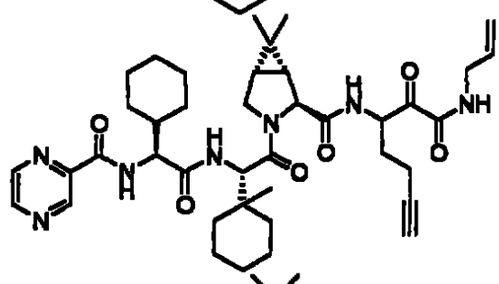
o

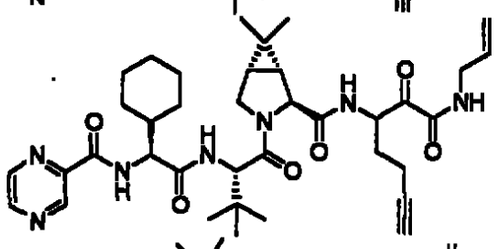
26. Un compuesto, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros, diastereómeros o racematos de dicho compuesto, o una sal, solvato o éster aceptable para uso farmacéutico de dicho compuesto, seleccionándose dicho compuesto de los compuestos de las estructuras enumeradas a continuación:

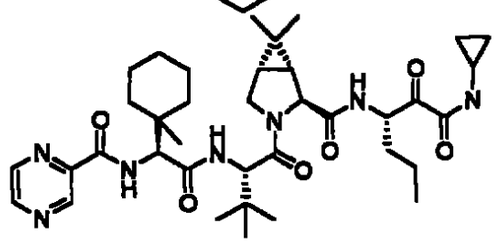


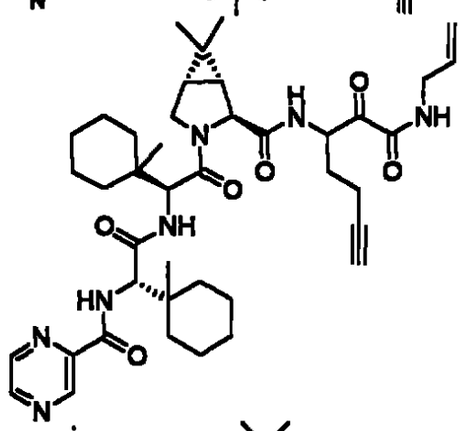


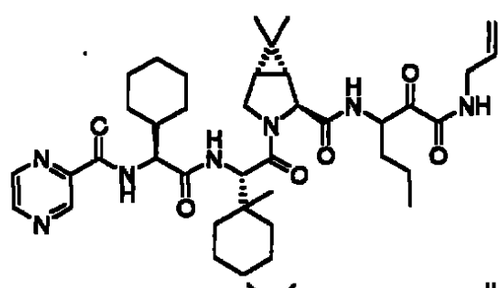


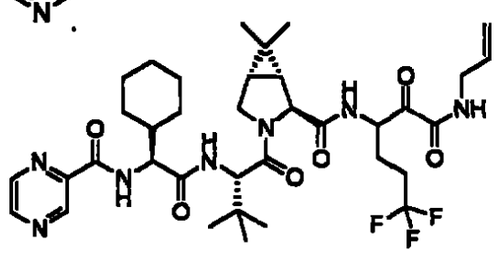


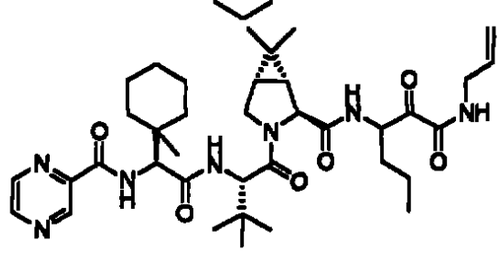


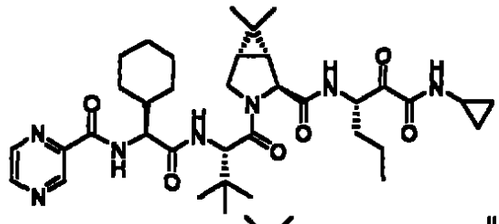


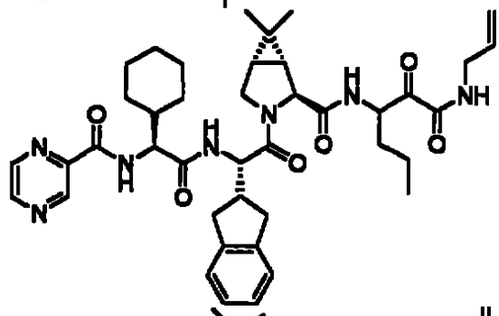


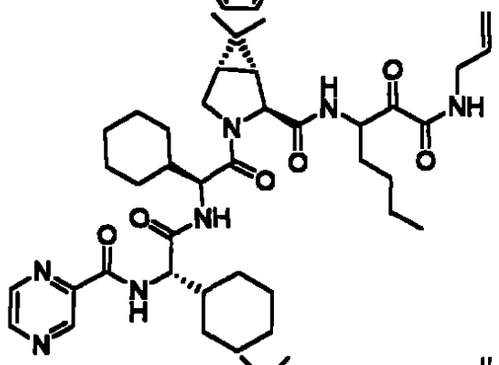


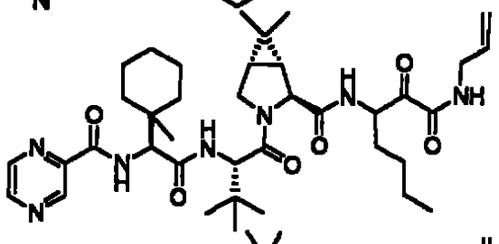


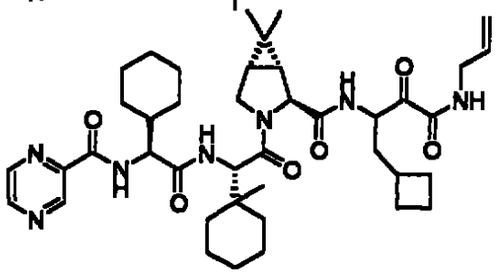


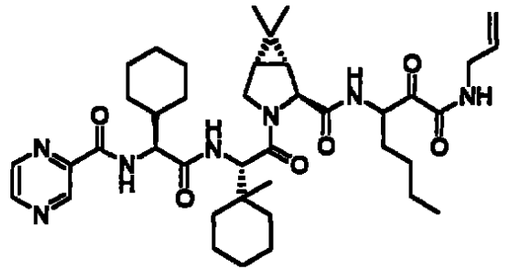


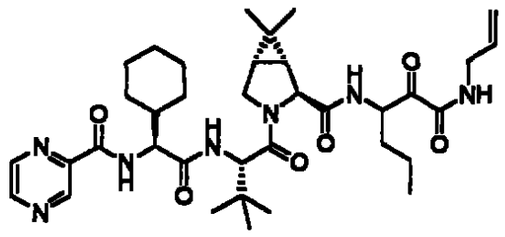


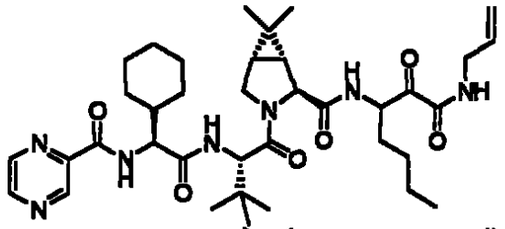


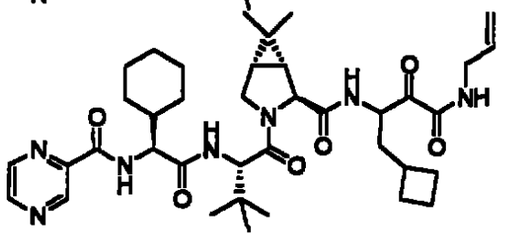


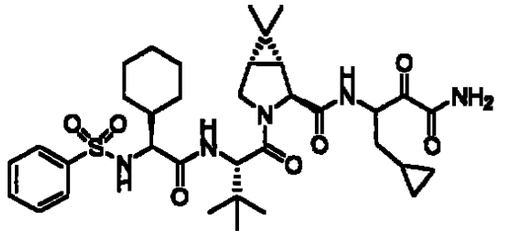


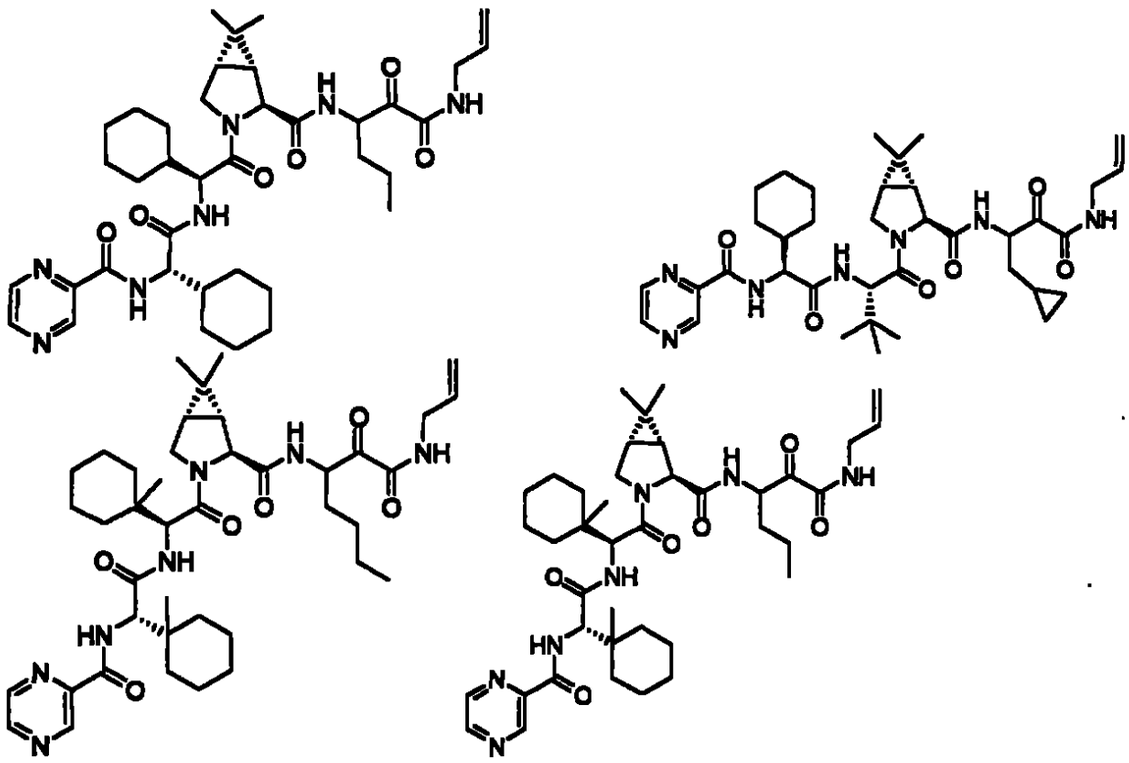












27. Una composición farmacéutica para tratar trastornos asociados con el VHC, comprendiendo dicha composición una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos en la reivindicación 26 y un vehículo aceptable para uso farmacéutico.

28. La composición farmacéutica de la reivindicación 27, que contiene además al menos un agente antiviral.

29. La composición farmacéutica de la reivindicación 28, que contiene además aun al menos un interferón o conjugado PEG-interferón alfa.

30. La composición farmacéutica de la reivindicación 29, donde dicho al menos un agente antiviral es ribavirina y dicho al menos un interferón es α-interferón o interferón pegilado.

31. Un método de tratamiento de un trastorno asociado con el virus de la hepatitis C, que comprende la administración de una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la reivindicación 26.

32. Un método para modular la actividad de la proteasa del virus de la hepatitis C (VHC), que comprende poner en contacto la proteasa del VHC con uno o más compuestos de la reivindicación 26.

33. Un método para tratar, prevenir o aliviar uno o más síntomas de la hepatitis C (VHC), que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de la reivindicación 26.

34. El método de la reivindicación 33, donde la proteasa del VHC es la NS3/NS4a proteasa.

35. El método de la reivindicación 33, donde el compuesto o compuestos inhiben la NS3/NS4a proteasa del VHC.

36. Un método para modular el procesamiento del polipéptido del virus de la hepatitis C (VHC), que comprende poner en contacto una composición que contiene el polipéptido del VHC en condiciones en las cuales dicho polipéptido es procesado con uno o más compuestos de la reivindicación 26.

37. Un compuesto de la reivindicación 1 en forma purificada.

p.: SCHERING CORPORATION

RESUMEN

La presente invención revela compuestos novedosos que tienen actividad inhibidora de la proteasa del VHC como así también métodos para preparar tales compuestos. En otra realización, la invención revela composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos como así también métodos para utilizarlos para tratar trastornos asociados con la proteasa del VHC.

TRATADO DE CO PERACIÓN DE PATENTES
PCT
INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes)
(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Referencia del expediente del solicitante o mandatario: IN06139
Solicitud Internacional No.: PCT/US2004/041579
Fecha de presentación internacional: 09.12.2004
Fecha de prioridad: 11.12.2003
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o la vez clasificación nacional e IPC: C07D 209/52, C07D 403/12, C07D 409/12, C07D 401/12, C07D 417/12, C07K 5/107, A61K 31/401.
Solicitante: SCHERING CORPORATION et. al.

1. El presente informe preliminar internacional sobre patentabilidad, se establece por esta Administración encargada del examen preliminar internacional según el Artículo 35 y se transmite al solicitante conforme el Artículo 36.

2. Este INFORME consta de un total de 14 hojas, incluida la presente hoja de portada.

3. Este informe también contiene ANEXOS, que comprenden.

a. ☐ (*remitido al solicitante y a la oficina internacional*) un total de ___ hojas, descritas a continuación:

☐ hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos que han sido modificadas y que sirven de base al presente informe, y/o de hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Administración (véase la Regla 70.16 y la Instrucción Administrativa 607 del PCT).

☐ hojas que reemplazan a otras hojas anteriores, pero que esta Administración considera que contienen modificaciones que se extienden más allá de la divulgación de la invención tal como fue originalmente presentada, según se indica en el punto 4 del Reglamento I y en el Recuadro Suplementario.

b. ☐ (remitido únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y soporte(s) electrónico(s)) , que contienen una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s), solo en formato legible por ordenador, como se indica en el Recuadro Suplementario relativo a Listas de Secuencias (ver Instrucción Administrativa 802).

4. El presente informe contiene indicaciones relativas a los siguientes puntos:

☒	Recuadro I	Base de este informe
☐	Recuadro II	Prioridad
☒	Recuadro III	Ninguna formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial
☐	Recuadro IV	Falta de unidad de Invención
☒	Recuadro V	Declaración motivada según el Artículo 35(2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial, citas y explicaciones en apoyo de esta declaración
☐	Recuadro VI	Ciertos documentos citados
☒	Recuadro VII	Defectos en la Solicitud Internacional
☒	Recuadro VIII	Observaciones relativas a la solicitud internacional

Fecha de radicación de la demanda: 27.06.2005
Fecha de elaboración de este reporte: 02.02.2006

Nombre y dirección postal de la Administración encargada del Examen Preliminar Internacional:
Oficina de Patentes Europea – Gitschiner Str. 103
D-10958 – Berlin
Tel: +49-30 25901 - 0,
Fax: +49-30 25901 - 840

Funcionario Autorizado: Frelon, D.
Tel: + 49-30 25901-

290

Recuadro I. Base de este informe

1. Por lo que respecta al **idioma**, este informe se ha establecido sobre la base de la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó, salvo indicación en contra señalada a continuación.

☐ Este informe está basado en una traducción del idioma original al siguiente idioma , que es el de una traducción proporcionada a los fines de:
- ☐ búsqueda internacional (según Reglas 12.3 y 23.1 (b))
- ☐ publicación de la solicitud internacional (según Regla 12.4)
- ☐ examen preliminar internacional (según Reglas 55.2 y/o 55.3)

2. Por lo que respecta a los **elementos*** de la solicitud internacional, esta opinión se ha establecido sobre la base de (*las hojas de reemplazo que hayan sido enviadas a la Oficina receptora en respuesta a un requerimiento según el Artículo 14 se las denomina en este informe como "inicialmente presentadas" y no se anexan al informe):*

Descripción, Páginas

1 – 113 tal como se presentaron inicialmente

Reivindicaciones, Números

1 – 37 tal como se presentaron inicialmente

☐ una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s) – ver Recuadro Suplementario relativo a Listas de Secuencias

3. Las modificaciones ha ocasionado la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/fig.
- ☐ la lista de secuencias (especificar):
- ☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (especificar):

4. ☐ El presente informe ha sido establecido como si no se hubiesen presentado (algunas de) las modificaciones anexadas a este informe y listadas abajo, ya que se ha considerado que iban más allá de la divulgación de la invención tal como fue presentada, como se indica en el Recuadro Suplementario (Regla 70.2(c)).

☐ la descripción, páginas
☐ las reivindicaciones, Nos.
☐ los dibujos, hojas/fig.
☐ la lista de secuencias (especificar):
☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (especificar):

* Si se utiliza el punto 4, algunas o todas estas páginas pueden llevar el sello de "sustituida".

Recuadro No. III. Ninguna formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial

1. Las preguntas con respecto a si el invento reivindicado parece ser novedoso, implica una actividad inventiva (no ser evidente), o ser susceptible de aplicación industrial, por lo que respecta.

☐ al conjunto de la solicitud internacional,
☒ a las reivindicaciones Nos. 21, 22, 31-36 con respecto a la aplicación industrial.

debido a que:

☐ la solicitud internacional, o las reivindicaciones Nos. en cuestión se refieren al objeto, respecto del cual no requiere examen preliminar internacional (especifique):

☐ a descripción, reivindicaciones, o los dibujos (indíquese cuales a continuación) o tales reivindicaciones Nos. en cuestión no son claras, de manera que no es posible formular una opinión significativa (especifique):

☐ las reivindicaciones, o las reivindicaciones Nos. en cuestión no son claras, de manera que no es posible formular una opinión significativa.

☒ no se ha emitido informe de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos. 21, 22, 31-36 (con respecto a la aplicación industrial)

☐ la lista de de secuencias nucleótidas y/o de aminoácidos no cumplen la norma estándar prevista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas por que:

La lista en papel ☐ no se presentó

☐ no cumple con la norma estándar

La lista en formato legible por ordenador

☐ no se presentó

☐ no cumple con la norma estándar

☐ las tablas relativas a las listas de secuencias de nucleótidas y/o de aminoácidos, si únicamente se han presentado en formato legible por ordenador, no cumplen con los requisitos técnicos previstos en el Anexo C-*bis* de las Instrucciones Administrativas.

☐ Ver recuadro suplementario para más detalles.

Recuadro No. V Declaración razonada según el Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial: anterioridades y explicaciones que soportan tal declaración

1. Declaración

Novedad (N)	Si:	Reivindicaciones 7, 14, 25, 26
	No:	Reivindicaciones 1-6, 8-13, 15-24, 27-37
Nivel Inventivo (NI)	Si:	Reivindicaciones
	No:	Reivindicaciones 1-37
Aplicación Industrial (AI)	Si:	Reivindicaciones 1-20, 23-30, 37
	No:	Reivindicaciones

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)

ver hoja separada.

Recuadro No. VII Defectos en la solicitud internacional

Se han comprobado los siguientes defectos, respecto de la forma o del contenido de la solicitud internacional.

Ver hoja adjunta

Recuadro No. VIII Observaciones relativas a la solicitud internacional.

Se formulan las observaciones siguientes sobre la claridad de las reivindicaciones, de la descripción y de los dibujos o sobre si las reivindicaciones se fundan totalmente en la descripción:

ver hoja adjunta

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL – HOJA ANEXA
Solicitud Internacional No. PCT/US2004/041579

Ítem III
No formulación de concepto con respecto a novedad, nivel inventivo y aplicación industrial

El reporte de búsqueda internacional (ISR) no fue realizado para las reivindicaciones 21, 22, 31- 36. El presente concepto escrito por lo tanto no cubrirá estas reivindicaciones (regla 66.1(e) del PCT).

Las reivindicaciones 21, 22, 31- 36 se relacionan con métodos de tratamiento para el cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia como también métodos de diagnóstico. Se relacionan con materia considerada por esta Autoridad cubierta por las provisiones establecidas en la Regla 67.1(iv) del PCT. Bajos los términos de la Regla 39.1(iv) del PCT, la Autoridad de Búsqueda Internacional (ISA) no estaba obligada a realizar una búsqueda sobre dichas reivindicaciones, pero tal cual se indicó en el reporte de búsqueda internacional (ISR), la búsqueda efectivamente se realizó y con base en los supuestos efectos de los compuestos. De manera similar, la IPEA (que es la Autoridad de Búsqueda Internacional (ISA)) no está obligada a llevar a cabo una evaluación preliminar internacional para dichas reivindicaciones, pero tal cual sucedió con el reporte de búsqueda internacional (ISR), el IPER (reporte internacional de evaluación preliminar) se basará en los supuestos efectos de los compuestos (Regla 67.1(iv) del PCT).

Para la evaluación de las presentes reivindicaciones 21, 22, 31- 36 de si son industrialmente aplicables, no existen criterios unificados en los Estados pertenecientes al PCT. La patentabilidad también puede estar sujeta a la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable aquella materia de las reivindicaciones con respecto al uso de un compuesto en tratamiento médico, pero si permite, sin embargo, reivindicaciones sobre un compuesto conocido en su primer uso en tratamiento médico y el uso de tal compuesto en la manufactura de un medicamento para un nuevo tratamiento médico. De manera que no se formulará concepto alguno con respecto a la aplicación industrial de la materia de estas reivindicaciones (Artículo 34(4) del PCT).

Ítem V
Declaración razonada bajo la Regla 66.2(a)(ii) con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial; citas y explicaciones soportando dicha declaración

1. **Antecedentes citados:**

D1: US 03 216 325
D2: WO 02/08244
D3: WO 03/062265
D4: WO 02/48172
D5: WO 02/18369
D6: WO 03/062228
D7: WO 01/74768

2. **Novedad**

D1- D3 divulgan compuestos que se encuentran dentro del alcance reivindicado en la presente. D3- D5 coinciden con la presente solicitud. D6 y D7 también son antecedentes cercanos los cuales se diferencian solo por el grupo que corresponde a R^1 el cual representa un anillo que contiene N. Todos los documentos citados se relacionan con compuestos que son activos para los mismos objetivos biológicos.

Solo las reivindicaciones de compuesto 7, 14, 25 y 26 (compuestos específicos en las reivindicaciones 25 y 26) pueden considerarse novedosas puesto que comprenden características adicionales las cuales no han sido encontradas en los antecedentes citados.

3. **Observaciones sobre Nivel Inventivo**

3.1. **Carencia de Unidad de Invención**

Las coincidencias con los antecedentes D1- D5 y de manera particular los compuestos divulgados en D1- D3 citados en el reporte de búsqueda internacional (ISR) y útiles como inhibidores de la proteasa del VHC, desvirtúa la novedad de la presente solicitud. Esto significa que se carece de un único concepto inventivo general para caracterizar (estructural y funcionalmente) un invento único sobre la totalidad del alcance reivindicado.

Los requerimientos de unidad no se cumplen cuando se carece de un elemento estructural significativo compartido por todas las alternativas reivindicadas para así aportar la "misma o correspondiente característica técnica especial" (regla 13.1 del PCT) que claramente defina la misma invención como contribución al estado de la técnica y común a todos los compuestos reivindicados (es decir, abarcando "un único concepto inventivo general" tal como lo requiere la Regla 13.1 del PCT).

De manera más específica en relación con las ilustraciones, tal como se reivindica en las reivindicaciones 25 y 26, los núcleos comunes son estructuras conocidas y por ende no pudo considerarse como la formación de una característica técnica especial común (ver también la Gaceta del PCT, instrucciones administrativas, edición especial, anexo B, parte 1 (f)).

El concepto general tal como se reivindica en la presente no es novedoso. Esta "característica" conocida la cual es común para toda la materia reivindicada no puede considerarse que defina una contribución novedosa sobre el estado de la técnica anterior y, consecuentemente, no puede constituir la característica técnica especial requerida por las reglas 13.1 y 13.2 del PCT.

En este momento, una invención única no puede ser claramente caracterizada mediante una característica estructural diferenciadora y bien definida. En otras palabras, carece de un concepto inventivo general único puesto que no tiene la constante presencia de una estructura la cual diferencia claramente la materia de la presente del estado de la técnica anterior conocido. La primera característica diferenciadora que aparece en las definiciones variantes está en la variable Y la cual permite distinguir cuantos inventos

como grupos Y pueda representar, cada grupo en particular posiblemente incluyendo variantes usualmente consideradas como equivalentes; cada uno de estos grupos podría entonces presentar una característica esencial de un invento específico: por ejemplo, un anillo (hétero)aromático, un anillo no (hétero)aromático, una estructura no cíclica, etcétera.

Se solicita que el Solicitante indique sobre cuál invento debe basarse el procesamiento de la evaluación y de limitar la solicitud como corresponde.

Una característica técnica especial que defina una contribución sobre el estado de la técnica anterior carece de ser común a cada sub- invento diferenciable del alcance reivindicado en la presente. Hasta que dicha característica específica haya sido claramente definida por el Solicitante, no podrá realizarse decisión alguna con respecto al nivel inventivo.

3.2. Para llevar adelante con el caso, las siguientes declaraciones se hicieron.
El problema que sustenta la presente solicitud es visto en el proporcionar compuestos adicionales tetrapéptidos (Z=N) y análogos (Z=O) de los mismos útiles como inhibidores de la proteasa NS3/NS4A del VHC.

El estado de la técnica más cercano es representado por D1- D3 los cuales divulgan también inhibidores de la proteasa NS3/NS4A del VHC y compuestos que de manera particular desvirtúan la novedad. Adicionalmente, debido a las coincidencias, la presente solicitud también puede considerarse como una selección de la divulgación del estado de la técnica anterior. De manera que aquella persona capacitada esperará que los presentes compuestos tengan la actividad reivindicada.

3.3. Empezando a partir de los documentos del estado de la técnica anterior, una solución podrá verse en la proporción de los compuestos definidos en las reivindicaciones 7, 14, 25 (entradas 1- 72 de la tabla 1) y 26 (entradas 1- 24 de la tabla 3) los cuales se consideran novedosos. Sin embargo, estos compuestos se caracterizan por diferentes características técnicas las cuales no se vinculan entre sí de tal manera que formen un único concepto inventivo: hay para encontrar inventos como lo hay para diferenciar características estructurales (ver unidad anterior).

Por lo tanto existe una necesidad de que el Solicitante explique de manera no ambigua cual criterio diferenciador común debe ser tomado en consideración para definir una solicitud unitaria: esta característica común es esencial puesto que con base en un efecto sorprendente claramente ligado a esta diferencia estructural es que un nivel inventivo puede ser reconocido.

3.4. Observe que los compuestos que desvirtúan la novedad del estado de la técnica pertenecen a dicha clase Ki* o rango C (*es decir*, > 1000 nM) y los compuestos evaluados de las tablas 1 y 3 parecen pertenecer a la clase Ki* o rango A (*es decir*, ≤ 100 nM). Esto podría ser un indicio a favor de la altura inventiva de los compuestos evaluados, siempre y cuando se demuestre que estén ligados de tal manera para así formar un único concepto inventivo.

A pesar de lo anterior, una gran cantidad de compuestos divulgados en el estado de la técnica anterior también pertenecen a la clase Ki* o rango A.

Sin embargo, la solicitud es inconsistente al entregar diferentes resultados de pruebas para un mismo compuesto: en la tabla 1, el Ki* para el compuesto de la primera entrada es 10 nM; en la tabla 3, el Ki* para la entrada 11 (mismo compuesto) es 13 nM. Por otro lado, se aprecia el mismo Ki* (6 nM) para la entrada 2 de la tabla 1 y entrada 5 de la tabla 3, los cuales son de hecho el mismo compuesto.

3.5. Consideraciones adicionales

Se llama la atención del Solicitante al hecho que las reivindicaciones tal cual están redactadas ahora no cumplen a cabalidad los requisitos del PCT. De manera particular, la protección buscada debe cumplir con una amplitud razonable de alcance que cubra solo variantes y/o compuestos que resuelvan el problema que sustenta el invento.

Se entiende que el Solicitante tiene el derecho de reivindicar todas las modificaciones obvias de lo descrito concretamente y que variaciones alternas deben estar soportadas por la descripción, es decir, un cierto número de ejemplos.

Expresiones o términos abiertos y no limitantes (que generalizan) como "*alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, etc.*", y derivados de los mismos extienden (de manera no realista) el alcance de las reivindicaciones más allá de lo que realmente haya sido verificado en los ejemplos trabajados que reposan archivados (esto es de particular importancia si, luego de realizar modificaciones para corregir las objeciones pendientes, estas expresiones finalmente cubren características esenciales para el invento).

Términos no definidos vuelven las reivindicaciones obscuras en su alcance y no permiten la delimitación correcta y específica de un alcance donde una solicitud aplica y para lo cual se busca protección/puede realmente ser otorgada (ver también las Directrices del PCT C- III, 4.1 a 4.4, regla 6.3 del PCT, características técnicas).

El asunto es si un efecto técnico se lograría o no por todas las realizaciones cubiertas por las reivindicaciones cuando este efecto técnico termina siendo la única razón para la supuesta altura inventiva de estos procesos. Una consecuencia es que tales expresiones amplias son objetables bajo el Artículo 33(3) del PCT.

Los ejemplos dados representan una ilustración relativamente estrecha del alcance reivindicado. Todos ilustran los casos en donde:

- R^1 es amino opcionalmente sustituido por ciclopropilo, alilo, y propilo;
- R^2 es propilo, butinilo, butilo, trifluoropropilo, difluoroetilo, ciclopropilmetilo y ciclobutilmetilo;
- E y J son ambos metilo;
- R^3 es tert- butilo, metil- 1- ciclohexilo, indan y ciclohexilo;
- R^4 es ciclohexilo o metil- 1- ciclohexilo y
- R^5 es siempre H;
- Z es siempre NH;
- G es CO ó SO_2;
- Y es pirazina, tiofeno, piridina, tiazol, tert- butilo, quinolina, trifluorometilo, triazol, tert- butiloxilo, etoxilo, tert- butilsulfonil- 1- ciclohexiloxilo, fenoxilo, tert- butilamino, etilamino, tert- butilsulfonil- 1- ciclohexilamino, fenilamino, tetrazol, benzimidazol, etilo y fenilo.

Con excepción de la relativa gran variación de Y, los otros sustituyentes ilustrados muestran poca o ninguna variación, particularmente E, J, R^4, R^5, Z y G de tal manera que todos los compuestos reivindicados (ejemplificados) corresponden a un núcleo básico común (que posiblemente cumpliría con el requisito de unidad si la solicitud estuviera restringida a estos compuestos).

Puede entonces ser cuestionado si la presencia constante de ciertas características en los ejemplos ilustrativos es una característica necesaria y esencial del invento la cual no debería permitirse variar por fuera de una extensión razonable de usuales equivalentes y (bio)isósteros de estas variantes (especialmente teniendo en cuenta que la diferencia con el estado de la técnica anterior puede ser relativamente pequeña, del cual su efecto (de ser inesperado) podría ser obstaculizado por otros efectos inciertos de variaciones estructurales más grandes de otros grupos variantes).

Sin contar con ninguna evidencia en su contra, el alcance reivindicado en la presente no representa una generalización razonable del mismo invento tal como lo demuestran los ejemplos.

Las formulaciones abiertas y demasiado amplias también pueden llevar a especulaciones inaceptables por parte de aquellos expertos en el estado de la técnica con respecto al mismo invento y sus aspectos futuros; podría inclusive sugerir que el alcance reivindicado carece de altura inventiva y que no está adecuadamente sustentado por la descripción y, en particular, de los ejemplos. Adicionalmente, esto privaría a cualquier tercero de una protección legítima para un invento genuino con relación a un objeto que no estuviera ni descrito ni previsto inclusive sino que apenas hubiera sido solamente una hipótesis en el marco del presente invento.

Una formulación general, compuesta de muchas variables o grupos definidos por ilimitados y/o ambiguos términos o expresiones no limitadas (incluyendo puntos inespecíficos de unión), constituye una generalización excesiva que abarcan formas que van más allá que lo que una persona capacitada (también tomando en cuenta consideraciones físico- químicas y biológicas) pueda considerar como obvias modificaciones, equivalentes y/o valores (bio)isostéricos de sustituyentes de los ejemplos presentados en la descripción.

Existe sin lugar a dudas una gran variedad de posibilidades estructurales reivindicadas (y que aún no han sido exploradas por el Solicitante), de las cuales el efecto no puede preverse con respecto al problema que sustenta la presente solicitud y, de manera consecuente, las cuales no son soluciones del problema. Adicionalmente, definiciones no limitantes crean coincidencias innecesarias y situaciones de selección (por ejemplo, una expresión como "heterociclo opcionalmente sustituido" abarca cualquier otro heterociclo incluyendo cualquier otra fracción posiblemente conocida en ser útil en aplicaciones contrarias) y la eventual unión de otras moléculas biofóricas/farmacofóricas como también bioconjugados se toman en cuenta, de tal manera que la actividad biológica real de tales "moléculas híbridas" es impredecible.

El nivel inventivo requerido por el Artículo 33(3) del PCT puede ser reconocido solamente para un alcance muy bien definido el cual abarca un dominio específico gracias a una generalización razonable del mismo invento, tomando en cuenta el alcance de la ilustración de los ejemplos, el soporte de la descripción, lo cercano del estado de la

técnica (por ejemplo las coincidencias), la capacidad de reproducción y la factibilidad del invento en todos sus aspectos. En otras palabras, la protección que se busca debe cumplir con un alcance reivindicado razonablemente amplio de tal manera que solo comprenda compuestos, sus variantes y equivalentes que resuelven el problema que sustenta el invento (Directrices PCT C- III, 6.1, 6.2 y 6.4).

La objeción sobre la falta de claridad con respecto al nivel inventivo debe entenderse en el sentido que un alcance reivindicado sería "no claro" no solamente con respecto a términos no definidos tomados tal cual, pero de manera comprehensiva, en considerar que dichos términos no definidos conllevan cierta incertidumbre si es justificado para extender el nivel inventivo reconocido para una parte (específica) del dominio reivindicado hasta la totalidad (sin límite) del dominio reivindicado. Cuando permanece abierto la totalidad del dominio reivindicado, es decir, inespecíficamente o incompletamente específico, no puede ser creíble que el nivel inventivo (el efecto sorprendente) esté presente en todo lugar en la presente.

De manera que las reivindicaciones deben ser modificadas con el fin de mostrar los límites necesarios del alcance del invento para no solo permitir que aquel experto reproduzca el invento, sino también delimitar el particular dominio químico y/o biológico donde aplica el invento, es decir, donde está creíblemente presente el nivel inventivo.

Puesto que las especies químicas pueden definirse precisamente mediante la identidad y el número de átomos involucrados, es necesario especificar las expresiones y términos disputados por medio de la incorporación de las definiciones y/o sustitutos entregados por la descripción.

4. Misceláneos

4.1 La descripción tendrá que ser adaptada según cualquier juego modificado de reivindicaciones; debe tenerse cuidado durante la revisión, especialmente con respecto a la porción introductoria incluyendo cualquier declaración de problema o ventaja, de no añadir materia que vaya más allá del contenido de la solicitud tal cual fue presentada originalmente (Artículo 34(2)(b) del PCT). Cualquier materia que no sea parte de las reivindicaciones debe ser removida de la descripción.

4.2 Puesto que los ejemplos son por definición ilustrativos del invento, normalmente no deberían servir ningún propósito limitante. Cualquier expresión como por ejemplo "las ilustraciones no deben considerarse en limitantes del alcance del invento" (página 54) deben evitarse.

Cualquier expresión u oración la cual pueda también referirse a una extensión de la protección más allá de la presente invención, como por ejemplo en la página 55, "vías mecánicas alternas (...) serán aparentes... etc.), "se debe entender que (...) sustitución adecuada de cualquiera de tanto aminoácidos naturales y no naturales resulta en la formación de los compuestos deseados" y "tales variaciones están contempladas en estar dentro del alcance del invento" también son objetables así como la oración de cierre en la página 113 que reza "todas dichas alternativas, modificaciones y variaciones, etc.".

La adición de tales oraciones sugeriría que la materia tal como de divulga en la presente no cubre adecuadamente el alcance reivindicado. Cualquier expresión que pueda ser interpretada como una extensión injustificada del alcance reivindicado debe ser objetada. La especificación debe ser clara y suficiente por sí sola. Por lo tanto, una medida preventiva sobre los límites del alcance es superflua e inclusive confusa puesto que en últimas previene una definición adecuada del invento y abre caminos a especulaciones (de personas capacitadas y entrenadas en el estado de la técnica) sobre la misma materia inventiva. De manera que cualquier elemento en contra de la claridad debe ser eliminada.

4.3 Se observa de manera adicional que los términos y/o expresiones como "etc.", "y similares" usadas en estas definiciones no son específicas. No pueden servir como soporte del invento y por lo tanto deben ser eliminadas.

Referencias a métodos de tratamiento o métodos de diagnóstico como "realizaciones" del invento (página 53) deben evitarse puesto que son consideradas por la Autoridad de Búsqueda Internacional (ISA) cubiertas por las provisiones de la regla 67.1(iv) del PCT. La descripción puede ser redactada nuevamente con el fin de cumplir con los requisitos del PCT.

Sobran los términos y/o pasajes los cuales no sean esenciales a la definición y al entendimiento del invento tal cual se reivindica, y por ende no necesitan estar y estar definidos en la descripción (ver, por ejemplo, el término "profármaco"). También se hace mención en la página 43 a "cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" con referencia a un efecto inhibidor de CDK (¿?) lo cual parece no pertenecer a la materia presente.

4.4 Con el fin de facilitar la evaluación de la solicitud modificada conforme con los requisitos del Artículo 34(2)(b) del PCT, se invita al Solicitante identificar claramente las modificaciones realizadas, sin importar si son modificaciones por adición, reemplazo o remoción, e indicar los pasajes de la solicitud tal cual fue presentada originalmente sobre los cuales se basan estas modificaciones (ver también la regla 66.8(a) del PCT). El no cumplir con esta invitación resultará en la no evaluación de las modificaciones.

Se le pide al Solicitante presentar modificaciones por medio de hojas de reemplazo de la manera establecida por la regla 66.8(a) del PCT. Si el Solicitante lo considera apropiado, estas indicaciones pueden ser presentadas a mano en una copia de las partes relevantes de la solicitud original. Las hojas modificadas deben ser presentadas preferiblemente en triplicado. Las hojas modificadas a mano deben ser reimpresas, a excepción de aquellas que contengan solamente remociones. Adicionalmente, se llama la atención del Solicitante al hecho que, como consecuencia de la regla 66.8(a) del PCT, el examinador no puede realizar ninguna modificación según lo establecido en el procedimiento del PCT.

Ítem VII
Ciertos defectos en la solicitud internacional

Contrario a los requisitos de la regla 5.1(a)(ii) del PCT, todo el estado de la técnica relevante no se menciona en la descripción.

300

Ítem VIII
Falta de claridad – Inconsistencias – Discrepancias

Considerando el soporte de la especificación lo cual permite definir términos inespecíficos como alquilo, arilo, heteroarilo, etc., parece ser que el término alquilo no puede comprender (y normalmente es así) alquenilo o alquinilo. Lo mismo ocurre para grupos alquilo- arilo y alquilo- heteroarilo que no estén en la reivindicación 1. De manera que las reivindicaciones 2 y 3 no pueden depender de la reivindicación 1 en la presente.

La definición de E y J incluye repeticiones innecesarias con NHR y $NHRR^7$ puesto que R y R^7 están cubiertos por la misma definición que incluye H. La definición de Z también es redundante cuando se dice que representa N(H) ó N(R) puesto que R puede representar H.

En ausencia de una especificación de los varios grupos alquilo, arilo, etc., parece ser ilógico enumerar alquilos, arilos, etc. adicionales como posibles sustitutos de estos grupos. Adicionalmente, la "definición" de estos sustitutos comprende variables de distinta naturaleza, en particular, variantes estructurales como cicloalquilo, halo, etc., y variantes funcionales tales como amido, éster, hidrazida, etc. Tales redacciones son la fuente de principales imprecisiones y falta de claridad las cuales son, de manera consecuente, no aceptables para definir adecuadamente el alcance de una reivindicación.

Además tomar en cuenta que los términos como heteroarilo y heterociclilo no se definen de la misma manera en la reivindicación 1 como en la descripción (página 35). Existen discrepancias las cuales infringen los requisitos de claridad. El término cicloalquilo se repite de manera innecesaria en la reivindicación 1.

La reivindicación 12 la cual depende de la reivindicación 1 sobra puesto que meramente repite la misma definición para Y.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference IN06139	FOR FURTHER ACTION	See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/US2004/041579	International filing date *(day/month/year)* 09.12.2004	Priority date *(day/month/year)* 11.12.2003

International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC
C07D209/52, C07D403/12, C07D409/12, C07D401/12, C07D417/12, C07K5/107, A61K31/401

Applicant
SCHERING CORPORATION et al.

1. This report is the International preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 14 sheets, including this cover sheet.
3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:
   a. ☐ *sent to the applicant and to the International Bureau)* a total of sheets, as follows:
      ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).
      ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the International application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.
   b. ☐ *(sent to the International Bureau only)* a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).

4. This report contains indications relating to the following items:
   - ☒ Box No. I Basis of the opinion
   - ☐ Box No. II Priority
   - ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
   - ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
   - ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
   - ☐ Box No. VI Certain documents cited
   - ☒ Box No. VII Certain defects in the International application
   - ☒ Box No. VIII Certain observations on the International application

Date of submission of the demand	Date of completion of this report
27.06.2005	02.02.2006

Name and mailing address of the International preliminary examining authority:
European Patent Office - Gitschiner Str. 103
D-10958 Berlin
Tel. +49 30 25901 - 0
Fax: +49 30 25901 - 840

Authorized Officer
Freion, D
Telephone No. +49 30 25901-

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US2004/041579

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

   ☐ This report is based on translations from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
   - ☐ International search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
   - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
   - ☐ International preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)

2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*:

   Description, Pages

   1-113 as originally filed

   Claims, Numbers

   1-37 as originally filed

   ☐ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
   - ☐ the description, pages
   - ☐ the claims, Nos.
   - ☐ the drawings, sheets/figs
   - ☐ the sequence listing *(specify)*:
   - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify)*:

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).
   - ☐ the description, pages
   - ☐ the claims, Nos.
   - ☐ the drawings, sheets/figs
   - ☐ the sequence listing *(specify)*:
   - ☐ any table(s) related to sequence listing *(specify)*:

* *If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."*

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US2004/041579

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application,

☒ claims Nos. 21,22,31-36 with regard to industrial applicability

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

☐ the description, claims or drawings *(indicate particular elements below)* or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for the said claims Nos. 21,22,31-36 with regard to industrial applicability

☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:

the written form	☐	has not been furnished
	☐	does not comply with the standard
the computer readable form	☐	has not been furnished
	☐	does not comply with the standard

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, c not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

☐ See separate sheet for further details

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	7,14,25,26
	No:	Claims	1-6,8-13,15-24,27-37
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-37
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-20,23-30,37
	No:	Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

305

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The International search report (ISR) was not established for claims 21, 22, 31 to 36. The present written opinion will therefore not cover these claims (rule 66.1(e) PCT).

Claims 21, 22, 31 to 36 are directed to methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy as well as diagnostic methods. They relate to subject-matter considered by this authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Under the terms of Rule 39.1(iv) PCT, the ISA was not required to carry out a search of such claims, but as indicated in the ISR, the search was carried out and based on the alleged effects of the compounds. Similarly, the IPEA (which is the ISA) is not required to carry out an International preliminary examination of such claims, but as for the ISR, the IPER will be based on the alleged effects of the compounds (Rule 67.1 (iv) PCT).

For the assessment of the present claims 21, 22, 31 to 36 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treament and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(i) PCT).

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Cited prior art

D1: US 03 216 325
D2: WO 02/08244
D3: WO 03/062265
D4: WO 02/48172
D5: WO 02/18369
D6: WO 03/062228
D7: WO 01/74768

2. Novelty

D1 to D3 disclose compounds which fall in the presently claimed scope. D3 to D5 overlap with the present application. D6 and D7 are also close prior art which differentiates only by the group corresponding to R^1 which represents a N-containing ring. All cited documents relate to compounds active for the same biological targets.

Only compound claims 7, 14, 25 and 26 (specific compounds in claims 25 and 26) can be considered as novel since they comprise additional features which have not been found in the cited prior art.

3. Notes on inventive step

3.1 Lack of unity of invention

The overlaps with the prior art documents D1 to D5 and particularly the compounds disclosed in D1 to D3 cited in the ISR and useful as HCV protease inhibitors destroy the novelty of the present application. This means that a single general inventive concept lacks to characterize (structurally and functionally) one unique invention over the whole claimed scope.

The requirements of unity are not met when a significant structural element shared by all the claimed alternatives lacks to qualify a required "same or corresponding special technical feature" (rule 13.1 PCT) that clearly defines the very invention as a contribution

over the art and that is common to all the claimed compounds (*i.e.*, covering "a single general inventive concept" as required by rule 13.1 PCT)).

More specifically considering the illustrations, as claimed in claims 25 and 26, the common cores are known structures and therefore could not be considered as forming a common special technical feature (see also PCT Gazette, administrative instructions, special issue, annex B, part 1 (f)).

The general concept as presently claimed is not novel. This known "feature" common to the whole claimed subject-matter cannot be considered to define a novel contribution over the prior art and, consequently, cannot constitute the **special technical feature** required by rules 13.1 and 13.2 PCT.

Presently a unique invention cannot to be clearly characterised by a well-defined distinguishing structural feature. In other words a **single general inventive concept** is absent in the sense that it lacks the constant presence of a structure which differentiates clearly the present subject-matter from the known prior art. The first *differentiating* feature which comes in the variant definitions appears in the variable Y which allows to distinguish as many inventions as groups Y can represent, each particular group possibly including variants usually seen as equivalent; each of these groups would therefore feature an essential characteristic of a specific invention: for instance, a (hetero)aromatic ring, a non (hetero)aromatic ring, a non cyclic structure, etc.

The Applicant is required to indicate on which invention the prosecution of the examination should be based and to limit the application accordingly.

A special technical feature which defines a contribution over the prior art lacks to be common to each distinguishable sub-invention of the presently claimed scope. Until such a specific feature has been clearly defined by the Applicant, no decision can be made concerning the inventive step.

3.2 In order to prosecute with the case, the following statements are made.
The problem underlying the present application is seen in the provision of further tetrapeptide (Z = N) compounds and analogues (Z = O) thereof useful as HCV NS3/NS4A

protease inhibitors.

The closest prior art is represented by D1 to D3 which disclose also HCV NS3/NS4A protease inhibitors and particularly novelty destroying compounds. Moreover, due to the overlaps, the present application can also be considered as a selection of the prior art disclosure. Consequently, a skilled person will expect that the present compounds have the claimed activity.

3.3 Starting from the prior art documents, a solution might reside in the provision of the compounds defined in the dependent claims 7, 14, 25 (entries 1-72 of table 1) and 26 (entries 1-24 of table 3) which are considered novel. However, these compounds are characterised by different technical features which are not linked together so that they form a single inventive concept: there are as many inventions to be found as different structural features can be distinguished (see above unity).

There is consequently a fundamental need that the Applicant specifies unambiguously which common differentiating criterion is to be taken into account to define an unitary application: this common feature is essential because it is on the basis of a surprising effect clearly linked to this structural difference that an inventive step should be acknowledged.

3.4 Note that the novelty destroying compounds of the prior art belong to the said Ki* class or range C (*i.e.*, > 1000 nM) and tested compounds of tables 1 and 3 appear to belong to the Ki* class or range A (*i.e.*, ≤ 100 nM). This could be an indication in favour of the inventiveness of the tested compounds, provided they are shown to be so linked as to form a single inventive concept.

Despite of that, a large amount of compounds disclosed in the prior art belong also to the Ki* class or range A.

Nevertheless, the application is inconsistent when giving different test results for a same compound: in table 1, the Ki* of compound of entry 1 is 10 nM; in table 3, Ki* of entry 11 (which is the same compond) is 13 nM. On the other hand, the same KI* (6 nM) is given for the entry 2 of table 1 and entry 5 of table 3, which are in fact the same compound.

3.5 Further remarks

The Applicant's attention is drawn to the fact that the claims as presently drafted do not fully satisfy PCT requirements. Particularly, the protection which is sought should comply with a reasonable breadth of a scope covering only variants and/or compounds which solve the problem underlying the invention.

It is realized that the Applicant is entitled to claim all obvious modifications of what was concretely described and that alternative variations have to be supported by the description, *i.e.* a certain number of examples.

Open and non limitative (generalizing) expressions or terms like "*alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cycloalkyl, etc*", derivatives thereof extend (irrealistically) the scope of the claims beyond what has actually been verified in the worked examples on file (this is particularly important if, after amendements made to overcome the pending objections, these expressions finally cover features which are essential for the invention).

Undefined terms render the claims obscure in scope and do not allow to correctly and specifically circumscribe a scope where the invention applies and for which protection is sought/can actually be granted (see also PCT Guidelines C-III, 4.1 to 4.4, rule 6.3 PCT, technical features).

The question is whether or not a technical effect is to be achieved by all the embodiments covered by the claims when this technical effect turns out to be the sole reason for the alleged inventiveness of these processes. A consequence is that broad expressions are objectionable under Art. 33(3) PCT.

The given examples represent a relatively narrow illustration of the claimed scope. All of them illustrate the cases wherein

- R^1 is amino optionally substitued by cyclopropyl, allyl and propyl;
- R^2 is propyl, butynyl, butyl, trifluoropropyl, difluoroethyl, cycloprpylmethyl and cyclobutylmethyl;
- E and J are both methyl;
- R^3 is tert-butyl, methyl-1-cyclohexyl, indan and cyclohexyl;

- R^4 is cyclohexyl or methyl-1-cyclohexyl and
- R^5 is always H;
- Z is always NH;
- G is CO or SO_2;
- Y is pyrazine, thiophene, pyridine, thiazole, tert-butyl, quinoline, trifluoromethyle, triazole, tert-butyloxy, ethoxy, tert-butylsulfonyl-1-cyclohexyloxy, phenoxy, tert-butylamino, ethylamino, tert-butylsulfonyl-1-cyclohexylamino, phenylamino, tetrazole, benzimidazle, ethyl and phenyl.

Except the relatively large variation of Y, the other illustrated substituents show little or no variations, particularly, E, J, R^4, R^5, Z and G such that all claimed (examplified) compounds correspond to a basic common core (likely to fulfil the unity requirement if the application were restricted to these compounds).

It can be therefore questioned whether the constant presence of certain features in the illustrative examples is a necessary and essential characterisitic of the invention which should not be allowed to vary out of the ***reasonable*** extent of the usual equivalents and (bio)isosters of these variants (especially keeping in mind that the difference with the prior art may be relatively small, the effect (to be unexpected) of which can be hindered by other unpredicted effects of larger structural variations of other variant groups).

Without any evidence of the contrary, the presently claimed scope do not represent a reasonable generalization of the very invention as shown by the examples.

Open and too broad formulations may also lead to unacceptable speculati ns from the skilled people as to the very invention and its future aspects; it may even suggest that the claimed scope lacks any inventive merit and is not properly covered by the description and, particularly, the examples. Furthermore this would deprive any third party from a legitimate protection for a genuine invention in relation with an object which was neither described nor even foreseen but would have only been a hypothesis in the frame of the present invention.

A general formulation, made up of many variables or groups defined by unlimited and/or vagues terms or non limitative expressions (including unspecific points of attachement),

constitutes an excessive generalization encompassing forms which go far beyond what the skilled person, also taking into account physico-chemical and biological considerations, can regard as including obvious modifications, equivalents and/or (bio)isosterical values of substituents/of the examples given in the description.

There is indeed a great variety of structural possibilities which are claimed (and not yet explored by the Applicant), the *effect of which cannot be foreseen* having regard to the problem underlying the present application and, consequently, which are not solutions of the problem. Moreover, non limitative definitions create unnecessary overlap and selection situations(*e.g.* an expression like "optionally substituted heterocycle" encompasses any other heterocycle -including any other moiety possibly known to be useful in contrary applications) and the eventual attachment of other biophoric/pharmacophoric molecules as well as bioconjugates are embraced, so that the actual biological activity of such "hybrid molecules" is unpredictable.

The inventive step required by Art. 33(3) PCT can be acknowledged only for a well-defined scope embracing a specific domain thanks to a reasonable generalisation of the very invention, taking into account the extent of the illustration of the examples, the support of the specification, the closeness of the prior art (for instance, the overlaps), the reproducibility and the feasability of the invention in all its aspects. In other words, the protection which is sought should comply with a reasonably broad claimed scope such that it comprises only compounds, their variants and equivalents which solve the problem underlying the invention (PCT guidelines C-III, 6.1, 6.2 and 6.4).

The objection of unclarity in the context of the inventive step should be understood in the sense that a claimed scope would be "unclear" not only in view of undefined terms taken as such but, more comprehensively, in considering that undefined terms bring an uncertainty whether it is justified to extend the inventiveness recognized for a (specific) part of the claimed domain to the whole (unlimited) claimed domain. When the whole claimed domain remains open, that is, unspecific or uncompletely specific, it cannot be credible that the inventive step (the surprising effect) is present everywhere therein.

The claims must be amended consequently in order to show the necessary limits of the scope of the invention in order, not only to allow a skilled person to reproduce the inventior

but also, to circumscribe the particular chemical and/or biological domain where the invention applies to, *i.e.* where the inventiveness is credibly present.

As chemical species can be precisely defined by the identity and the number of the atoms involved, it is necessary to specify the disputed expressions and terms by means of the incorporation of the definitions and/or substituents given in the specification.

4. Miscellaneous

4.1 The description will have to be adapted according to any amended set of claims; care should be taken during revision, especially of the introductory portion including any statement of problem or advantage, not to add subject-matter which extends beyond the content of the application as originally filed (Art. 34(2)(b) PCT). Any subject-matter which is not part of the claims has to be deleted from the description.

4.2 Since examples are, by definition, illustrative of the invention, they normally should not serve any limiting purpose. Any expression like "the illustrations should not be construed to limit the scope of the invention" (page 54) should be avoided.

Any expression or sentence which may also refer to an extent of protection beyond the actual invention) like, on page 55, "alternative mechanistic pathways (..) will be apparent... etc", "it is to be understood that (...) suitable substitution of any of both the natural and unnatural amino acids result in the formation of the desired compounds" and "such variations are contemplated to be within the scope of the invention" are also objectionable like the closing sentence on page 113 about "all such alternatives, modifications and variations, etc".

The insertion of such sentences would suggest that the subject-matter as presently disclosed does not cover properly the claimed scope. Any expression which can be interpreted as an unjustified extension of the claimed scope should be objected. The specification should be clear and sufficient by itself. A precautionary measure on the limits of the scope is therefore superfluous and even misleading as it finally prevents a proper definition of the invention and opens the way to speculations (of skilled persons) about the

very inventive subject-matter. Consequently any element against clarity has to be deleted.

4.3 It is additionally noted that the terms and/or expressions like "etc", "and the lik " used in these definitions are unspecific. They cannot serve as a support for the invention and therefore should be deleted.

References to methods of treatment or diagnostic methods as "embodiments"of the invention (page 53) must be avoided since they are considered by the ISA to be covered by the provisions of rule 67.1(iv) PCT. The description can be redrafted in order to fulfil the PCT requirements.

Terms and/or passages which are not essential to the definition and the understanding of the invention as claimed are superfluous and therefore do not need to appear and to be defined in the description (see, for instance, "prodrug"). Mention is also made on page 43 to "effective amount" or "therapeutically effective amount" in reference to a CDK (?) inhibiting effect which does not seem to belong to the present subject-matter.

4.4 In order to facilitate the examination of the conformity of the amended application with the requirements of Art. 34(2)b) PCT, the Applicant is invited to clearly identify the amendments carried out, irrespective of whether they concern amendments by addition, replacement or deletion, and to indicate the passages of the application as filed on which these amendments are based (see also rule 66.8(a) PCT). Failure to comply with this invitation will result in the amendments not being examined.

The Applicant is requested to file amendments by way of replacement pages in the manner stipulated by rule 66.8(a) PCT. If the Applicant regards it as appropriate, these indications could be submitted in handwritten form on a copy of the relevant parts of the application as filed. The amended pages should preferably be filed in triplicate. Pages amended in handwriting should be retyped, except those which contain deletions only. Moreover the Applicant's attention is drawn to the fact that, as a consequence of rule 66.8(a) PCT, the examiner is not permitted to carry out any amendments under the PCT procedure.

Re Item VII
Certain defects in the international application

Contrary to the requirements of rule 5.1(a)ii) PCT, all the relevant background art is not mentioned in the description.

Re Item VIII
Unclarities - Inconsistencies - Discrepancies

Considering the support of the specification which allows to define unspecific terms like alkyl, aryl, heteroaryl, etc, it appears that the term alkyl cannot comprise (and it is normally the case) alkenyl or alkynyl. The same remark applies for the groups alkyl-aryl and alkyl-heteroaryl which are not in claim 1. Consequently, claims 2 and 3 cannot presently depend on claim 1.

The definition of E and J includes unnecessary repetitions with NHR and $NHRR^7$ since R and R^7 are covered by the same definition which includes H. The definition of Z is also redundant when it is said to represent N(H) or N(R) since R can represent H.

In the absence of specification of the various groups alkyl, aryl, etc, it appears inconsistent to list further alkyl, aryl, etc, as possible substituents to these groups. Furthermore, the "definition" of these substituents comprise variables of different nature, particularly, structural variants like cycloalkyl, halo, etc, and functional variants like amido, ester, hydrazide, etc. Such wordings are source of major unclarities which are consequently not acceptable to appropriately define the scope of a claim.

Note also that terms like heteroaryl and heterocyclyl are not defined the same way in claim 1 and in the description (page 35). There are discrepancies which contravene the requirements of clarity. Cycloalkyl is unnecessarily repeated in claim 1.

Claim 12 which is dependent on claim 1 is superfluous since it merely repeats the same definition for Y.

345

THE INTERNATIONAL BUREAU OF WIPO

Applicant(s) : SCHERING CORPORATION

International Application No. : PCT/US2004/041579

International Filing Date : 09 December 2004 (01.12.04)

Title : INHIBITORS OF HEPATITIS C VIRUS NS3/NS4A SERINE PROTEASE

VIA FACSIMILE (011) 41-22 338 7010

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

REQUEST FOR CHANGE OF NAME OF APPLICANT UNDER RULE 92bis

Applicants request that a corrected first page of the published International Application No. WO 2005/058821 be issued to show that SCHERING CORPORATION is the only Applicant for all designated countries except US. Please note that Ashok ARASAPPAN was inadvertently designated as an Applicant for all designated countries except US.

Attached is Sheet No. 2 of the Request Form PCT/RO/101 indicating that Ashok ARASAPPAN is an inventor and applicant in the US only. Please substitute this form to the one mailed on 09 December 2004.

Respectfully submitted,
SCHERING CORPORATION

By: _____
Palaiyur S. KALYANARAMAN
Agent for Applicants

Dated: August 8, 2005

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-056306- -00000-0000
Fec: 2006-06-09 15:44:11 Dep: 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTEIYII
Cve: 378 FASCNACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 315
a y Comercio
SUPERINTENDENCIA

316

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION [X] MODELO DE UTILIDAD [ ]

- ◊ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- ◊ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- ◊ Descripción de la invención [X]
- ◊ Dibujos de ser estos pertinentes [X]
- ◊ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- ◊ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- ◊ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◊ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño [ ]
- ◊ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

ESQUEMA DE TRAZADO [ ]

- ◊ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado [ ]
- ◊ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◊ Representación gráfica del esquema trazado [ ]
- ◊ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

Firma Responsable

Fecha 9 de Junio 06

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

317

Folio ~~316~~

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
SCHERING CORPORATION

REFERENCIA	Radicación No.	6 56306
	Solicitud internacional	PCT/US2004/041579
	Fecha inicio fase nacional	11/07/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	1426
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, 29 SET 2006

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpa11