



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

07-40983
SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: COMPUESTOS Y DERIVADOS DEL 4-METOXIMETIL-PIRROLIDINA-
2- ACIDO CARBOXILICO COMO INHIBIDORES DEL VIRUS DE LA HEPATITIS
C.

CLASIFICACION INTERNACIONAL: A61K31/427
A61P31/12

SOLICITANTE: GLAXO GROUP LIMITED.

DIRECCION: Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford,
Middlesex UB6 ONN. Inglaterra

APODERADO: J. IAN RAISBECK

BOGOTÁ 24 Abril de 2007

SS



No. 07-040983-00000-0000

Fecha: 2007-04-24 18:33:40 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 148

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

S LICITANTE
(71)

Nombre: GLAXO GROUP LIMITED

Dirección: Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN

Nacionalidad o Domicilio: BRITANICA

Lugar de Constitución: INGLATERRA

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: J. IAN RAISBECK

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. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 79.376.996 Btá
TP 135.799

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER LISTA ADJUNTA

Dirección: VER LISTA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER LISTA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2005/011532

Fecha Octubre 24, 2005

Publicación Internacional No. WO 2006/045613

Fecha Mayo 4, 2006

6

Título (54) COMPUESTOS Y DERIVADOS DEL 4-METOXIMETIL-PIRROLIDINA-2-ACIDO CARBOXILICO COMO INHIBIDORES DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

7

Clasificación Internacional (51) C07D 417/14; A61K 31/427; A61P 31/12

Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
SI ☒ NO ☐	<u>GB</u>	<u>Octubre 25, 2004</u>	<u>0423673.3</u>

8

Comprobante de pago No. 07-32.998

Fecha Abril 24, 2007

10

ANEX S

☒

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.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones.

☒

Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud Internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Copia del examen preliminar Internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

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.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: J. IAN RAISBECK

FIRMA:



C.C. 79.376.996 Btá T.P. 135.799

3/15

LISTA DE INVENTORES PCT/EP2005/011532

1. ROSSELLA GUIDETTI

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Italiana.

2. DAVID HAIGH

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Británica.

3. CHARLES DAVID HARTLEY

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Británica.

4. PETER DAVID HOWES

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Británica.

5. FABRIZIO NEROZZI

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Italiana.

6. STEPHEN ALLAN SMITH

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY

Reino Unido

Nacionalidad: Británica.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-040983-00000-0000

Fecha: 2007-04-24 16:33:40

Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEIYII

Eva: 379 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 148

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 32,998
FECHA : ABRIL 24 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBECK	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	52331038	23/04/2007	6,666,000.00

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

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
	TOTAL :	\$ 482,000.00

: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE

GLAXO GROUP LIMITED

PODER DE REPRESENTACION

Bilingüe inglés- español otorgado en Brentford, Middlesex, Inglaterra el 13 de agosto de 2003 y firmado por Peter John Giddings, Apoderado y Funcionario autorizado.

Certificado de Notario De Pinna en español firmado por James Kerr Milligan

APOSTILLA

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

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público
2. ha sido firmado por James Kerr Milligan
3. Quien ejerce funciones de Notario público
4. Lleva el sello del Notario público

CERTIFICADO

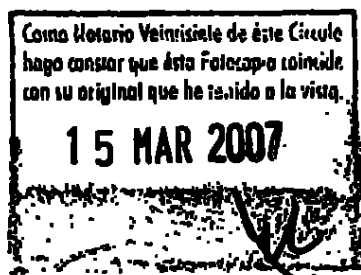
5. En Londres
6. El 14 agosto 2003
7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
8. No. G229474
9. Gran Sello de la Oficina de Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
10. Firma legible de J. Garbrah- Por el Secretario de Estado

Si el documento se usa en un país que no pertenece a la Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961 debe pasar por la sección consular de la Misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 21 agosto-03.

Marlen Neira C

Marlen Neira C
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Ofi-
Inglés - Español - Ingle
Resolución No. 2117 del 7 O.



Yo, el infrascrito **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

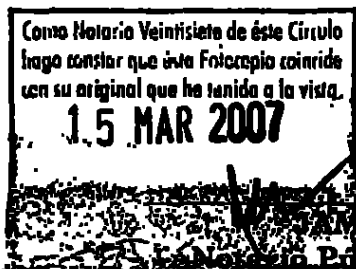
C E R T I F I C O:

QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad inglesa denominada "**GLAXO GROUP LIMITED**", Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Inglaterra, e inscrita en la Oficina de Registro de Sociedades bajo el número **805979**, con domicilio social en **Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN, Inglaterra;**

QUE el citado Señor Don **PETER JOHN GIDDINGS** está debidamente autorizado para firmar documentos de esta clase en nombre y representación de dicha Sociedad en virtud de un Poder otorgado por la referida Sociedad fechado 3 de julio de 2002.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy vece de agosto del año dos mil tres.



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by James Kerr Milligan
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

5. at London/L London
6. the/le 14 August 2003
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

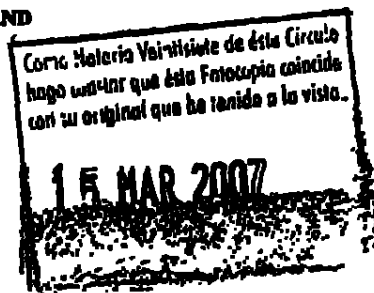
8. Number/sous No **G229474**

9. Stamp:
timbre:
10. Signature: J. Garbwa



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

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

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, GB
by means of these presents hereby grants to Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck and 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

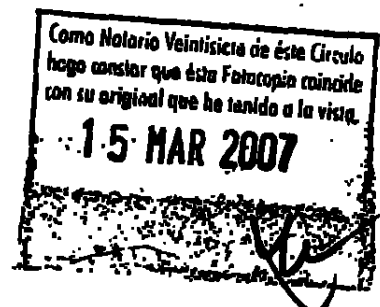
Glaxo Group Limited
por medio del presente otorga a Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck y Ana María Frieri poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República 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:


Peter John GIDDINGS as Attorney and Authorised Official

Date/Fecha: 13 August 2003

City/Country/Ciudad, País: Brentford, Middlesex, England



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
4 May 2006 (04.05.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/045613 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 317/14 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)

(74) Agent: CRAWLEY, Karen; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property (CN925.1), 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9QS (GB).

(21) International Application Number:
PCT/EP2005/011532

(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, CX, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GR, GU, HK, HN, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SI, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date: 24 October 2005 (24.10.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0423673.3 25 October 2004 (25.10.2004) GB

(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, IL, IS, IT, JP, KR, KZ, LI, LU, MC, NL, NO, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO GROUP LIMITED [GB/GB]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): GUIDETTI, Russell [IT/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). HAIGH, David [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). HARTLEY, Charles, David [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). HOWES, Peter, David [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). NEROZZI, Fabrizio [IT/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB). SMITH, Stephen, Allan [GB/GB]; GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

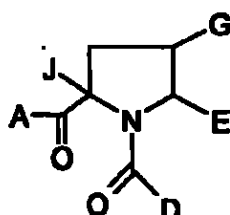
Published:

- with international search report

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.

(54) Title: 4-METHOXYMETHYL-PYRROLIDINE-2-CARBOXYLIC ACID COMPOUNDS AND DERIVATIVES THEREOF AS HEPATITIS C VIRUS INHIBITORS

(1a)



(57) Abstract: Anti-viral agents of Formula (1a) wherein: A represents hydroxy; D represents 4-tert-butyl-3-methoxyphenyl; E represents 1,3-thiazol-2-yl or 5-methyl-1,3-thiazol-2-yl; G represents methoxymethyl; J represents 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl, 1,2-thiazol-3-ylmethyl, or 1H-pyrazol-1-ylmethyl; and salts, solvates and esters thereof; provided that when A is esterified to form -OR where R is selected from straight or branched chain alkyl, aralkyl, aryloxyalkyl, or aryl, then R is other than tert-butyl; processes for their preparation and their use in HIV treatment are provided.

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to novel C(4)-methoxymethyl acyl pyrrolidine derivatives
5 useful as anti-viral agents. Specifically, the present invention involves novel Hepatitis C
Virus (HCV) inhibitors.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Infection with HCV is a major cause of human liver disease throughout the world. In the
US, an estimated 4.5 million Americans are chronically infected with HCV. Although only
10 30% of acute infections are symptomatic, greater than 85% of infected individuals develop
chronic, persistent infection. Treatment costs for HCV infection have been estimated at
\$5.46 billion for the US in 1997. Worldwide over 200 million people are estimated to be
infected chronically. HCV infection is responsible for 40-60% of all chronic liver disease
and 30% of all liver transplants. Chronic HCV infection accounts for 30% of all cirrhosis,
15 end-stage liver disease, and liver cancer in the U.S. The CDC estimates that the number
of deaths due to HCV will minimally increase to 38,000/year by the year 2010.

Due to the high degree of variability in the viral surface antigens, existence of multiple viral
genotypes, and demonstrated specificity of immunity, the development of a successful
20 vaccine in the near future is unlikely. Alpha-interferon (alone or in combination with
ribavirin) has been widely used since its approval for treatment of chronic HCV infection.
However, adverse side effects are commonly associated with this treatment: flu-like
symptoms, leukopenia, thrombocytopenia, depression from interferon, as well as anemia
induced by ribavirin (Lindsay, K.L. (1997) Hepatology 26 (suppl 1): 71S-77S). This
25 therapy remains less effective against infections caused by HCV genotype 1 (which
constitutes ~75% of all HCV infections in the developed markets) compared to infections
caused by the other 5 major HCV genotypes. Unfortunately, only ~50-80% of the patients
respond to this treatment (measured by a reduction in serum HCV RNA levels and
normalization of liver enzymes) and, of those treated, 50-70% relapse within 6 months of
30 cessation of treatment. Recently, with the introduction of pegylated interferon, both initial
and sustained response rates have improved substantially, and combination treatment of
Peg-IFN with ribavirin constitutes the gold standard for therapy. However, the side effects
associated with combination therapy and the impaired response in patients with genotype
1 present opportunities for improvement in the management of this disease.

35 First identified by molecular cloning in 1989 (Choo, Q-L et al (1989) Science 244:359-
362), hepatitis C virus (HCV) is now widely accepted as the most common causative
agent of post-transfusion non A, non-B hepatitis (NANBH) (Kuo, G et al (1989) Science
244:362-364). Due to its genome structure and sequence homology, this virus was
40 assigned as a new genus in the *Flaviviridae* family. Like the other members of the
Flaviviridae, such as flaviviruses (e.g. yellow fever virus and Dengue virus types 1-4) and
pestiviruses (e.g. bovine viral diarrhea virus, border disease virus, and classic swine fever

virus) (Choo, Q-L et al (1989) Science 244:359-3; Miller, R.H. and R.H. Purcell (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2057-2061), HCV is an enveloped virus containing a single strand RNA molecule of positive polarity. The HCV genome is approximately 9.6 kilobases (kb) with a long, highly conserved, noncapped 5' nontranslated region (NTR) of approximately 340 bases which functions as an internal ribosome entry site (IRES) (Wang CY et al 'An RNA pseudoknot is an essential structural element of the internal ribosome entry site located within the hepatitis C virus 5' noncoding region' RNA- A Publication of the RNA Society. 1(5): 526-537, 1995 Jul.). This element is followed by a region which encodes a single long open reading frame (ORF) encoding a polypeptide of ~3000 amino acids comprising both the structural and nonstructural viral proteins.

Upon entry into the cytoplasm of the cell, this RNA is directly translated into a polypeptide of ~3000 amino acids comprising both the structural and nonstructural viral proteins. This large polypeptide is subsequently processed into the individual structural and nonstructural proteins by a combination of host and virally-encoded proteinases (Rice, C.M. (1996) in B.N. Fields, D.M. Knipe and P.M. Howley (eds) Virology 2nd Edition, p931-960; Raven Press, N.Y.). Following the termination codon at the end of the long ORF, there is a 3' NTR which roughly consists of three regions: an ~ 40 base region which is poorly conserved among various genotypes, a variable length poly(U)/polypyrimidine tract, and a highly conserved 98 base element also called the "3' X-tail" (Kolykhalov, A. et al (1996) J. Virology 70:3363-3371; Tanaka, T. et al (1995) Biochem Biophys. Res. Commun. 215:744-749; Tanaka, T. et al (1996) J. Virology 70:3307-3312; Yamada, N. et al (1996) Virology 223:255-261). The 3' NTR is predicted to form a stable secondary structure which is essential for HCV growth in chimps and is believed to function in the initiation and regulation of viral RNA replication.

The NS5B protein (591 amino acids, 65 kDa) of HCV (Behrens, S.E. et al (1996) EMBO J. 15:12-22), encodes an RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) activity and contains canonical motifs present in other RNA viral polymerases. The NS5B protein is fairly well conserved both intra-typically (~95-98% amino acid (aa) identity across 1b isolates) and inter-typically (~85% aa identity between genotype 1a and 1b isolates). The essentiality of the HCV NS5B RdRp activity for the generation of infectious progeny virions has been formally proven in chimpanzees (A. A. Kolykhalov et al., (2000) Journal of Virology, 74(4), p.2046-2051). Thus, inhibition of NS5B RdRp activity (inhibition of RNA replication) is predicted to cure HCV infection.

Although the predominant HCV genotype worldwide is genotype 1, this itself has two main subtypes, denoted 1a and 1b. As seen from entries into the Los Alamos HCV database (www.hcv.lanl.gov) (Table 1) there are regional differences in the distribution of these subtypes: while genotype 1a is most abundant in the United States, the majority of sequences in Europe and Japan are from genotype 1b.

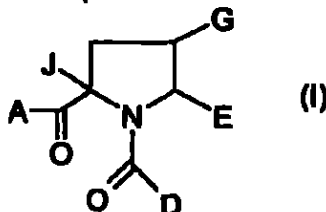
Table 1

% of sequences in the database	World	USA	Europe	Japan
Genotype 1	71.8	87.8	75.9	80.2
Genotype 1a	28.4	66.4	21.7	1.6
Genotype 1b	43.4	21.4	54.2	78.6

5 The prevalence of genotype 1a in some regions makes it highly desirable to identify an anti-viral agent that is able to inhibit both genotype 1a and genotype 1b. This means a wider patient pool would be able to benefit from treatment with the same agent.

10 Based on the foregoing, there exists a significant need to identify synthetic or biological compounds for their ability to inhibit replication of both genotype 1a and genotype 1b of HCV.

PCT publication number WO2004/037818 generically discloses certain compounds, including certain acyl pyrrolidine compounds, having HCV inhibitory activity. The assay is directed to the 1b genotype. The compounds disclosed have the formula (I)



15

wherein:

A represents hydroxy;

D represents aryl or heteroaryl;

E represents hydrogen, C₁₋₆alkyl, aryl, heteroaryl or heterocyclyl;

20 G represents hydrogen or C₁₋₆alkyl optionally substituted by one or more substituents selected from halo, OR¹, SR¹, C(O)NR²R³, CO₂H, C(O)R⁴, CO₂R⁴, NR²R³, NHC(O)R⁴, NHCO₂R⁴, NHC(O)NR⁵R⁶, SO₂NR⁵R⁶, SO₂R⁴, nitro, cyano, aryl, heteroaryl and heterocyclyl;

R¹ represents hydrogen, C₁₋₆alkyl, arylalkyl, or heteroarylalkyl;

25 R² and R³ are independently selected from hydrogen, C₁₋₆alkyl, aryl and heteroaryl; or R² and R³ together with the nitrogen atom to which they are attached form a 5 or 6 membered saturated cyclic group;

R⁴ is selected from the group consisting of C₁₋₆alkyl, aryl, heteroaryl, arylalkyl, and heteroarylalkyl;

30 R⁵ and R⁶ are independently selected from the group consisting of hydrogen, C₁₋₆alkyl, aryl, heteroaryl, arylalkyl, and heteroarylalkyl; or R⁵ and R⁶ together with the nitrogen atom to which they are attached form a 5 or 6 membered saturated cyclic group; and

J represents C₁₋₆alkyl, heterocyclalkyl, arylalkyl or heteroarylalkyl;

12

and salts, solvates and esters thereof; provided that when A is esterified to form -OR where R is selected from straight or branched chain alkyl, aralkyl, aryloxyalkyl, or aryl, then R is other than *tert*-butyl.

- 5 Surprisingly, It has now been found that compounds according to the present invention, generically disclosed in WO2004/037818, and having a specific substitution pattern, exhibit improved properties over those compounds specifically disclosed in WO2004/037818.

10

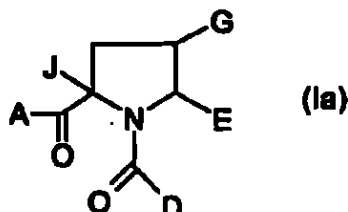
SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention involves C(2')-heteroaryl-methyl-C(4)-methoxymethyl acyl pyrrolidine compounds represented hereinbelow, pharmaceutical compositions comprising such compounds and use of the compounds in treating viral infection, especially HCV infection.

15

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention provides at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) :



20 wherein:

A represents hydroxy;

D represents 4-*tert*-butyl-3-methoxyphenyl;

25 E represents 1,3-thiazol-2-yl or 5-methyl-1,3-thiazol-2-yl;

G represents methoxymethyl;

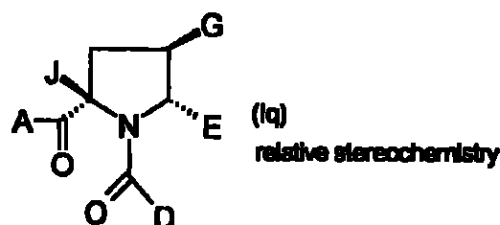
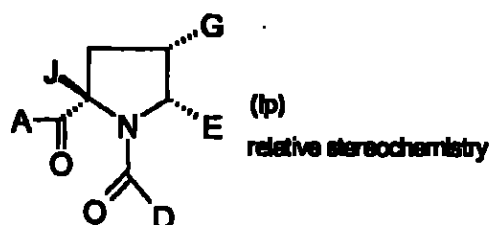
30 J represents 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl, 1,2-thiazol-3-ylmethyl, or 1H-pyrazol-1-ylmethyl;

and salts, solvates and esters thereof; provided that when A is esterified to form -OR where R is selected from straight or branched chain alkyl, aralkyl, aryloxyalkyl, or aryl, then R is other than *tert*-butyl.

35

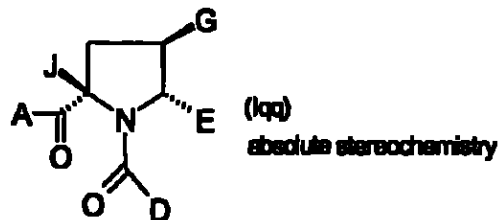
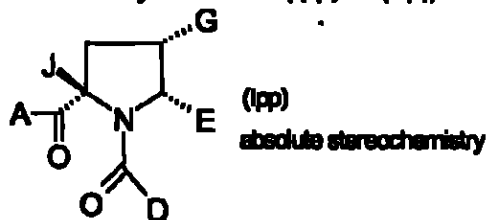
In one aspect, the relative stereochemistry of racemic compounds of Formula (Ia), is represented by Formulae (Ip) or (Iq):

13



wherein A, D, E, G and J are as defined above for Formula (la).

5 In a further aspect, the absolute stereochemistry of chiral compounds of Formula (la) is represented by Formulae (lpp) or (lqq):



wherein A, D, E, G and J are as defined above for Formula (la).

10 The following substituent groups are preferred, where applicable, in respect of each of Formulae la, lp, lpp lq and lqq:

In one aspect, A is hydroxy (that is, not esterified).

15 In one aspect, J represents 1,3-thiazol-4-ylmethyl or 1H-pyrazol-1-ylmethyl. In a further aspect, J represents 1H-pyrazol-1-ylmethyl. In another aspect, J represents 1H-pyrazol-1-ylmethyl and E represents 1,3-thiazol-2-yl.

In one aspect, the compounds of Formula (la) are represented by compounds of Formula (lpp).

20

It is to be understood that the present invention covers all combinations of aspects, suitable, convenient and preferred groups described herein.

25 The chemical entities of the present invention exhibit an improved genotype-1a/1b profile against HCV polymerase, and therefore have the potential to achieve efficacy in man over a broad patient population.

30 The term 'genotype-1a/1b profile' means potency as an inhibitor of HCV polymerase enzyme in wildtype HCV of the 1a genotype and of the 1b genotype. High potency in both genotypes is considered to be advantageous.

There is provided as a further aspect of the present invention at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (la) and physiologically acceptable salts, solvates or

esters thereof for use in human or veterinary medical therapy, particularly in the treatment or prophylaxis of viral infection, particularly HCV infection.

- 5 It will be appreciated that reference herein to therapy and/or treatment includes, but is not limited to prevention, retardation, prophylaxis, therapy and cure of the disease. It will further be appreciated that references herein to treatment or prophylaxis of HCV infection includes treatment or prophylaxis of HCV-associated disease such as liver fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma.
- 10 According to another aspect of the invention, there is provided the use of at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) and physiologically acceptable salts, solvates or esters thereof in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of viral infection, particularly HCV infection.
- 15 In a further or alternative aspect there is provided a method for the treatment of a human or animal subject with viral infection, particularly HCV infection, which method comprises administering to said human or animal subject an effective amount of at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) and physiologically acceptable salts, solvates or esters thereof.
- 20 It will be appreciated that the compounds of the present invention may contain one or more asymmetric carbon atoms and may exist in racemic, diastereoisomeric, and optically active forms. All of these racemic compounds, enantiomers and diastereoisomers are contemplated to be within the scope of the present invention.
- 25 In one aspect, chemical entities useful in the present invention may be chosen from compounds of Formula (Ia) selected from the group consisting of:
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
 30 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
 35 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid; and
 40 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
 and salts, solvates and esters, and individual enantiomers thereof.

In a further aspect, chemical entities useful in the present invention may be chosen from compounds of Formula (Ia) selected from the group consisting of:

- 5 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
10 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
and salts, solvates and esters, and individual enantiomers thereof.

In a yet further aspect, chemical entities useful in the present invention may be chosen from compounds of Formula (Ia) selected from the group consisting of:

- 15 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
20 and salts, solvates and esters, and individual enantiomers thereof.

In another aspect, chemical entities useful in the present invention may be chosen from compounds of Formula (Ia) selected from the group consisting of:

- 25 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;
and salts, solvates and esters, and individual enantiomers thereof.

Also included in the present invention are pharmaceutically acceptable salt complexes.

- The present invention also covers the physiologically acceptable salts of the compounds of formula (Ia). Suitable physiologically acceptable salts of the compounds of formula (Ia) include acid salts, for example sodium, potassium, calcium, magnesium and tetraalkylammonium and the like, or mono- or di- basic salts with the appropriate acid for example organic carboxylic acids such as acetic, lactic, tartaric, malic, isethionic, lactobionic and succinic acids; organic sulfonic acids such as methanesulfonic, ethanesulfonic, benzenesulfonic and *p*-toluenesulfonic acids and inorganic acids such as hydrochloric, sulfuric, phosphoric and sulfamic acids and the like.
30
35

The present invention also relates to solvates of the compounds of Formula (Ia), for example hydrates.

- 40 The present invention also relates to pharmaceutically acceptable esters of the compounds of Formula (Ia), for example carboxylic acid esters -COOR, in which R is

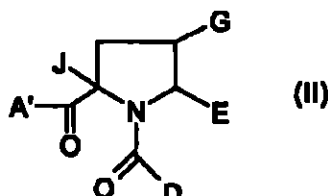
selected from straight or branched chain alkyl, for example n-propyl, n-butyl, alkoxyalkyl (e.g. methoxymethyl), alkoxycarbonylalkyl (e.g. methoxycarbonylmethyl), acyloxyalkyl (e.g. pivaloyloxymethyl), aralkyl (e.g. benzyl), aryloxyalkyl (e.g. phenoxymethyl), aryl (e.g. phenyl optionally substituted by halogen, C₁₋₄alkyl or C₁₋₄alkoxy or amino). Unless
 5 otherwise specified, any alkyl moiety present in such esters preferably contains 1 to 18 carbon atoms, particularly 1 to 4 carbon atoms. Any aryl moiety present in such esters preferably comprises a phenyl group.

10 In one aspect, the compound of Formula (Ia) is in the form of a parent compound, a salt or a solvate.

As used herein, the term "pharmaceutically acceptable" used in relation to an ingredient (active ingredient such as an active ingredient, a salt thereof or an excipient) which may be included in a pharmaceutical formulation for administration to a patient, refers to that
 15 ingredient being acceptable in the sense of being compatible with any other ingredients present in the pharmaceutical formulation and not being deleterious to the recipient thereof.

It will further be appreciated that certain compounds of the present invention may exist in
 20 different tautomeric forms. All tautomers are contemplated to be within the scope of the present invention.

Compounds of Formula (Ia) in which A is hydroxy may be prepared from a compound of Formula (II)



25 in which A' is a protected hydroxy group, for example an alkoxy, benzyloxy or silyloxy, for example tri-(C₁₋₄alkyl)-silyloxy group, and D, E, G and J are as defined above for Formula (Ia), by deprotection. Suitable protecting groups can be found, but are not restricted to, those found in T W Greene and P G M Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis', 3rd
 30 Ed (1999), J Wiley and Sons.

For example when A' is *tert*-butoxy, and D, E, G and J are as defined above for Formula (Ia), by treatment with an appropriate acid, for example trifluoroacetic acid or aqueous concentrated hydrochloric acid solution. Optionally, the reaction is carried out in a
 35 solvent, for example dichloromethane or dimethoxyethane. In one aspect, the temperature is in the range 0 to 60°C, in a further aspect 20 to 30°C.

For example when A' is benzyloxy, and D, E, G and J are as defined above for Formula (Ia), by hydrogenolysis in the presence of a suitable catalyst for example palladium-on-

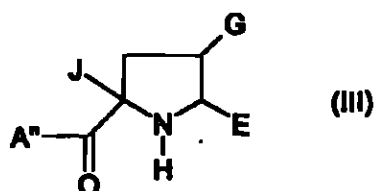
17

carbon. Suitably, the reaction is carried out in a solvent, for example ethanol. Preferably, the temperature is in the range 0 to 50°C.

For example when A' is allyloxy, and D, E, G and J are as defined above for Formula (Ia), by treatment with a suitable catalyst for example tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) and a suitable proton source, for example phenylsilane. The reaction is carried out in a suitable solvent, for example dichloromethane.

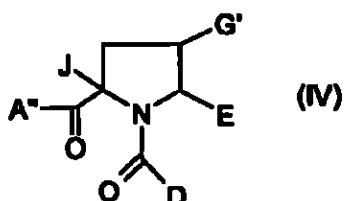
For example when A' is tr(methyl)silyloxy, and D, E, G and J are as defined above for Formula (Ia), by treatment with a suitable fluoride source for example tetrabutylammonium fluoride. The reaction is carried out in a suitable solvent, for example tetrahydrofuran.

Compounds of Formula (Ia) or (II) may be prepared by reaction of a compound of Formula (III)



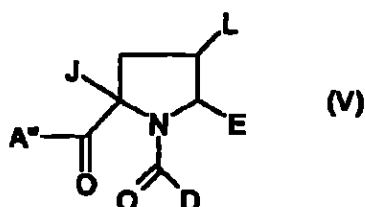
in which A'' is hydroxy or an alkoxy, benzyloxy or tr-(C₁₋₄alkyl)-silyloxy group, and E, G, and J are as defined above for Formula (Ia); with a suitable acylating agent, for example D-C(O)-hal, wherein hal is a halo atom, preferably chloro or bromo, and D is as defined above for Formula (Ia). Preferably the reaction is carried out in a suitable solvent, for example dichloromethane, in the presence of a suitable base, for example triethylamine. Suitably, the temperature is in the range 0 to 50°C, more suitably 20 to 30°C. Optionally, the reaction may be carried out at the reflux temperature of the solvent.

Compounds of Formula (Ia) or (II) may also be prepared by methylation of a compound of formula (IV)



in which A'' is as defined above for Formula (III), and G' represents hydroxymethyl using a suitable base for example sodium hydride or sodium *tert*-butoxide and a suitable methylating agent such as methyl iodide. In one aspect, the reaction is carried out in a suitable solvent or mixture thereof, for example dimethylformamide, methyl-*tert*-butyl ether, dimethoxyethane and/or acetonitrile. In one aspect, the reaction is carried out at a temperature in the range -30 to 50°C, suitably 20 to 30°C or -25°C. In a further aspect, the reaction is carried out using a mixture of methyl-*tert*-butyl ether and dimethoxyethane as solvent at -25°C.

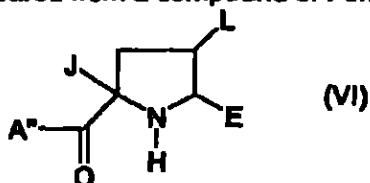
Compounds of Formula (IV) may be prepared by appropriate manipulation of a compound of Formula (V)



- in which A'' is as defined above for Formula (III), and D, E and J are as defined above for Formula (Ia), and L represents CHO or CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl. For example, by reduction of a compound of Formula (V) in which L represents CHO or CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl, using a suitable reducing agent, for example lithium borohydride, lithium triethylborohydride, sodium borohydride, sodium triacetoxyborohydride, borane/dimethyl sulfide complex or lithium aluminium hydride, or suitable combinations thereof, in a suitable solvent or mixture thereof for example tetrahydrofuran and/or methanol. In one aspect, the reaction may be carried out at a temperature in the range -78 to 40°C. In a further aspect, the reaction may be carried out at a temperature in the range 30 to 40°C. In a further aspect, the reaction is carried out using a mixture of sodium borohydride and sodium triacetoxyborohydride in a tetrahydrofuran and methanol solvent mixture.

- A compound of Formula (V) in which L represents CO₂Y wherein Y represents hydrogen may be prepared from a compound of Formula (V) in which L represents CO₂Y wherein Y represents alkyl. For example, a compound of Formula (V) in which L represents CO₂Me may be converted into a compound of Formula (V) in which L represents CO₂H by hydrolysis, for example base catalysed hydrolysis using a suitable base such as sodium methoxide in a suitable solvent such as methanol.

- A compound of Formula (V) in which L represents CHO or CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl may be prepared from a compound of Formula (VI)

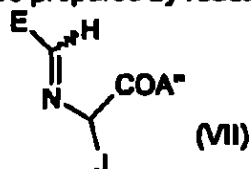


- in which L represents CHO or CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl, and A'', E, and J are as defined above for Formula (III); with a suitable acylating agent, for example D-C(O)-hal, wherein hal is a halo atom, preferably chloro or bromo, and D is as defined above for Formula (Ia). Preferably the reaction is carried out in a suitable solvent, for example dichloromethane, methyl-*tert*-butyl ether and/or acetonitrile, in the presence of a suitable base, for example triethylamine or pyridine. In one aspect, the reaction is carried out at a temperature in the range 0 to 50°C, suitably 20 to 30°C. Optionally the reaction may be carried out under reflux. In one aspect, where pyridine is used as base, all traces

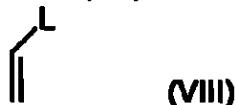
of pyridine are suitably removed, for example by washing with aqueous acid, for hydrochloric acid, and/or additionally with water, before proceeding to the next synthetic step.

- 5 A compound of Formula (V) in which A" is hydroxy, may be converted to a compound of Formula (V) in which A" is an alkoxy, benzyloxy or silyloxy group by standard hydroxy protecting techniques. Similarly, a compound of Formula (V) in which A" is an alkoxy, benzyloxy or silyloxy group, may be converted to a compound of Formula (V) in which A" is hydroxy by standard deprotecting techniques. Suitable protecting groups can be found, but are not restricted to, those found in T W Greene and P G M Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis', 3rd Ed (1999), J Wiley and Sons.

A compound of Formula (VI) may be prepared by reaction of a compound of Formula (VII)



- 15 In which E and J are as defined above for Formula (Ia) and A" is as defined above for Formula (III) with a compound of Formula (VIII)

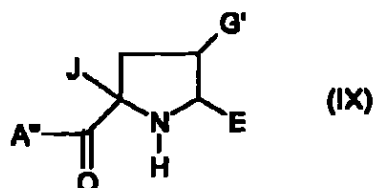


- wherein L represents CHO or CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl. In one aspect, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example THF or acetonitrile, optionally in the presence of a Lewis acid catalyst, such as lithium bromide or silver acetate, and a base, such as triethylamine, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), or tetramethyl guanidine. Alternatively, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example THF or acetonitrile, in the presence of an acid, such as acetic acid, or the reaction may be carried out by heating compounds of Formula (VII) and Formula (VIII) in a suitable solvent, for example toluene, xylene or acetonitrile in the absence of a catalyst.

- A compound of Formula (VI) may also be prepared in a one pot synthesis by reaction of a compound of Formula (X) with a compound of Formula (VII) and a compound of Formula E-CHO. Preferably, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example THF or acetonitrile, optionally in the presence of a Lewis acid catalyst, such as lithium bromide or silver acetate, and a base, such as triethylamine, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) or tetramethyl guanidine. Preferably the reaction is carried out at a temperature in the range 0 to 50°C, suitably 20 to 30°C. Optionally a drying agent is used in the process, for example molecular sieves.

- 35 A compound of Formula (III) may be prepared by appropriate manipulation of a compound of Formula (IX)

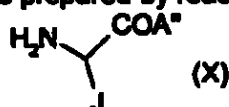
20



in which G' represents hydroxymethyl, and A'', E, and J are as defined above for Formula (III), by first protecting the N-atom of the pyrrolidine ring with a suitable N-protecting group, for example benzyloxycarbonyl (CBZ) or *t*-butoxycarbonyl. In a similar manner to that described above in relation to conversion of compounds of Formula (IV) into compounds of Formula (II), an N-protected compound of Formula (IX) may be converted into a compound of Formula (III), in which G represents methoxymethyl and the N-atom is protected, by methylation. Deprotection of the N-atom by standard procedures results in the compound of Formula (III).

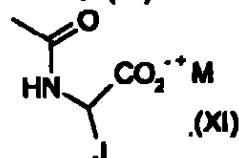
Compounds of Formula (IX) may be prepared by reduction of an optionally N-protected compound of Formula (VI) in which L represents CO₂Y and Y represents alkyl, using a suitable reducing agent, for example lithium borohydride or sodium borohydride, in a suitable solvent for example tetrahydrofuran. Deprotection of the N-atom by standard procedures results in the compound of Formula (IX). For example, when the N-protecting group is CBZ, deprotection may be achieved by catalytic hydrogenolysis. For example, when the N-protecting group is *t*-butoxycarbonyl, deprotection may be achieved by treatment with a suitable acid, for example trifluoroacetic acid.

Compounds of Formula (VII) may be prepared by reaction of a compound of Formula (X)



In which J is as defined above for Formula (Ia) and A'' is as defined above for Formula (III) with a compound of Formula E-CHO in which E is as defined above for Formula (Ia). In one aspect, where Formula (X) is provided as an acid addition salt, for example the hydrochloride, the reaction may be carried out in the presence of a suitable base, for example triethylamine. In a further aspect, the reaction may be carried out in the presence of a suitable drying agent, for example magnesium sulphate. The reaction may be carried out in a suitable solvent, for example dichloromethane or toluene.

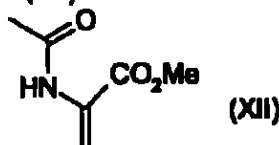
Compounds of Formula (X) in which J is 1H-pyrazol-1-ylmethyl, and A'' is hydroxy, may be prepared by treatment of a compound of (XI)



In which J is 1H-pyrazol-1-ylmethyl, and M is a metal cation, for example potassium, with a suitable acid, for example 10% aqueous hydrochloric acid, in the presence of Amberlyst 120 (H⁺).

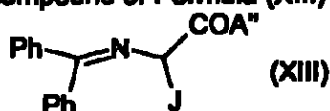
5 Compounds of Formula (X) in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl or 1H-pyrazol-1-ylmethyl, and A'' is an alkoxy, benzyloxy or tri-(C₁₋₄alkyl)-silyloxy group, may be prepared by treatment of a compound of Formula (X) in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl or 1H-pyrazol-1-ylmethyl, and A'' is hydroxy, by conventional esterification or protecting group procedures. For example, a compound of Formula (X) in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl or 1H-pyrazol-1-ylmethyl, and A'' is *tert*-butoxy may be prepared by treatment of a
10 compound of Formula (X) in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl or 1H-pyrazol-1-ylmethyl, and A'' is hydroxy, with an appropriate *tert*-butyl transfer agent, such as *tert*-butylacetate in the presence of a suitable acid catalyst, such as 70% aqueous perchloric acid. In one aspect, the thus-formed free base compound of Formula (X) in which A'' is an alkoxy,
15 benzyloxy or tri-(C₁₋₄alkyl)-silyloxy group, may be converted to a suitable salt, for example the hydrochloride salt, by treatment with a suitable acid, for example hydrochloric acid in dioxane.

20 Compounds of Formula (XI) in which J is 1H-pyrazol-1-ylmethyl, may be prepared by reaction of a compound of Formula (XII)



with 1H-pyrazole, in the presence of a suitable base, for example potassium carbonate when M is potassium, and in the presence of a suitable solvent, such as aqueous acetonitrile. Preferably the reaction is carried out at a temperature in the range 50-70°C, suitably 60°C.

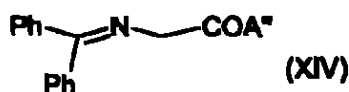
Compounds of Formula (X) in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl or 1,2-thiazol-3-ylmethyl and A" is an alkoxy, benzyloxy or tri-(C₄alkyl)-silyloxy group, may be prepared by treatment of a compound of Formula (XIII)



in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl or 1,2-thiazol-3-ylmethyl and A' is an alkoxy, benzyloxy or tri-(C₁₋₄alkyl)-silyloxy group with an acid, for example 15% aqueous citric acid. Preferably, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example THF and/or water.

Compounds of Formula (XIII) may be prepared by reaction of a compound of Formula (XIV)

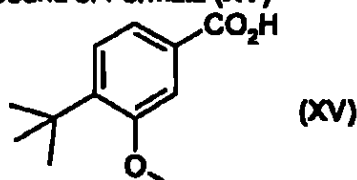
22



In which A'' is an alkoxy, benzyloxy or tri-(C₁₋₄alkyl)-silyloxy group with a compound of Formula J-hal in which J is 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl or 1,2-thiazol-3-ylmethyl, and hal is a halo atom, preferably chloro or bromo. Preferably, the reaction is carried out in the presence of a suitable base such as potassium *t*-butoxide. Preferably, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example THF. The reaction may be carried out in the presence of a suitable catalyst, for example lithium iodide. Preferably the reaction is carried out at a temperature in the range -10°C to room temperature, suitably at 0°C.

10

The compound of Formula D-C(O)-hal in which D is 3-methoxy-4-*tert*-butylphenyl may be prepared by reaction of a compound of Formula (XV)



with a suitable acid halide forming reagent, for example oxalyl chloride or thionyl chloride. In one aspect, the reaction is carried out in the presence of a suitable catalyst, for example dimethylformamide or diethylformamide. Optionally, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example dichloromethane, at a temperature in the range 0 to 50°C, for example 20 to 30°C. In an alternative aspect, the reaction is carried out using thionyl chloride under reflux.

20

Compounds of Formula (VIII), (XII), (XIV), (XV), J-hal and E-CHO are known in the art, commercially available, or may be prepared by standard literature procedures.

Compounds of Formula (Ia) in which A is an ester may be prepared by esterification of a compound of Formula (Ia) in which A is hydroxy by standard literature procedures for esterification.

It will be appreciated that compounds of Formula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) and/or (IX) which exist as diastereoisomers may optionally be separated by techniques well known in the art, for example by column chromatography.

It will also be appreciated that the present invention provides a method for the interconversion of C(4)-epimers of a compound of formula (V) or (VI) in which L represents CHO or CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl, and A'', E, and J are as defined above for formula (III). For example the *rel*-(2R, 4S, 5R)-diastereoisomer of a compound of formula (V) and/or (VI) may be converted into the *rel*-(2R, 4R, 5R)-diastereoisomer where appropriate. Such epimerisation of these *rel*-(4S, 5R)-

29

diastereoisomers into the corresponding *rel*-(4R, 5R)-diastereoisomers may be accomplished by treatment of a compound of formula (V) and/or (VI) with a suitable base, in the presence of a suitable solvent. For example the conversion of the *rel*-(4S, 5R)-diastereoisomer of a compound of Formula (V) when L represents CO₂Me into the *rel*-(4R, 5R)-diastereoisomer may be accomplished by treatment of the *rel*-(4S, 5R)-diastereoisomer with a suitable base, such as sodium methoxide, in the presence of a suitable solvent, such as methanol.

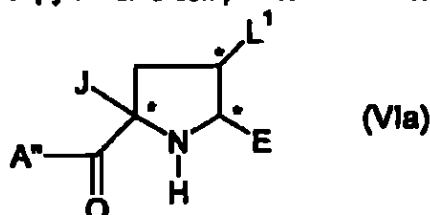
It will be appreciated that racemic compounds of Formula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) and/or (IX) may be optionally resolved into their individual enantiomers. Such resolutions may conveniently be accomplished by standard methods known in the art. For example, a racemic compound of Formula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) and/or (IX) may be resolved by chiral preparative HPLC. Alternatively, racemic compounds of Formula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) and/or (IX) which contain an appropriate acidic or basic group, such as a carboxylic acid group or amine group may be resolved by standard diastereoisomeric salt formation with a chiral base or acid reagent respectively as appropriate. Such techniques are well established in the art. For example, a racemic compound of Formula (VI) where L is CO₂Me may be resolved by treatment with a chiral acid such as (R)-(-)-1,1'-binaphthyl-2,2'-diyl-hydrogen phosphate, in a suitable solvent or mixture thereof, for example dichloromethane, isopropanol, isopropyl acetate and/or acetonitrile. In one aspect a mixture of dichloromethane and isopropyl acetate is used as solvent. The enantiomer of Formula (VI) may then be obtained by treating the salt with a suitable base, for example triethylamine, in a suitable solvent, for example methyl *tert*-butyl ether. Individual enantiomers of Formula (II), (III), (IV), (V), (VI) and/or (IX) may then be progressed to an enantiomeric compound of Formula (Ia) by the chemistry described above in respect of racemic compounds.

It will also be appreciated that individual enantiomeric compounds of Formula (III), (VI) and/or (IX) may be prepared by general methods of asymmetric synthesis using, where appropriate, chiral auxiliaries or chiral catalytic reagents and additionally performing any suitable functional group interconversion step as hereinbefore described, including the addition or removal of any such chiral auxiliary. Such general methods of asymmetric synthesis are well known in the art and include, but are not restricted to, those described in "Asymmetric Synthesis," Academic Press, 1984 and/or "Chiral Auxiliaries and Ligands in Asymmetric Synthesis", Wiley, 1995. For example, suitable general chiral auxiliaries include chiral alcohols such as menthol or 1-phenylethanol; chiral oxazolidinones such as 4-benzyloxazolidin-2-one or 4-isopropylloxazolidin-2-one; chiral sultams such as camphor sultam; or chiral amines such as 1-phenylethylamine or 2-amino-2-phenylethanol. Suitable general chiral catalytic reagents include chiral basic amines and chiral ligands such as N-methylephedrine, 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-propanol, 3-(dimethylamino)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 3,4-bis(diphenylphosphanyl)-1-(phenylmethyl)-pyrrolidine, chinchonine, chinchonidine, sparteine, hydroquinine or quinine, BINAP or chiral bis(oxazoline) (BOX) ligands and derivatives, optionally in the presence of a metal

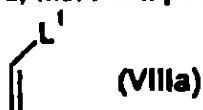
2A

salt, for example M_mX_x , where M is silver, cobalt, zinc, titanium, magnesium, or manganese; and X is halide (for example chloride or bromide), acetate, trifluoroacetate, p-toluenesulfonate, trifluoromethylsulfonate, hexafluorophosphate or nitrate, and m and x are 1, 2, 3 or 4, and optionally in the presence of a base, for example triethylamine. All of these chiral auxiliaries or chiral catalytic reagents are well described in the art. General illustrative examples of the preparation of various chiral pyrrolidines by asymmetric synthesis using chiral auxiliaries or chiral catalytic reagents include, but are not limited to, those described in *Angew. Chem. Int. Ed.*, (2002), 41: 4238; *Chem. Rev.*, (1998), 98: 863; *J. Am. Chem. Soc.*, (2002), 124: 13400; *J. Am. Chem. Soc.*, (2003), 125: 10175; *Org. Lett.*, (2003), 5, 5043; *Tetrahedron*, (1995), 51: 273; *Tetrahedron: Asymm.*, (1995), 6: 2475; *Tetrahedron: Asymm.*, (2001), 12: 1977; *Tetrahedron: Asymm.*, (2002), 13: 2099 and *Tet. Lett.*, (1991), 41: 5817.

In a particular aspect, a chiral pyrrolidine compound of Formula (VIa)



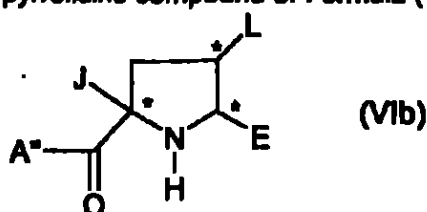
In which L^1 represents CO_2Y or CO_2Y^1 wherein Y represents hydrogen or alkyl, Y^1 represents a chiral auxiliary, and A'' , E, and J are as defined above for Formula (VI), and * denotes an enantioenriched chiral centre can be prepared by reaction of a compound of Formula (VII), as hereinbefore defined, with a compound of Formula (VIIIa)



In which L^1 represents a chiral ester group CO_2Y^1 wherein Y^1 represents a chiral auxiliary and thereafter optionally carrying out any conversion of CO_2Y^1 into CO_2Y by standard methods for removal of chiral auxiliaries. Such chiral ester CO_2Y^1 may be derived from a chiral alcohol Y^1OH , for example menthol, by standard esterification techniques. Preferably, the reaction of a compound of Formula (VII) with a compound of Formula (VIIIa) is carried out in a suitable solvent, for example THF or acetonitrile, optionally in the presence of a Lewis acid catalyst, such as lithium bromide or silver acetate, and a base, such as triethylamine, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) or tetramethyl guanidine. Alternatively, the reaction is carried out in a suitable solvent, for example THF or acetonitrile, in the presence of an acid, such as acetic acid, or the reaction may be carried out by heating compounds of Formula (VII) and (VIIIa) in a suitable solvent, for example toluene, xylene or acetonitrile in the absence of a catalyst. The preparation of compounds analogous to those of Formula (VIa) and (VIIIa) is described in *Tetrahedron: Asymm.*, (1995), 6: 2475.

25

In a further aspect, a chiral pyrrolidine compound of Formula (Vib)



In which L represents CO₂Y wherein Y represents hydrogen or alkyl, and A'', E, and J are as defined above for Formula (VI), and * denotes an enantioenriched chiral centre can be prepared by reaction of a compound of Formula (VII) with a compound of Formula (VIII) as herein before defined, under asymmetric reaction conditions. It will be appreciated by those skilled in the art that such asymmetric reaction conditions may be afforded by, for example, the inclusion in the reaction mixture of a chiral catalytic reagent as herein before defined.

- 5
- 10 In one aspect, the reaction is carried out in the presence of a suitable chiral catalytic reagent, for example (-)-N-methylephedrine, and a suitable metal salt, for example manganese (II) bromide, in a suitable solvent, for example acetonitrile. Preferably the reaction is carried out at a temperature in the range -30°C to room temperature, suitably at -20°C.
- 15 In an alternative aspect, the reaction is carried out in the presence of a suitable chiral catalytic reagent, for example (S)-(-)-2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl (S-BINAP), and a suitable metal salt, for example silver acetate, in the presence of a suitable base, for example diisopropylethylamine, in a suitable solvent, for example acetonitrile optionally co-solvated with toluene. Preferably the reaction is carried out at a temperature
- 20 in the range -15°C to room temperature, suitably at -5°C.

Optionally, the major chiral diastereoisomer of a compound of Formula (Via) or Formula (Vib) arising from such an asymmetric reaction may be further enantioenriched by conventional purification techniques well known in the art, for example by

- 25 chromatography, or by fractional crystallisation. A favourable crystallisation method is the fractional crystallisation of a salt of the major chiral diastereoisomer, for example the hydrochloride salt or the (R)-(-)-1,1'-binaphthyl-2,2'-diyl-hydrogen phosphate salt.
- 30 The hydrochloride salt of a compound of Formula (Via) or Formula (Vib) may be prepared by treating a compound of Formula (Via) or Formula (Vib) with anhydrous hydrogen chloride in a suitable solvent, for example diethyl ether. Preferably the reaction is carried out at a temperature in the range -10 to 10°C.

The (R)-(-)-1,1'-binaphthyl-2,2'-diyl-hydrogen phosphate salt of a compound of Formula (Via) or Formula (Vib) may be prepared as herein before described for the resolution of a racemic compound of Formula (VI).

- 35
- Optional removal of a chiral auxiliary from a group in which L¹ represents CO₂Y¹ to afford a group in which L¹ represents CO₂Y is readily accomplished by standard methods, for

26

example treatment with a hydrolytic reagent such as sodium hydroxide or an alkoxide such as sodium methoxide as appropriate, in a suitable solvent such as methanol.

5 Optionally, a chiral compound of Formula (VIa) or Formula (VIb) may be converted into a chiral compound of Formula (IX) in which G' represents hydroxyalkyl, and A'', E, and J are as defined above for Formula (III) by treatment with suitable reagents for accomplishing the functional group interconversion of the group L or L' into group G'. For example a compound of Formula (VIa) in which L' represents CO₂Y' and Y' is as defined above may be treated with a suitable reducing agent, for example lithium aluminium hydride, in a
10 suitable solvent, for example tetrahydrofuran.

Optionally, a chiral compound of Formula (VIa) or Formula (VIb) may be converted into a chiral compound of Formula (IV) in which G' represents hydroxyalkyl, by first acylating the pyrrolidine nitrogen atom as described above for the transformation of a compound of
15 Formula (VI) into a compound of Formula (V) and then subsequently by treatment with suitable reagents for accomplishing the functional group interconversion of the group L or L' into group G' as described above for the transformation of a compound of Formula (VIa) or Formula (VIb) into a chiral compound of Formula (IX).

20 It will be appreciated that, with suitable additional conversion steps as described above, chiral compounds of Formula (Ia), (II), (IV) and/or (V) may be prepared from chiral compounds of Formula (III), (VI) and (IX).

25 With appropriate manipulation and protection of any chemical functionality, synthesis of compounds of Formula (I) is accomplished by methods analogous to those above and to those described in the Experimental section. Suitable protecting groups can be found, but are not restricted to, those found in T W Greene and P G M Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis', 3rd Ed (1999), J Wiley and Sons.

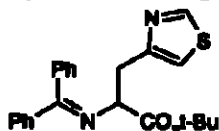
30 EXAMPLES

It will be appreciated by those skilled in the art that when solvents are used in reactions it is desirable to use anhydrous solvents. It is further desirable to conduct reactions under an inert atmosphere, for example under nitrogen or argon, where appropriate.

35

Intermediate 1

2-[N-(Diphenylmethylene)amino]-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester



Part A

2X

To a cooled (ice-bath) solution of 2-[N-(diphenylmethylene)amino]ethanoic acid, *tert*-butyl ester (*J. Org. Chem.*, 1982, 47, 2663; 42.3 g, 143 mmol) in dry THF (450 mL) under an atmosphere of nitrogen, was added a 1M solution of potassium *t*-butoxide in THF (146 mL) dropwise (dropping funnel) over 25 minutes. The mixture was allowed to stir for a further 45 minutes in the ice-bath.

Part B

Independently during this time, 4-(chloromethyl)-1,3-thiazole hydrochloride (25.5 g, 150 mmol) was freshly converted to the free base as follows: The hydrochloride was mixed with dichloromethane (500 mL) and washed with a 5% w/v aqueous sodium bicarbonate solution (375 mL). The organic layer was separated, dried over sodium sulphate and carefully evaporated (rotary evaporator; 80 torr, water bath 25°C) to give the free base.

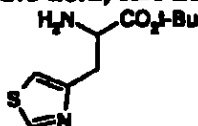
Part C

The 4-(chloromethyl)-1,3-thiazole (formed in Part B) was dissolved in THF (100 mL) and added dropwise (dropping funnel) over 30 minutes to the reaction mixture from Part A, keeping the reaction at ice-bath temperature. Solid anhydrous lithium iodide (1 g, 7.5 mmol) was added directly to the reaction mixture 5 minutes after addition of the alkylating agent had started. The dropping funnel was rinsed with further dry THF (50 mL) which was added to the reaction. The reaction was stirred at ice-bath temperature for 45 minutes, allowed to warm to room temperature over 30 minutes and was stirred at room temperature for an additional 2.5 hours before being partitioned between a mixture of saturated brine (400 mL), water (200 mL) and ethyl acetate (800 mL). The organic layer was separated and the aqueous layer re-extracted with further ethyl acetate (2 x 300 mL). The combined organic layers were dried over sodium sulphate and evaporated to give the title compound (57.8 g, crude) which was used without further purification.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.65 (d, 1H), 7.55-7.62 (m, 2H), 7.2-7.55 (m, 6H), 7.05 (d, 1H), 6.78-6.87 (m, 2H), 4.36-4.41 (m, 1H), 3.47-3.54 (m, 1H), 3.36-3.44 (m, 1H) and 1.44 (s, 9H).

Intermediate 2

2-Amino-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester



To a solution of 2-[N-(diphenylmethylene)amino]-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester (prepared in a similar manner to that described in Intermediate 1; 20 g) in THF (150 mL) under argon was added a solution of citric acid in water (15% w/v, 150 mL). The mixture was stirred at room temperature for 6 hours, left overnight and then the majority of the THF was removed under reduced pressure (rotary evaporator; water bath at 25°C) and 1 M aqueous hydrochloric acid (80 mL) added. The mixture was extracted with diethyl ether (2 x 200 mL) and the combined ether extracts back extracted with water (50 mL). The combined aqueous layers were extracted with further diethyl ether (100 mL). All of the ether layers were discarded. The aqueous layer was then carefully

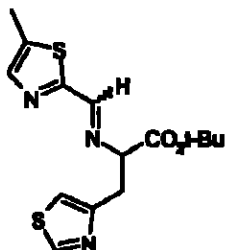
28

adjusted to pH 9.5 with potassium carbonate, brine (100 mL) was added and the mixture extracted with diethyl ether (4 x 200 mL). These combined ether layers were dried over sodium sulphate. Removal of the solvent under reduced pressure gave the title compound, an oil.

- 5 ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.77 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 3.77-3.85 (m, 1H), 3.22-3.32 (m, 1H), 3.02-3.13 (m, 1H) and 1.42 (s, 9H). Amine protons not observed.

Intermediate 3

- 10 **2-[[N-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)methylene]amino]-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, tert-butyl ester**

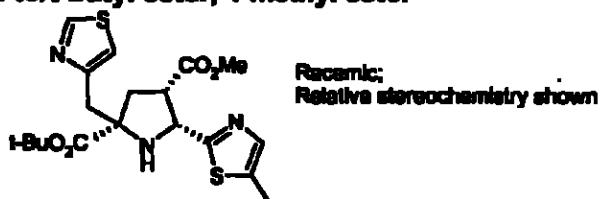


- 15 A mixture of 2-amino-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, tert-butyl ester (Intermediate 2; 2.90 g, 12.7 mmol), 5-methyl-1,3-thiazole-2-carboxaldehyde (1.62 g, 12.7 mmol) and magnesium sulfate (ca. 1g) in dichloromethane (70 mL) was stirred at room temperature for 18 hours. The reaction mixture was filtered, and the filtrate was evaporated to remove solvent, to give the title compound as an oil.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.75 (d, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.55(br, 1H), 7.02 (d, 1H), 4.45 (dd, 1H), 3.56 (dd, 1H), 3.33 (dd, 1H), 2.50 (br s, 3H) and 1.44 (s, 9H).

20 Intermediate 4

rac-(2R,4S,5R)-5-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-tert-butyl ester, 4-methyl ester



- 25 A solution of 2-[[N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)methylene]amino]-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, tert-butyl ester (Intermediate 3, 4.3g, 12.75 mmol) in tetrahydrofuran (125 mL) was stirred under nitrogen. Methyl acrylate (2.15g, 25 mmol), lithium bromide (2.20g, 25 mmol) and triethylamine (1.73 mL, 12.5 mmol) were added successively, and the resulting mixture was stirred for 18 hours. Saturated ammonium chloride solution (100 mL) was added and the mixture was extracted with ethyl acetate (2 x 150 mL). Combined
30 extracts were washed with water (100 mL) and saturated brine (100 mL), dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was purified by chromatography on

29

silica gel using ethyl acetate-cyclohexane (1:1 v/v then 2:1 v/v) as eluent to give the title compound as an oil.

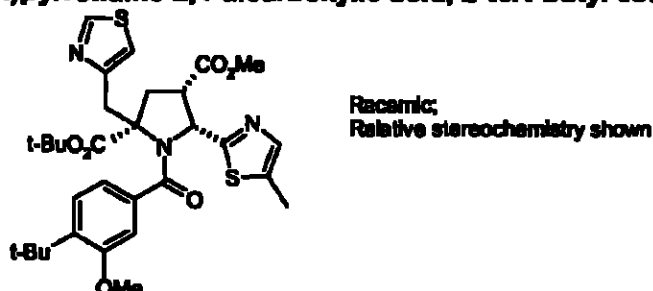
MS calcd for $(C_{18}H_{23}N_3O_4S_2 + H)^+$: 424.

MS found (electrospray): $(M+H)^+ = 424$

5

Intermediate 5

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester



- 10 A mixture of *rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)-pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester (Intermediate 4, 3.90g, 9.2 mmol) in dichloromethane (50 mL), 3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl chloride¹ (3.28g, 15.6 mmol) and triethylamine (3.52 mL) was stirred at room temperature under nitrogen for 3 days. The mixture was washed with water (100 mL) and brine (50 mL), dried by
- 15 passage through a hydrophobic frit and evaporated. The residue was purified by chromatography on silica gel using cyclohexane-ethyl acetate (3:1 v/v) as eluent to give the title compound as a foam.

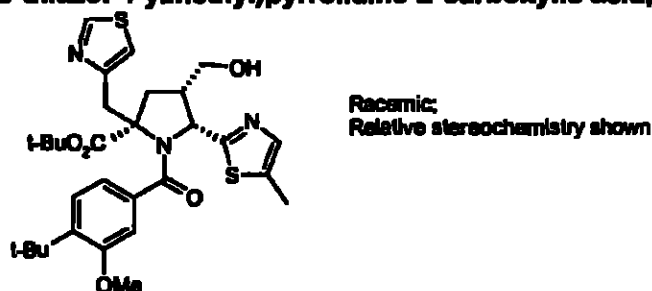
MS calcd for $(C_{31}H_{39}N_3O_6S_2 + H)^+$: 614

MS found (electrospray): $(M+H)^+ = 614$.

- 20 Ref. (1): Synthesised from 3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoic acid (*J.Org.Chem.*, 26, 1961, 1732-1737).

Intermediate 6

- 25 *rel*-(2R,4S,5R)-4-(Hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester



A solution of *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester (Intermediate 5, 4.80g, 7.82 mmol) in tetrahydrofuran (200 mL) was stirred under

30
30

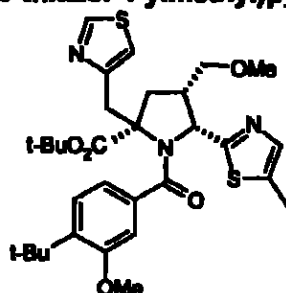
nitrogen and cooled to -78°C . A 1.0 M solution of lithium aluminium hydride in diethyl ether (8.1 mL) was added dropwise. When addition was complete the mixture was warmed to -45°C and held at that temperature for 3.5 hours. The mixture was quenched with 1M aqueous potassium carbonate solution (100 mL) and extracted with ethyl acetate (2 x 200 mL). Extracts were washed with water (100 mL) and brine (100 mL), dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was purified by chromatography on silica gel using cyclohexane-ethyl acetate (initially 2:1 v/v then 1:2 v/v) as eluent to give the title compound as a foam.

MS calcd for $(\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2 + \text{H})^+$: 586

10 MS found (electrospray): $(\text{M}+\text{H})^+ = 586$

Intermediate 7

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester



Recemic:
Relative stereochemistry shown

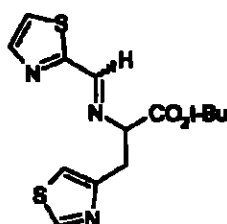
15 A solution of *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester (Intermediate 6, 0.585g, 1 mmol) in *N,N*-dimethylformamide (10 mL) was stirred under nitrogen and cooled to -10°C . A 60% dispersion of sodium hydride in mineral oil (69 mg, 1.725 mmol) was added and the resulting mixture was stirred below 0°C for 30 min. Iodomethane (0.425 mL) was added and the mixture was stirred for a further 4 hours, maintaining the temperature of the reaction mixture between 0°C and 20°C . The mixture was quenched with methanol (10 mL) and evaporated. The residue was partitioned between water (50 mL) and ethyl acetate (100 mL). The organic layer was collected, washed with water and brine, dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was purified by chromatography on silica gel using cyclohexane-ethyl acetate (initially 2:1 v/v then 1:1 v/v) as eluent to give the title compound as a foam.

MS calcd for $(\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}_2 + \text{H})^+$: 600

MS found (electrospray): $(\text{M}+\text{H})^+ = 600$

Intermediate 8

2-[N-(1,3-Thiazol-2-ylmethylene)amino]-3-(1,3-thiazol-4-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester

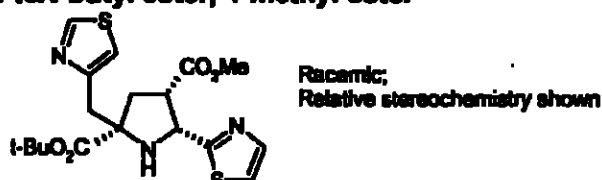


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 3, using 1,3-thiazole-2-carboxaldehyde in place of 5-methyl-1,3-thiazole-2-carboxaldehyde.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.75 (d, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.43 (dd, 1H), 7.03 (d, 1H), 4.50 (dd, 1H), 3.58 (dd, 1H), 3.34 (dd, 1H) and 1.45 (s, 9H).

Intermediate 9

rel-(2R,4S,5R)-5-(1,3-Thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester



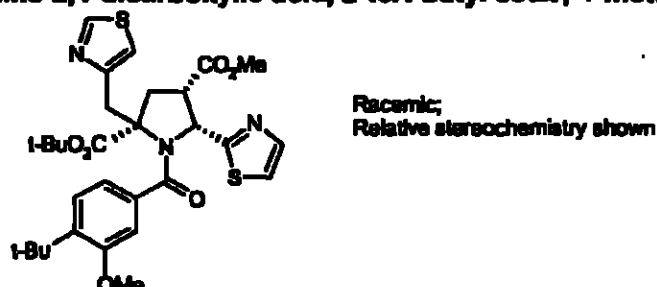
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 4, using Intermediate 8 in place of Intermediate 3. The mixture was cooled to 0°C prior to addition of methyl acrylate, and allowed to warm to RT before quenching.

MS calcd for (C₁₈H₂₃N₃O₄S₂ + H)⁺: 410

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 410

Intermediate 10

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester



The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 5, using Intermediate 9 in place of Intermediate 4. Cyclohexane – ethyl acetate (gradient elution from 50:1 to 1:1) was used as the eluent for chromatography.

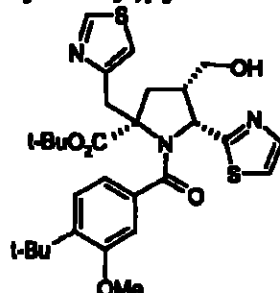
MS calcd for (C₃₀H₃₇N₃O₆S₂ + H)⁺: 600

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 600

Intermediate 11

32

***rel*-(2R,4S,5R)-4-(Hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**



Racemic;
Relative stereochemistry shown

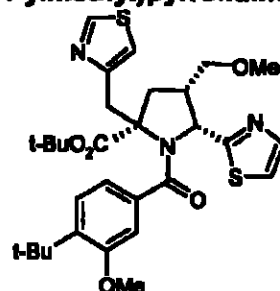
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 6, using Intermediate 10 in place of Intermediate 5. Cyclohexane – ethyl acetate (gradient elution from 50:1 to 2:3) was used as the eluent for chromatography.

MS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₅S₂ + H)⁺: 572

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 572

10 **Intermediate 12**

***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**



Racemic;
Relative stereochemistry shown

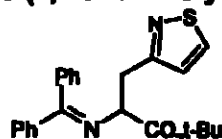
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 7, using Intermediate 11 in place of Intermediate 6. Cyclohexane – ethyl acetate (gradient elution from 50:1 to 1:1) was used as the eluent for chromatography.

MS calcd for (C₃₀H₃₉N₃O₆S₂ + H)⁺: 586

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 586

20 **Intermediate 13**

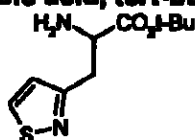
2-[N-(Diphenylmethylene)amino]-3-(1,2-thiazol-3-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester



The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 1, using 3-(bromomethyl)-1,2-thiazole in place of 4-(chloromethyl)-1,3-thiazole.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.51 (d, 1H), 7.61-7.18 (m, 8H), 7.08 (dd, 1H), 6.83 (m, 2H), 4.38 (dd, 1H), 3.48 (d, 2H) and 1.43 (s, 9H).

23

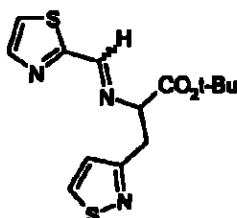
Intermediate 14**2-Amino-3-(1,2-thiazol-3-yl)propanoic acid, tert-butyl ester**

The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 2, using Intermediate 13 in place of Intermediate 1.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.60 (d, 1H), 7.13 (d, 1H), 3.84 (dd, 1H), 3.29 (dd, 1H), 3.15 (dd, 1H) and 1.43 (s, 9H). Amine protons not seen.

Intermediate 15

2-[N-(1,3-Thiazol-2-ylmethylene)amino]-3-(1,2-thiazol-3-yl)propanoic acid, tert-butyl ester

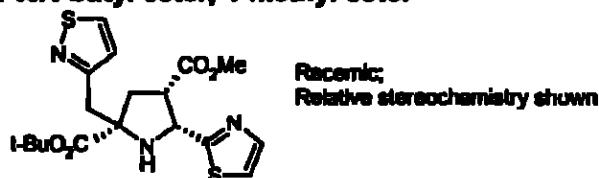


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 3, using Intermediate 14 in place of Intermediate 2, and 1,3-thiazole-2-carboxaldehyde in place of 5-methyl-1,3-thiazole-2-carboxaldehyde. The reaction was heated under reflux for 1.5 hours.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.54 (d, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.44 (dd, 1H), 7.10 (d, 1H), 4.54 (dd, 1H), 3.60 (dd, 1H), 3.42 (dd, 1H) and 1.43 (s, 9H).

Intermediate 16

re-(2*R*,4*S*,5*R*)-2-(1,2-Thiazol-3-ylmethyl)-5-(1,3-Thiazol-2-yl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester

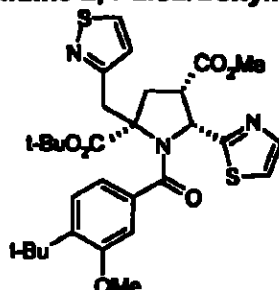


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 4, using Intermediate 15 in place of Intermediate 3. Cyclohexane – ethyl acetate (3:2 v/v) was used as the eluent for chromatography, followed by evaporation of the solvent to provide the title compound as a foam.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.58 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.24 (d, 1H), 7.22 (d, 1H), 4.85 (d, 1H), 3.46 (s, 3H), 3.34 (d, 1H), 3.28-3.22 (m, 1H), 3.20 (d, 1H), 2.85 (dd, 1H), 2.31 (dd, 1H) and 1.43 (s, 9H). Amine proton not seen.

Intermediate 17

***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**

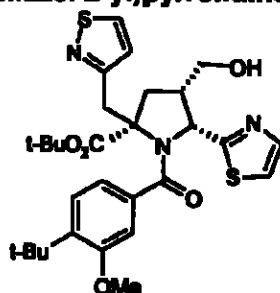


Racemic;
Relative stereochemistry shown

- 5 The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 5, using Intermediate 16 in place of Intermediate 4. After the brine wash, saturated aqueous sodium bicarbonate was added with stirring for 25 mins. Cyclohexane – ethyl acetate (4:1 v/v) was used as the eluent for chromatography.
MS calcd for (C₃₀H₃₇N₃O₅S₂ + H)⁺: 600
- 10 MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 600

Intermediate 18

***rel*-(2R,4S,5R)-4-(Hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**

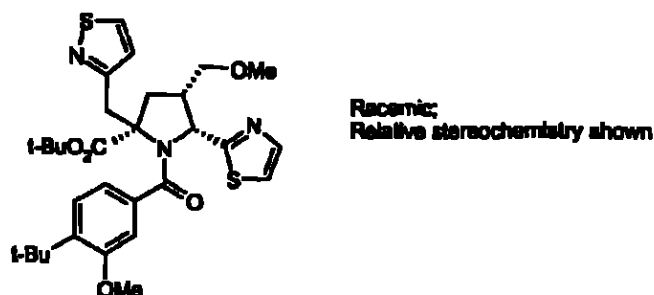


Racemic;
Relative stereochemistry shown

- 15 The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 6, using Intermediate 17 in place of Intermediate 5 and ammonium chloride in place of aqueous potassium carbonate.
MS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₅S₂ + H)⁺: 572
- 20 MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 572

Intermediate 19

***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**

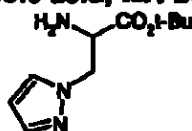


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 7, using Intermediate 18 in place of Intermediate 6.

- ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.66 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.10 (d, 1H), 6.71 (d, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.17 (d, 1H), 4.18 (d, 1H), 3.61 (d, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.76 (dd, 1H), 2.66 (dd, 1H), 2.45 (dd, 1H), 2.34 (t, 1H), 2.02-1.91 (m, 1H), 1.64 (s, 9H) and 1.29 (s, 9H).

Intermediate 20

- 10 **2-Amino-3-(1H-pyrazol-1-yl)propanoic acid, tert-butyl ester**

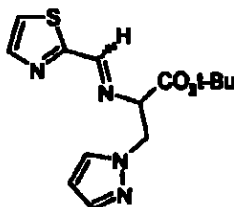


- To a stirred suspension of 2-amino-3-(1H-pyrazol-1-yl)propanoic acid (10.2g, 65.9 mmol) in tert-butyl acetate (400 mL) was added a solution of 70% aqueous perchloric acid (15.7 mL). The mixture was allowed to stir at room temperature for 30 minutes and was then allowed to stand for 20 hours. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate and then neutralised using a combination of saturated aqueous sodium bicarbonate and solid sodium bicarbonate. The aqueous phase was separated off and extracted with ethyl acetate. The organic phases were combined, dried over sodium sulfate and evaporated to give the title compound as an oil.

- 20 MS calcd for (C₁₀H₁₇N₃O₂ + H)⁺: 212
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 212.

Intermediate 21

- 25 **2-[N-(1,3-Thiazol-2-ylmethylene)amino]-3-(1H-pyrazol-1-yl)propanoic acid, tert-butyl ester**



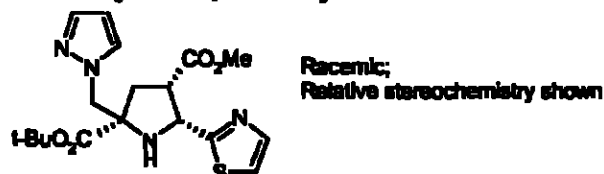
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 3, using 1,3-thiazole-2-carboxaldehyde in place of 5-methyl-1,3-thiazole-2-carboxaldehyde and using Intermediate 20 in place of Intermediate 2.

36

^1H NMR (CDCl_3): δ 8.09 (s, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.33 (d, 1H), 6.12 (t, 1H), 4.78 (dd, 1H), 4.50 (dd, 2H), 1.46 (s, 9H).

Intermediate 22

- 5 ***rel*-(2R,4S,5R)-2-(1*H*-Pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**



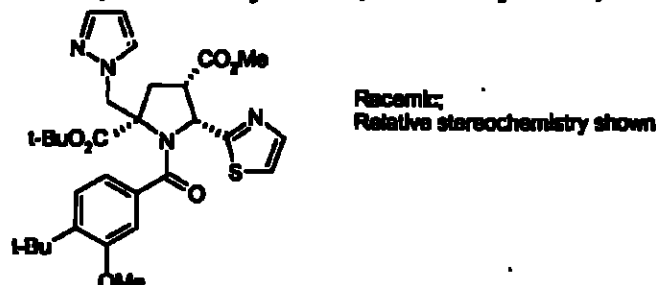
- The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 4, using Intermediate 21 in place of Intermediate 3. Ethyl acetate – cyclohexane (1:2 then 1:1 v/v) was used as the eluent for chromatography.

MS calcd for $(\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{S} + \text{H})^+$: 393

MS found (electrospray): $(\text{M} + \text{H})^+ = 393$

Intermediate 23

- 15 ***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**



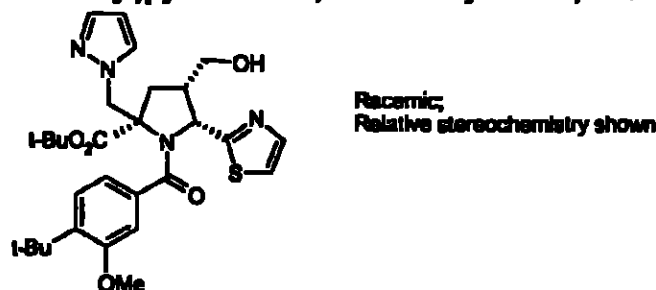
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 5, using Intermediate 22 in place of Intermediate 4.

- 20 MS calcd for $(\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6\text{S} + \text{H})^+$: 583

MS found (electrospray): $(\text{M} + \text{H})^+ = 583$

Intermediate 24

- 25 ***rel*-(2R,4S,5R)-4-Hydroxymethyl-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester**



37

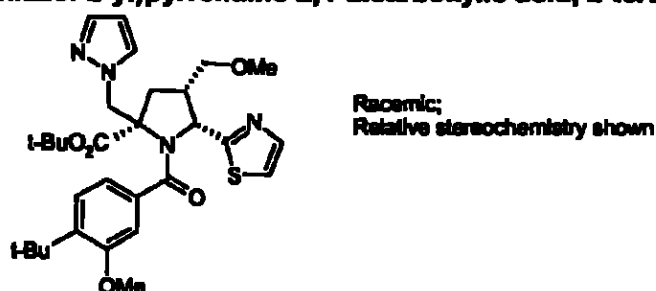
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 6, using Intermediate 23 in place of Intermediate 5. Cyclohexane – ethyl acetate (gradient elution from 50:1 to 1:2 v/v) was used as the eluent for chromatography.

MS calcd for (C₂₈H₃₉N₄O₅S + H)⁺: 555

5 MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 555

Intermediate 25

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester



10

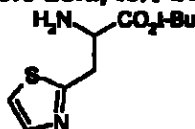
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 7, using Intermediate 24 in place of Intermediate 5. Cyclohexane – ethyl acetate (gradient elution from 50:1 to 3:2 v/v) was used as the eluent for chromatography.

MS calcd for (C₃₀H₄₀N₄O₆S + H)⁺: 569

15 MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 569

Intermediate 26

2-Amino-3-(1,3-thiazol-2-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester

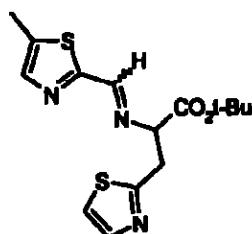


20 70% Aqueous perchloric acid (1.47 mL) was added dropwise to a stirred suspension of 2-amino-3-(1,3-thiazol-2-yl)propanoic acid (1.077g, 6.25 mmol) in *tert*-butyl acetate (34 mL). The suspension was stirred under nitrogen at room temperature overnight. Ethyl acetate (100 mL) was added and the mixture was basified to ~pH 8 with saturated sodium hydrogen carbonate solution and solid sodium hydrogen carbonate. The organic solution
25 was separated, dried over magnesium sulfate and concentrated to give the title compound as a colourless oil.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.75 (d, 1H), 7.27 (d, 1H), 3.88 (dd, 1H), 3.50 (dd, 1H), 3.32 (dd, 1H), 1.47 (s, 9H).

30 Intermediate 27

2-[[N-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)methylene]amino]-3-(1,3-thiazol-2-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester

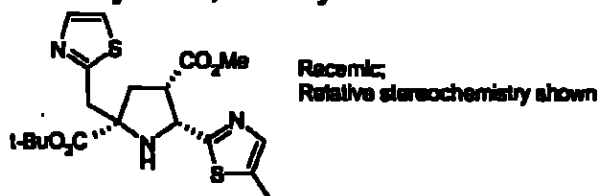


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 3, using Intermediate 26 in place of Intermediate 2.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.28 (s, 1H), 7.69 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.19 (d, 1H), 4.46 (m, 1H), 3.75 (dd, 1H), 3.58 (dd, 1H), 2.50 (s, 3H) and 1.42 (s, 9H).

Intermediate 28

rel-(2*R*,4*S*,5*R*)-5-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester



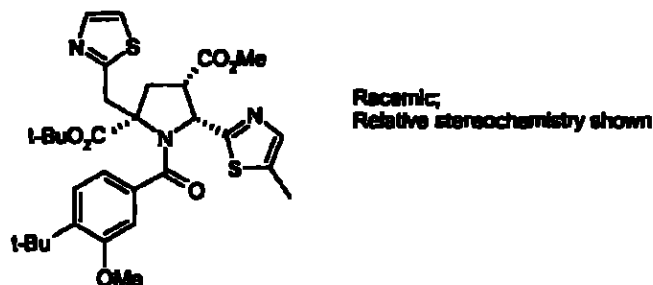
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 4, using Intermediate 27 in place of Intermediate 3.

MS calcd for (C₁₉H₂₀N₃O₄S₂ + H)⁺: 424

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 424

Intermediate 29

rel-(2*R*,4*S*,5*R*)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester



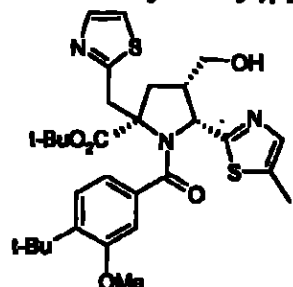
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 5, using Intermediate 28 in place of Intermediate 4.

MS calcd for (C₃₁H₂₉N₃O₆S₂ + H)⁺: 614

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 614

Intermediate 30

***rel*-(2R,4S,5R)-4-(Hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**



Racemic;
Relative stereochemistry shown

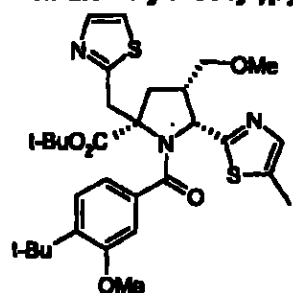
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 6, using Intermediate 29 in place of Intermediate 5.

MS calcd for (C₃₀H₃₈N₃O₆S₂ + H)⁺: 586

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 586

Intermediate 31

***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**



Racemic;
Relative stereochemistry shown

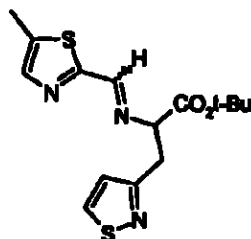
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 7, using Intermediate 30 in place of Intermediate 6.

MS calcd for (C₃₁H₄₁N₃O₈S₂ + H)⁺: 600

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 600

Intermediate 32

2-[[N-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)methylene]amino]-3-(1,2-thiazol-3-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester

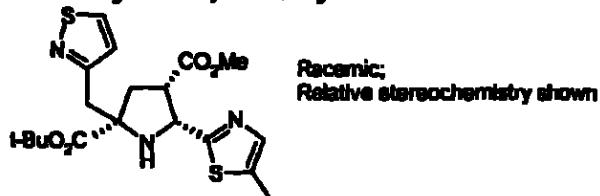


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 3, using Intermediate 14 in place of Intermediate 2.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.53 (d, 1H), 8.23 (d, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 4.50 (dd, 1H), 3.57 (dd, 1H), 3.39 (dd, 1H), 2.50 (d, 3H) and 1.44 (s, 9H).

Intermediate 33

- 5 ***rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**

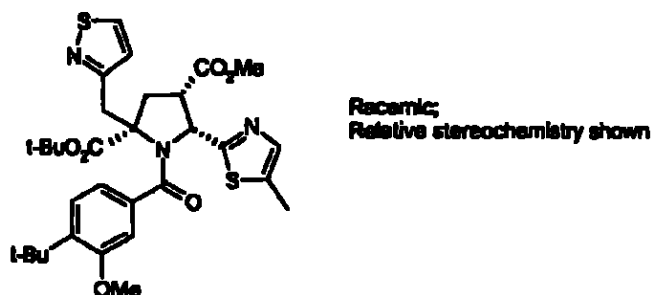


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 4, using Intermediate 32 in place of Intermediate 3.

- 10 MS calcd for (C₁₉H₂₅N₃O₄S₂ + H)⁺: 424
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 424

Intermediate 34

- 15 ***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**

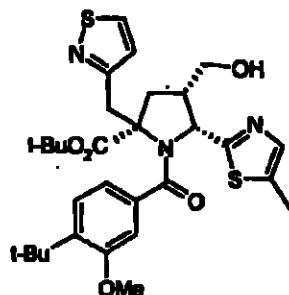


The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 5, using Intermediate 33 in place of Intermediate 4.

- 20 MS calcd for (C₃₁H₃₉N₃O₈S₂ + H)⁺: 614
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 614

Intermediate 35

- 25 ***rel*-(2R,4S,5R)-4-(Hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester**



Racemic;
Relative stereochemistry shown

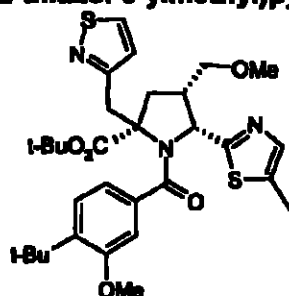
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 6, using Intermediate 34 in place of Intermediate 5.

MS calcd for $(C_{30}H_{38}N_3O_5S_2 + H)^+$: 586

5 MS found (electrospray): $(M+H)^+ = 586$

Intermediate 36

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester



Racemic;
Relative stereochemistry shown

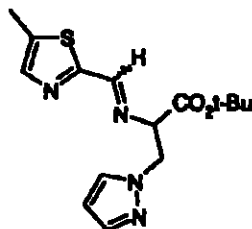
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 7, using Intermediate 35 in place of Intermediate 6.

MS calcd for $(C_{31}H_{41}N_3O_5S_2 + H)^+$: 600

MS found (electrospray): $(M+H)^+ = 600$

Intermediate 37

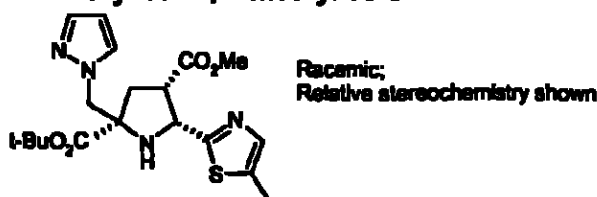
2-[[N-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)methylene]amino]-3-(1*H*-pyrazol-1-yl)propanoic acid, *tert*-butyl ester



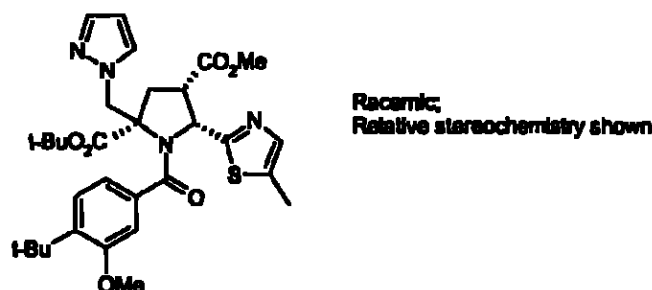
The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 3, using Intermediate 20 in place of Intermediate 2.

^1H NMR ($CDCl_3$): δ 7.98 (s, 1H), 7.56 (bd, 1H), 7.50 (bd, 1H), 7.34 (d, 1H), 6.13 (t, 1H), 4.82-4.73 (m, 1H), 4.50-4.43 (m, 2H), 2.51 (s, 3H) and 1.47 (s, 9H).

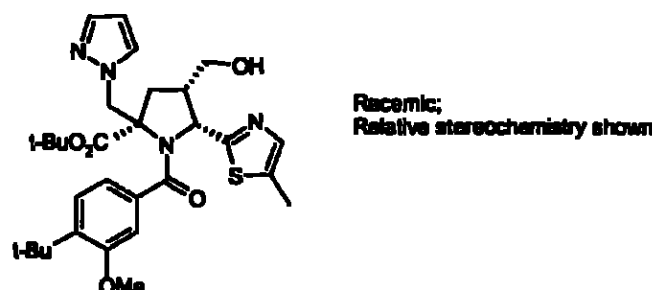
42

Intermediate 38***rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-Methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**

- 5 The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 4, using Intermediate 37 in place of Intermediate 3.

MS calcd for (C₁₉H₂₃N₄O₄S + H)⁺: 407MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 40710 **Intermediate 39*****rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester, 4-methyl ester**

- 15 The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 5, using Intermediate 38 in place of Intermediate 4.

MS calcd for (C₃₁H₄₀N₄O₆S + H)⁺: 597MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 59720 **Intermediate 40*****rel*-(2R,4S,5R)-4-(Hydroxymethyl)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester**

The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 6, using Intermediate 39 in place of Intermediate 5.

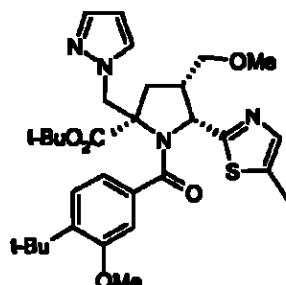
MS calcd for (C₂₉H₂₈N₄O₅S + H)⁺: 569

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 569

5

Intermediate 41

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester



Racemic;
Relative stereochemistry shown

10

The title compound was prepared in a similar manner to Intermediate 7, using Intermediate 40 in place of Intermediate 6.

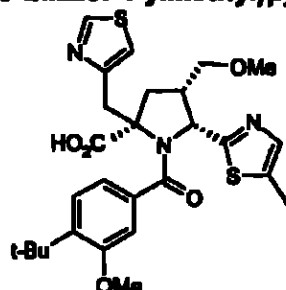
MS calcd for (C₃₁H₄₂N₄O₅S + H)⁺: 583

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 583

15

Example 1

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



Racemic;
Relative stereochemistry shown

20 A solution of *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, *tert*-butyl ester (Intermediate 7, 0.205g, 0.34 mmol) in dichloromethane (3 mL) was treated with trifluoroacetic acid (3 mL) at room temperature for 4 hours. The mixture was evaporated and the residue was triturated with diethyl ether to give the title compound as a white solid.

25

MS calcd for (C₂₇H₃₃N₃O₅S₂ + H)⁺: 544

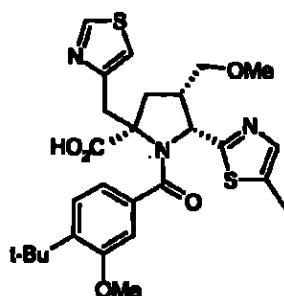
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 544

24

¹H NMR (CD₃OD): δ 9.09 (d, 1H), 8.31 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 6.79 (dd, 1H), 6.55 (d, 1H), 5.05 (d, 1H), 4.07 (d, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.55 (d, 1H), 2.98 (s, 3H), 2.95 (dd, 1H), 2.50 (t, 1H), 2.40 (dd, 1H), 2.36 (d, 3H), 2.13 (t, 1H) and 1.32 (s, 9H).

5 **Example 2**

Enantiomer A of *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



Chiral; Enantiomer A
Relative stereochemistry shown

- 10 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid (Example 1) was resolved by preparative chiral HPLC on a Chiralpak AD column using heptane-ethanol (75:25 v/v) containing 0.1% trifluoroacetic acid as eluent to give the first and second eluting enantiomers. The second eluting enantiomer was triturated with diethyl ether to give the title compound.

MS calcd for (C₂₇H₃₃N₃O₅S₂ + H)⁺: 544

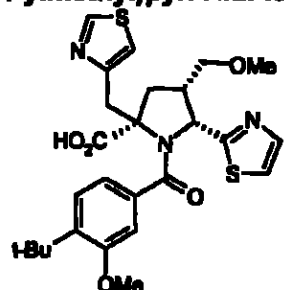
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 544

¹H NMR (CD₃OD): δ 9.09 (d, 1H), 8.31 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 6.79 (dd, 1H), 6.55 (d, 1H), 5.05 (d, 1H), 4.07 (d, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.55 (d, 1H), 2.98 (s, 3H), 2.95 (dd, 1H), 2.50 (t, 1H), 2.40 (dd, 1H), 2.36 (d, 3H), 2.13 (t, 1H) and 1.32 (s, 9H).

20

Example 3

***rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid**



Racemic;
Relative stereochemistry shown

25

This compound was prepared in a similar manner to Example 1, using Intermediate 12 in place of Intermediate 7 and was purified by column chromatography on silica gel eluting initially with cyclohexane-ethyl acetate (gradient elution from 5:2 to 2:3 v/v) followed by

further elution with dichloromethane, then dichloromethane-methanol (gradient elution from 80:1 to 19:1) to give the title compound.

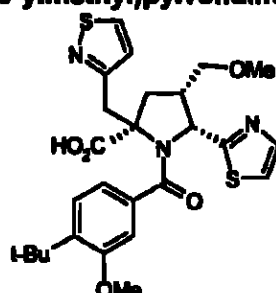
MS calcd for (C₂₈H₃₁N₃O₅S₂ + H)⁺: 530

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 530

- 5 ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.87(d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.25 (dd, 2H), 7.10 (d, 1H), 6.61 (dd, 1H), 6.40 (d, 1H), 5.18 (d, 1H), 4.22 (d, 1H), 3.70 (d, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.11 (dd, 1H), 3.01 (s, 3H), 2.48 (dd, 1H), 2.31 (m, 1H), 2.16 (m, 2H), 1.89 (br, 1H) and 1.30 (s, 9H).

Example 4

- 10 ***re*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid**



Recemic;
Relative stereochemistry shown

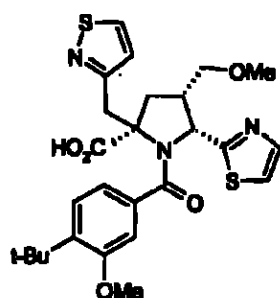
The compound was prepared in a similar manner to Example 1, using Intermediate 19 in neat trifluoroacetic acid in place of Intermediate 7 in trifluoroacetic acid and dichloromethane, and re-evaporating from dichloromethane in place of triturating with diethyl ether. Purification by reverse phase HPLC on a C₁₈ column, using a two-solvent gradient elution with (A) water containing formic acid (0.1%) and (B) acetonitrile-water (95:5 v/v) containing formic acid (0.05%) as the eluents, and analysis of the fractions by electrospray mass spectroscopy provided the title compound.

- 20 MS calcd for (C₂₈H₃₁N₃O₅S₂ + H)⁺: 530
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 530
¹H NMR (CDCl₃): δ 8.70 (1H, d), 7.78 (1H, d), 7.31 (1H, d), 7.27 (1H, d), 7.12 (1H, d), 6.63 (1H, dd), 6.45 (1H, d), 5.19 (1H, d), 4.22 (1H, d), 3.73 (1H, d), 3.64 (3H, s), 3.08 (1H, dd), 3.00 (3H, s), 2.42 (1H, dd), 2.31 (1H, t), 2.17 (1H, t), 2.04-1.94 (1H, m) and 1.29 (9H, s).
25 Acid proton not seen.

Example 5

***Enantiomer A* of *re*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid**

26



Chiral; Enantiomer A
Relative stereochemistry shown

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid (Example 4) was resolved by preparative chiral HPLC on a Chiralpak AD column using heptane-ethanol (85:15 v/v) containing 0.1% trifluoroacetic acid as eluent to give the first and second eluting enantiomers. The second eluting enantiomer was dissolved in dichloromethane, washed with sodium hydrogen carbonate solution; dried (hydrophobic frit) and solvent removed to give the title compound.

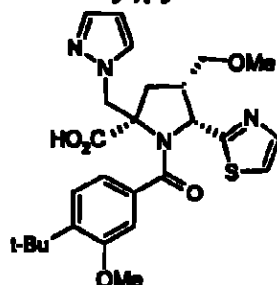
MS calcd for (C₂₈H₃₁N₃O₅S₂ + H)⁺: 530

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 530

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.70 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.27 (d, 1H), 7.12 (d, 1H), 6.63 (dd, 1H), 6.45 (d, 1H), 5.19 (d, 1H), 4.23 (d, 1H), 3.74 (d, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.08 (dd, 1H), 3.00 (s, 3H), 2.43 (dd, 1H), 2.31 (t, 1H), 2.17 (t, 1H), 2.06-1.94 (m, 1H), 1.29 (s, 9H). Acid proton not seen.

Example 6

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



Racemic;
Relative stereochemistry shown

The compound was prepared in a similar manner to Example 1, using Intermediate 25 in place of Intermediate 7. Purification by column chromatography on silica gel eluting initially with cyclohexane-ethyl acetate (gradient elution from 50:1 v/v to 1:9 v/v) followed by further elution with dichloromethane-methanol (9:1 v/v) gave the title compound.

MS calcd for (C₂₈H₃₂N₄O₅S + H)⁺: 513

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 513

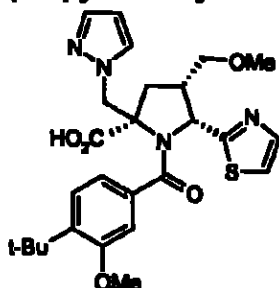
¹H NMR (CD₃OD): δ 7.81 (m, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.17 (d, 1H), 6.71 (dd, 1H), 6.62 (d, 1H), 6.42 (m, 1H), 5.20 (m, 2H), 4.83 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.91 (m, 1H), 2.45 (m, 2H), 2.14 (t, 1H), 1.49 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H).

47

Example 7

(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid

[Enantiomer A of *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid]



Chiral: Enantiomer A
Absolute stereochemistry shown
Stereochemistry determined by X-ray crystallography

Alternative Method A

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid (Example 6) was resolved by preparative chiral HPLC on a Sumichiral OA4900 column using heptane-ethanol (70:30 v/v) containing 0.1% trifluoroacetic acid as eluent to give the first and second eluting enantiomers. The second eluting enantiomer was dissolved in dichloromethane, washed with water (x4), washed with brine, and then dried (sodium sulfate) and solvent removed to give the title compound.

MS calcd for (C₂₈H₃₂N₄O₅S + H)⁺: 513

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 513

¹H NMR (CD₃OD): δ 7.81 (m, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.17 (d, 1H), 6.70 (dd, 1H), 6.61 (d, 1H), 6.42 (m, 1H), 5.20 (m, 2H), 4.85 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.91 (m, 1H), 2.44 (m, 2H), 2.15 (t, 1H), 1.47 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H).

Alternative Method B**Part 1**

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxy-methyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester (prepared in a similar manner to that described in Intermediate 25; 1.95 g) was resolved by preparative chiral HPLC on a Chiralpak AD column using heptane-isopropanol (90:10 v/v) as eluent. Fractions containing the first eluting enantiomer (retention time 7.25 minutes) were dissolved in dichloromethane, washed with saturated aqueous sodium bicarbonate solution and the dichloromethane evaporated to afford *Enantiomer A* (0.76 g), used directly in Part 2, below. The slower eluting enantiomer (retention time 10 minutes) was not required further.

The chiral HPLC resolution was repeated in a similar manner using an additional aliquot of *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxy-methyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester (1.55 g), to afford an additional batch of the fast eluting *Enantiomer A* (0.55 g), used directly in Part 2, below.

Part 2

The two combined batches of *Enantiomer A* of *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxy-methyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-pyrrolidine-2-carboxylic acid, 2-*tert*-butyl ester (Part 1 above; combined 1.31 g, 2.32 mmol) were dissolved in trifluoroacetic acid (20 mL) and the resulting solution stirred at room temperature for 3 hours. The mixture was evaporated and the residue partitioned between dichloromethane and saturated aqueous sodium bicarbonate solution. The aqueous phase was removed using a hydrophobic frit and the organic solution evaporated to afford a gum. This was dissolved in diethyl ether in a stoppered flask and allowed to crystallize slowly overnight. The crystals were filtered, washed with a small quantity of diethyl ether and dried in vacuo to afford the title compound.

MS calcd for (C₂₈H₃₃N₄O₆S + H)⁺: 513

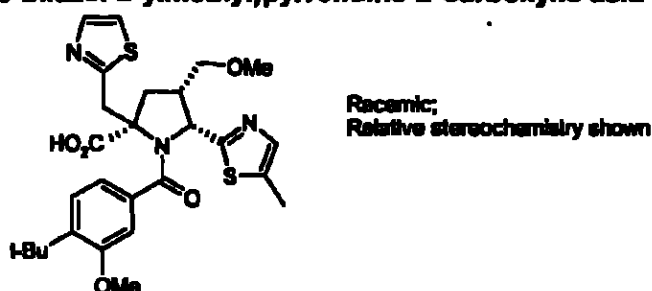
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 513

¹H NMR (CD₃OD): δ 7.83 (m, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.19 (d, 1H), 6.72 (dd, 1H), 6.63 (d, 1H), 6.45 (t, 1H), 5.21 (m, 2H), 4.86 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.94 (m, 1H), 2.44 (m, 2H), 2.16 (t, 1H), 1.48 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H).

The absolute stereochemistry of this compound was determined by X-ray crystallography and shown to be (2R,4S,5R), as drawn.

Example 8

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



The compound was prepared in a similar manner to Example 1, using Intermediate 31 in place of Intermediate 7. The impure product was dissolved in dichloromethane and washed with sodium hydrogen carbonate solution, dried (hydrophobic frit) and the solvent removed. The residue was triturated with diethyl ether to give the title compound.

MS calcd for (C₂₇H₃₃N₅O₆S₂ + H)⁺: 544

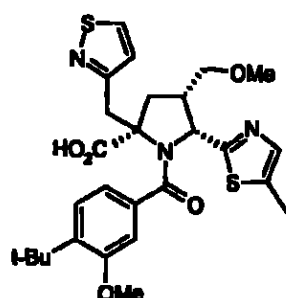
MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 544

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.85 (d, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 6.80 (dd, 1H), 6.43 (d, 1H), 5.08 (d, 1H), 4.34 (d, 1H), 3.95 (d, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.10 (dd, 1H), 3.01 (dd, 1H), 3.01 (s, 3H), 2.49 (dd, 1H), 2.43-2.33 (m, 4H), 2.13 (t, 1H), 1.92-1.80 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H).

Example 9

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid

29



Racemic;
Relative stereochemistry shown

The compound was prepared in a similar manner to Example 1, using Intermediate 36 in neat trifluoroacetic acid in place of Intermediate 7 in trifluoroacetic acid and dichloromethane. The impure product was purified by reverse phase HPLC on a C₁₈ column, using a two-solvent gradient elution with (A) water containing formic acid (0.1%) and (B) acetonitrile-water (95:5 v/v) containing formic acid (0.05%) as the eluents. Analysis of the fractions by electrospray mass spectroscopy provided the title compound.

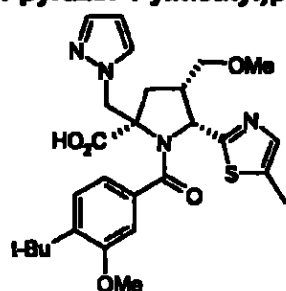
MS calcd for (C₂₇H₃₃N₃O₅S₂ + H)⁺: 544

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 544

¹H NMR (CDCl₃): δ 8.89 (d, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.14 (d, 1H), 6.66 (dd, 1H), 6.42 (d, 1H), 5.04 (d, 1H), 4.22 (d, 1H), 3.72 (d, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.08 (dd, 1H), 3.02 (s, 3H), 2.46-2.39 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.14 (t, 1H), 1.99-1.88 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H). Acid proton not seen

15 Example 10

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-tert-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



Racemic;
Relative stereochemistry shown

The compound was prepared in a similar manner to Example 1, using Intermediate 41 in place of Intermediate 7. The impure product was purified by reverse phase HPLC on a C₁₈ column, using a two-solvent gradient elution with (A) water containing formic acid (0.1%) and (B) acetonitrile-water (95:5 v/v) containing formic acid (0.05%) as the eluents. Analysis of the fractions by electrospray mass spectroscopy provided the title compound.

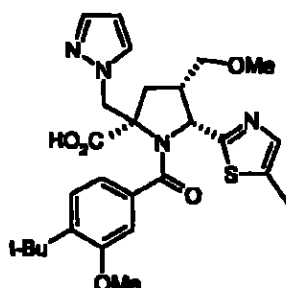
MS calcd for (C₂₇H₃₄N₄O₅S + H)⁺: 527

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 527

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.62 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.41 (d, 1H), 7.16 (d, 1H), 6.66 (dd, 1H), 6.41 (d, 1H), 6.38 (t, 1H), 5.31 (d, 1H), 5.03 (d, 1H), 4.92 (d, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.11 (dd, 1H), 3.04 (s, 3H), 2.54 (dd, 1H), 2.41 (t, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.11 (t, 1H), 1.84-1.73 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H). Acid proton not seen.

Example 11

Enantiomer A of *rel*-(2*R*,4*S*,5*R*)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



Chiral; Enantiomer A
Relative stereochemistry shown

rel-(2*R*,4*S*,5*R*)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1*H*-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid (Example 10) was resolved by preparative chiral HPLC on a Chiralpak AD column using heptane-ethanol (80:20 v/v) containing 0.1% trifluoroacetic acid as eluent to give the first and second eluting enantiomers. The second eluting enantiomer was dissolved in dichloromethane, washed with sodium hydrogen carbonate solution; dried (hydrophobic frit) and solvent removed to give the title compound.

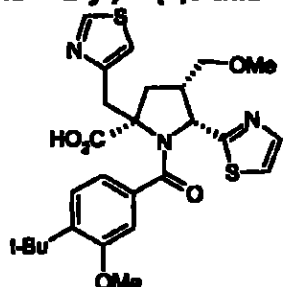
MS calcd for (C₂₇H₃₄N₄O₆S + H)⁺: 527

MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 527

¹H NMR (CDCl₃): δ 7.62 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.41 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 6.66 (dd, 1H), 6.40 (d, 1H), 6.38 (t, 1H), 5.31 (d, 1H), 5.03 (d, 1H), 4.92 (d, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.11 (dd, 1H), 3.04 (s, 3H), 2.54 (dd, 1H), 2.40 (t, 1H), 2.36 (d, 3H), 2.11 (t, 1H), 1.83-1.72 (m, 1H) and 1.31 (s, 9H). Acid proton not seen.

Example 12

Enantiomer A of *rel*-(2*R*,4*S*,5*R*)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid



Chiral; Enantiomer A
Relative stereochemistry shown

rel-(2*R*,4*S*,5*R*)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid (prepared in a similar manner to that described in Example 3; 0.530 g) was resolved by preparative chiral HPLC on a Sumichiral OA-4900 column, using heptane-ethanol (85:35 v/v) containing 0.1% trifluoroacetic acid as eluent to give the first and second eluting enantiomers. The second

51

eluting enantiomer was partitioned between dichloromethane and saturated aqueous sodium bicarbonate solution. The dichloromethane solution was separated using a hydrophobic frit and evaporated *in vacuo* to afford the title compound, a foam.

MS calcd for (C₂₈H₃₁N₃O₆S₂ + H)⁺: 530

5 MS found (electrospray): (M+H)⁺ = 530

¹H NMR (CDCl₃): δ 14.59 (1H, s), 8.88 (1H, s), 7.80 (1H, d), 7.29-7.28 (2H, partly obscured by chloroform signal), 7.12 (1H, d), 6.63 (1H, d), 6.42 (1H, s), 5.17 (1H, d), 4.24 (1H, d), 3.73 (1H, d), 3.63 (3H, s), 3.16-3.08 (1H, m), 3.01 (3H, s), 2.55-2.45 (1H, m), 2.36-2.26 (1H, m), 2.24-2.10 (2H, m) and 1.30 (9H, s).

10

The compounds according to the invention may be formulated for administration in any convenient way, and the invention therefore also includes within its scope pharmaceutical compositions for use in therapy, comprising a compound of formula (Ia) or a physiologically acceptable salt or solvate thereof in admixture with one or more

15

physiologically acceptable diluents or carriers.

The compounds of the present invention can be administered by different routes including intravenous, intraperitoneal, subcutaneous, intramuscular, oral, topical, transdermal, or transmucosal administration. For systemic administration, oral administration is preferred.

20

For oral administration, for example, the compounds can be formulated into conventional oral dosage forms such as capsules, tablets and liquid preparations such as syrups, elixirs and concentrated drops.

Alternatively, injection (parenteral administration) may be used, e.g., intramuscular, intravenous, intraperitoneal, and subcutaneous. For injection, the compounds of the invention are formulated in liquid solutions, preferably, in physiologically compatible buffers or solutions, such as saline solution, Hank's solution, or Ringer's solution. In addition, the compounds may be formulated in solid form and redissolved or suspended immediately prior to use. Lyophilized forms can also be produced.

25

30

Systemic administration can also be by transmucosal or transdermal means. For transmucosal or transdermal administration, penetrants appropriate to the barrier to be permeated are used in the formulation. Such penetrants are generally known in the art, and include, for example, for transmucosal administration, bile salts and fusidic acid derivatives. In addition, detergents may be used to facilitate permeation. Transmucosal administration, for example, may be through nasal sprays, rectal suppositories, or vaginal suppositories.

35

For topical administration, the compounds of the invention can be formulated into ointments, salves, gels, or creams, as is generally known in the art.

40

62

The amounts of various compounds to be administered can be determined by standard procedures taking into account factors such as the compound (IC_{50}) potency, (EC_{50}) efficacy, and the biological half-life (of the compound), the age, size and weight of the patient, and the disease or disorder associated with the patient. The importance of these
5 and other factors to be considered are known to those of ordinary skill in the art.

Amounts administered also depend on the routes of administration and the degree of oral bioavailability. For example, for compounds with low oral bioavailability, relatively higher doses will have to be administered. Oral administration is a preferred method of
10 administration of the present compounds.

Preferably the composition is in unit dosage form. For oral application, for example, a tablet, or capsule may be administered, for nasal application, a metered aerosol dose may be administered, for transdermal application, a topical formulation or patch may be
15 administered and for transmucosal delivery, a buccal patch may be administered. In each case, dosing is such that the patient may administer a single dose.

Each dosage unit for oral administration contains suitably from 0.01 to 500 mg/Kg, and preferably from 0.1 to 50 mg/Kg, of a compound of Formula (Ia) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, calculated as the free base. The daily dosage for parenteral,
20 nasal, oral inhalation, transmucosal or transdermal routes contains suitably from 0.01 mg to 100 mg/Kg, of a compound of Formula (Ia). A topical formulation contains suitably 0.01 to 5.0% of a compound of Formula (Ia). The active ingredient may be administered from 1 to 6 times per day, preferably once, sufficient to exhibit the desired activity, as is readily apparent to one skilled in the art.
25

Compositions of Formula (Ia) and their pharmaceutically acceptable salts which are active when given orally can be formulated as syrups, tablets, capsules and lozenges. A syrup formulation will generally consist of a suspension or solution of the compound or salt in a
30 liquid carrier for example, ethanol, peanut oil, olive oil, glycerine or water with a flavoring or coloring agent. Where the composition is in the form of a tablet, any pharmaceutical carrier routinely used for preparing solid formulations may be used. Examples of such carriers include magnesium stearate, terra alba, talc, gelatin, acacia, stearic acid, starch, lactose and sucrose. Where the composition is in the form of a capsule, any routine
35 encapsulation is suitable, for example using the aforementioned carriers in a hard gelatin capsule shell. Where the composition is in the form of a soft gelatin shell capsule any pharmaceutical carrier routinely used for preparing dispersions or suspensions may be considered, for example aqueous gums, celluloses, silicates or oils, and are incorporated in a soft gelatin capsule shell.
40

Typical parenteral compositions consist of a solution or suspension of a compound or salt in a sterile aqueous or non-aqueous carrier optionally containing a parenterally acceptable

53

oil, for example polyethylene glycol, polyvinylpyrrolidone, lecithin, arachis oil or sesame oil.

5 Typical compositions for inhalation are in the form of a solution, suspension or emulsion that may be administered as a dry powder or in the form of an aerosol using a conventional non-CFC propellant such as 1,1,1,2-tetrafluoroethane or 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropane.

10 A typical suppository formulation comprises a compound of Formula (Ia) or a pharmaceutically acceptable salt thereof which is active when administered in this way, with a binding and/or lubricating agent, for example polymeric glycols, gelatins, cocoa-butter or other low melting vegetable waxes or fats or their synthetic analogs.

15 Typical dermal and transdermal formulations comprise a conventional aqueous or non-aqueous vehicle, for example a cream, ointment, lotion or paste or are in the form of a medicated plaster, patch or membrane.

No unacceptable toxicological effects are expected when compounds of the present invention are administered in accordance with the present invention.

20

ASSAYS

The potential for chemical entities of the invention to inhibit NS5B wildtype HCV polymerase activity, genotype 1a and genotype 1b, may be demonstrated, for example, using the following *in vitro* assays:

25

In Vitro Detection of Inhibitors of HCV RNA-dependent RNA Polymerase Activity

Incorporation of [³³P]-GMP into RNA was followed by absorption of the biotin labelled RNA polymer by streptavidin containing SPA beads. A synthetic template consisting of biotinylated 13mer-oligoG hybridised to polyC was used as a homopolymer substrate.

30

a) Genotype 1a C-Terminally Truncated (delta21) Enzyme

HCV RNA Polymerase [Recombinant NS5B with C-terminal 21 amino acid deletion and C-terminal 6His-tag (Ferrari et al. *J. Virol.* 73(2), 1999, 1649. 'Characterization of soluble hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase expressed in *Escherichia coli*.') expressed in *E. coli* and purified to homogeneity] was added to 25 nM final concentration. Polymerase of genotype 1a was from strain H77 (Yanagi, M., Purcell, R. H., Emerson, S. U. & Bukh, J. (1997), *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94, 8738-8743) containing a sequence change from valine to isoleucine at position 180.

40 Reaction Conditions were 25 nM enzyme, 1.5 µg/ml oligo-rG13/poly-rC and 0.2 µCi α-³³P-GTP in 0.5 µM GTP (20 Ci/mMol) , 20 mM Tris pH 7.5, 23 mM NaCl, 3 mM DTT, 5 mM MgCl₂, 1 mM MnCl₂.

5A

Enzyme was diluted to 500 nM concentration in 20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 25 mM NaCl and 3 mM DTT.

- 5 4x concentrated assay buffer mix was prepared using 1M Tris-HCl, pH7.5 (1 mL), 5M NaCl (0.25 mL), 1M DTT (0.12 mL) and Water (8.63 mL), Total 10 mL.

- 2x concentrated first reagent was prepared using 4x concentrated assay buffer mix (5 μ L), 40 μ /L RNasin (0.1 μ L), 20 μ g/mL polyC/biotinylated-oligorG (1.6 μ L), 500 nM enzyme (1 μ L) and Water (2.3 μ L), Total 10 μ L/well.
- 10

- 2x concentrated second reagent was prepared using 1M MgCl₂ (0.1 μ L), 1M MnCl₂ (0.02 μ L), 25 μ M GTP (0.4 μ L), α -[³³P]- GTP (10 μ Cl/ μ L, 0.02 μ L) and water (9.5 μ L), Total 10 μ L/well.
- 15

The assay was set up using compound (1 μ L in 100% DMSO), first reagent (10 μ L), and second reagent (10 μ L), Total 21 μ L.

- The reaction was performed in a U-bottomed, white, 96-well plate. The reaction was mixed on a plate-shaker, after addition of the Enzyme, and incubated for 1h at 22°C. After this time, the reaction was stopped by addition of 60 μ L 1.5 mg/ml streptavidin SPA beads (Amersham) in 0.1 M EDTA in PBS. The beads were incubated with the reaction mixture for 1h at 22°C after which 100 μ L 0.1 M EDTA in PBS was added. The plate was sealed, mixed centrifuged and incorporated radioactivity determined by counting in a Trilux (Wallac) or Topcount (Packard) Scintillation Counter.
- 20

- After subtraction of background levels without enzyme, any reduction in the amount of radioactivity incorporated in the presence of a compound, compared to that in the absence, was taken as a measure of the level of inhibition. Ten concentrations of compounds were tested in three- or fivefold dilutions. From the counts per minute, percentage of inhibition at highest concentration tested or IC₅₀s for the compounds were calculated using GraFit 3, GraFit 4 or GraFit 5 (Erithacus Software Ltd.) software packages or a data evaluation macro for Excel based on XLFit software (IDBS).
- 25
- 30

b) Genotype 1b Full-Length Enzyme

- 35 Reaction Conditions were 0.5 μ M [³³P]-GTP (20 Ci/mMol), 1 mM Dithiothreitol, 20 mM MgCl₂, 5mM MnCl₂, 20 mM Tris-HCl, pH7.5, 1.6 μ g/mL polyC/0.256 μ M biotinylated oligoG13, 10% glycerol, 0.01% NP-40, 0.2 μ /L RNasin and 50 mM NaCl.

- HCV RNA Polymerase (Recombinant full-length NS5B (Lohmann et al, J. Virol. 71 (11), 1997, 8416. 'Biochemical properties of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase and identification of amino acid sequence motifs essential for enzymatic
- 40

CS

activity') expressed in baculovirus and purified to homogeneity) was added to 4 nM final concentration.

5 5x concentrated assay buffer mix was prepared using 1M MnCl_2 (0.25 mL), glycerol (2.5mL), 10% NP-40 (0.025 mL) and Water (7.225 mL), Total 10 mL.

10 2x concentrated enzyme buffer contained 1M-Tris-HCl, pH7.5 (0.4 mL), 5M NaCl (0.2 mL), 1M- MgCl_2 (0.4 mL), glycerol (1 mL), 10% NP-40 (10 μL), 1M DTT (20 μL) and water (7.97 mL), Total 10 mL.

Substrate Mix was prepared using 5x Concentrated assay Buffer mix (4 μL), [^{32}P]-GTP (10 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$, 0.02 μL), 25 μM GTP (0.4 μL), 40 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ RNasin (0.1 μL), 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ poly(rC)/biotinylated-oligorG (1.8 μL), and Water (3.94 μL), Total 10 μL .

15 Enzyme Mix was prepared by adding 1mg/ml full-length NS5B polymerase (1.5 μL) to 2.81mL 2x-concentrated enzyme buffer.

The Assay was set up using compound (1 μL), Substrate Mix (10 μL), and Enzyme Mix (added last to start reaction) (10 μL), Total 21 μL .

20 The reaction was performed in a U-bottomed, white, 96-well plate. The reaction was mixed on a plate-shaker, after addition of the Enzyme, and incubated for 1h at 22°C. After this time, the reaction was stopped by addition of 40 μL 1.875 mg/ml streptavidin SPA beads in 0.1 M EDTA. The beads were incubated with the reaction mixture for 1h at 22°C
25 after which 120 μL 0.1 M EDTA in PBS was added. The plate was sealed, mixed centrifuged and incorporated radioactivity determined by counting in a Trilux (Wallac) or Topcount (Packard) Scintillation Counter.

30 After subtraction of background levels without enzyme, any reduction in the amount of radioactivity incorporated in the presence of a compound, compared to that in the absence, was taken as a measure of the level of inhibition. Ten concentrations of compounds were tested in three- or fivefold dilutions. From the counts, percentage of inhibition at highest concentration tested or IC_{50}s for the compounds were calculated using GraFit 3, GraFit 4 or GraFit 5 (Erithacus Software Ltd.) software packages or a data
35 evaluation macro for Excel based on XLFit software (IDBS).

The potential for compounds of the invention to inhibit NS5B wildtype HCV polymerase activity, genotype 1a and genotype 1b may be demonstrated, for example, using the following cell based assays:

40 Replicon ELISA cell based assay
Method

56
58

100 µL of medium containing 10% FCS were added to each well of clear, flat-bottomed 96 well microplates, excepting wells in the top row. Test compound was diluted in assay medium to twice the final required starting concentration from a 40 mM stock solution in DMSO. 200 µL of the starting dilution were introduced into two wells each in the top row and doubling dilutions made down the plate by the sequential transfer of 100 µL aliquots with thorough mixing in the wells; the final 100 µL were discarded. The two bottom rows were not used for compound dilutions. Huh-7 HCV replicon cell monolayers nearing confluency were stripped from growth flasks with versene-trypsin solution and the cells were resuspended in assay medium at either 2×10^5 cells/mL (sub-line 5-15; genotype 1b; Lohmann, V., Komer, F., Koch, J-O., Herian, U., Thielmann, L. and Bartenschlager, R., 1999, *Science*, 285, pp 110-113) or at 3×10^5 cells/mL (genotype 1a; Gu, B., Gates, A.T., Isken, O., Behrens, S.E. and Sarisky, R.T., J. Virol., 2003, 77, 5352-5359). 100 µL of cell suspension were added to all wells and the plates incubated at 37°C for 72 hours in a 5% CO₂ atmosphere.

Following incubation, the assay medium was aspirated from the plates. The cell sheets were washed by gentle immersion in phosphate buffered saline (PBS), which was then aspirated off, and fixed with acetone:methanol (1:1) for 5 minutes. Following a further wash with PBS, 100 µL of ELISA diluent (PBS + 0.05% v/v Tween 20 + 2% w/v skimmed milk powder) were added to all wells and the plates incubated at 37°C for 30 minutes on an orbital platform. The diluent was removed and each well then received 50 µL of a 1/200 dilution of anti-HCV specific, murine, monoclonal antibody (either Virostat #1872 or #1877), except for wells in one of the compound-free control rows which received diluent alone to act as negative controls. The plates were incubated at 37°C for 2 hours and washed 3 times with PBS/0.05% Tween 20, then 50 µL of horseradish peroxidase conjugated, anti-mouse, rabbit polyclonal serum (Dako #P0260), diluted 1/1000, were added to all wells. The plates were incubated for a further hour, the antibody removed and the cell sheets washed 5 times with PBS/Tween and blotted dry. The assay was developed by the addition of 50 µL of ortho-phenylenediamine/peroxidase substrate in urea/citrate buffer (SigmaFast, Sigma #P-9187) to each well, and colour allowed to develop for up to 15 minutes. The reaction was stopped by the addition of 25 µL per well of 2 M sulphuric acid and the plates were read at 490 nm on a Fluostar Optima spectrophotometer.

The substrate solution was removed and the plates were washed in tap water, blotted dry and the cells stained with 5 % carbol fuchsin in water for 30 minutes. The stain was discarded and the cell sheets washed, dried and examined microscopically to assess cytotoxicity.

Data analysis

The absorbance values from all compound-free wells that had received both primary and secondary antibodies were averaged to obtain a positive control value. The mean absorbance value from the compound-free wells that had not received the primary antibody was used to provide the negative (background) control value. The readings from the duplicate wells at each compound concentration were averaged and, after the

subtraction of the mean background from all values, were expressed as a percentage of the positive control signal. The quantifiable and specific reduction of expressed protein detected by the ELISA in the presence of a drug can be used as a measure of replicon inhibition. GraFit software (Erithacus Software Ltd.) was used to plot the curve of percentage inhibition against compound concentration and derive the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) for the compound.

Results

Compound	IC ₅₀ in delta-21 1a enzyme inhibition assay (µM)	IC ₅₀ in full length 1b enzyme inhibition assay (µM)	IC ₅₀ in 1a replicon cell-based assay (µM)	IC ₅₀ in 1b replicon cell-based assay (µM)
Example 1	*	#	+	@
Example 2	*	#	+	@
Example 3	*	#	+	@
Example 4	*	#	+	@
Example 5	*	#	+	@
Example 6	*	#	+	@
Example 7	*	#	+	@
Example 8	*	#	+	@@
Example 9	*	#	+	@
Example 10	*	#	+	@
Example 11	*	#	+	@
Example 12	*	#	+	@
Compound A	***	###	++	@@
Compound B	***	##	++	@@
Compound C	***	###	++	@@ [†]
Compound D	**	##	++	@@
Compound E	***	##	+++	@@

[†] This compound was not tested in the 5-15 cell line; instead, the 11-7 cell line (NS2-5B), containing one additional gene was used in this assay, giving comparable results (Lohmann, V. et al, 1999, Science, 285, pp 110-113).

Activity ranges

		Genotype 1a		Genotype 1b
enzyme	*	<0.75 µM	#	<0.20 µM
	**	0.75 – 1.00 µM	##	0.20 – 0.50 µM
	***	>1.00 µM	###	>0.50 µM
replicon	+	<10.00 µM	@	<0.15 µM
cell-based	++	10.00 – 100 µM	@@	0.15 – 10.00 µM
	+++	>100 µM	@@@	>10.00 µM

58

Compound A corresponds to the racemic compound disclosed as Example 11 in WO2004/037818, *rel*-(2S,4S,5R)-2-isobutyl-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-methoxymethyl-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid.

5 Compound B corresponds to the enantiomeric compound disclosed as Example 15 in WO2004/037818, (2S,4S,5R)-2-isobutyl-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-methoxymethyl-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid.

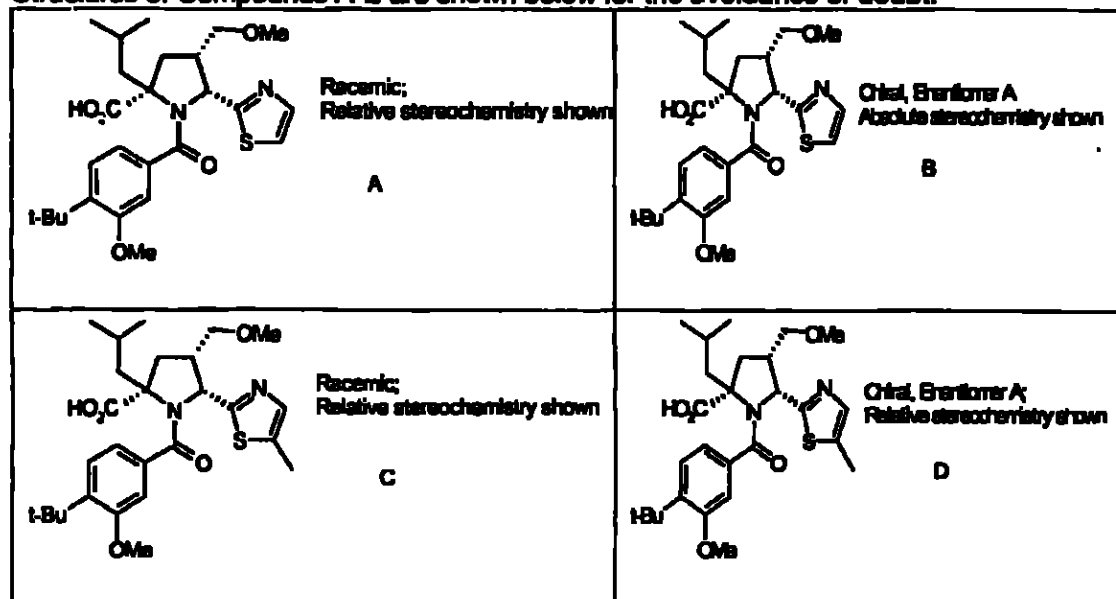
Compound C corresponds to the racemic compound disclosed as Example 24 in WO2004/037818, *rel*-(2S,4S,5R)-2-isobutyl-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-methoxymethyl-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid.

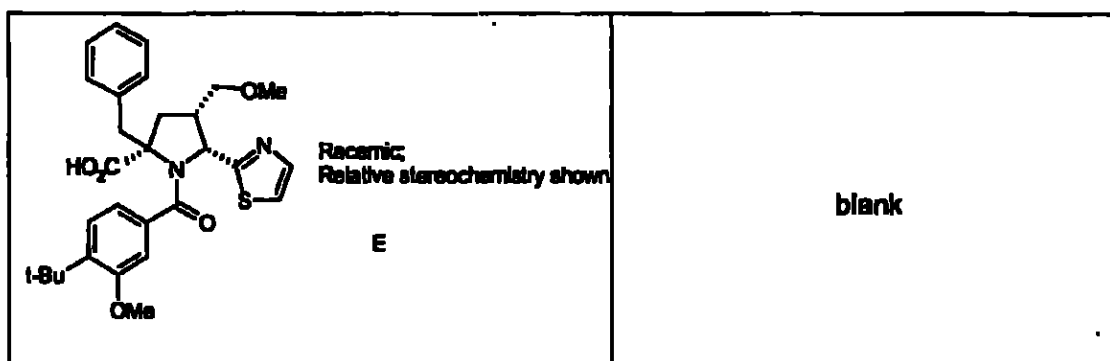
10 Compound D corresponds to the enantiomeric compound disclosed as Example 25 in WO2004/037818, Enantiomer A of *rel*-(2S,4S,5R)-2-isobutyl-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-methoxymethyl-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid.

Compound E corresponds to the racemic compound disclosed as Example 33 in WO2004/037818, *rel*-(2R,4S,5R)-2-benzyl-1-(3-methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-methoxymethyl-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid.

Compounds A, B, C, D and E may be made according to the processes described in WO2004/037818.

20 Structures of Compounds A-E are shown below for the avoidance of doubt.





The compounds of the present invention which have been tested demonstrate a surprisingly superior genotype-1a/1b profile, as shown by the IC_{50} values in the enzyme and cell-based assays across both of the 1a and 1b genotypes of HCV, compared to

5 Compounds A - E. Accordingly, the compounds of the present invention are of great potential therapeutic benefit in the treatment and prophylaxis of HCV.

The pharmaceutical compositions according to the invention may also be used in combination with other therapeutic agents, for example immune therapies (eg. interferon),

10 therapeutic vaccines, antifibrotic agents, anti-inflammatory agents such as corticosteroids or NSAIDs, bronchodilators such as beta-2 adrenergic agonists and xanthines (e.g. theophylline), mucolytic agents, anti-muscarinics; anti-leukotrienes, inhibitors of cell adhesion (e.g. ICAM antagonists), anti-oxidants (eg N-acetylcysteine), cytokine agonists, cytokine antagonists, lung surfactants and/or antimicrobial and anti-viral agents (eg

15 ribavirin and amantidine). The compositions according to the invention may also be used in combination with gene replacement therapy.

The invention thus provides, in a further aspect, a combination comprising at least one chemical entity chosen from compounds of formula (Ia) and physiologically acceptable

20 salts or solvates thereof, together with at least one other therapeutically active agent.

The combinations referred to above may conveniently be presented for use in the form of a pharmaceutical formulation and thus pharmaceutical formulations comprising a combination as defined above together with at least one pharmaceutically acceptable

25 diluent or carrier thereof represent a further aspect of the invention.

The individual components of such combinations may be administered either sequentially or simultaneously in separate or combined pharmaceutical formulations. Appropriate doses of known therapeutic agents will be readily appreciated by those skilled in the art.

30

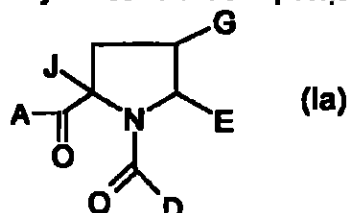
All publications, including but not limited to patents and patent applications cited in this specification are herein incorporated by reference as if each individual publication were

specifically and individually indicated to be incorporated by reference as though fully set forth.

61

Claims

1. At least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia):



wherein:

- 5 A represents hydroxy;

D represents 4-*tert*-butyl-3-methoxyphenyl;

E represents 1,3-thiazol-2-yl or 5-methyl-1,3-thiazol-2-yl;

10

G represents methoxymethyl;

J represents 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl, 1,2-thiazol-3-ylmethyl, or 1H-pyrazol-1-ylmethyl;

15

and salts, solvates and esters thereof; provided that when A is esterified to form -OR where R is selected from straight or branched chain alkyl, aralkyl, aryloxyalkyl, or aryl, then R is other than *tert*-butyl.

- 20 2. At least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) selected from the group consisting of:

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;

- 25 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-4-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)-5-(1,3-thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;

- 30 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,3-thiazol-2-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;

rel-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1,2-thiazol-3-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid; and

- 35 *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Methoxy-4-*tert*-butylbenzoyl)-4-(methoxymethyl)-5-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2-(1H-pyrazol-1-ylmethyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid;

and salts, solvates and esters, and individual enantiomers thereof.

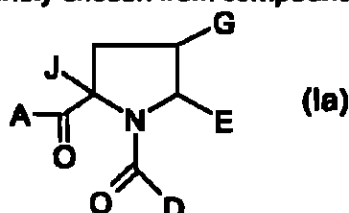
62

3. A method of treating or preventing viral infection which comprises administering to a subject in need thereof, an effective amount of at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) and salts, solvates and esters thereof as claimed in claim 1.

5 4. A method as claimed in claim 3 wherein the viral infection is HCV.

5. A method as claimed in claim 3 in which the chemical entity is administered in an oral dosage form.

10 6. At least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia)



wherein:

A represents hydroxy;

15 D represents 4-*tert*-butyl-3-methoxyphenyl;

E represents 1,3-thiazol-2-yl or 5-methyl-1,3-thiazol-2-yl;

G represents methoxymethyl;

20

J represents 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl, 1,2-thiazol-3-ylmethyl, or 1H-pyrazol-1-ylmethyl;

and salts, solvates and esters thereof; provided that when A is esterified to form -OR where R is selected from straight or branched chain alkyl, aralkyl, aryloxyalkyl, or aryl, then R is other than *tert*-butyl; for use in medical therapy.

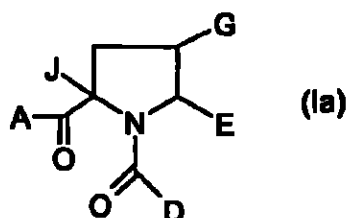
25

7. At least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) and salts, solvates and esters thereof as claimed in claim 6, wherein the medical therapy is the treatment of viral infection.

30

8. At least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) and salts, solvates and esters thereof as claimed in claim 7 wherein the viral infection is HCV.

35 9. Use of at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia)



wherein:

A represents hydroxy;

5 D represents 4-*tert*-butyl-3-methoxyphenyl;

E represents 1,3-thiazol-2-yl or 5-methyl-1,3-thiazol-2-yl;

G represents methoxymethyl;

10

J represents 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl, 1,2-thiazol-3-ylmethyl, or 1H-pyrazol-1-ylmethyl;

and salts, solvates and esters thereof; provided that when A is esterified to form -OR where R is selected from straight or branched chain alkyl, aralkyl, aryloxyalkyl, or aryl, then R is other than *tert*-butyl; in the manufacture of a medicament for the treatment of viral infection.

15

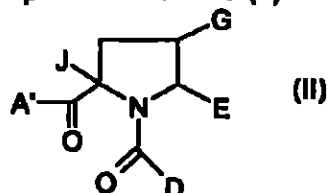
10. Use as claimed in claim 9, wherein the viral infection is HCV.

20

11. A pharmaceutical formulation comprising at least one chemical entity chosen from compounds of Formula (Ia) and salts, solvates and esters thereof as claimed in claim 1 in conjunction with at least one pharmaceutically acceptable diluent or carrier.

25

12. A process for the preparation of a compound of Formula (Ia) as defined in claim 1 comprising deprotection of a compound of Formula (II)



in which A' is a protected hydroxy group, for example an alkoxy, benzyloxy or silyloxy,

D represents 4-*tert*-butyl-3-methoxyphenyl; E represents 1,3-thiazol-2-yl or 5-methyl-1,3-thiazol-2-yl; G represents methoxymethyl; and J represents 1,3-thiazol-2-ylmethyl, 1,3-thiazol-4-ylmethyl, 1,2-thiazol-3-ylmethyl, or 1H-pyrazol-1-ylmethyl.

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP2005/011532

6A

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07D417/14 A61K31/427 A61P31/12		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/037818 A (GLAXO GROUP LIMITED; HAIGH, DAVID; HARTLEY, CHARLES, DAVID; HOWES, PET) 6 May 2004 (2004-05-06) cited in the application the whole document	1-12
☐ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		
"E" earlier document but published on or after the international filing date		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention		
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone		
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.		
"Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 January 2006		Date of mailing of the international search report 20/01/2006
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5816 Patentkanal 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 051 apo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Von Daacke, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/011532

65

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004037818	A	06-05-2004	AU 2003276172 A1	13-05-2004
			BR 0315417 A	16-08-2005
			CA 2503471 A1	06-05-2004
			EP 1554274 A1	20-07-2005

COMPUESTOS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nuevos derivados de C(4)-metoximetil acil
5 pirrolidina útiles como agentes antivirales. Específicamente, la presente invención
implica nuevos inhibidores del Virus de la Hepatitis C (VHC).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La infección con VHC es una causa importante de enfermedad hepática en los
10 seres humanos en todo el mundo. En los Estados Unidos, se estima que 4,5 millones
de americanos están infectados con VHC de manera crónica. Aunque sólo 30% de las
infecciones agudas son sintomáticas, más de 85% de los individuos infectados
desarrollan una infección crónica persistente. Los costes de tratamiento para la
infección por VHC en los Estados Unidos en el año 1997 se han estimado en 5,46
15 billones de dólares. En todo el mundo, se ha estimado que están infectadas de
manera crónica más de 200 millones de personas. La infección por VHC es responsa-
ble de 40-60% de todas las enfermedades hepáticas crónicas y de 30% de todos los
transplantes de hígado. La infección crónica por VHC es responsable de 30% de
todas las cirrosis, enfermedades hepáticas en fase terminal y cáncer de hígado en los
20 Estados Unidos. Los CDC estiman que el número de muertes debidas a VHC
aumentará como mínimo a 38.000/año para el año 2010.

Debido al elevado grado de variabilidad en los antígenos de la superficie del
virus, a la existencia de múltiples genotipos virales y a la demostrada especificidad de
la inmunidad, es poco probable el desarrollo de una vacuna eficaz en un futuro
25 cercano. El interferón alfa (solo o junto con ribavirina) se ha usado ampliamente desde
su aprobación para el tratamiento de la infección crónica por VHC. Sin embargo,
frecuentemente se han asociado efectos secundarios adversos con este tratamiento:
síntomas de tipo gripal, leucopenia, trombocitopenia, depresión por el uso de interfe-
rón, así como anemia inducida por la ribavirina (Lindsay, K. L. (1997), Hepatology 26
30 (supl. 1): 71S-77S). Esta terapia sigue siendo menos eficaz contra las infecciones
provocadas por el VHC de genotipo 1 (que constituye ~75% de todas las infecciones
por VHC en los mercados desarrollados) en comparación con las infecciones provo-
cadas por los otros 5 genotipos principales de VHC. Desafortunadamente, sólo ~50-
80% de los pacientes responden a este tratamiento (medido por una reducción de los

niveles en suero de ARN de VHC y la normalización de las enzimas hepáticas) y, de los tratados, 50-70% recaen en los 6 meses posteriores a la suspensión del tratamiento. Recientemente, con la introducción del interferón pegilado, han mejorado sustancialmente los porcentajes de respuesta inicial y sostenida, y el tratamiento de combinación de Peg-IFN con ribavirina constituye el patrón de oro para la terapia. Sin embargo, los efectos secundarios asociados con la terapia de combinación y la peor respuesta en los pacientes infectados con el genotipo 1 presentan oportunidades para mejorar el tratamiento de esta enfermedad.

Actualmente se acepta abiertamente que el virus de hepatitis C (VHC), identificado por primera vez por clonación molecular en 1989 (Choo, Q-L et al. (1989) Science 244: 359-362), es el agente causante más común de la hepatitis no A no B asociada a la transfusión (NANBH) (Ku, G et al. (1989) Science 244: 362-364). Debido a su estructura genómica y a la homología de secuencias, este virus se asignó como un nuevo género de la familia *Flaviviridae*. Como los otros miembros de la familia *Flaviviridae*, tales como los flavivirus (por ejemplo, el virus de la fiebre amarilla y el virus Dengue de los tipos 1-4) y los pestivirus (por ejemplo, el virus de la diarrea viral, el virus de la enfermedad de la frontera (border disease) y el virus de la fiebre clásica porcina) (Choo, Q-L et al. (1989) Science 244: 359-3; Miller, R. H. y R. H. Purcell (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2057-2061), el VHC es un virus con envuelta que contiene una molécula de ARN monocatenaria de polaridad positiva. El genoma de VHC tiene aproximadamente 9,6 kilobases (kb) con una región 5' no traducida (NTR) y no protegida terminalmente, muy conservada de aproximadamente 340 bases que funciona como sitio interno de entrada de ribosomas (IRES) (Wang CY et al 'An RNA pseudoknot is an essential structural element of the internal ribosome entry site located within the hepatitis C virus 5' noncoding region' RNA- A Publication of the RNA Society. 1(5): 526-537, 1995 Jul.). Este elemento va seguido de una región que codifica una sola fase de lectura abierta (ORF) larga que codifica un polipéptido de ~3000 aminoácidos que comprende tanto las proteínas virales estructurales como las no estructurales.

Tras la entrada en el citoplasma de la célula, este ARN se traduce directamente en un polipéptido de ~3000 aminoácidos que comprende tanto las proteínas virales estructurales como las no estructurales. Este polipéptido grande posteriormente se procesa en proteínas estructurales y no estructurales individuales por una combinación de proteinasas codificadas por el hospedador y por el virus (Rice, CM. (1996) en

B.N. Fields, D.M.Knipe y P.M. Howley (eds) *Virology* 2nd Edición, p 931-980; Raven Press, N.Y.). Después del codón de terminación en el extremo de la ORF larga, hay una NTR 3' que consiste en líneas generales en tres regiones: una región de - 40 bases que está poco conservada entre diversos genotipos, un tracto de pol(U)/polipirimidina de longitud variable y un elemento de 98 bases muy conservado también denominado "cola X 3'" (Kolykhalov, A. et al (1996) *J. Virology* 70:3363-3371; Tanaka, T. et al (1995) *Biochem Biophys. Res. Commun.* 215:744-749; Tanaka, T. et al (1996) *J. Virology* 70:3307-3312; Yamada, N. et al (1996) *Virology* 223:255-261). Se predice que la NTR 3' forma una estructura secundaria estable que es esencial para el crecimiento de VHC en chimpancés y se cree que funciona en la iniciación y regulación de la replicación del ARN viral.

La proteína NS5B (591 aminoácidos, 65 kDa) de VHC (Behrens, S.E. et al (1996) *EMBO J.* 15:12-22), codifica una actividad ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) y contiene motivos canónicos presentes en otras ARN polimerasas virales. La proteína está bastante bien conservada tanto intratípicamente (identidad de aminoácidos (aa) de -95-98% entre los aislados 1b) como inter-típicamente (identidad de aa de -85% entre aislados del genotipo 1a y 1b). La esencialidad de la actividad RdRp de NS5B de VHC para la generación de viriones de la progenie infecciosa se ha demostrado formalmente en chimpancés (A. A. Kolykhalov et al.. (2000) *Journal of Virology*, 74(4), p.2048-2051). De esta manera, se prevé que la inhibición de la actividad RdRp de NS5B (inhibición de la replicación de ARN) cure la infección por VHC.

Aunque el genotipo predominante de VHC a nivel mundial es el genotipo 1, éste a su vez tiene dos subtipos principales, denominados 1a y 1b. Como puede verse por la entrada en la base de datos de VHC Los Alamos (www.hcv.lanl.gov) (Tabla 1) hay diferencias regionales en la distribución de estos subtipos: aunque el genotipo 1a es el más abundante en los Estados Unidos, la mayoría de las secuencias en Europa y Japón son del genotipo 1b.

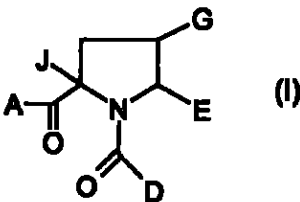
Tabla 1

% de secuencias en la base de datos	Mundo	Estados Unidos	Europa	Japón
Genotipo 1	71,8	87,8	75,9	80,2
Genotipo 1a	28,4	66,4	21,7	1,6
Genotipo 1b	43,4	21,4	54,2	78,6

La prevalencia del genotipo 1a en algunas regiones hace que sea muy deseable identificar un agente antiviral que pueda inhibir el genotipo 1a y el genotipo 1b. Esto significa que un mayor grupo de pacientes podrían beneficiarse del tratamiento con el mismo agente.

Basándose en lo anterior, existe una necesidad significativa de identificar compuestos sintéticos o biológicos por su capacidad para inhibir la replicación del genotipo 1a y el genotipo 1b de VHC.

La publicación PCT número WO2004/037818 describe genéricamente ciertos compuestos, incluyendo ciertos compuestos de acil pirrolidina, que tienen actividad inhibidora de VHC. El ensayo se refiere al genotipo 1b. Los compuestos descritos tienen la fórmula (I)



en la que:

A representa hidroxil;

D representa arilo o heteroarilo;

E representa hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo, heteroarilo o heterociclilo;

G representa hidrógeno o alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, OR¹, SR¹, C(O)NR²R³, CO₂H, C(O)R⁴, CO₂R⁴, NR²R³, NHC(O)R⁴, NHCO₂R⁴, NHC(O)NR⁵R⁶, SO₂NR⁵R⁶, SO₂R⁴, nitro, ciano, arilo, heteroarilo y heterociclilo;

R¹ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilalquilo o heteroarilalquilo;

R² y R³ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo y

heteroarilo; o

R^2 y R^3 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un grupo cíclico saturado de 5 ó 6 miembros;

R^4 se selecciona entre el grupo compuesto por alquilo C_{1-6} , arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo;

R^5 y R^6 se seleccionan independientemente entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo, heteroarilo, arilalquilo, y heteroarilalquilo; o

R^5 y R^6 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un grupo cíclico saturado de 5 ó 6 miembros; y

J representa alquilo C_{1-6} , heterociclilalquilo, arilalquilo o heteroarilalquilo; y las sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR donde R se selecciona entre alquilo de cadena lineal o ramificada, aralquilo, ariloxialquilo, o arilo, entonces R es diferente de *terc*-butilo.

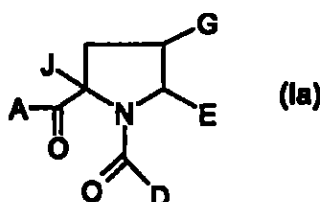
Sorprendentemente, ahora se han descubierto que los compuestos de acuerdo con la presente invención, descritos genéricamente en el documento WO2004/037818, y que tienen un patrón específico de sustitución, muestran propiedades mejoradas sobre los compuestos descritos específicamente en el documento WO2004/037818.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención implica compuestos C(2')-heteroarilmetil-C(4)-metoximetil acil pirrolidina representados a continuación en este documento, composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos y el uso de los compuestos para tratar una infección viral, especialmente una infección por VHC.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona al menos una entidad química seleccionada entre los compuestos de Fórmula (Ia):



en la que:

A representa hidroxil;

D representa 4-*terc*-butil-3-metoxifenilo;

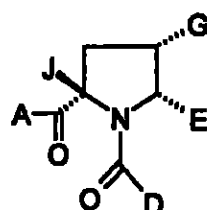
E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-tiazol-2-ilo;

G representa metoximetilo;

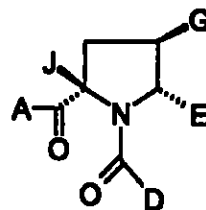
J representa 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo, 1,2-tiazol-3-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo;

- 5 y las sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR donde R se selecciona entre alquilo de cadena lineal o ramificada, aralquilo, ariloxialquilo o arilo, entonces R es diferente de *tert*-butilo.

En un aspecto, la estereoquímica relativa de los compuestos racémicos de Fórmula (la) se representa por las Fórmulas (lp) o (lq):



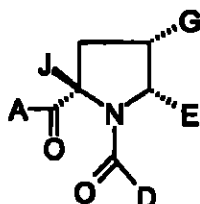
(lp)
estereoquímica
relativa



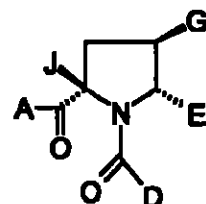
(lq)
estereoquímica
relativa

- 10 en las que A, D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (la).

En un aspecto más, la estereoquímica absoluta de los compuestos quirales de Fórmula (la) se representa por las Fórmulas (lpp) o (lqq):



(lpp)
estereoquímica
absoluta



(lqq)
estereoquímica
absoluta

en las que A, D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (la).

- 15 Se prefieren los siguientes grupos sustituyentes, donde puedan aplicarse, con respecto a cada una de las Fórmulas la, lp, lpp lq y lqq:

En un aspecto, A es hidroxí (esto es, no esterificado).

En un aspecto, J representa 1,3-tiazol-4-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo. En un aspecto más, J representa 1H-pirazol-1-ilmetilo. En otro aspecto, J representa 1H-pirazol-1-ilmetilo y E representa 1,3-tiazol-2-ilo.

- 20 En un aspecto, los compuestos de Fórmula (la) se representan por los compuestos de Fórmula (lpp).

Debe entenderse que la presente invención abarca todas las combinaciones de los aspectos y grupos adecuados, convenientes y preferidos descritos en este documento.

Las entidades químicas de la presente invención muestran un perfil mejorado del genotipo-1a/1b contra la polimerasa de VHC y, por lo tanto, pueden conseguir eficacia en seres humanos en una amplia población de pacientes.

5 La expresión "perfil de genotipo-1a/1b" significa potencia como inhibidor de la enzima polimerasa de VHC en VHC de tipo silvestre de genotipo 1a y de genotipo 1b. Se considera que la elevada potencia en los dos genotipos es ventajosa.

10 Como un aspecto más de la presente invención se proporciona al menos una entidad química seleccionada entre los compuestos de Fórmula (Ia) y las sales fisiológicamente aceptables, solvatos o ésteres de los mismos para el uso en la terapia médica humana o veterinaria, particularmente en el tratamiento o profilaxis de una infección viral, particularmente una infección por VHC.

15 Se apreciará que las referencias de este documento a terapia y/o tratamiento incluyen, pero sin limitación, prevención, retardo, profilaxis, terapia y curación de la enfermedad. Se apreciará además que las referencias de este documento a tratamiento o profilaxis de una infección por VHC incluyen tratamiento o profilaxis de enfermedades asociadas a VHC tales como fibrosis hepática, cirrosis y carcinoma hepatocelular.

20 De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de al menos una entidad química seleccionada entre los compuestos de Fórmulas (Ia) y las sales fisiológicamente aceptables, solvatos o ésteres de los mismos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una infección viral, particularmente una infección por VHC.

25 En un aspecto más o como aspecto alternativo se proporciona un método para el tratamiento de un sujeto humano o animal con una infección viral, particularmente una infección por VHC, donde dicho método comprende administrar a dicho sujeto humano o animal una cantidad eficaz de al menos una entidad química seleccionada entre los compuestos de Fórmula (Ia) y las sales fisiológicamente aceptables, solvatos o ésteres de los mismos.

30 Se apreciará que los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos y pueden existir en formas racémica, diastereoisomérica y ópticamente activa. Se contempla que todos estos compuestos racémicos, enantiómeros y diastereoisómeros están dentro del alcance de la presente invención.

En un aspecto, las entidades químicas útiles en la presente invención pueden

elegirse entre los compuestos de Fórmula (Ia) seleccionados entre el grupo que consiste en:

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

5 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

10 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico; y

15 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

y sales, solvatos, ésteres y enantiómeros individuales de los mismos.

En un aspecto más, las entidades químicas útiles en la presente invención pueden elegirse entre los compuestos de Fórmula (Ia) seleccionados entre el grupo

20 que consiste en:

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

25 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

y sales, solvatos, ésteres y enantiómeros individuales de los mismos.

30 En un aspecto más, las entidades químicas útiles en la presente invención pueden elegirse entre los compuestos de Fórmula (Ia) seleccionados entre el grupo que consiste en:

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;
y sales, solvatos, ésteres y enantiómeros individuales de los mismos.

En otro aspecto, las entidades químicas útiles en la presente invención pueden
5 elegirse entre los compuestos de Fórmula (Ia) seleccionados entre el grupo que consiste en:

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-Metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico;
y sales, solvatos, ésteres y enantiómeros individuales de los mismos.

10 También se incluyen dentro de la presente invención los complejos de sales farmacéuticamente aceptables. La presente invención también incluye las sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de fórmula (Ia). Las sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de fórmula (Ia) incluyen sales de ácidos, por ejemplo de sodio, potasio, calcio, magnesio y tetraalquilamonio y similares, o sales
15 mono- o di-básicas con el ácido apropiado, por ejemplo, ácidos carboxílicos orgánicos tales como los ácidos acético, láctico, tartárico, málico, isotónico, lactobiónico y succínico; ácidos sulfónicos orgánicos tales como los ácidos metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico y p-toluenosulfónico y ácidos inorgánicos tales como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico y similares.

20 La presente invención también se refiere a solvatos de los compuestos de Fórmula (Ia), por ejemplo hidratos.

La presente invención también se refiere a ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula (Ia), por ejemplo ésteres de ácido carboxílico -COOR, en los que R se selecciona entre alquilo de cadena lineal o ramificada, por
25 ejemplo, n-propilo, n-butilo, alcoxiálquilo (por ejemplo, metoximetilo), alcoxicarbonilálquilo (por ejemplo, metoxicarbonilmetilo), aciloxiálquilo (por ejemplo, pivaloiloximetilo), arálquilo (por ejemplo, bencilo), ariloxiálquilo (por ejemplo, fenoximetilo), arilo (por ejemplo, fenilo opcionalmente sustituido con halógeno, alquilo C₁₋₈ o alcoxi C₁₋₄ o amino). A menos que se especifique otra cosa, cualquier resto alquilo presente en
30 tales ésteres contiene preferiblemente de 1 a 18 átomos de carbono, particularmente de 1 a 4 átomos de carbono. Cualquier resto arilo presente en tales ésteres comprende preferiblemente un grupo fenilo.

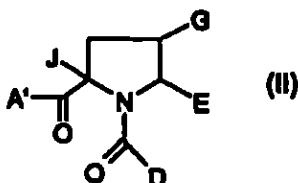
En un aspecto, el compuesto de Fórmula (Ia) está en forma de un compuesto parental, una sal o un solvato.

75

Como se usa en este documento, el término "farmacéuticamente aceptable" usado con respecto a un ingrediente (ingrediente activo tal como un ingrediente activo, una sal del mismo o un excipiente) que puede incluirse en una formulación farmacéutica para la administración a un paciente, se refiere a que el ingrediente sea aceptable en el sentido de que sea compatible con el resto de ingredientes presentes en la formulación farmacéutica y que no sea nocivo para el receptor de la misma.

También se apreciará que ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en diferentes formas tautoméricas. Se contempla que todos los tautómeros están dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de Fórmula (Ia) en la que A es hidroxí pueden prepararse a partir de un compuesto de Fórmula (II):



en la que A' es un grupo hidroxí protegido, por ejemplo un grupo alcoxi, benciloxi o sililoxi, por ejemplo un grupo tri-(alquil C₁₋₄)-sililoxi, y D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia), por desprotección. Pueden encontrarse grupos protectores adecuados, pero sin restricción, en T W Greene y PGM Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis', 3ª Ed. (1999), J Wiley y Sons.

Por ejemplo, cuando A' es *tert*-butoxi y D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia), por tratamiento con un ácido apropiado, por ejemplo ácido trifluoroacético o una solución acuosa de ácido clorhídrico acuoso concentrado. Opcionalmente, la reacción se realiza en un disolvente, por ejemplo diclorometano o dimetoxietano. En un aspecto, la temperatura está en el intervalo de 0 a 60°C, en un aspecto adicional de 20 a 30°C.

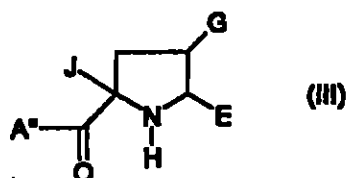
Por ejemplo, cuando A' es benciloxi, y D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia), por hidrogenólisis en presencia de un catalizador adecuado, por ejemplo paladio sobre carbono. Adecuadamente, la reacción se realiza en un disolvente, por ejemplo etanol. Preferiblemente, la temperatura está en el intervalo de 0 a 50°C.

Por ejemplo, cuando A' es alquilloxi, y D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia), por tratamiento con un catalizador adecuado, por ejemplo tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) y una fuente de protones adecuada, por

ejemplo fenilsilano. La reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano.

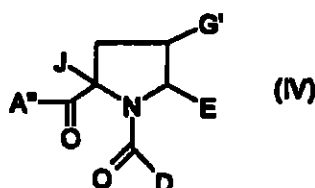
Por ejemplo, cuando A' es tri(metil)sililoxi, y D, E, G y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia), por tratamiento con una fuente de fluoruro adecuada, por ejemplo fluoruro de tetrabutilamonio. La reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano.

Los compuestos de Fórmula (Ia) o (II) pueden prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (III)



en la que A'' es hidroxil o un grupo alcoxi, benciloxil o tri(alquil C₁₋₄)-sililoxi, y E, G, y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia); con un agente de acilación adecuado, por ejemplo D-C(O)-hal, donde hal es un átomo de halo, preferiblemente cloro o bromo, y D es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (Ia). Preferiblemente, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano, en presencia de una base adecuada, por ejemplo trietilamina. Adecuadamente, la temperatura está en el intervalo de 0 a 50°C, más adecuadamente de 20 a 30°C. Opcionalmente, la reacción puede realizarse a la temperatura de reflujo del disolvente.

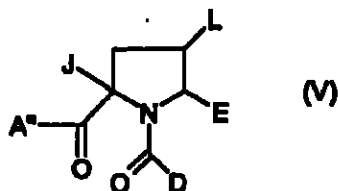
Los compuestos de Fórmula (Ia) o (II) también pueden prepararse por metilación de un compuesto de fórmula (IV)



en la que A'' es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (III), y G' representa hidroximetilo, usando una base adecuada, por ejemplo hidruro sódico o *terc*-butoxido sódico y un agente de metilación adecuado, tal como yoduro de metilo. En un aspecto, la reacción se realiza en un disolvente o mezcla de disolventes adecuada, por ejemplo dimetilformamida, metil-*terc*-butil éter, dimetoxietano y/o acetonitrilo. En un aspecto, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de -30 a 50°C,

adecuadamente de 20 a 30°C o a -25°C. En un aspecto más, la reacción se realiza usando una mezcla de metil-*tert*-butil éter y dimetoxietano como disolvente a -25°C.

Los compuestos de Fórmula (IV) pueden prepararse mediante la manipulación apropiada de un compuesto de Fórmula (V)



5

en la que A* es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (III), D, E y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia), y L representa CHO o CO₂Y, donde Y representa hidrógeno o alquilo. Por ejemplo, por reducción de un compuesto de Fórmula (V) en la que L representa CHO o CO₂Y, donde Y representa hidrógeno o alquilo, usando un agente reductor adecuado, por ejemplo borohidruro de litio, trietilborohidruro de litio, borohidruro sódico, triacetoxiborohidruro sódico, complejo de borano/sulfuro de dimetilo o hidruro de litio y aluminio o combinaciones adecuadas de los mismos, en un disolvente o mezcla de disolventes adecuada, por ejemplo tetrahidrofurano y/o metanol. En un aspecto, la reacción puede realizarse a una temperatura en el intervalo de -78 a 40°C. En un aspecto más, la reacción puede realizarse a una temperatura en el intervalo de 30 a 40°C. En un aspecto más, la reacción se realiza usando una mezcla de borohidruro sódico y triacetoxiborohidruro sódico en una mezcla de disolventes de tetrahidrofurano y metanol.

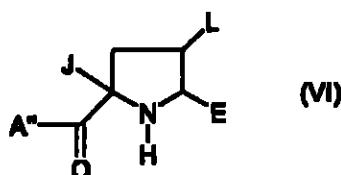
15

Un compuesto de Fórmula (V) en la que L representa CO₂Y, donde Y representa hidrógeno, puede prepararse a partir de un compuesto de Fórmula (V) en la que L representa CO₂Y, donde Y representa alquilo. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (V) en la que L representa CO₂Me puede convertirse en un compuesto de Fórmula (V), en la que L representa CO₂H, por hidrólisis, por ejemplo hidrólisis catalizada con una base, usando una base adecuada tal como metóxido sódico en un disolvente adecuado tal como metanol.

20

25

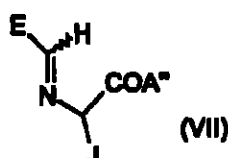
Un compuesto de Fórmula (V) en la que L representa CHO o CO₂Y, donde Y representa hidrógeno o alquilo, puede prepararse a partir de un compuesto de Fórmula (VI)



en la que L representa CHO o CO₂Y, donde Y representa hidrógeno o alquilo, y A', E, y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (III); con un agente de acilación adecuado, por ejemplo D-C(O)-hal, donde hal es un átomo de halo, preferiblemente cloro o bromo, y D es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (Ia). Preferiblemente, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano, metil-*tert*-butil éter y/o acetonitrilo, en presencia de una base adecuada, por ejemplo trietilamina o piridina. En un aspecto, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de 0 a 50°C, adecuadamente de 20 a 30°C. Opcionalmente, la reacción puede realizarse a la temperatura de reflujo. En un aspecto, cuando se usa piridina como base, todos los restos de piridina se retiran adecuadamente, por ejemplo lavando con un ácido acuoso tal como ácido clorhídrico, y/o además con agua, antes de realizar la siguiente etapa sintética.

Un compuesto de Fórmula (V) en la que A' es hidroxil puede convertirse en un compuesto de Fórmula (V) en la que A' es un grupo alcoxi, benciloxi o sililoxi mediante técnicas de protección de hidroxil convencionales. De igual forma, un compuesto de Fórmula (V) en la que A' es un grupo alcoxi, benciloxi o sililoxi, puede convertirse en un compuesto de Fórmula (V) en la que A' es hidroxil por técnicas de desprotección convencionales. Pueden encontrarse grupos protectores adecuados, sin restricción, en T W Greene y PGM Wuts 'Protective Groups In Organic Synthesis', 3^a Ed. (1999), J Wiley y Sons.

Un compuesto de Fórmula (VI) puede prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (VII)



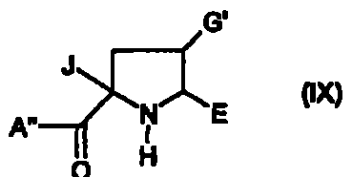
en la que E y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (Ia) y A' es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (III) con un compuesto de Fórmula (VIII)



en la que L representa CHO o CO₂Y, donde Y representa hidrógeno o alquilo. En un aspecto, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF o acetonitrilo, opcionalmente en presencia de un catalizador de ácido de Lewis, tal como bromuro de litio o acetato de plata, y una base, tal como trietilamina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) o tetrametilguanidina. Como alternativa, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF o acetonitrilo, en presencia de un ácido, tal como ácido acético, o la reacción puede realizarse calentando los compuestos de Fórmula (VII) y Fórmula (VIII) en un disolvente adecuado, por ejemplo tolueno, xileno o acetonitrilo en ausencia de un catalizador.

También puede prepararse un compuesto de Fórmula (VI) en una síntesis de una sola etapa por reacción de un compuesto de Fórmula (X) con un compuesto de Fórmula (VIII) y un compuesto de Fórmula E-CHO. Preferiblemente, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF o acetonitrilo, opcionalmente en presencia de un catalizador de ácido de Lewis, tal como bromuro de litio o acetato de plata, y una base, tal como trietilamina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) o tetrametilguanidina. Preferiblemente, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de 0 a 50°C, adecuadamente de 20 a 30°C. Opcionalmente se usa un agente de secado en el proceso, por ejemplo tamices moleculares.

Un compuesto de Fórmula (III) puede prepararse mediante la manipulación apropiada de un compuesto de Fórmula (IX)

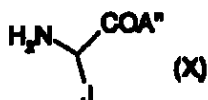


en la que G' representa hidroximetilo, y A'', E, y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (III), protegiendo en primer lugar el átomo de N del anillo de pirrolidina con un agente protector de N adecuado, por ejemplo bencloxycarbonilo (CBZ) o *t*-butoxicarbonilo. De una manera similar a la descrita anteriormente con respecto a la conversión de compuestos de Fórmula (IV) en compuestos de Fórmula (II), un compuesto N-protegido de Fórmula (IX) puede convertirse en un compuesto de Fórmula (III), en la que G representa metoximetilo y el átomo N se desprotege, por

metilación. La desprotección del átomo N mediante procedimientos convencionales da como resultado el compuesto de Fórmula (III).

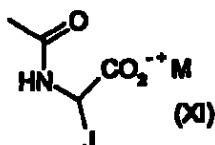
Los compuestos de Fórmula (IX) pueden prepararse por reducción de un compuesto opcionalmente N-protégido de Fórmula (VI) en la que L representa CO_2Y e Y representa alquilo, usando un agente reductor adecuado, por ejemplo borohidruro de litio o borohidruro sódico, en un disolvente adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano. La desprotección del átomo de N mediante procedimientos convencionales da como resultado el compuesto de Fórmula (IX). Por ejemplo, cuando el grupo protector de N es CBZ, la desprotección puede realizarse por hidrogenólisis catalítica. Por ejemplo, cuando el grupo protector de N es *t*-butoxicarbonilo, la desprotección puede realizarse por tratamiento con un ácido adecuado, por ejemplo ácido trifluoroacético.

Los compuestos de Fórmula (VII) pueden prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (X)



en la que J es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (Ia) y A^a es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (III) con un compuesto de Fórmula E-CHO en la que E es como se ha definido anteriormente para la Fórmula (Ia). En un aspecto, donde se proporciona la Fórmula (X) como una sal de adición de ácidos, por ejemplo el hidrocioruro, la reacción puede realizarse en presencia de una base adecuada, por ejemplo trietilamina. En un aspecto más, la reacción puede realizarse en presencia de un agente de secado adecuado, por ejemplo sulfato de magnesio. La reacción puede realizarse en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano o tolueno.

Los compuestos de Fórmula (X) en la que J es 1H-pirazol-1-ilmetilo, y A^a es hidroxilo, pueden prepararse por tratamiento de un compuesto de (XI)

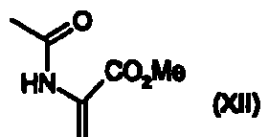


en la que J es 1H-pirazol-1-ilmetilo, y M es un catión metálico, por ejemplo potasio, con un ácido adecuado, por ejemplo ácido clorhídrico acuoso al 10%, en presencia de Amberlyst 120 (H^+).

Los compuestos de Fórmula (X) en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo, y A^a es un grupo alcoxi, benciloxi o tri-(alquil C_{1-4})-sililoxi, pueden

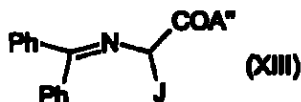
prepararse por tratamiento de un compuesto de Fórmula (X) en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo, y A⁺ es hidroxil, por procedimientos de esterificación o de grupos protectores convencionales. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (X) en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo, y A⁺ es *tert*-butoxi puede prepararse por tratamiento de un compuesto de Fórmula (X) en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo, y A⁺ es hidroxil, con un agente de transferencia de *tert*-butilo apropiado, tal como acetato de *tert*-butilo en presencia de un catalizador ácido adecuado, tal como ácido perclórico acuoso al 70%. En un aspecto, el compuesto de base libre formado de esta manera de Fórmula (X) en la que A⁺ es un grupo alcoxi, benciloxi o tri-(alquil C₁₋₄)-sililoxi puede convertirse en una sal adecuada, por ejemplo la sal hidrocloreto, por tratamiento con un ácido adecuado, por ejemplo ácido clorhídrico en dioxano.

Los compuestos de Fórmula (XI) en la que J es 1H-pirazol-1-ilmetilo, pueden prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (XII)



con 1H-pirazol, en presencia de una base adecuada, por ejemplo carbonato potásico cuando M es potasio, y en presencia de un disolvente adecuado, tal como acetonitrilo acuoso. Preferiblemente, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de 50-70°C, adecuadamente a 60°C.

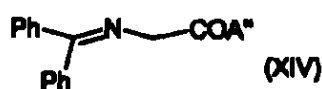
Los compuestos de Fórmula (X) en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo o 1,2-tiazol-3-ilmetilo y A⁺ es un grupo alcoxi, benciloxi o tri-(alquil C₁₋₄)-sililoxi pueden prepararse por tratamiento de un compuesto de Fórmula (XIII)



en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo o 1,2-tiazol-3-ilmetilo y A⁺ es un grupo alcoxi, benciloxi o tri-(alquil C₁₋₄)-sililoxi con un ácido, por ejemplo ácido cítrico acuoso al 15%. Preferiblemente, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF y/o agua.

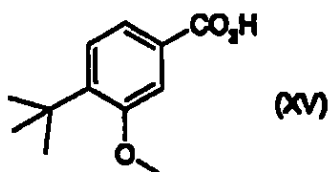
Los compuestos de Fórmula (XIII) puede prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (XIV)

82



en la que A^{*} es un grupo alcoxi, benciloxi o tri-(alquil C₁₋₄)-sililoxi con un compuesto de Fórmula J-hal en la que J es 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo o 1,2-tiazol-3-ilmetilo, y hal es un átomo de halo, preferiblemente cloro o bromo. Preferiblemente, la reacción se realiza en presencia de una base adecuada tal como *t*-butóxido potásico. Preferiblemente, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF. La reacción puede realizarse en presencia de un catalizador adecuado, por ejemplo yoduro de litio. Preferiblemente, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de -10°C a temperatura ambiente, adecuadamente a 0°C.

El compuesto de Fórmula D-C(O)-hal en la que D es 3-metoxi-4-*tert*-butilfenilo puede prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (XV)



con un reactivo formador de haluro de ácido adecuado, por ejemplo cloruro de oxalilo o cloruro de tionilo. En un aspecto, la reacción se realiza en presencia de un catalizador adecuado, por ejemplo dimetilformamida o dietilformamida. Opcionalmente, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano, a una temperatura en el intervalo de 0 a 50°C, por ejemplo de 20 a 30°C. En un aspecto alternativo, la reacción se realiza usando cloruro de tionilo a la temperatura de reflujo.

Los compuestos de Fórmulas (VIII), (XII), (XIV), (XV), J-hal y E-CHO son conocidos en la técnica, están disponibles en el mercado o pueden prepararse mediante procedimientos bibliográficos convencionales.

Los compuestos de Fórmula (Ia) en la que A es un éster pueden prepararse por esterificación de un compuesto de Fórmula (Ia) en la que A es hidroxil mediante procedimientos bibliográficos para esterificación convencionales.

Se apreciará que los compuestos de Fórmula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y/o (IX) que existen en forma de diastereoisómeros pueden separarse opcionalmente por técnicas bien conocidas en la técnica, por ejemplo por cromatografía en columna.

También se apreciará que la presente invención proporciona un método para la interconversión de epímeros C(4) de un compuesto de fórmula (V) o (VI) en la que L

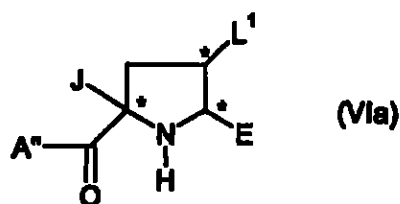
representa CHO o CO₂Y donde Y representa hidrógeno o alquilo, y A^{*}, E, y J son como se han definido anteriormente para la fórmula (III). Por ejemplo, el diastereoisómero *rel*-(2R, 4S,5R) de un compuesto de fórmula (V) y/o (VI) puede convertirse en el diastereoisómero *rel*-(2R,4R,5R) cuando sea apropiado. Tal epimerización de estos
5 diastereoisómeros *rel*-(4S,5R) en los diastereoisómeros *rel*-(4R,5R) correspondientes puede realizarse por tratamiento de un compuesto de fórmula (V) y/o (VI) con una base adecuada y en presencia de un disolvente adecuado. Por ejemplo, la conversión del diastereoisómero *rel*-(4S,5R) de un compuesto de Fórmula (V) cuando L representa CO₂Me en el diastereoisómero *rel*-(4R, 5R) puede realizarse por tratamiento del
10 diastereoisómero *rel*-(4S,5R) con una base adecuada, tal como metóxido sódico, en presencia de un disolvente adecuado, tal como metanol.

Se apreciará que los compuestos racémicos de Fórmula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y/o (IX) pueden resolverse opcionalmente en sus enantiómeros individuales. Tales resoluciones pueden realizarse convenientemente por métodos convencionales
15 conocidos en la técnica. Por ejemplo, un compuesto racémico de Fórmula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y/o (IX) puede resolverse por HPLC preparativa quiral. Como alternativa, los compuestos racémicos de Fórmula (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y/o (IX) que contienen un grupo ácido o básico apropiado, tal como un grupo ácido carboxílico o un grupo amina pueden resolverse mediante la formación de la sal diastereoisomérica
20 convencional con una base quiral o un reactivo ácido respectivamente según sea apropiado. Tales técnicas son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, un compuesto racémico de Fórmula (VI) en la que L es CO₂Me puede resolverse por tratamiento con un ácido quiral tal como (R)-(-)-1,1'-binaftil-2,2'-diil-hidrogenofosfato, en un disolvente o mezcla de disolventes adecuada, por ejemplo diclorometano, isopropanol,
25 isopropil acetato y/o acetonitrilo. En un aspecto, se usa una mezcla de diclorometano y acetato de isopropilo como disolvente. Después, el enantiómero de Fórmula (VI) puede obtenerse tratando la sal con una base adecuada, por ejemplo trietilamina, en un disolvente adecuado, por ejemplo metil *tert*-butil éter. Después, los enantiómeros individuales de Fórmula (II), (III), (IV), (V), (VI) y/o (IX) pueden convertirse en un
30 compuesto enantiomérico de Fórmula (Ia) mediante la química descrita anteriormente con respecto a los compuestos racémicos.

También se apreciará que los compuestos enantioméricos individuales de Fórmula (III), (VI) y/o (IX) pueden prepararse por métodos generales de síntesis asimétrica usando, cuando sea apropiado, auxiliares quirales o reactivos catalíticos

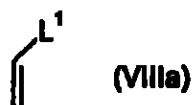
quirales y además realizando cualquier etapa de interconversión de grupo funcional adecuada como se ha descrito anteriormente en este documento, incluyendo la adición o retirada de cualquier auxiliar quiral. Tales métodos generales de síntesis asimétrica son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero sin limitación, los descritos en "Asymmetric Synthesis," Academic Press, 1984 y/o "Chiral Auxiliaries and Ligands en Asymmetric Synthesis", Wiley, 1995. Por ejemplo, los auxiliares quirales generales adecuados incluyen alcoholes quirales tales como mentol o 1-feniletanol; oxazolidinonas quirales tales como 4-benciloxazolidin-2-ona o 4-isopropiloxazolidin-2-ona; sultamas quirales tales como canfor-sultama; o aminas quirales tales como 1-feniletilamina o 2-amino-2-feniletanol. Los reactivos catalíticos quirales generales adecuados incluyen aminas básicas quirales y ligandos quirales tales como N-metilefedrina, 1-fenil-2-(1-pirrolidinil)-1-propanol, 3-(dimetilamino)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]-heptan-2-ol, 3,4-bis(difenilfosfanil)-1-(fenilmetil)-pirrolidina, cinconina, cinconidina, esparteína, hidroquinina o quinina, BINAP o ligandos y derivados de bis(oxazolina) quiral (BOX), opcionalmente en presencia de una sal metálica, por ejemplo M_mX_x donde M es plata, cobalto, cinc, titanio, magnesio o manganeso, y X es haluro (por ejemplo cloruro o bromuro), acetato, trifluoroacetato, p-toluenosulfonato, trifluorometilsulfonato, hexafluorofosfato o nitrato, y m y x son 1, 2, 3 ó 4, y opcionalmente en presencia de una base, por ejemplo trietilamina. Todos estos auxiliares quirales o reactivos catalíticos quirales se describen bien en la técnica. Los ejemplos ilustrativos generales de la preparación de diversas pirrolidinas quirales por síntesis asimétrica usando auxiliares quirales o reactivos catalíticos quirales incluyen, pero sin limitación, los descritos en *Angew. Chem. Int. Ed.*, (2002), 41: 4236; *Chem. Rev.*, (1998), 98: 863; *J. Am. Chem. Soc.*, (2002), 124: 13400; *J. Am. Chem. Soc.*, (2003), 125: 10175; *Org. Lett.*, (2003), 5, 5043; *Tetrahedron*, (1995), 51: 273; *Tetrahedron: Asymm.*, (1995), 6: 2475; *Tetrahedron: Asymm.*, (2001), 12: 1977; *Tetrahedron: Asymm.*, (2002), 13: 2099 y *Tet. Lett.*, (1991), 41: 5817.

En un aspecto particular, un compuesto pirrolidina quiral de Fórmula (VIa)



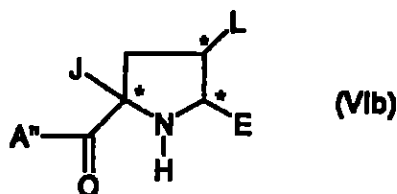
en la que L^1 representa CO_2Y o CO_2Y^1 donde Y representa hidrógeno o alquilo, Y^1

representa un auxiliar quiral, y A^{*}, E, y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (VI), y * se refiere a un centro quiral enriquecido enantioméricamente, puede prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (VII), como se ha definido anteriormente en este documento, con un compuesto de Fórmula (VIII)



5 en la que L¹ representa un grupo éster quiral CO₂Y¹ donde Y¹ representa un auxiliar quiral, y después realizando opcionalmente cualquier conversión de CO₂Y¹ en CO₂Y por métodos convencionales para la retirada de auxiliares quirales. Tal éster quiral CO₂Y¹ puede obtenerse a partir de un alcohol quiral Y¹OH, por ejemplo mentol, por
10 técnicas de esterificación convencionales. Preferiblemente, la reacción de un compuesto de Fórmula (VII) con un compuesto de Fórmula (VIII) se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF o acetonitrilo, opcionalmente en presencia de un catalizador de ácido de Lewis, tal como bromuro de litio o acetato de plata, y una base, tal como trietilamina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) o tetrametilgua-
15 nidina. Como alternativa, la reacción se realiza en un disolvente adecuado, por ejemplo THF o acetonitrilo, en presencia de un ácido, tal como ácido acético, o la reacción puede realizarse calentando compuestos de Fórmula (VII) y (VIII) en un disolvente adecuado, por ejemplo tolueno, xileno o acetonitrilo en ausencia de un catalizador. En *Tetrahedron: Asymm.*, (1995), 6: 2475 se describe la preparación de
20 compuestos análogos a los de las Fórmulas (VIa) y (VIIa).

En un aspecto más, un compuesto de pirrolidina quiral de Fórmula (VIb)



25 en la que L representa CO₂Y donde Y representa hidrógeno o alquilo, A^{*}, E y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (VI), y * se refiere a un centro quiral enriquecido enantioméricamente puede prepararse por reacción de un compuesto de Fórmula (VII) con un compuesto de Fórmula (VIII) como se ha definido anteriormente en este documento, en condiciones de reacción asimétricas. Se apreciará por los especialistas en la técnica que las condiciones de reacción asimétricas pueden producirse, por ejemplo, por la inclusión en la mezcla de reacción de un

reactivo catalítico quiral que se ha descrito anteriormente en este documento.

En un aspecto, la reacción se realiza en presencia de un reactivo catalítico quiral adecuado, por ejemplo (-)-N-metilefedrina, y una sal metálica adecuada, por ejemplo bromuro de manganeso (II), en un disolvente adecuado, por ejemplo acetonitrilo. Preferiblemente, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de -30°C a temperatura ambiente, adecuadamente a -20°C.

En un aspecto alternativo, la reacción se realiza en presencia de un reactivo catalítico quiral adecuado, por ejemplo (S)-(-)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1',1'-binaftil(S-BINAP), y una sal metálica adecuada, por ejemplo acetato de plata, en presencia de una base adecuada, por ejemplo diisopropiletilamina, en un disolvente adecuado, por ejemplo acetonitrilo opcionalmente co-solvatado con tolueno. Preferiblemente, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de -15°C a la temperatura ambiente, adecuadamente a -5°C.

Opcionalmente, el diastereoisómero quiral principal de un compuesto de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) que surge de tal reacción asimétrica puede enriquecerse enantioméricamente por técnicas de purificación convencionales bien conocidas en la técnica, por ejemplo por cromatografía o cristalización fraccionada. Un método de cristalización favorable es la cristalización fraccionada de una sal del diastereoisómero quiral principal, por ejemplo la sal hidrocioruro o la sal (R)-(-)-1,1'-binaftil-2,2'-dill-hidrogenofosfato. La sal hidrocioruro de un compuesto de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) puede prepararse tratando un compuesto de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) con cloruro de hidrógeno anhidro en un disolvente adecuado, por ejemplo éter dietílico. Preferiblemente, la reacción se realiza a una temperatura en el intervalo de -10 a 10°C.

La sal (R)-(-)-1,1'-binaftil-2,2'-dill-hidrogenofosfato de un compuesto de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) puede prepararse como se ha descrito anteriormente en este documento para la resolución de un compuesto racémico de Fórmula (VI).

La retirada opcional de un auxiliar quiral de un grupo en el que L^1 representa CO_2Y^1 para producir un grupo en el que L^1 representa CO_2Y se realiza fácilmente por métodos convencionales, por ejemplo por tratamiento con un reactivo hidrolítico tal como hidróxido sódico o un alcóxido tal como metóxido sódico según sea apropiado, en un disolvente adecuado tal como metanol.

Opcionalmente, un compuesto quiral de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) puede convertirse en un compuesto quiral de Fórmula (IX) en la que G' representa

hidroxialquilo y Aⁿ, E, y J son como se han definido anteriormente para la Fórmula (III) por tratamiento con reactivos adecuados para realizar la conversión del grupo funcional del grupo L o L¹ en el grupo G'. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (VIa) en la que L¹ representa CO₂Y¹ e Y¹ es como se ha definido anteriormente puede tratarse con un agente reductor adecuado, por ejemplo hidruro de litio y aluminio, en un disolvente adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano.

Opcionalmente, un compuesto quiral de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) puede convertirse en un compuesto quiral de Fórmula (IV) en la que G' representa hidroxialquilo, acilando primero el átomo de nitrógeno de la pirrolidina como se ha descrito anteriormente para la transformación de un compuesto de Fórmula (VI) en un compuesto de Fórmula (V) y posteriormente por tratamiento con reactivos adecuados para realizar la interconversión del grupo funcional del grupo L o L¹ en el grupo G' como se ha descrito anteriormente para la transformación de un compuesto de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VIb) en un compuesto quiral de Fórmula (IX).

Se apreciará que, con las etapas de conversión adicionales adecuadas que se han descrito anteriormente, pueden prepararse los compuestos quirales de Fórmula (Ia), (II), (IV) y/o (V) a partir de compuestos quirales de Fórmula (III), (VI) y (IX).

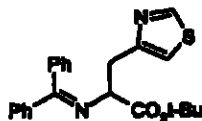
Con la manipulación y protección apropiadas de cualquier funcionalidad química, la síntesis de los compuestos de Fórmula (I) se realiza por métodos análogos a los anteriores y a los que se describen en la sección Experimental. Los grupos protectores adecuados pueden encontrarse, pero sin limitación, en T W Greene y PGM Wuts 'Protective Groups in Organic Synthesis', 3^a Ed. (1999), J Wiley y Sons.

EJEMPLOS

Los especialistas en la técnica apreciarán que cuando se usan disolventes en las reacciones, se desea usar disolventes anhidros. También se desea realizar las reacciones en una atmósfera inerte, por ejemplo en una atmósfera de nitrógeno o argón, según sea apropiado.

Intermedio 1

Ácido 2-[N-(difenilmetileno)amino]-3-(1,3-tiazol-4-yl)propanoico, éster *tert*-butílico



Parte A

A una solución enfriada (baño de hielo) de ácido 2-[N-(difenilmetileno)amino]etanolico, éster *terc*-butilico (*J. Org. Chem.*, 1982, 47, 2663; 42,3 g, 143 mmol) en THF seco (450 ml) en una atmósfera de nitrógeno se le añadió gota a gota una solución 1 M de *t*-butóxido potásico en THF (148 ml) (embudo de goteo) durante 25 minutos. La mezcla se dejó en agitación durante 45 minutos más en el baño de hielo.

Parte B

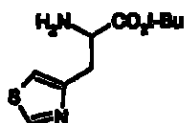
Independientemente, durante este tiempo, se convirtió hidrocloreto de 4-(clorometil)-1,3-tiazol recién preparado (25,5 g, 150 mmol) en la base libre como se indica a continuación: El hidrocloreto se mezcló con diclorometano (500 ml) y se lavó con una solución acuosa al 5% p/v de bicarbonato sódico (375 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó cuidadosamente (evaporador rotatorio; 80 torr, baño de agua a 25°C) para dar la base libre.

Parte C

El 4-(clorometil)-1,3-tiazol (formado en la Parte B) se disolvió en THF (100 ml) y se añadió gota a gota (embudo de goteo) durante 30 minutos a la mezcla de reacción de la Parte A, manteniendo la reacción a la temperatura del baño de hielo. Se añadió yoduro de litio anhidro sólido (1 g, 7,5 mmol) directamente a la mezcla de reacción 5 minutos después del inicio de la adición del agente alquilante. El embudo de goteo se aclaró con más THF seco (50 ml) que se añadió a la reacción. La reacción se agitó a la temperatura del baño de hielo durante 45 minutos, se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 minutos y se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas más antes de repartirse entre una mezcla de salmuera saturada (400 ml), agua (200 ml) y acetato de etilo (800 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con más acetato de etilo (2 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron para dar el compuesto del título (57,8 g, bruto) que se usó sin purificación adicional. ¹H RMN (CDCl₃): δ 8,65 (d, 1H), 7,55-7,82 (m, 2H), 7,2-7,55 (m, 6H), 7,05 (d, 1H), 6,78-6,87 (m, 2H), 4,36-4,41 (m, 1H), 3,47-3,54 (m, 1H), 3,36-3,44 (m, 1H) y 1,44 (s, 9H).

30 Intermedio 2

Ácido 2-amino-3-(1,3-tiazol-4-il)propanolico, éster *terc*-butilico

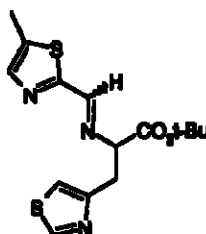


A una solución de ácido 2-[N-(difenilmetileno)amino]-3-(1,3-tiazol-4-il)propanoico, éster *terc*-butílico (preparado de manera similar a la descrita en el Intermedio 1; 20 g) en THF (150 ml) en una atmósfera de argón se le añadió una solución de ácido cítrico en agua (al 15% p/v, 150 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, se dejó durante una noche y después la mayor parte del THF se retiró a presión reducida (evaporador rotatorio; baño de agua a 25°C) y se añadió ácido clorhídrico acuoso 1 M (60 ml). La mezcla se extrajo con éter dietílico (2 x 200 ml) y los extractos de éter combinados se extrajeron de nuevo con agua (50 ml). Las capas acuosas combinadas se extrajeron con más éter dietílico (100 ml). Todas las capas de éter se desecharon. Después, la capa acuosa se ajustó cuidadosamente a pH 9,5 con carbonato potásico, se añadió salmuera (100 ml) y la mezcla se extrajo con éter dietílico (4 x 200 ml). Estas capas de éter combinadas se secaron sobre sulfato sódico. La retirada del disolvente a presión reducida dio el compuesto del título, un aceite.

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,77 (d, 1H), 7,08 (d, 1H), 3,77-3,85 (m, 1H), 3,22-3,32 (m, 1H), 3,02-3,13 (m, 1H) y 1,42 (s, 9H). No se observaron protones de amina.

Intermedio 3

Ácido 2-[[N-(5-Metil-1,3-tiazol-2-il)metileno]amino]-3-(1,3-tiazol-4-il)propanoico, éster *terc*-butílico

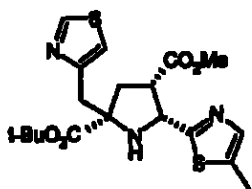


Una mezcla de ácido 2-amino-3-(1,3-tiazol-4-il)propanoico, éster *terc*-butílico (Intermedio 2; 2,90 g, 12,7 mmol), 5-metil-1,3-tiazol-2-carboxaldehído (1,62 g, 12,7 mmol) y sulfato de magnesio (aprox. 1 g) en diclorometano (70 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se evaporó para retirar el disolvente, dando el compuesto del título en forma de un aceite.

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,75 (d, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,55 (a, 1H), 7,02 (d, 1H), 4,45 (dd, 1H), 3,56 (dd, 1H), 3,33 (dd, 1H), 2,50 (s a, 3H) y 1,44 (s, 9H).

Intermedio 4

Ácido dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

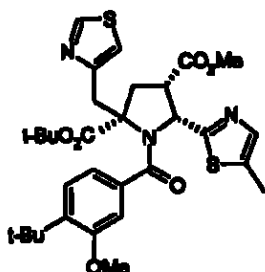
Una solución de ácido 2-[[N-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)metileno]amino]-3-(1,3-tiazol-4-il)-propanoico, éster *tert*-butilico (Intermedio 3, 4,3 g, 12,75 mmol) en tetrahydrofurano (125 ml) se agitó en atmósfera de nitrógeno. Se añadieron sucesivamente
 5 acrilato de metilo (2,15 g, 25 mmol), bromuro de litio (2,20 g, 25 mmol) y trietilamina (1,73 ml, 12,5 mmol), y la mezcla resultante se agitó durante 18 horas. Se añadió una solución saturada de cloruro amónico (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (100 ml) y salmuera saturada (100 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporaron. El residuo
 10 se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando acetato de etilo-ciclohexano (1:1 v/v y después 2:1 v/v) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de un aceite.

MS calc. para $(C_{19}H_{25}N_3O_4S_2 + H)^+$: 424

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 424$

15 Intermedio 5

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)l)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*tert*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

Una mezcla de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)-pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*tert*-butil éster, 4-metil éster (Intermedio 4, 3,90
 20 g, 9,2 mmol) en diclorometano (50 ml), cloruro de 3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)l¹ (3,28 g, 15,6 mmol) y trietilamina (3,52 ml) se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 3 días. La mezcla se lavó con agua (100 ml) y salmuera (50 ml), se secó pasándose a través de una frita hidrófoba y se evaporó. El residuo se

purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando ciclohexano-acetato de etilo (3:1 v/v) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de una espuma.

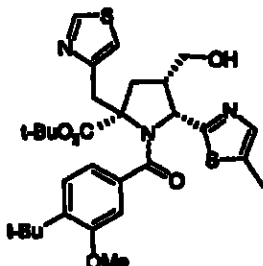
MS calc. para $(C_{21}H_{28}N_2O_6S_2 + H)^+$: 614

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 614$.

- 5 Ref. (1): Sintetizado a partir de ácido 3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoico (*J. Org. Chem.*, 26, 1961, 1732-1737).

Intermedio 6

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

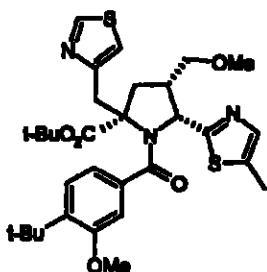
- 10 Una solución de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster (Intermedio 5, 4,80 g, 7,82 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml) se agitó en una atmósfera de nitrógeno y se enfrió a -78°C. Se añadió gota a gota una solución
- 15 1,0 M de hidruro de litio y aluminio en éter dietílico (8,1 ml). Cuando se completó la adición, la mezcla se calentó a -45°C y se mantuvo a esa temperatura durante 3,5 horas. La mezcla se inactivó con una solución acuosa 1 M de carbonato potásico (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). Los extractos se lavaron con agua (100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando ciclohexano-acetato
- 20 de etilo (inicialmente 2:1 v/v y después 1:2 v/v) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de una espuma.

MS calc. para $(C_{30}H_{38}N_4O_6S_2 + H)^+$: 586

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 586$

Intermedio 7

- 25 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, *terc*-butil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

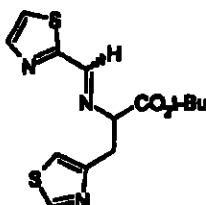
Una solución de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *tert*-butílico (Intermedio 6, 0,585 g, 1 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se agitó en atmósfera de nitrógeno y se enfrió a -10°C. Se añadió una dispersión al 60% de hidruro sódico en aceite mineral (69 mg, 1,725 mmol) y la mezcla resultante se agitó por debajo de 0°C durante 30 min. Se añadió yodometano (0,425 ml) y la mezcla se agitó durante 4 horas más, manteniendo la temperatura de la mezcla de reacción entre 0°C y 20°C. La mezcla se inactivó con metanol (10 ml) y se evaporó. El residuo se repartió entre agua (50 ml) y acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se recogió, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando ciclohexano-acetato de etilo (inicialmente 2:1 v/v y después 1:1 v/v) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de una espuma.

MS calc. para (C₃₁H₄₁N₃O₆S₂ + H)⁺: 600

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 600

Intermedio 8

Ácido 2-[N-(1,3-tiazol-2-ilmetileno)amino]-3-(1,3-tiazol-4-il)propanoico, éster *tert*-butílico

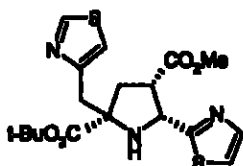


El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 3, usando 1,3-tiazol-2-carboxaldehído en lugar de 5-metil-1,3-tiazol-2-carboxaldehído.

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,75 (d, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,43 (dd, 1H), 7,03 (d, 1H), 4,50 (dd, 1H), 3,58 (dd, 1H), 3,34 (dd, 1H) y 1,45 (s, 9H).

Intermedio 9

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-5-(1,3-tiazol-2-Il)-2-(1,3-tiazol-4-Ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

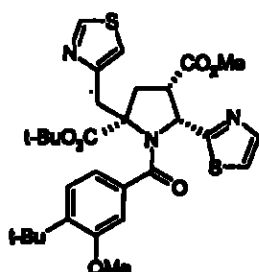
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 4, usando el Intermedio 8 en lugar del Intermedio 3. La mezcla se enfrió a 0°C antes de la adición de acrilato de metilo y se dejó calentar a TA antes de inactivarse.

MS calc. para (C₁₈H₂₃N₃O₄S₂ + H)⁺: 410

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 410

Intermedio 10

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(1,3-tiazol-2-Il)-2-(1,3-tiazol-4-Ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

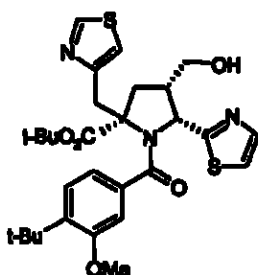
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 5, usando el Intermedio 9 en lugar del Intermedio 4. Se usó ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 50:1 a 1:1) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para (C₃₀H₃₇N₃O₆S₂ + H)⁺: 600

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 600

Intermedio 11

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(1,3-tiazol-2-Il)-2-(1,3-tiazol-4-Ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butilico



Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

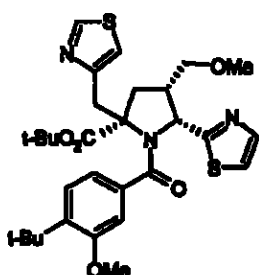
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 6, usando el Intermedio 10 en lugar del Intermedio 5. Se usó ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 50:1 a 2:3) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para $(C_{28}H_{37}N_3O_5S_2 + H)^+$: 572

5 MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 572$

Intermedio 12

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *tert*-butílico



Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

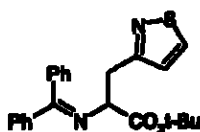
10 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 7, usando el Intermedio 11 en lugar del Intermedio 6. Se usó ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 50:1 a 1:1) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para $(C_{30}H_{39}N_3O_5S_2 + H)^+$: 586

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 586$

Intermedio 13

15 Ácido 2-[N-(difenilmetileno)amino]-3-(1,2-tiazol-3-il)propanoico, éster *tert*-butílico

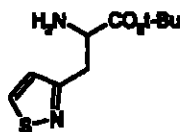


El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 1, usando 3-(bromometil)-1,2-tiazol en lugar de 4-(clorometil)-1,3-tiazol.

^1H RMN (CDCl_3): δ 8,51 (d, 1H), 7,61-7,18 (m, 8H), 7,08 (dd, 1H), 6,83 (m, 2H), 4,38 (dd, 1H), 3,48 (d, 2H) y 1,43 (s, 9H).

Intermedio 14

Ácido 2-amino-3-(1,2-tiazol-3-il)propanoico, éster *terc*-butilico



5

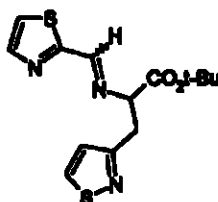
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 2, usando el Intermedio 13 en lugar del Intermedio 1.

^1H RMN (CDCl_3): δ 8,60 (d, 1H), 7,13 (d, 1H), 3,84 (dd, 1H), 3,29 (dd, 1H), 3,15 (dd, 1H) y 1,43 (s, 9H). No se observaron protones de amina.

10

Intermedio 15

Ácido 2-[N-(1,3-tiazol-2-ilmetileno)amino]-3-(1,2-tiazol-3-il)propanoico, éster *terc*-butilico



15

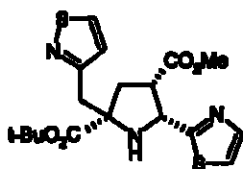
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 3, usando el Intermedio 14 en lugar del Intermedio 2 y 1,3-tiazol-2-carboxaldehído en lugar de 5-metil-1,3-tiazol-2-carboxaldehído. La reacción se calentó a reflujo durante 1,5 horas.

^1H RMN (CDCl_3): δ 8,54 (d, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,92 (d, 1H), 7,44 (dd, 1H), 7,10 (d, 1H), 4,54 (dd, 1H), 3,60 (dd, 1H), 3,42 (dd, 1H) y 1,43 (s, 9H).

20

Intermedio 16

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

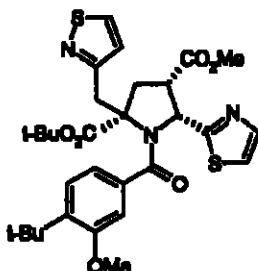
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 4, usando el Intermedio 15 en lugar del Intermedio 3. Se usó ciclohexano-acetato de etilo

(3:2 v/v) como eluyente para la cromatografía, seguido de la evaporación del disolvente para proporcionar el compuesto del título en forma de una espuma.

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,58 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,22 (d, 1H), 4,85 (d, 1H), 3,46 (s, 3H), 3,34 (d, 1H), 3,28-3,22 (m, 1H), 3,20 (d, 1H), 2,85 (dd, 1H), 2,31 (dd, 1H) y 1,43 (s, 9H). No se observaron protones de amina.

Intermedio 17

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

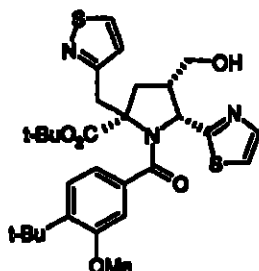
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 5, usando el Intermedio 16 en lugar del Intermedio 4. Después del lavado con salmuera, se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado con agitación durante 25 min. Se usó ciclohexano-acetato de etilo (4:1 v/v) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para (C₃₀H₃₇N₃O₆S₂ + H)⁺: 600

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 600

Intermedio 18

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

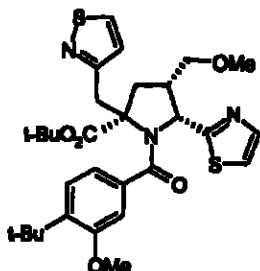
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 6, usando el Intermedio 17 en lugar del Intermedio 5 y cloruro amónico en lugar de carbonato potásico acuoso.

MS calc. para (C₂₈H₃₇N₃O₅S₂ + H)⁺: 572

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 572

Intermedio 19

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



Racémico;

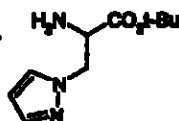
Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 7, usando el Intermedio 18 en lugar del Intermedio 6.

^1H RMN (CDCl_3): δ 8,66 (d, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,71 (d, 1H), 6,52 (s, 1H), 5,17 (d, 1H), 4,18 (d, 1H), 3,61 (d, 1H), 3,63 (s, 3H), 2,94 (s, 3H), 2,76 (dd, 1H), 2,66 (dd, 1H), 2,45 (dd, 1H), 2,34 (t, 1H), 2,02-1,91 (m, 1H), 1,64 (s, 9H) y 1,29 (s, 9H).

Intermedio 20

Ácido 2-amino-3-(1H-pirazol-1-il)propanoico, éster *terc*-butílico



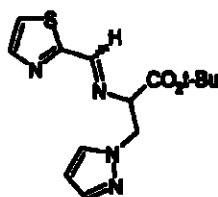
A una suspensión agitada de ácido 2-amino-3-(1H-pirazol-1-il)propanoico (10,2 g, 65,9 mmol) en acetato de *terc*-butilo (400 ml) se le añadió una solución de ácido perclórico acuoso al 70% (15,7 ml). La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se dejó en reposo durante 20 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y después se neutralizó usando una combinación de bicarbonato sódico acuoso saturado y bicarbonato sódico sólido. La fase acuosa se retiró por separación y se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un aceite.

MS calc. para ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2 + \text{H}$) $^+$: 212

MS encontrado (electronebulización): ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ = 212.

Intermedio 21

Ácido 2-[N-(1,3-tiazol-2-ilmetileno)amino]-3-(1H-pirazol-1-il)propanoico, éster *terc*-butílico

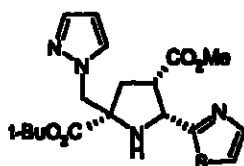


El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 3, usando 1,3-tiazol-2-carboxaldehído en lugar de 5-metil-1,3-tiazol-2-carboxaldehído y usando el Intermedio 20 en lugar del Intermedio 2.

- 5 ^1H RMN (CDCl_3): δ 8,09 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 6,12 (t, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,50 (dd, 2H), 1,46 (s, 9H).

Intermedio 22

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

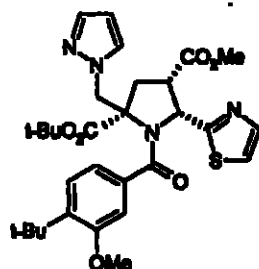
- 10 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 4, usando el Intermedio 21 en lugar del Intermedio 3. Se usó acetato de etilo-ciclohexano (1:2 y después 1:1 v/v) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para ($\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{S} + \text{H}$) $^+$: 393

MS encontrado (electronebulización): ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ = 393

- 15 Intermedio 23

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoyl)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

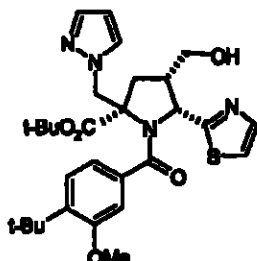
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 5, usando el Intermedio 22 en lugar del Intermedio 4.

- 20 MS calc. para ($\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6\text{S} + \text{H}$) $^+$: 583

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 583$

Intermedio 24

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-hidroximetil-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

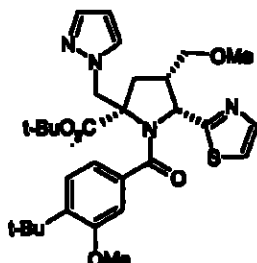
5 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 6, usando el Intermedio 23 en lugar del Intermedio 5. Se usó ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 50:1 a 1:2 v/v) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para $(C_{28}H_{39}N_4O_5S + H)^+$: 555

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 555$

10 **Intermedio 25**

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

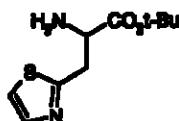
15 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 7, usando el Intermedio 24 en lugar del Intermedio 5. Se usó ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 50:1 a 3:2 v/v) como eluyente para la cromatografía.

MS calc. para $(C_{30}H_{40}N_4O_6S + H)^+$: 589

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 589$

Intermedio 26

Ácido 2-amino-3-(1,3-tiazol-2-il)propanoico, éster *terc*-butílico



20

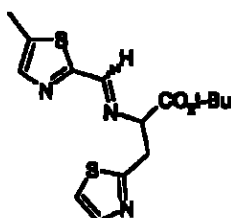
Se añadió gota a gota ácido perclórico acuoso al 70% (1,47 ml) a una suspensión agitada de ácido 2-amino-3-(1,3-tiazol-2-il)propanoico (1,077 g, 6,25 mmol) en acetato de *terc*-butilo (34 ml). La suspensión se agitó en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió acetato de etilo (100 ml) y la

5 mezcla se basificó a pH ~8 con una solución saturada de hidrogenocarbonato sódico e hidrogenocarbonato sódico sólido. La solución orgánica se separó, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro.

¹H RMN (CDCl₃): δ 7,75 (d, 1H), 7,27 (d, 1H), 3,88 (dd, 1H), 3,50 (dd, 1H), 3,32 (dd, 1H), 1,47 (s, 9H).

Intermedio 27

Ácido 2-[[N-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)metileno]amino]-3-(1,3-tiazol-2-il)propanoico, *terc*-butil éster

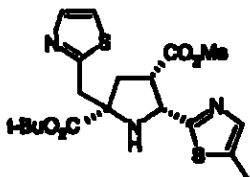


15 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 3, usando el Intermedio 26 en lugar del Intermedio 2.

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,28 (s, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,19 (d, 1H), 4,46 (m, 1H), 3,75 (dd, 1H), 3,58 (dd, 1H), 2,50 (s, 3H) y 1,42 (s, 9H).

Intermedio 28

20 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

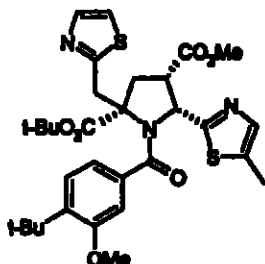
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 4, usando el Intermedio 27 en lugar del Intermedio 3.

MS calc. para (C₁₉H₂₅N₃O₄S₂ + H)⁺: 424

25 MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 424

Intermedio 29

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

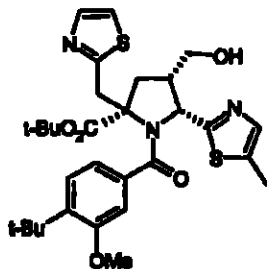
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 5, usando el Intermedio 28 en lugar del Intermedio 4.

5 MS calc. para $(C_{31}H_{39}N_3O_6S_2 + H)^+$: 614

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 614$

Intermedio 30

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

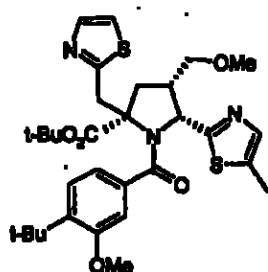
10 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 6, usando el Intermedio 29 en lugar del Intermedio 5.

MS calc. para $(C_{30}H_{39}N_3O_6S_2 + H)^+$: 586

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 586$

Intermedio 31

15 **Ácido** *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoil)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



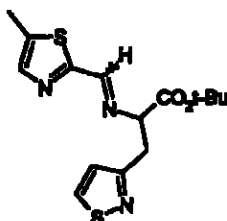
Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 7, usando el Intermedio 30 en lugar del Intermedio 6.

MS calc. para $(C_{31}H_{41}N_3O_5S_2 + H)^+$: 600 MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 600$

5 **Intermedio 32**

Ácido 2-[[N-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)metileno]amino]-3-{1,2-tiazol-3-il}propanoico, éster *terc*-butilico

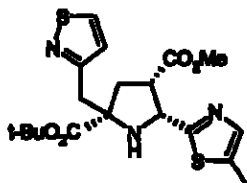


10 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 3, usando el Intermedio 14 en lugar del Intermedio 2.

^1H RMN ($CDCl_3$): δ 8,53 (d, 1H), 8,23 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,08 (d, 1H), 4,50 (dd, 1H), 3,57 (dd, 1H), 3,39 (dd, 1H), 2,50 (d, 3H) y 1,44 (s, 9H).

Intermedio 33

15 Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



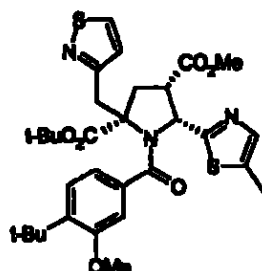
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 4, usando el Intermedio 32 en lugar del Intermedio 3.

MS calc. para $(C_{19}H_{25}N_3O_4S_2 + H)^+$: 424

20 MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 424$.

Intermedio 34

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



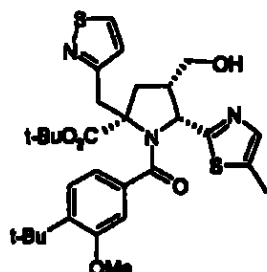
- 5 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 5, usando el Intermedio 33 en lugar del Intermedio 4.

MS calc. para $(C_{31}H_{38}N_2O_6S_2 + H)^+$: 614

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 614$

Intermedio 35

- 10 **Ácido** *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

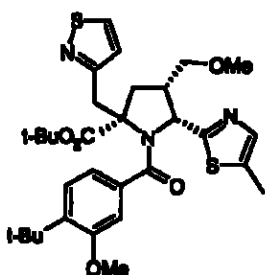
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 6, usando el Intermedio 34 en lugar del Intermedio 5.

MS calc. para $(C_{30}H_{38}N_2O_6S_2 + H)^+$: 586

- 15 MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 586$

Intermedio 36

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *terc*-butílico



Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

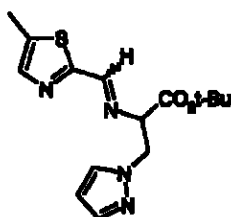
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 7, usando el Intermedio 35 en lugar del Intermedio 6.

MS calc. para $(C_{31}H_{41}N_3O_5S_2 + H)^+$: 600

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 600$

5 **Intermedio 37**

Ácido 2-[[N-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)metileno]amino]-3-(1H-pirazol-1-il)propanolco, éster *terc*-butílico



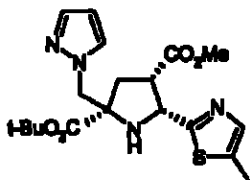
Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 3, usando el Intermedio 20 en lugar del Intermedio 2.

10 ^1H RMN ($CDCl_3$): δ 7,98 (s, 1H), 7,56 (d a, 1H), 7,50 (d a, 1H), 7,34 (d, 1H), 6,13 (t, 1H), 4,82-4,73 (m, 1H), 4,50-4,43 (m, 2H), 2,51 (s, 3H) y 1,47 (s, 9H).

Intermedio 38

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

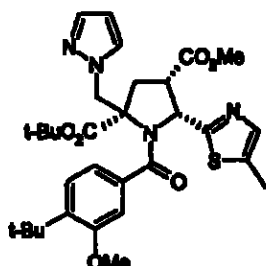
15 El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 4, usando el Intermedio 37 en lugar del Intermedio 3.

MS calc. para $(C_{18}H_{28}N_4O_4S + H)^+$: 407

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 407$

Intermedio 39

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-ii)-2-(1H-pirazol-1-ii metil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster, 4-metil éster



Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

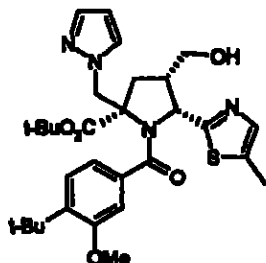
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 5, usando el Intermedio 38 en lugar del Intermedio 4.

- 5 MS calc. para (C₃₁H₄₀N₄O₅S + H)⁺: 597
MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 597

Intermedio 40

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-4-(hidroximetil)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-ii)-2-(1H-pirazol-1-ii metil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster

10



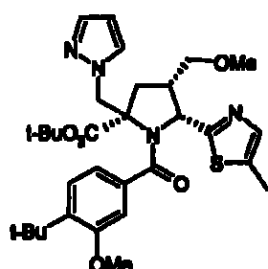
Racémico;
Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 6, usando el Intermedio 39 en lugar del Intermedio 5.

- MS calc. para (C₂₉H₃₈N₄O₅S + H)⁺: 569
MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 569

15 **Intermedio 41**

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-ii)-2-(1H-pirazol-1-ii metil)pirrolidina-2,4-dicarboxílico, 2-*terc*-butil éster



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

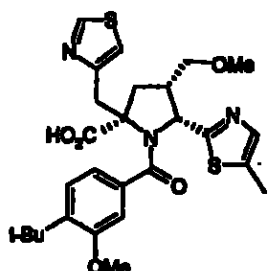
El compuesto del título se preparó de una manera similar al Intermedio 7, usando el Intermedio 40 en lugar del Intermedio 6.

MS calc. para $(C_{31}H_{42}N_4O_5S + H)^+$: 583

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 583$

5 Ejemplo 1

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoyl)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

Una solución de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoyl)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico, éster *tert*-butílico (Intermedio 7, 0,205 g, 0,34 mmol) en diclorometano (3 ml) se trató con ácido trifluoroacético (3 ml) a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se trituró con éter dietílico para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco.

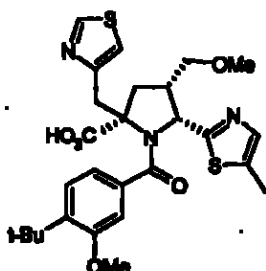
MS calc. para $(C_{27}H_{33}N_3O_5S_2 + H)^+$: 544

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 544$

^1H RMN (CD_3OD): δ 9,09 (d, 1H), 8,31 (d, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,21 (d, 1H), 6,79 (dd, 1H), 6,55 (d, 1H), 5,05 (d, 1H), 4,07 (d, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,55 (d, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,95 (dd, 1H), 2,50 (t, 1H), 2,40 (dd, 1H), 2,36 (d, 3H), 2,13 (t, 1H) y 1,32 (s, 9H).

20 Ejemplo 2

Enantiómero A de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoyl)-4-(metoximetil)-5-(metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

Se resolvió ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico (Ejemplo 1) por HPLC preparativa quiral sobre una columna Chiralpak AD usando heptano-etanol (75:25 v/v) que contenía ácido trifluoroacético al 0,1% como eluyente para dar el primer y segundo enantiómeros de elución. El segundo enantiómero de elución se trituró con éter dietílico para dar el compuesto del título.

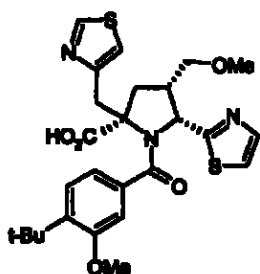
MS calc. para (C₂₇H₃₃N₃O₅S₂ + H)⁺: 544

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 544

¹H RMN (CD₃OD): δ 9,09 (d, 1H), 8,31 (d, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,21 (d, 1H), 6,79 (dd, 1H), 6,55 (d, 1H), 5,05 (d, 1H), 4,07 (d, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,55 (d, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,95 (dd, 1H), 2,50 (t, 1H), 2,40 (dd, 1H), 2,36 (d, 3H), 2,13 (t, 1H) y 1,32 (s, 9H).

Ejemplo 3

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

Este compuesto se preparó de una manera similar al Ejemplo 1, usando el Intermedio 12 en lugar del Intermedio 7 y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo inicialmente con ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 5:2 a 2:3 v/v) seguido de otra elución con diclorometano y después con diclorometano-metanol (gradiente de elución de 60:1 a 19:1) para dar el compuesto del título.

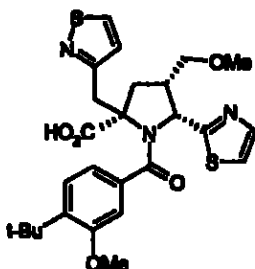
MS calc. para (C₂₈H₃₁N₃O₅S₂ + H)⁺: 530

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 530$

^1H RMN ($CDCl_3$): δ 8,87(d, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,25 (dd, 2H), 7,10 (d, 1H), 6,61 (dd, 1H), 6,40 (d, 1H), 5,18 (d, 1H), 4,22 (d, 1H), 3,70 (d, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,11 (dd, 1H), 3,01 (s, 3H), 2,48 (dd, 1H), 2,31 (m, 1H), 2,16 (m, 2H), 1,89 (s, 1H) y 1,30 (s, 9H).

Ejemplo 4

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoil)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto se preparó de una manera similar al Ejemplo 1, usando el Intermedio 19 en ácido trifluoroacético puro en lugar del Intermedio 7 en ácido trifluoroacético y diclorometano, y re-evaporando en diclorometano en lugar de triturar con éter dietílico. La purificación por HPLC de fase inversa sobre una columna C_{18} , usando un gradiente de elución de dos disolventes, (A) agua que contenía ácido fórmico (al 0,1%) y (B) acetonitrilo-agua (95:5 v/v) que contenía ácido fórmico (al 0,05%) como eluyentes, y el análisis de las fracciones por espectroscopía de masas por electronebulización proporcionaron el compuesto del título.

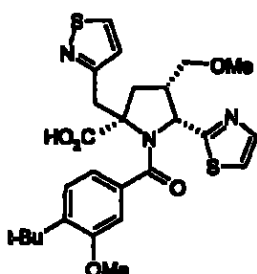
MS calc. para $(C_{28}H_{31}N_3O_6S_2 + H)^+$: 530

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 530$

^1H RMN ($CDCl_3$): δ 8,70 (1H, d), 7,78 (1H, d), 7,31 (1H, d), 7,27 (1H, d), 7,12 (1H, d), 6,63 (1H, dd), 6,45 (1H, d), 5,19 (1H, d), 4,22 (1H, d), 3,73 (1H, d), 3,64 (3H, s), 3,08 (1H, dd), 3,00 (3H, s), 2,42 (1H, dd), 2,31 (1H, t), 2,17 (1H, t), 2,04-1,94 (1H, m) y 1,29 (9H, s). No se observaron protones de ácido.

Ejemplo 5

Enantiómero A de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoil)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

Se resolvió ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico (Ejemplo 4) por HPLC preparativa quiral sobre una columna Chiralpak AD usando heptano-etanol (85:15 v/v) que contenía ácido trifluoroacético al 0,1% como eluyente para dar el primer y segundo enantiómeros de elución. El segundo enantiómero de elución se disolvió en diclorometano, se lavó con una solución de hidrogenocarbonato sódico, se secó (frita hidrófoba) y el disolvente se retiró para dar el compuesto del título.

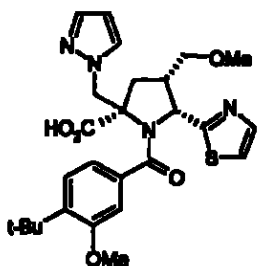
MS calc. para (C₂₈H₃₁N₃O₆S₂ + H)⁺: 530

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 530

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,70 (d, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,12 (d, 1H), 6,63 (dd, 1H), 6,45 (d, 1H), 5,19 (d, 1H), 4,23 (d, 1H), 3,74 (d, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,08 (dd, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,43 (dd, 1H), 2,31 (t, 1H), 2,17 (t, 1H), 2,08-1,94 (m, 1H), 1,29 (s, 9H). No se observaron protones de ácido.

Ejemplo 6

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto se preparó de una manera similar al Ejemplo 1, usando el Intermedio 25 en lugar del Intermedio 7. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo inicialmente con ciclohexano-acetato de etilo (gradiente de elución de 50:1 v/v a 1:9 v/v) seguido de otra elución con diclorometano-metanol (9:1 v/v) dio el compuesto del título.

MS calc. para (C₂₈H₃₂N₄O₅S + H)⁺ 513

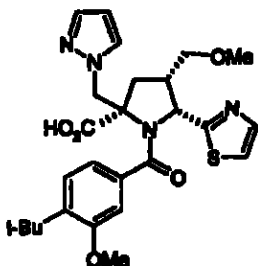
MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 513$

^1H RMN (CD_3OD): δ 7,81 (m, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,17 (d, 1H), 6,71 (dd, 1H), 6,62 (d, 1H), 6,42 (m, 1H), 5,20 (m, 2H), 4,83 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 2,96 (s, 3H), 2,91 (m, 1H), 2,45 (m, 2H), 2,14 (t, 1H), 1,49 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H).

5 Ejemplo 7

Ácido (2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico

[Enantiómero A de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoxi-metil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico]



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

La estereoquímica se determinó por cristalografía de rayos X

10 Método alternativo A

Se resolvió ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico (Ejemplo 6) por HPLC preparativa quiral sobre una columna Sumichiral OA4900 usando heptano-etanol (70:30 v/v) que contenía ácido trifluoroacético al 0,1% como eluyente para dar el primer y el segundo enantiómeros de elución. El segundo enantiómero de elución se disolvió en diclorometano, se lavó con agua (x 4), se lavó con salmuera y después se secó (sulfato sódico) y el disolvente se retiró para dar el compuesto del título.

MS calc. para $(\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6\text{S} + \text{H})^+$: 513

20 MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 513$

^1H RMN (CD_3OD): δ 7,81 (m, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,17 (d, 1H), 6,70 (dd, 1H), 6,61 (d, 1H), 6,42 (m, 1H), 5,20 (m, 2H), 4,85 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 2,97 (s, 3H), 2,91 (m, 1H), 2,44 (m, 2H), 2,15 (t, 1H), 1,47 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H).

Método alternativo B

25 Parte 1

Se resolvió ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico, 2-*terc*-butil éster (preparado de una manera similar a la descrita en el Intermedio 25; 1,95 g) por HPLC

preparativa quiral sobre una columna Chiralpak AD usando heptano-isopropanol (90:10 v/v) como eluyente. Las fracciones que contenían el primer enantiómero de elución (tiempo de retención 7,25 minutos) se disolvieron en diclorometano, se lavaron con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y el diclorometano se evaporó para producir el *Enantiómero A* (0,76 g), que se usó directamente en la Parte 2, mostrada a continuación. El enantiómero de elución más lento (tiempo de retención 10 minutos) no se requirió.

La resolución por HPLC quiral se repitió de una manera similar usando una alícuota más de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoxi-metil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico, 2-*terc*-butil éster (1,55 g) para producir una extracción más del *Enantiómero A* de elución rápida (0,55 g), que se usó directamente en Parte 2, mostrada a continuación.

Parte 2

Las dos extracciones combinadas del *Enantiómero A* del ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoxi-metil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico, 2-*terc*-butil éster (Parte 1 anterior; 1,31 g combinados con 2,32 mmol) se disolvieron en ácido trifluoroacético (20 ml) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se repartió entre diclorometano y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La fase acuosa se retiró usando una frita hidrófoba y la solución orgánica se evaporó para producir una goma. Ésta se disolvió en éter dietílico en un matraz tapado y se dejó cristalizar lentamente durante una noche. Los cristales se filtraron, se lavaron con una pequeña cantidad de éter dietílico y se secaron al vacío para producir el compuesto del título.

MS calc. para (C₂₈H₃₂N₄O₅S + H)⁺: 513

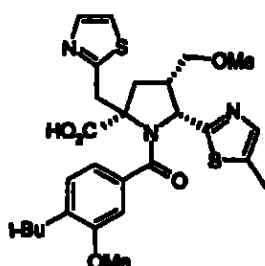
MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 513

¹H RMN (CD₃OD): δ 7,83 (m, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,19 (d, 1H), 6,72 (dd, 1H), 6,63 (d, 1H), 6,45 (t, 1H), 5,21 (m, 2H), 4,86 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 2,97 (s, 3H), 2,94 (m, 1H), 2,44 (m, 2H), 2,16 (t, 1H), 1,48 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H).

La estereoquímica absoluta de este compuesto se determinó por cristalografía de rayos X y se mostró que era (2R,4S,5R), como se ha dibujado.

Ejemplo 8

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto se preparó de una manera similar al Ejemplo 1, usando el Intermedio 31 en lugar del Intermedio 7. El producto impuro se disolvió en diclorometano y se lavó con una solución de hidrogenocarbonato sódico, se secó (frita hidrófoba) y el disolvente se retiró. El residuo se trituró con éter dietílico para dar el compuesto del título.

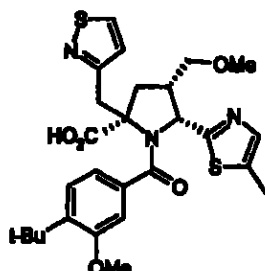
MS calc. para $(C_{27}H_{33}N_3O_5S_2 + H)^+$: 544

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 544$

^1H RMN ($CDCl_3$): δ 7,85 (d, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,15 (d, 1H), 6,80 (dd, 1H), 6,43 (d, 1H), 5,08 (d, 1H), 4,34 (d, 1H), 3,95 (d, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,10 (dd, 1H), 3,01 (dd, 1H), 3,01 (s, 3H), 2,49 (dd, 1H), 2,43-2,33 (m, 4H), 2,13 (t, 1H), 1,92-1,80 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H).

Ejemplo 9

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoyl)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-yl)-2-(1,2-tiazol-3-ylmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto se preparó de una manera similar al Ejemplo 1, usando el Intermedio 36 en ácido trifluoroacético puro en lugar del Intermedio 7 en ácido trifluoroacético y diclorometano. El producto impuro se purificó por HPLC de fase inversa sobre una columna C_{18} , usando un gradiente de elución de dos disolventes con (A) agua que contenía ácido fórmico (al 0,1%) y (B) acetonitrilo-agua (95:5 v/v) que contenía ácido fórmico (al 0,05%) como eluyentes. El análisis de las fracciones por espectroscopía de masas por electronebulización proporcionó el compuesto del título.

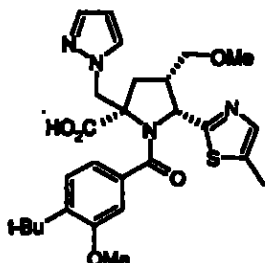
MS calc. para (C₂₇H₃₃N₃O₈S₂ + H)⁺: 544

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 544

¹H RMN (CDCl₃): δ 8,69 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,14 (d, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,42 (d, 1H), 5,04 (d, 1H), 4,22 (d, 1H), 3,72 (d, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,08 (dd, 1H), 3,02 (s, 3H), 2,46-2,39 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,14 (t, 1H), 1,99-1,88 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H). No se observaron protones de ácido

Ejemplo 10

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Racémico;

Se muestra estereoquímica relativa

El compuesto se preparó de una manera similar al Ejemplo 1, usando el Intermedio 41 en lugar del Intermedio 7. El producto impuro se purificó por HPLC de fase inversa sobre una columna C₁₈, usando un gradiente de elución de dos disolventes con (A) agua que contenía ácido fórmico (al 0,1%) y (B) acetonitrilo-agua (95:5 v/v) que contenía ácido fórmico (al 0,05%) como eluyentes. El análisis de las fracciones por espectroscopía de masas por electronebulización proporcionó el compuesto del título.

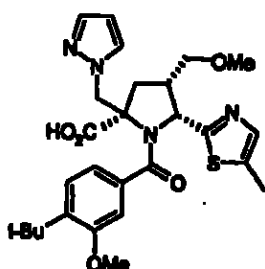
MS calc. para (C₂₇H₃₄N₄O₈S + H)⁺: 527

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 527

¹H RMN (CDCl₃): δ 7,62 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,41 (d, 1H), 6,38 (t, 1H), 5,31 (d, 1H), 5,03 (d, 1H), 4,92 (d, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,11 (dd, 1H), 3,04 (s, 3H), 2,54 (dd, 1H), 2,41 (t, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,11 (t, 1H), 1,84-1,73 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H). No se observaron protones de ácido.

Ejemplo 11

Enantiómero A de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Quiral; Enantiómero A

Se muestra estereoquímica relativa

Se resolvió ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoil)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico (Ejemplo 10) por HPLC preparativa quiral sobre una columna Chiralpak AD usando heptano-etanol (80:20 v/v) que contenía ácido trifluoroacético al 0,1% como eluyente para dar el primer y segundo enantiómeros de elución. El segundo enantiómero de elución se disolvió en diclorometano, se lavó con una solución de hidrogenocarbonato sódico, se secó (fritado hidrófobo) y el disolvente se retiró para dar el compuesto del título.

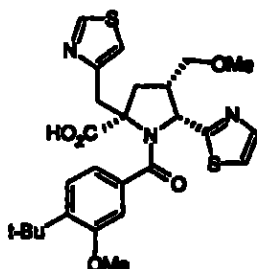
MS calc. para (C₂₇H₃₄N₄O₆S + H)⁺: 527

MS encontrado (electronebulización): (M+H)⁺ = 527

¹H RMN (CDCl₃): δ 7,62 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,15 (d, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,40 (d, 1H), 6,38 (t, 1H), 5,31 (d, 1H), 5,03 (d, 1H), 4,92 (d, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,11 (dd, 1H), 3,04 (s, 3H), 2,54 (dd, 1H), 2,40 (t, 1H), 2,36 (d, 3H), 2,11 (t, 1H), 1,83-1,72 (m, 1H) y 1,31 (s, 9H). No se observaron protones de ácido.

15 **Ejemplo 12**

Enantiómero A de ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoil)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico



Quiral; Enantiómero A

Se muestra estereoquímica relativa

Se resolvió ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*tert*-butilbenzoil)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico (preparado de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 3; 0,530 g) por HPLC preparativa quiral sobre una columna Sumichiral OA-4900, usando heptano-etanol (65:35 v/v) que contenía ácido trifluoroacético al 0,1% como eluyente para dar el primer y segundo

enantiómeros de elución. El segundo enantiómero de elución se repartió entre diclorometano y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La solución de diclorometano se separó usando una fríta hidrófoba y se evaporó al vacío para producir el compuesto del título, una espuma.

5 MS calc. para $(C_{28}H_{31}N_3O_8S_2 + H)^+$: 530

MS encontrado (electronebulización): $(M+H)^+ = 530$

^1H RMN ($CDCl_3$): δ 14,59 (1H, s), 8,88 (1H, s), 7,80 (1H, d), 7,29-7,28 (2H, parcialmente oscurecido con la señal de cloroformo), 7,12 (1H, d), 6,63 (1H, d), 6,42 (1H, s), 5,17 (1H, d), 4,24 (1H, d), 3,73 (1H, d), 3,63 (3H, s), 3,16-3,08 (1H, m), 3,01 (3H, s), 2,55-2,45 (1H, m), 2,36-2,26 (1H, m), 2,24-2,10 (2H, m) y 1,30 (9H, s).

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden formularse para la administración por cualquier vía conveniente y, por lo tanto, la invención también incluye dentro de su alcance composiciones farmacéuticas para uso en terapia, que comprenden un compuesto de fórmula (Ia) o una sal fisiológicamente aceptable o solvato del mismo mezclado con uno o más diluyentes o vehículos fisiológicamente aceptables.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse por diferentes vías que incluyen la administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, oral, tópica, transdérmica o transmucosa. Para la administración sistémica, se prefiere la administración oral. Para la administración oral, por ejemplo, los compuestos pueden formularse en formas de dosificación orales convencionales tales como cápsulas, comprimidos y preparaciones líquidas tales como jarabes, elixires y gotas concentradas.

Como alternativa, puede usarse la inyección (administración por vía parenteral), por ejemplo, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal y subcutánea. Para la inyección, los compuestos de la invención se formulan en soluciones líquidas, preferiblemente en tampones o soluciones fisiológicamente compatibles, tales como solución salina, solución de Hank o solución de Ringer. Además, los compuestos pueden formularse en forma sólida y redisolverse o suspenderse inmediatamente antes del uso. También pueden producirse formas liofilizadas.

La administración sistémica también puede realizarse a través de la mucosa o por medios transdérmicos. Para la administración transmucosa o transdérmica, en la formulación se usan penetrantes apropiados para la barrera a atravesar. Tales penetrantes se conocen generalmente en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para la

administración transmucosa, sales biliares y derivados de ácido fusídico. Además, pueden usarse detergentes para facilitar la penetración. La administración transmucosa, por ejemplo, puede realizarse a través de pulverizadores nasales, supositorios rectales o supositorios vaginales.

- 5 Para la administración tópica, los compuestos de la Invención pueden formularse en pomadas, ungüentos, geles o cremas, como se conoce generalmente en la técnica.

10 Las cantidades de los diversos compuestos a administrar pueden determinarse mediante procedimientos convencionales que tienen en cuenta factores tales como la potencia del compuesto (CI_{50}), la eficacia (CE_{50}) y la vida media biológica (del compuesto), la edad, tamaño y peso del paciente, y la enfermedad o trastorno asociado con el paciente. Se considera que la importancia de estos y otros factores se conoce por los especialistas habituales en la técnica.

15 Las cantidades administradas también dependen de las vías de administración y del grado de biodisponibilidad oral. Por ejemplo, para los compuestos con baja biodisponibilidad oral, habrá que administrar dosis relativamente superiores. La administración oral es el método de administración preferido para los presentes compuestos.

20 Preferiblemente, la composición está en una forma de dosificación unitaria. Para la aplicación oral, por ejemplo, puede administrarse un comprimido o una cápsula, para la aplicación nasal, puede administrarse una dosis de aerosol medida, para la aplicación transdérmica, puede administrarse una formulación tópica o parche y para la liberación transmucosa, puede administrarse un parche bucal. En cualquier caso, la dosificación es tal que el paciente puede administrarse una sola dosis.

25 Cada unidad de dosificación para administración oral contiene convenientemente de 0,01 a 500 mg/kg, y preferiblemente de 0,1 a 50 mg/kg, de un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre. La dosificación diaria para la vía parenteral, nasal, inhalación oral, transmucosa o transdérmica contiene convenientemente de 0,01 mg a 100 mg/kg de un compuesto de Fórmula (Ia). Una formulación tópica contiene convenientemente de 0,01 a 5,0% de un compuesto de Fórmula (Ia). El ingrediente activo puede administrarse de 1 a 6 veces al día, preferiblemente una vez, suficiente para mostrar la actividad deseada, como resulta obvio para un especialista en la técnica.

30

Las composiciones de Fórmula (Ia) y sus sales farmacéuticamente aceptables

que son activas cuando se administran por vía oral pueden formularse como jarabes, comprimidos, cápsulas y grageas. Una formulación de jarabe constará generalmente de una suspensión o solución del compuesto o sal en un vehículo líquido, por ejemplo etanol, aceite de cacahuete, aceite de oliva, glicerina o agua con un agente aromatizante o colorante. Cuando la composición está en forma de un comprimido, puede usarse cualquier vehículo farmacéutico usado rutinariamente para preparar formulaciones sólidas. Los ejemplos de tales vehículos incluyen estearato de magnesio, terra alba, talco, gelatina, goma arábiga, ácido esteárico, almidón, lactosa y sacarosa. Cuando la composición está en forma de una cápsula, es adecuada cualquier encapsulación rutinaria, por ejemplo, usando los vehículos mencionados anteriormente en una cubierta capsular de gelatina dura. Cuando la composición está en forma de una cubierta capsular de gelatina blanda puede considerarse cualquier vehículo farmacéutico usado rutinariamente para preparar dispersiones o suspensiones, por ejemplo gomas acuosas, celulosas, silicatos o aceites, y se incorporan en una cubierta capsular de gelatina blanda.

Las composiciones parenterales típicas consisten en una solución o suspensión de un compuesto o sal en un vehículo estéril acuoso o no acuoso que contiene opcionalmente un aceite aceptable para la vía parenteral, por ejemplo polietilenglicol, polivinilpirrolidona, lecitina, aceite de cacahuete o aceite de sésamo.

Las composiciones típicas para inhalación están en forma de una solución, suspensión o emulsión que puede administrarse como un polvo seco o en forma de un aerosol que usa un propulsor convencional no CFC tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano.

Una formulación de supositorio típica comprende un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es activo cuando se administra de esta manera, con un agente aglutinante y/o lubricante, por ejemplo glicoles poliméricos, gelatinas, manteca de cacao u otras ceras o grasas vegetales de bajo punto de fusión o sus análogos sintéticos.

Las formulaciones dérmicas y transdérmicas típicas comprenden un vehículo convencional acuoso o no acuoso, por ejemplo una crema, pomada, loción o pasta, o están en forma de un emplastro medicado, parche o membrana.

No se esperan efectos tóxicos inaceptables cuando los compuestos de la presente invención se administran de acuerdo con la presente invención.

ENSAYOS

La capacidad de las entidades químicas de la invención para inhibir la actividad polimerasa de VHC de NS5B de tipo silvestre, genotipo 1a y genotipo 1b, puede demostrarse, por ejemplo, usando los siguientes ensayos *in vitro*:

Detección In Vitro de Inhibidores de la Actividad ARN Polimerasa Dependiente de ARN de VHC

5

La incorporación de [³³P]-GMP en el ARN se siguió por la absorción del polímero de ARN marcado con biotina por perlas SPA que contenían estreptavidina. Como sustrato homopolimérico se usó una plantilla sintética que consistía en un 13mero-oligoG biotinilado hibridado con polirC.

10

a) Enzima de Genotipo 1a Truncada C-terminalmente (delta21)

Se añadió ARN polimerasa de VHC [NS5B recombinante con una delección de 21 aminoácidos en el extremo C-terminal y una señal 6His terminal soluble (Ferrari et al. *J. Virol.* 73(2), 1999, 1649. "Characterization of soluble hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase expressed in *Escherichia coli*".) expresada en *E. coli* y purificada hasta la homogeneidad] a una concentración final 25 nM. La polimerasa de genotipo 1a procedía de la cepa H77 (Yanagi, M., Purcell, R. H., Emerson, S. U. & Bukh, J. (1997), *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94, 8738-8743) que contenía un cambio de secuencia de valina a isoleucina en posición 180.

15

Las condiciones de reacción fueron enzima 25 nM, oligo-rG13/polirC a una concentración de 1,5 µg/ml y α-³³P-GTP a 0,2 µCi en GTP 0,5 µM (20 Ci/mmol), Tris 20 mM pH 7,5, NaCl 23 mM, DTT 3 mM, MgCl₂ 5 mM, MnCl₂ 1 mM.

20

La enzima se diluyó a una concentración 500 nM en Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 25 mM y DTT 3 mM.

El tampón de ensayo concentrado 4x se preparó usando Tris-HCl 1 M, pH 7,5 (1 ml), NaCl 5 M (0,25 ml), DTT 1 M (0,12 ml) y agua (8,63 ml), total 10 ml.

25

El primer reactivo concentrado 2x se preparó usando mezcla de tampón de ensayo concentrada 4x (5 µl), 40 u/µl de RNasin (0,1 µl), polirC a 20 µg/ml/oligorG biotinilado (1,6 µl), enzima 500 nM (1 µl) y agua (2,3 µl), *Total* 10 µl/pocillo.

El segundo reactivo concentrado 2x se preparó usando MgCl₂ 1 M (0,1 µl), MnCl₂ 1 M (0,02 µl), GTP 25 µM (0,4 µl), α-³³P-GTP (10 µCi/µl, 0,02 µl) y agua (9,5 µl), *Total* 10 µl/pocillo.

30

El ensayo se preparó usando compuesto (1 µl en DMSO al 100%), primer reactivo (10 µl) y segundo reactivo (10 µl), *Total* 21 µl.

La reacción se realizó en una placa de 96 pocillos blanca de fondo en U. La reacción se mezcló en un agitador de placas, después de la adición de la enzima, y se incubó durante 1 h a 22°C. Después de este periodo de tiempo, la reacción se interrumpió por la adición de 60 µl de perlas SPA con estreptavidina a 1,5 mg/ml (Amersham) en EDTA 0,1 M en PBS. Las perlas se incubaron con la mezcla de reacción durante 1 h a 22°C, después de lo cual, se añadieron 100 µl de EDTA 0,1 M en PBS. La placa se selló, se mezcló en una centrífuga y la radiactividad incorporada se determinó por recuento en un Contador de Centelleo Trilux (Wallac) o Topcount (Packard).

Después de restar los niveles de fondo sin enzima, cualquier reducción en la cantidad de radiactividad incorporada en presencia de un compuesto, en comparación con la observada en ausencia del compuesto, se consideró una medida del nivel de inhibición. Se ensayaron diez concentraciones de compuestos en diluciones de tres o cinco veces. A partir de las cuentas por minuto, se calculó el porcentaje de inhibición a la mayor concentración ensayada o CI_{50} para los compuestos usando los paquetes de software GraFit 3, GraFit 4 o GraFit 5 (Erithacus Software Ltd.) o un macro de evaluación de datos para Excel basado el software XLFit (IDBS).

b) Enzima de longitud completa de genotipo 1b

Las condiciones de reacción fueron [^{32}P]-GTP 0,5 µM (20 Ci/mmol), Ditioneitol 1 mM, $MgCl_2$ 20 mM, $MnCl_2$ 5 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, poliC a 1,6 µg/ml/oligoG13 biotinilado 0,256 µM, glicerol al 10%, NP-40 al 0,01%, 0,2 u/µl de RNasin y NaCl 50 mM.

Se añadió ARN polimerasa de VHC (NS5B de longitud completa recombinante (Lohmann et al, J. Virol. 71 (11), 1997, 8416. "Biochemical properties of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase and identification of amino acid sequence motifs essential for enzymatic activity") expresada en baculovirus y purificada hasta la homogeneidad) a una concentración final 4 nM.

La mezcla de tampón de ensayo concentrada 5x se preparó usando $MnCl_2$ 1 M (0,25 ml), glicerol (2,5 ml), NP-40 al 10% (0,025 ml) y agua (7,225 ml), *Total* 10 ml.

El tampón de enzima concentrado 2x contenía Tris-HCl 1 M, pH 7,5 (0,4 ml), NaCl 5 M (0,2 ml), $MgCl_2$ 1 M (0,4 ml), glicerol (1 ml), NP-40 al 10% (10 µl), DTT 1 M (20 µl) y agua (7,97 ml), *Total* 10 ml.

La mezcla de sustrato se preparó usando mezcla de tampón de ensayo concentrada 5x (4 μ l), [^{32} P]-GTP (10 μ Ci/ μ l, 0,02 μ l), GTP 25 μ M (0,4 μ l), RNasin a 40 u/ μ l (0,1 μ l), polirC a 20 μ g/ml/oligorG biotinilado (1,6 μ l) y agua (3,94 μ l), *Total* 10 μ l.

La mezcla de enzima se preparó añadiendo 1 mg/ml de polimerasa NS5B de longitud completa (1,5 μ l) a 2,81 ml de tampón de enzima concentrado 2x.

El ensayo se preparó usando compuesto (1 μ l), mezcla de sustrato (10 μ l) y mezcla de enzima (añadida en último lugar para detener la reacción) (10 μ l), *Total* 21 μ l.

La reacción se realizó en una placa de 96 pocillos blanca de fondo en U. La reacción se mezcló en un agitador de placas, después de la adición de la enzima, y se incubó durante 1 h a 22°C. Después de este periodo de tiempo, la reacción se detuvo por la adición de 40 μ l de perlas SPA con estreptavidina a 1,875 mg/ml en EDTA 0,1 M. Las perlas se incubaron con la mezcla de reacción durante 1 h a 22°C, después de lo cual se añadieron 120 μ l de EDTA 0,1 M en PBS. La placa se selló, se mezcló en una centrífuga y la radiactividad incorporada se determinó por recuento en un Contador de Centelleo Trilux (Wallac) o Topcount (Packard).

Después de restar los niveles de fondo sin enzima, cualquier reducción en la cantidad de radiactividad incorporada en presencia de un compuesto, en comparación con la observada en ausencia del compuesto, se consideró una medida del nivel de inhibición. Se ensayaron diez concentraciones de compuestos en diluciones de tres o cinco veces. A partir de los recuentos, se calcularon los porcentajes de inhibición a la mayor concentración ensayada o CI_{50} para los compuestos usando los paquetes de software GraFit 3, GraFit 4 o GraFit 5 (Erithacus Software Ltd.) o un macro de evaluación de datos para Excel basado el software XLFit (IDBS).

La capacidad de los compuestos de la invención para inhibir la actividad polimerasa de VHC de NS5B de tipo silvestre, genotipo 1a y genotipo 1b, puede demostrarse, por ejemplo, usando los siguientes ensayos basados en células:

Ensayo ELISA de replicón basado en células

Método

Se añadieron 100 μ l de medio que contenía FCS al 10% a cada pocillo de microplacas de 96 pocillos de fondo plano, exceptuando los pocillos de la fila superior. Se diluyó compuesto de ensayo en medio de ensayo hasta dos veces la concentración de partida final requerida a partir de una solución madre 40 mM en DMSO. Se introdujeron 200 μ l de la dilución de partida en dos pocillos de la fila superior y se

doblaron las diluciones en la placa por medio de la transferencia secuencial de alícuotas de 100 µl con mezcla minuciosa en los pocillos; se desecharon los 100 µl finales. Las dos filas inferiores no se usaron para las diluciones de compuesto. Se desprendieron monocapas de células del replicón Huh-7 de VHC casi en confluencia de los matraces de crecimiento con solución de verseno-tripsina y las células se resuspendieron en medio de ensayo a 2×10^5 células/ml (sublínea 5-15; genotipo 1b; Lohmann, V., Komer, F., Koch, J-O., Herian, U., Thielmann, L. y Bartenschlager, R., 1999, *Science*, **285**, páginas 110-113) o a 3×10^5 células/ml (genotipo 1a; Gu, B., Gates, A.T., Isken, O., Behrens, S.E. y Sarisky, R.T., *J. Virol.*, 2003, **77**, 5352-5359).

5 Se añadieron 100 µl de suspensión celular a todos los pocillos y las placas se incubaron a 37°C durante 72 horas en una atmósfera de CO₂ al 5%.

Después de la incubación, se aspiró el medio de ensayo de las placas. Las láminas de células se lavaron por inmersión suave en solución salina tamponada con fosfato (PBS), que después se retiró por aspiración, y se fijó con acetona:metanol (1:1) durante 5 minutos. Después de un lavado adicional con PBS, se añadieron 100 µl de diluyente ELISA (PBS + Tween 20 al 0,05% v/v + leche desnatada en polvo al 2% p/v) a todos los pocillos y las placas se incubaron a 37°C durante 30 minutos en una plataforma orbital. El diluyente se retiró y cada pocillo después recibió 50 µl de una dilución 1/200 de anticuerpo monoclonal murino específico anti-VHC (Virostat n° 1872 o n° 1877), excepto los pocillos en una de las filas de control sin compuesto, que recibieron diluyente solo para actuar como controles negativos. Las placas se incubaron a 37°C durante 2 horas y se lavaron 3 veces con PBS/Tween 20 al 0,05%, y después se añadieron 50 µl de suero policlonal de conejo anti-ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (Dako n° P0260), diluido 1/1000, a todos los pocillos.

15 20 25 30 Las placas se incubaron durante una hora más, el anticuerpo se retiró y las láminas de células se lavaron 5 veces con PBS/Tween y se secaron con papel secante. El ensayo se reveló por la adición de 50 µl de orto-fenilendiamina/sustrato de peroxidasa en urea/tampón citrato (SigmaFast, Sigma n° P-9187) a cada pocillo, y se dejó que apareciera el color durante un periodo de hasta 15 minutos. La reacción se interrumpió por la adición de 25 µl por pocillo de ácido sulfúrico 2 M y las placas se leyeron a 490 nm en un espectrofotómetro Fluostar Optima.

La solución de sustrato se retiró y las placas se lavaron en agua corriente, se secaron con papel secante y las células se tñeron con carbolfuchsin al 5% en agua

durante 30 minutos. El tinte se desechó y las láminas de células se lavaron, se secaron y se examinaron microscópicamente para evaluar la citotoxicidad.

Análisis de los datos

Se calcularon los promedios de los valores de absorbancia de todos los pocillos sin compuesto que habían recibido anticuerpos tanto primarios como secundarios para obtener un valor de control positivo. El valor de absorbancia media de los pocillos sin compuesto que no habían recibido el anticuerpo primario se usó para proporcionar el valor de control negativo (valor de fondo). Se calcularon los promedios de las lecturas de los pocillos por duplicado a cada concentración de compuesto y, después de restar los valores de fondo medios de todos los valores, se expresaron como un porcentaje de la señal de control positivo. La reducción cuantificable y específica de la proteína expresada detectada por el ELISA en presencia de un fármaco puede usarse como una medida de la inhibición del replicón. Se usó el software GraFit (Erithacus Software Ltd.) para representar la curva de inhibición en porcentaje contra la concentración de compuesto y obtener la concentración inhibidora de 50% (CI₅₀) para el compuesto.

Resultados

Compuesto	CI ₅₀ en ensayo de inhibición de la enzima delta-21 1a (μM)	CI ₅₀ en el ensayo de inhibición de la enzima 1b de longitud completa (μM)	CI ₅₀ en el ensayo de replicón 1a basado en células (μM)	CI ₅₀ en el ensayo de replicón 1b basado en células (μM)
Ejemplo 1	*	#	+	@
Ejemplo 2	*	#	+	@
Ejemplo 3	*	#	+	@
Ejemplo 4	*	#	+	@
Ejemplo 5	*	#	+	@
Ejemplo 6	*	#	+	@
Ejemplo 7	*	#	+	@
Ejemplo 8	*	#	+	@@
Ejemplo 9	*	#	+	@
Ejemplo 10	*	#	+	

Ejemplo 11	*	#	+	@
Ejemplo 12	*	#	+	@
Compuesto A	***	###	++	@@
Compuesto B	***	##	++	@@
Compuesto C	***	###	++	@@ ¹
Compuesto D	**	##	++	@@
Compuesto E	***	##	+++	@@

¹ Este compuesto no se ensayó en la línea 5-15; en su lugar en este ensayo se usó la línea celular 11-7 (NS2-5B), que contenía un gen adicional, dando resultados comparables (Lohmann, V. et al, 1999, Science, 285, páginas 110-113).

Intervalos de actividad

		Genotipo 1a		Genotipo 1b
enzima	*	< 0,75 µM	#	< 0,20 µM
	**	0,75-1,00 µM	##	0,20-0,50 µM
	***	> 1,00 µM	###	> 0,50 µM
replicón	+	< 10,00 µM	@	< 0,15 µM
basado en células	++	10,00-100 µM	@@	0,15-10,00 µM
	+++	> 100 µM	@@@	> 10,00 µM

5

El compuesto A corresponde al compuesto racémico descrito en el Ejemplo 11 en el documento WO2004/037818, ácido *rel*-(2S,4S,5R)-2-isobutil-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-metoximetil-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico.

10 El compuesto B corresponde al compuesto enantiomérico descrito en el Ejemplo 15 en el documento WO2004/037818, ácido (2S,4S,5R)-2-isobutil-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-metoximetil-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico.

El compuesto C corresponde al compuesto racémico descrito en el Ejemplo 24 en el documento WO2004/037818, ácido *rel*-(2S,4S,5R)-2-isobutil-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-metoximetil-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico.

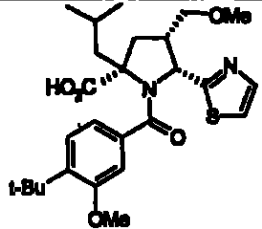
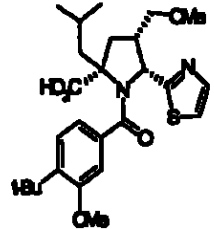
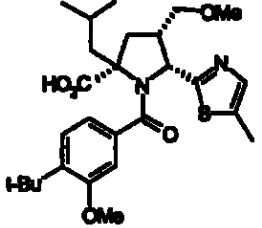
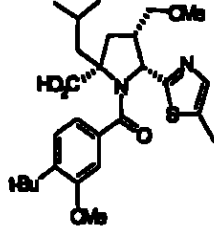
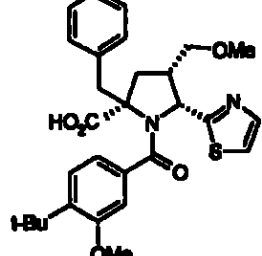
15 El compuesto D corresponde al compuesto racémico descrito en el Ejemplo 25 en el documento WO2004/037818, Enantiómero A del ácido *rel*-(2S,4S,5R)-2-isobutil-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-metoximetil-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico.

El compuesto E corresponde al compuesto racémico descrito en el Ejemplo 33

en el documento WO2004/037818, ácido *rel*-(2S,4S,5R)-2-bencil-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoil)-4-metoximetil-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico.

Los compuestos A, B, C, D y E pueden obtenerse por los procesos descritos en el documento WO2004/037818.

5 Para evitar dudas, a continuación se muestran las estructuras de los Compuestos A-E.

 Racémico; Se muestra estereo- química relativa A	 Racémico; Se muestra estereo- química relativa B
 Racémico; Se muestra estereo- química relativa C	 Racémico; Se muestra estereo- química relativa D
 Racémico; Se muestra estereo- química relativa E	Blanco

10 Los compuestos de la presente invención que se han ensayado demuestran un perfil de genotipo 1a/1b sorprendentemente superior, como se muestra por los valores de CI₅₀ en los ensayos de enzima y basado en células tanto en el genotipo 1a como el genotipo 1b de VHC, en comparación con los Compuesto A-E. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención tienen un beneficio terapéutico potencial en el tratamiento y profilaxis de VHC.

15 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención también pueden usarse en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo, terapias inmunes (por ejemplo, Interferón), vacunas terapéuticas, agentes antifibróticos, agentes antiinflamatorios tales como corticosteroides o AINE, broncodilatadores tales como

agonistas beta-2 adrenérgicos y xantinas (por ejemplo, teofilina), agentes mucolíticos, antimuscarínicos, antileucotrienos, inhibidores de la adhesión celular (por ejemplo, antagonistas de ICAM), antioxidantes (por ejemplo, N-acetilcisteína), agonistas de citoquinas, antagonistas de citoquinas, surfactantes pulmonares y/o agentes antimicrobianos y antivirales (por ejemplo, ribavirina y amantidina). Las composiciones de acuerdo con la invención también pueden usarse en combinación con una terapia de reemplazo de genes.

De esta manera, en un aspecto adicional, la invención proporciona una combinación que comprende al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de fórmula (Ia) y sales fisiológicamente aceptables o solvatos de los mismos, junto con al menos otro agente terapéuticamente activo.

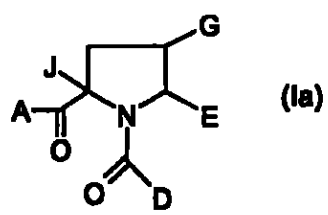
Las combinaciones mencionadas anteriormente convenientemente pueden presentarse para uso en forma de una formulación farmacéutica y, de esta manera, las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan otro aspecto de la invención.

Los componentes individuales de estas combinaciones pueden administrarse secuencial o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas. Las dosis apropiadas de agentes terapéuticos conocidos se apreciarán fácilmente por los especialistas en la técnica.

Todas las publicaciones, incluyendo pero sin limitación las patentes y solicitudes de patente citadas en esta memoria descriptiva, se incorporan en este documento como referencia como si se indicara específicamente e individualmente que cada publicación individual se incorpora como referencia en su totalidad.

REIVINDICACIONES

1. Al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia):



- 5 en la que:
 A representa hidroxil;
 D representa 4-*terc*-butil-3-metoxifenilo;
 E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-tiazol-2-ilo;
 G representa metoximetil;
 10 J representa 1,3-tiazol-2-ilmetil, 1,3-tiazol-4-ilmetil, 1,2-tiazol-3-ilmetil o 1H-tiazol-1-ilmetil;
 y sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR, donde R se selecciona entre alquilo, aralquilo, ariloxialquilo o arilo de cadena lineal o ramificada, entonces R es distinto de *terc*-butilo.

15

2. Al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia) seleccionados entre el grupo que consiste en:

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

20

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

25

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico; y

30

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-*terc*-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-

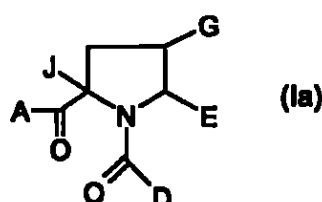
1,3-tiazol-2-ilo)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;
y sales, solvatos, ésteres y enantiómeros individuales de los mismos.

3. Un método para tratar o prevenir infecciones virales que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia) y sales, solvatos y ésteres de los mismos, de acuerdo con la reivindicación 1.

4. Un método de acuerdo con la reivindicación 3, donde la infección viral es VHC.

5. Un método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la entidad química se administra en una forma de dosificación oral.

6. Al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia):



en la que:

A representa hidroxí;

D representa 4-*terc*-butil-3-metoxifenilo;

E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-tiazol-2-ilo;

G representa metoximetilo;

J representa 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo, 1,2-tiazol-3-ilmetilo o 1H-tiazol-1-ilmetilo;

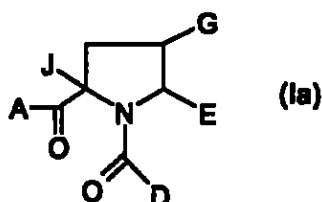
y sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR, donde R se selecciona entre alquilo, aralquilo, ariloxialquilo o arilo de cadena lineal o ramificada, entonces R es distinto de *terc*-butilo; para uso en terapia médica.

7. Al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia) y sales, solvatos y ésteres de los mismos, de acuerdo con la reivindicación 6, donde la terapia médica es el tratamiento de una infección viral.

8. Al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia) y sales, solvatos y ésteres de acuerdo con la reivindicación 7, donde la infección viral es VHC.

5

9. Uso de al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia)



en la que:

10 A representa hidroxi;

D representa 4-*terc*-butil-3-metoxifenilo;

E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-tiazol-2-ilo;

G representa metoximetilo;

J representa 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo, 1,2-tiazol-3-ilmetilo o 1H-tiazol-1-ilmetilo;

15

y sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR, donde R se selecciona entre alquilo, aralquilo, ariloxialquilo o arilo de cadena lineal o ramificada, entonces R es distinto de *terc*-butilo; en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de infecciones virales.

20

10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde la infección viral es VHC.

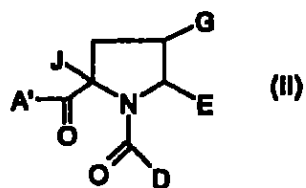
11. Una formulación farmacéutica que comprende al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia) y sales, solvatos y ésteres de los mismos de acuerdo con la reivindicación 1, junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

25

12. Un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula (Ia) como se define en la reivindicación 1, que comprende la desprotección de un compuesto de Fórmula (II)

30

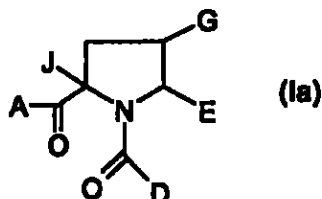
64



en la que A' es un grupo protector de hidroxí, por ejemplo un alcoxi, benciloxi o sililoxi,
D representa 4-*terc*-butil-3-metoxifenilo; E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-
tiazol-2-ilo; G representa metoximetilo; y J representa 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-
5 ilmetilo, 1,2-tiazol-3-ilmetilo o 1H-pirazol-1-ilmetilo.

RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

Se proporcionan agentes antivirales de Fórmula (Ia)



- 5 en la que: A representa hidroxi; D representa 4-*terc*-butil-3-metoxifenilo; E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-tiazol-2-ilo; G representa metoximetilo; J representa 1,3-tiazol-2-ilmetilo, 1,3-tiazol-4-ilmetilo, 1,2-tiazol-3-ilmetilo o 1H-tiazol-1-ilmetilo; y sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR, donde R se selecciona entre alquilo, aralquilo, ariloxialquilo o arilo de
- 10 cadena lineal o ramificada, entonces R es distinto de *terc*-butilo; procesos para su preparación y su uso en el tratamiento de VHC.

PATENT COOPERATION TREATY

131

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To: CRAWLEY, Karen GlaxoSmithKline Corporate Intellectual Property (CN) 980 Great West Road Middlesex TW8 9GS GRANDE BRETAGNE		GlaxoSmithKline Corporate IP Received BRENTFORD 22 SEP 2006		PCT NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY (PCT Rule 71.1)	
		ATTORNEY/ADMIN: <i>MT</i> UPDATED ON: ATTY CHECKED FILE <i>DMC</i> DATE of mailing <i>19.09.2006</i>			
Applicant's or agent's file reference KXC/PB61030/PCT		IMPORTANT NOTIFICATION			
International application No. PCT/EP2005/011532		International filing date (day/month/year) 24.10.2005		Priority date (day/month/year) 25.10.2004	
Applicant GLAXO GROUP LIMITED					
- The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application. - A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices. - Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices. REMINDER The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB301). Where a translation of the International application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the International preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned. For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide. The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed invention is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.					
Name and mailing address of the International preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4485			Authorized Officer Bonomelli, Federico Tel. +49 89 2399-8450		



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 KXC/PB61030		FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEAA16
International application No. PCT/EP2005/011532		International filing date (day/month/year) 24.10.2005	Priority date (day/month/year) 25.10.2004	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C07D417/14 A61K31A27 A61P31/12				
Applicant GLAXO GROUP LIMITED				
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 6 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 electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 602 of the Administrative Instructions).				
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ 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 17.08.2006		Date of completion of this report 19.09.2006		
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80288 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523858 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Von Daacke, Axel Telephone No. +49 89 2399- 		

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2005/011532

133

Box No. I Base 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

1-52 as originally filed

Claims, Numbers

1-12 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."

13A

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. 3-5 (IA)

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 3-5 (IA) relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

☐ 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.

☐ 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, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See separate sheet for further details

135

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2005/011532

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	1-12
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-12
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1,2,8-12
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

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

136

III NON-ESTABLISHMENT

Claims 3-5 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. 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).

V REASONED STATEMENT

1. PRIOR ART

The document cited in the International Search Report
D1: WO 2004/037818 A (GLAXO GROUP LIMITED; HAIGH, DAVID; HARTLEY,
CHARLES, DAVID; HOWES, PET) 6 May 2004 (2004-05-06)
has been considered for the examination procedure.

2. NOVELTY

Due to the nature of the substituent J in Formula (Ia), the claimed subject-matter is considered to be novel selection of that of D1 (Article 33(2) PCT).

3. INVENTIVE STEP

The closest state of the art for the present application is represented by D1. Example 33 of D1 represents the structurally closest compound when compared to the presently claimed variants. On page 49 of the present description, activity data of most of the present compounds and of several D1 compounds including Example 33 are set out. The results clearly show significant and surprising better IC50 values at least in delta-21 1a enzyme inhibition assays and 1a replikon cell-based assays of the present compounds over several D1 compounds including the closest example 33. An inventive step can thus be acknowledged for the claimed object.

4. INDUSTRIAL APPLICABILITY

No objection for Claims 1,2 and 6-12. For the assessment of the present Claims 3-5 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 treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

VIII CERTAIN OBSERVATIONS (CLAIMS)

1. The reason for the proviso at the end of Claim 1 is unclear (Article 6 PCT).
2. The Applicant has acknowledged "publications" on page 51, line 31 to page 52, line 2, by the term 'incorporated herein by reference'. This gives rise to clarity objections under Art. 6 PCT since it is vague and ambiguous which technical features are referred to. Furthermore, it should be noted that this kind of reference contravenes the basic requirement of each application that the invention must be comprehensible from the specification by itself. In order to overcome the clarity objection, either the phrase 'incorporated by reference' could simply be deleted or the cited prior art under R.5.1(a)(ii) PCT could be discussed in a short summary.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference KXC/PB61030	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2005/011532	International filing date (day/month/year) 24/10/2005	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 25/10/2004
Applicant GLAXO GROUP LIMITED		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box II).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

☐ the text is approved as submitted by the applicant.

☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

**4-METHOXYMETHYL-PYRROLIDINE-2-CARBOXYLIC ACID COMPOUNDS AND DERIVATIVES
THEREOF AS HEPATITIS C VIRUS INHIBITORS**

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 36.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____

☐ as suggested by the applicant.

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

139

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D417/14 A61K31/427 A61P31/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/037818 A (GLAXO GROUP LIMITED; HAIGH, DAVID; HARTLEY, CHARLES, DAVID; HOWES, PET) 6 May 2004 (2004-05-06) cited in the application the whole document	1-12



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 January 2006

Date of mailing of the international search report

20/01/2006

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. 5618 Patentplan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Von Daacke, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/011532

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004037818	A	06-05-2004	AU 2003276172 A1	13-05-2004
			BR 0315417 A	16-08-2005
			CA 2503471 A1	06-05-2004
			EP 1554274 A1	20-07-2005

PATENT COOPERATION TREATY

141

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2005/011532

International filing date (day/month/year)
24.10.2005

Priority date (day/month/year)
25.10.2004

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
C07D417/14, A61K31/427, A61P31/12

Applicant
GLAXO GROUP LIMITED

1. This opinion 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 Rule 43bis.1(a)(i) 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

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of three months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 23699 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 23699 - 4465

Authorized Officer

Von Daacke, A

Telephone No. +49 89 23699-8298



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2005/011532

142

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
 - ☐ This opinion has been established on the basis of a translation 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)).
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ in written format
 - ☐ in computer readable form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in computer readable form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

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. 3-5 (IA)

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 3-5 (IA) relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

☐ 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 whole application or for said claims Nos.

☐ 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, do 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 Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-12
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-12
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1,2,6-12
	No: Claims	

2. Citations and explanations

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

III NON-ESTABLISHMENT

Claims 3-5 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. 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).

V REASONED STATEMENT**1. PRIOR ART**

The document cited in the International Search Report
D1: WO 2004/037818 A (GLAXO GROUP LIMITED; HAIGH, DAVID; HARTLEY,
CHARLES, DAVID; HOWES, PET) 6 May 2004 (2004-05-06)
has been considered for the examination procedure.

2. NOVELTY

Due to the nature of the substituent J in Formula (Ia), the claimed subject-matter is considered to be novel selection of that of D1 (Article 33(2) PCT).

3. INVENTIVE STEP

The closest state of the art for the present application is represented by D1. Example 33 of D1 represents the structurally closest compound when compared to the presently claimed variants. On page 49 of the present description, activity data of most of the present compounds and of several D1 compounds including Example 33 are set out. The results clearly show significant and surprising better IC₅₀ values at least in delta-21 1a enzyme inhibition assays and 1a replicon cell-based assays of the present compounds over several D1 compounds including the closest example 33. An inventive step can thus be acknowledged for the claimed object.

4. INDUSTRIAL APPLICABILITY

No objection for Claims 1,2 and 6-12. For the assessment of the present Claims 3-5 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 treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

VIII CERTAIN OBSERVATIONS (CLAIMS)

1. The reason for the proviso at the end of Claim 1 is unclear (Article 6 PCT).
2. The Applicant has acknowledged "publications" on page 51, line 31 to page 52, line 2, by the term 'incorporated herein by reference'. This gives rise to clarity objections under Art. 6 PCT since it is vague and ambiguous which technical features are referred to. Furthermore, it should be noted that this kind of reference contravenes the basic requirement of each application that the invention must be comprehensible from the specification by itself. In order to overcome the clarity objection, either the phrase 'incorporated by reference' could simply be deleted or the cited prior art under R.5.1(a)(ii) PCT could be discussed in a short summary.

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

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 ☐

Fdo B
Firma Responsable

Fecha 24-Ab-2

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
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

OlarteRaist


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-040883-00000-0000
Fecha: 2007-04-24 18:33:40 Dep. 2020 NUECREACION
Tra 11 PATENTEIYII Eje: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 148

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: GLAXO GROUP LIMITED

Dirección: Glaxo Wellcome House, Berkeley
Avenue, Greenford, Middlesex UB6 ONN

Nacionalidad o Domicilio: BRITANICA

Lugar de Constitución: INGLATERRA

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: J. IAN RAISBECK

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. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 79.376.996 Btá
TP 135.799

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER LISTA ADJUNTA

Dirección: VER LISTA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER LISTA ADJUNTA

PCT (86)

5

Solicitud Internacional No. PCT/EP2005/011532

Fecha Octubre 24, 2005

Publicación Internacional No. WO 2006/045613

Fecha Mayo 4, 2006

6

Título (54) COMPUESTOS Y DERIVADOS DEL 4-METOXIMETIL-PIRROLIDINA-2-
ACIDO CARBOXILICO COMO INHIBIDORES DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

7

Clasificación Internacional (51) C07D 417/14; A61K 31/427; A61P 31/12

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI

☒

NO

☐

GB

Octubre 25, 2004

0423673.3

8

Comprobante de pago No. 07-32-008

Fecha Abril 24, 2007

LISTA DE INVENTORES PCT/EP2005/011532

1. **ROSSELLA GUIDETTI**

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY
Reino Unido
Nacionalidad: Italiana.

2. **DAVID HAIGH**

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY
Reino Unido
Nacionalidad: Británica.

3. **CHARLES DAVID HARTLEY**

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY
Reino Unido
Nacionalidad: Británica.

4. **PETER DAVID HOWES**

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY
Reino Unido
Nacionalidad: Británica.

5. **FABRIZIO NEROZZI**

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY
Reino Unido
Nacionalidad: Italiana.

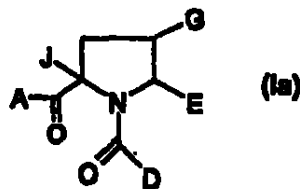
6. **STEPHEN ALLAN SMITH**

Gunnels Wood Road, Stevenage,
Hertfordshire SG1 2NY
Reino Unido
Nacionalidad: Británica.

150
26

REIVINDICACIONES

1. Al menos una entidad química seleccionada entre compuestos de Fórmula (Ia):



5 en la que:

A representa hidroxí;

D representa 4-terc-butí-3-metoxifenilo;

E representa 1,3-tiazol-2-ilo o 5-metil-1,3-tiazol-2-ilo;

G representa metoximetil;

10 J representa 1,3-tiazol-2-ilmetil, 1,3-tiazol-4-ilmetil, 1,2-tiazol-3-ilmetil o 1H-tiazol-1-ilmetil;

y sales, solvatos y ésteres de los mismos; con la condición de que cuando A se esterifica para formar -OR, donde R se selecciona entre alquilo, aralquilo, ariloxialquilo o arilo de cadena lineal o ramificada, entonces R es distinto de terc-butilo.

15

2. Al menos una entidad química selecciona entre compuestos de Fórmula (Ia) seleccionados entre el grupo que consiste en:

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

20

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-4-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

25

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-2-(1H-pirazol-1-ilmetil)-5-(1,3-tiazol-2-il)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico;

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2-(1,2-tiazol-3-ilmetil)pirrolidina-2-carboxílico; y

30

Ácido *rel*-(2R,4S,5R)-1-(3-metoxi-4-terc-butilbenzoi)-4-(metoximetil)-5-(5-metil-

151

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
RAISBECK J. IAN
Apoderado(a) y/o Representante de
GLAXO GROUP LIMITED

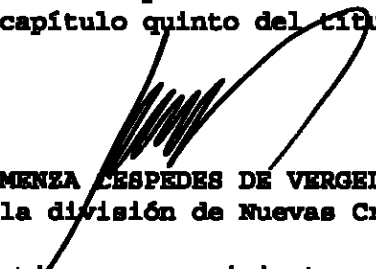
REFERENCIA	Radicación No.	7 40983
	Solicitud internacional	PCT/EP2005/011532
	Fecha inicio fase nacional	25/05/2007
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	6578

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 01 JUN. 2007
adpall