



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 317 900**

51 Int. Cl.:

C07K 7/06 (2006.01) **C07K 14/18** (2006.01)
C07K 5/062 (2006.01) **C07K 5/065** (2006.01)
C07K 5/087 (2006.01) **C07K 5/107** (2006.01)
A61K 38/05 (2006.01) **A61K 38/06** (2006.01)
A61K 38/07 (2006.01) **A61K 38/08** (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01926601 .4**

96 Fecha de presentación : **03.04.2001**

97 Número de publicación de la solicitud: **1268525**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.01.2003**

54

Título: **Inhibidores de serina proteasa NS3 macrocíclicos del virus de la hepatitis C que comprenden fragmentos N-cíclicos P2.**

30

Prioridad: **05.04.2000 US 194607 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2009

73

Titular/es: **Schering Corporation**
2000 Galloping Hill Road
Kenilworth, New Jersey 07033-0530, US

72

Inventor/es: **Chen, Kevin, X.;**
Arasappan, Ashok;
Venkatraman, Srikanth;
Parekh, Tejal, N.;
Gu, Haining;
Njoroge, F., George;
Girijavallabhan, Viyyoor, M.;
Ganguly, Ashit;
Saksena, Anil;
Jao, Edwin;
Yao, Nanhua, H.;
Prongay, Andrew, J.;
Madison, Vincent, S. y
Vibulbhan, Bancha

74

Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 317 900 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de serina proteasa NS3 macrocíclicos del virus de la hepatitis C que comprenden fragmentos N-cíclicos P2.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a inhibidores de proteasa del virus de la hepatitis C ("HCV") novedosos, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de tales inhibidores, métodos para preparar tales inhibidores y el uso de tales inhibidores para la fabricación de un medicamento para tratar la hepatitis C y trastornos relacionados. Esta invención describe específicamente compuestos macrocíclicos novedosos como inhibidores de la serina proteasa NS3/NS4a de HCV.

15 **Antecedentes de la invención**

El virus de la Hepatitis C (HCV) es un virus con ARN de hebra sencilla de sentido (+) que ha sido implicado como agente causal principal de la hepatitis no A no B (NANBH), particularmente de la NANBH asociada a la sangre (BB-NANBH) (véanse, la Publicación de la Solicitud de Patente Internacional Núm. WO 89/04669 y la Publicación de la Solicitud de Patente Europea Núm. EP 381 216). La NANBH de debe distinguir de otros tipos de enfermedades hepáticas inducidas por virus, tales como el virus de la hepatitis A (HAV), el virus de la hepatitis B (HBV), el virus de la hepatitis delta (HDV), el citomegalovirus (CMV) y el virus de Epstein-Barr (EBV), así como de otras formas de enfermedades hepáticas tales como el alcoholismo y la cirrosis biliar primaria.

Recientemente, se ha identificado, clonado y expresado una proteasa de HCV necesaria para el procesamiento de polipéptidos y la replicación viral, (véase, *p. ej.*, la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.712.145). Esta poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos contiene, del extremo amino al extremo carboxi, una proteína de la nucleocápsida (C), proteínas de la envoltura (E1 y E2) y diversas proteínas no estructurales (NS1, 2, 3, 4a, 5a y 5b). NS3 es una proteína de aproximadamente 68 kda, codificada por aproximadamente 1893 nucleótidos del genoma de HCV, y tiene dos dominios evidentes: (a) un dominio serina proteasa que consiste en aproximadamente 200 de los aminoácidos N-terminales; y (b) un dominio ATPasa dependiente de ARN en el extremo C de la proteína. La proteasa NS3 es considerada un miembro de la familia de la quimotripsina debido a las similitudes en la secuencia de la proteína, la estructura tridimensional global y el mecanismo de catálisis. Otras enzimas de tipo quimotripsina son la elastasa, el factor Xa, la trombina, la tripsina, la plasmina, la uroquinasa, el tPA y el PSA. La serina proteasa NS3 de HCV es sensible a la proteólisis del polipéptido (poliproteína) en las uniones NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a y NS5a/NS5b y de este modo es responsable de la generación de cuatro proteínas virales durante la replicación viral. Esto ha hecho de la serina proteasa NS3 de HCV una diana atractiva para la quimioterapia antiviral.

Se ha determinado que la proteína NS4A, un polipéptido de aproximadamente 6 kda, es un cofactor para la actividad serina proteasa de NS3. La autoescisión de la unión NS3/NS4a por la serina proteasa NS3/NS4a se produce intramolecularmente (*esto es, cis*) mientras que los otros sitios de escisión son procesados intermolecularmente (*esto es, trans*).

El análisis de los sitios de escisión naturales para la proteasa de HCV reveló la presencia de cisteína en P1 y serina en P1' y que estos restos se conservaban estrictamente en las uniones NS4a/NS4b, NS4b/NS5a y NS5a/NS5b. La unión NS3/NS4a contiene una treonina en P1 y una serina en P1'. Se postula que la sustitución Cys→Thr en NS3/NS4a justifica el requerimiento del procesamiento *cis* en lugar del procesamiento *trans* en esta unión. Véanse, *p. ej.*, Pizzi *et al.* (1994) Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 91:888-892, Failla *et al.* (1996) Folding & Design 1:35-42. El sitio de escisión NS3/NS4a es más tolerante a la mutagénesis que los otros sitios. Véase, *p. ej.*, Kollykhalov *et al.* (1994) J. Virol. 68:7525-7533. También se ha encontrado que se requieren restos ácidos en la región aguas arriba del sitio de escisión para una escisión eficaz. Véase, *p. ej.*, Komoda *et al.* (1994) J. Virol. 68:7351-7357.

Los inhibidores de proteasa de HCV que han sido referidos incluyen antioxidantes (véase, la Publicación de la Solicitud de Patente Internacional Núm. WO 98/14181), algunos péptidos y análogos peptídicos (véanse, la Publicación de la Solicitud de Patente Internacional Núm. WO 98/17679, Landro *et al.* (1997) Biochem. 36:9340-9348, Ingallinella *et al.* (1998) Biochem. 37:8906-8914, Llinàs-Brunet *et al.* (1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8:1713-1718), inhibidores basados en el polipéptido de 70 aminoácidos eglina c (Martin *et al.* (1998) Biochem. 37:11459-11468, inhibidores de afinidad seleccionados entre el inhibidor de tripsina secretor pancreático humano (hPSTI-C₃) y repertorios de anticuerpos minimizados "minibody" (MBip) (Dimasi *et al.* (1997) J. Virol. 71:7461-7469), cV_HE2 (un fragmento de anticuerpo de dominio variable "de camello") (Martin *et al.* (1997) Protein Eng. 10:607-614), y anti-quimotripsina α 1 (ACT) (Elzouki *et al.* (1997) J. Hepat. 27:42-28). Se ha descrito recientemente una ribozima diseñada para destruir selectivamente el ARN del virus de la hepatitis C (véase, BioWorld Today 9(217): 4 (10 de Noviembre de 1998)).

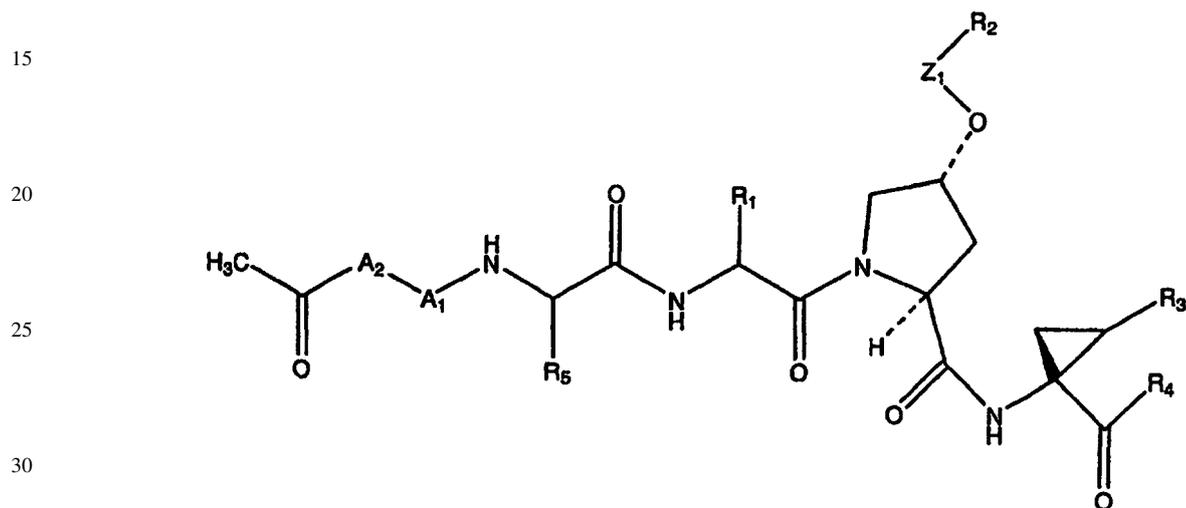
También se hace referencia a las Publicaciones PCT, Núm. WO 98/17679, publicada el 30 de Abril de 1998 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496, publicada el 28 de Mayo de 1998 (F. Hoffmann-La Roche AG); y WO 99/07734, publicada el 18 de Febrero de 1999 (Boehringer Ingelheim Canadá Ltd.).

ES 2 317 900 T3

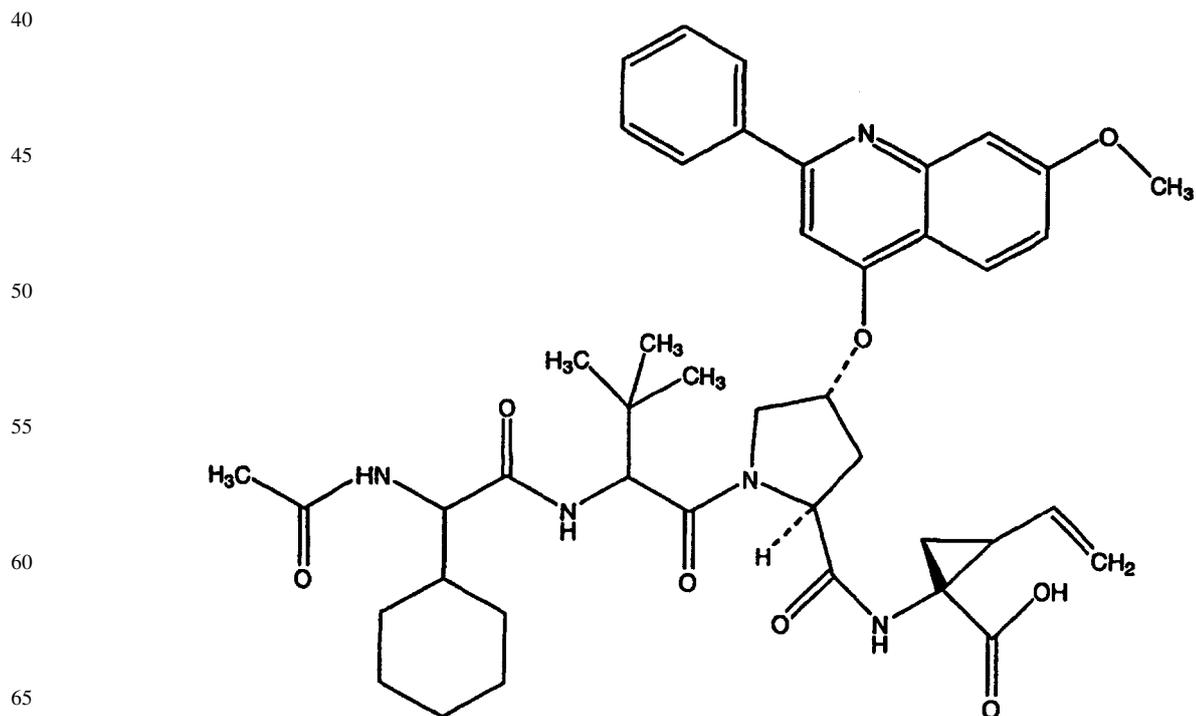
El HCV ha sido implicado en la cirrosis del hígado y en la inducción del carcinoma hepatocelular. La prognosis para pacientes de padecen de la infección por HCV es mala actualmente. La infección por HCV es más difícil de tratar que otras formas de la hepatitis debido a la carencia de inmunidad o remisión asociada con la infección por HCV. Los datos actuales indican una tasa de supervivencia de menos de 50% a los cuatro años de la diagnosis post-cirrosis.

5 Los pacientes diagnosticados de carcinoma hepatocelular extirpable localizado tienen una tasa de supervivencia a los cinco años de 10-30%, mientras que aquellos con carcinoma hepatocelular no extirpable localizado tienen una tasa de supervivencia a los cinco años de menos de 1%.

10 También se hace referencia a la publicación WO 00/09558 (Cesionario: Boehringer Ingelheim Limited; Publicada el 24 de Febrero de 2000) que describe derivados peptídicos de fórmula:

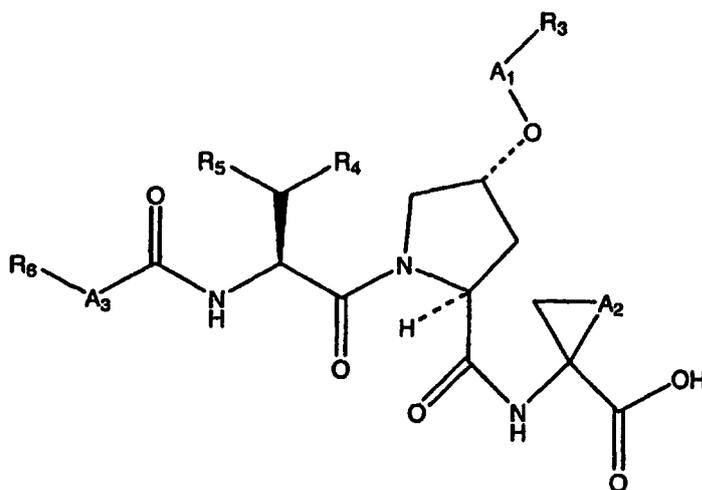


donde los diferentes elementos se definen allí. Un compuesto ilustrativo de esta serie es:

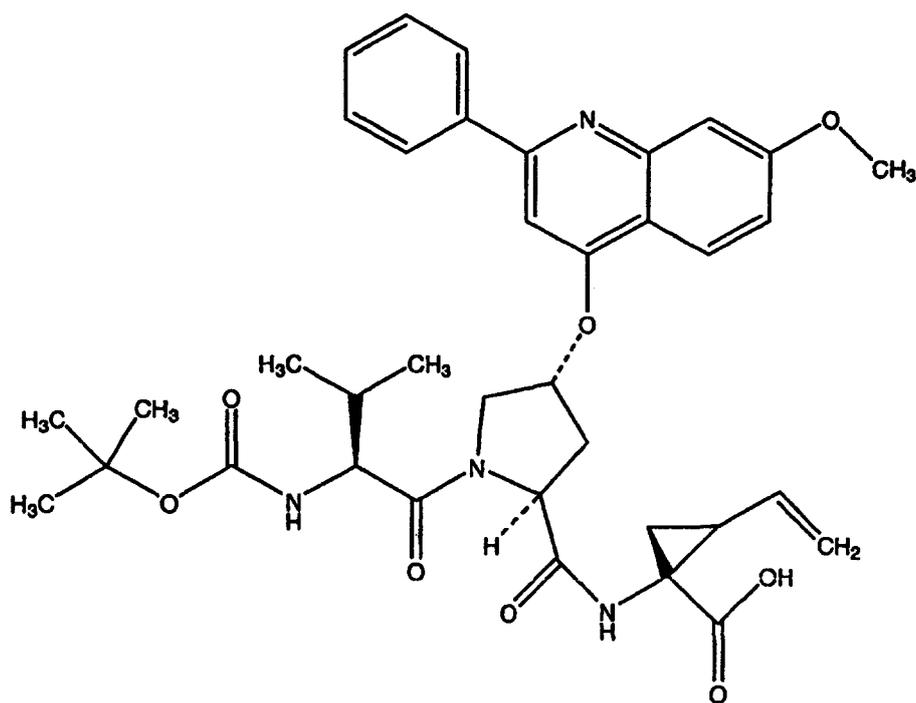


ES 2 317 900 T3

Se hace referencia a la publicación WO 00/09543 (Cesionario: Boehringer Ingelheim Limited; Publicada el 24 de Febrero de 2000) que describe derivados peptídicos de fórmula:



donde los diferentes elementos se definen allí. Un compuesto ilustrativo de esta serie es:



Las terapias actuales para la hepatitis C incluyen interferón- α (INF_{α}) y terapia combinada con ribavirina e interferón. Véase, *p. ej.*, Berenguer *et al.* (1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2):98-112. Estas terapias adolecen de un ritmo de respuesta sostenido y de efectos secundarios frecuentes. Véase, *p. ej.*, Hoofnagle *et al.* (1997) N. Engl. J. Med. 336:347. Actualmente, no está disponible una vacuna para la infección por HCV.

Existe la necesidad de nuevos tratamientos y terapias para la infección por HCV. Por consiguiente, un objeto de esta invención es proporcionar compuestos útiles en el tratamiento o la prevención o la mejoría de uno o más síntomas de la hepatitis C.

En la presente memoria se describen métodos de tratamiento o prevención o mejoría de uno o más síntomas de la hepatitis C.

ES 2 317 900 T3

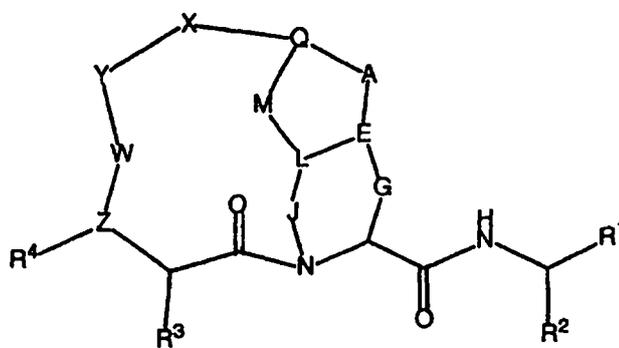
También se describen en la presente memoria métodos para modular la actividad de las serina proteasas, particularmente serina proteasa NS3/NS4a de HCV, utilizando los compuestos proporcionados en la presente memoria.

También se describen en la presente memoria métodos para la modulación del procesamiento del polipéptido HCV utilizando los compuestos proporcionados en la presente memoria.

Compendio de la invención

En sus muchas realizaciones, la presente invención proporciona una clase novedosa de inhibidores macrocíclicos de la proteasa de HCV, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de los compuestos, métodos para preparar formulaciones farmacéuticas que comprenden uno o más de tales compuestos, y la fabricación de un medicamento para el tratamiento, la prevención o la mejoría de uno o más de los síntomas de la hepatitis C. También se describen métodos para modular la interacción de un polipéptido de HCV con la proteasa de HCV. Entre los compuestos proporcionados en la presente memoria, se prefieren los compuestos que inhiben la actividad serina proteasa NS3/NS4a de HCV. Los compuestos descritos actualmente contienen generalmente aproximadamente tres o más restos aminoácido y menos de aproximadamente doce restos aminoácido.

En su realización principal, la presente invención proporciona un compuesto macrocíclico de Fórmula I:



Fórmula I

donde:

X e Y se seleccionan independientemente entre los radicales: alquilo, alquil-arilo, heteroalquilo, heteroarilo, aril-heteroarilo, alquil-heteroarilo, cicloalquilo, éter alquílico, éter alquil-arílico, éter arílico, alquilamino, arilamino, alquil-arilamino, alquilsulfuro, alquilarilsulfuro, arilsulfuro, alquilsulfona, alquilarilsulfona, arilsulfona, alquil-alquil-sulfóxido, alquil-arilsulfóxido, alquil-amida, alquil-arilamida, arilamida, alquilsulfonamida, alquil-arilsulfonamida, arilsulfonamida, alquilurea, alquil-arilurea, arilurea, alquilcarbamato, alquil-arilcarbamato, arilcarbamato, alquil-hidrazida, alquil-arilhidrazida, alquil-hidroxamida, alquil-arilhidroxamida, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroalquilsulfonilo, heteroaril-sulfonilo, alquil-carbonilo, arilcarbonilo, heteroalquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, alcoxi-carbonilo, ariloxicarbonilo, heteroariloxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilamino-carbonilo, heteroaril-aminocarbonilo o una combinación de los mismos, con la condición de que X e Y pueden estar opcionalmente sustituidos adicionalmente con radicales seleccionados del grupo que consiste en aromático, alquilo, alquil-arilo, heteroalquilo, aril-heteroarilo, alquil-heteroarilo, cicloalquilo, éter alquílico, éter alquil-arílico, alquilsulfuro, alquilarilsulfuro, alquilsulfona, alquilarilsulfona, alquilamida, alquil-arilamida, alquilsulfonamida, alquilaminas, alquil-arilaminas, alquil-arilsulfonamida, alquilurea, alquil-arilurea, alquilcarbamato y alquil-arilcarbamato;

$R^1 = COR^5$ o $B(OR)_2$, donde $R^5 = H, OH, OR^8, NR^9R^{10}, CF_3, C_2F_5, C_3F_7, CF_2R^6, R^6, COR^7$ donde $R^7 = H, OH, OR^8, CHR^9R^{10}$, o NR^9R^{10} , donde R^6, R^8, R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, $CH(R^{1'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})R''$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})COO R^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})CONR^{12}R^{13}$, donde $R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'}, R^{5'}, R^{11}, R^{12}, R^{13}$, y R'' se seleccionan independientemente entre un grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquil-arilo, alquil-heteroarilo, aril-alquilo y heteroaralquilo;

Z se selecciona entre O, N, o CH;

ES 2 317 900 T3

W puede estar presente o ausente, y si W está presente, W se selecciona entre C=O, C=S, o SO₂;

Q puede estar presente o ausente, y cuando Q está presente, Q es CH, N, P, (CH₂)_p, (CHR)_p, (CRR')_p, O, NR, S, o SO₂; y cuando Q está ausente, M también está ausente, y A está unido directamente a X;

A es O, CH₂, (CHR)_p, (CHR-CHR')_p, (CRR')_p, NR, S, SO₂ o un enlace;

E es CH, N o CR, o un enlace doble hacia A, L o G;

G puede estar presente o ausente, y cuando G está presente, G es (CH₂)_p, (CHR)_p, o (CRR')_p; y cuando G está ausente, J está presente y E está conectado directamente al átomo de carbono donde también se conectó G;

J puede estar ausente o presente, y cuando J está presente, J es (CH₂)_p, (CHR)_p, o (CRR')_p, SO₂, NH, NR o O; y cuando J está ausente, G está presente y E está conectado directamente a N;

L puede estar presente o ausente, y cuando L está presente, L es CH, CR, O, S o NR; y cuando L está ausente, M puede estar ausente o presente, y si M está presente estando ausente L, M está unido directamente e independientemente a E, y J está unido directamente e independientemente a E;

M puede estar presente o ausente, y cuando M está presente, M es O, NR, S, SO₂, (CH₂)_p, (CHR)_p, (CHR-CHR')_p, o (CRR')_p;

p es un número de 0 a 6; y

R, R', R², R³ y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H; alquilo C₁-C₁₀; alqueno C₂-C₁₀; C₃-C₈ cicloalquilo; heterocicloalquilo C₃-C₈, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro; átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo numerándose dichos átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo de cero a seis;

(cicloalquil)alquilo y (heterocicloalquil)alquilo, donde dicho cicloalquilo está formado por tres a ocho átomos de carbono, y cero a seis átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo, y dicho alquilo tiene de uno a seis átomos de carbono; arilo; heteroarilo; alquil-arilo; y alquil-heteroarilo;

pudiendo estar sustituidos opcionalmente dichos radicales alquilo, heteroalquilo, alqueno, heteroalqueno, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, refiriéndose dicho término "sustituido" a la sustitución opcional y adecuada con uno o más radicales seleccionados del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquinilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterocíclico, halógeno, hidroxilo, tio, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro, sulfonamida, sulfóxido, sulfona, sulfonilurea, hidrazida, e hidroxamato.

A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que comprende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Así, por ejemplo, el término alquilo (incluyendo las porciones alquílicas de alcoxi) hace referencia a un grupo monovalente derivado de un hidrocarburo saturado de cadena de cadena lineal o ramificada mediante la eliminación de un solo átomo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6;

arilo - representa un grupo carbocíclico que tiene de 6 a 14 átomos de carbono y tiene al menos un anillo bencenoide, estando destinados todos los átomos de carbono aromáticos sustituibles disponibles del grupo carbocíclico a posibles puntos de anclaje. Los grupos arilo preferidos incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo e indanilo, y especialmente fenilo y fenilo sustituido;

aralquilo - representa un radical que contiene un grupo arilo unido a través de alquilo inferior;

alquilarilo - representa un radical que contiene un alquilo inferior unido a través de un grupo arilo;

cicloalquilo - representa un anillo carbocíclico saturado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono, preferiblemente 5 o 6, sustituido opcionalmente;

heterocíclico - representa, además de los grupos heteroarilo definidos más abajo, grupos orgánicos cíclicos saturados e insaturados que tienen al menos un átomo de O, S, y/o N que interrumpe una estructura anular carbocíclica que consiste en un anillo o dos anillos fusionados, donde cada anillo tiene 3 a 9 miembros y puede tener o no enlaces dobles que carecen de electrones pi deslocalizados, cuya estructura anular tiene de 2 a 8, preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono, p. ej., 2- o 3-piperidinilo, 2- o 3-piperazinilo, 2- o 3-morfolinilo, o 2- o 3-tiomorfolinilo;

halógeno - representa flúor, cloro, bromo y yodo;

heteroarilo - representa un grupo orgánico cíclico que tiene al menos un átomo de O, S y/o N que interrumpe una estructura anular carbocíclica y que tiene un número suficiente de electrones pi deslocalizados para proporcionar

ES 2 317 900 T3

carácter aromático, teniendo el grupo heterocíclico aromático de 2 a 14, preferiblemente 4 o 5 átomos de carbono, p. ej., 2-, 3- o 4-piridilo, 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2-, 4- o 5-tiazolilo, 2- o 4-imidazolilo, 2-, 4- o 5-pirimidinilo, 2-pirazinilo, o 3- o 4-piridazinilo, etc. Los grupos heteroarilo preferidos son 2-, 3- y 4-piridilo; Tales grupos heteroarilo pueden estar sustituidos también opcionalmente.

5

También están incluidos en la descripción los tautómeros, enantiómeros y otros isómeros ópticos de los compuestos de Fórmula I, así como sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

Un rasgo adicional de la descripción son las composiciones farmacéuticas que contienen como ingrediente activo un compuesto de Fórmula I (o sus sales, solvatos o isómeros) junto con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

También se describen métodos para preparar compuestos de Fórmula I, así como métodos para tratar enfermedades tales como, por ejemplo, el HCV y trastornos relacionados. Los métodos para el tratamiento comprenden administrar a un paciente que padezca dicha enfermedad o enfermedades una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, o composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I.

15

También se describe el uso de un compuesto de Fórmula I para la fabricación de un medicamento para tratar el HCV y trastornos relacionados.

20

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

En una realización, la presente invención describe compuestos de Fórmula I como inhibidores de proteasa de HCV, especialmente la serina proteasa NS3/NS4a de HCV. Entre los compuestos abarcados por la Fórmula I, los compuestos preferidos son aquellos que tienen la Fórmula II:

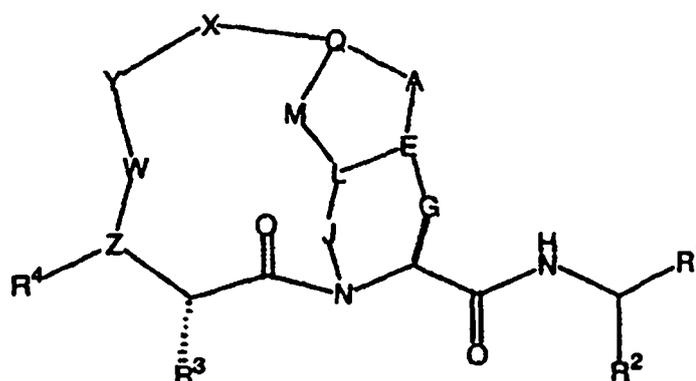
25

30

35

40

45



Fórmula II

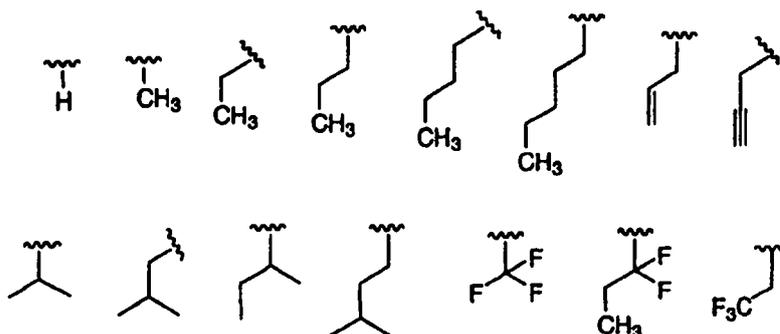
o un derivado farmacéuticamente aceptable los mismos, donde las diferentes definiciones se han proporcionado antes. Algunas de las realizaciones preferidas incluyen, pero no están limitadas a, las siguientes definiciones de las diferentes funcionalidades en las fórmulas generales I y II observadas antes. Así, por ejemplo, R² en la fórmula I se puede seleccionar entre los siguientes radicales:

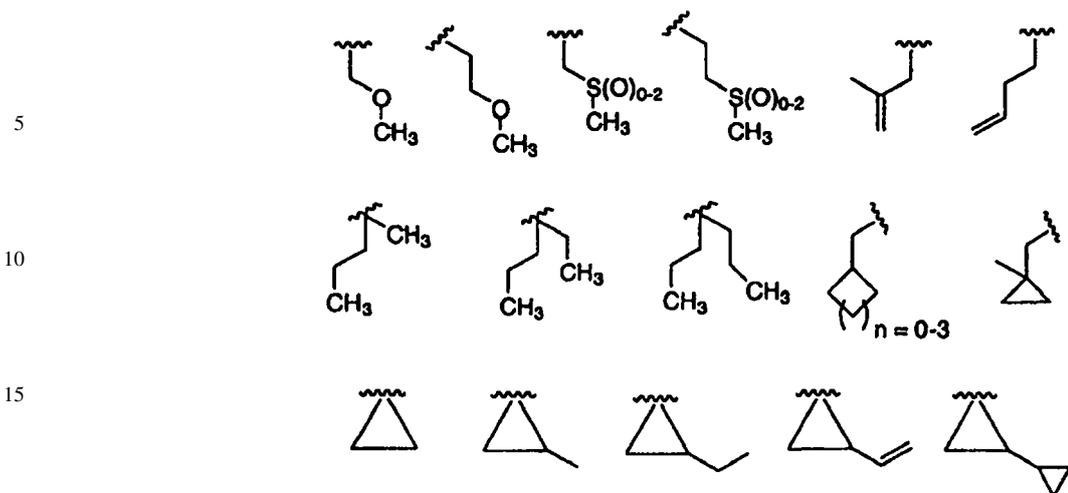
50

55

60

65

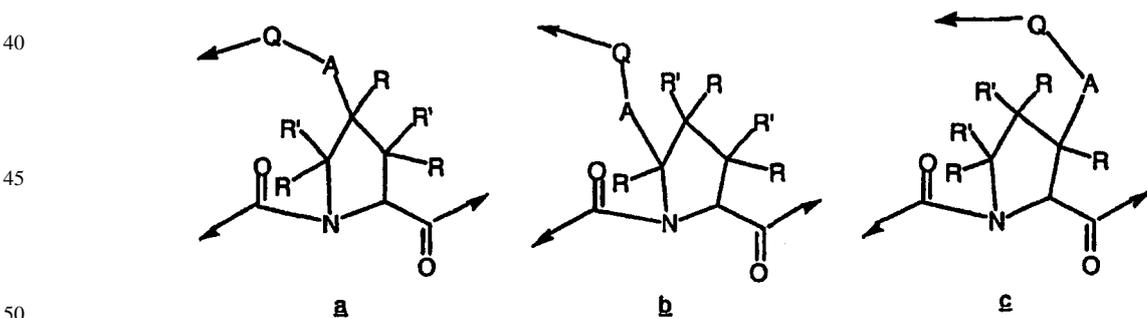




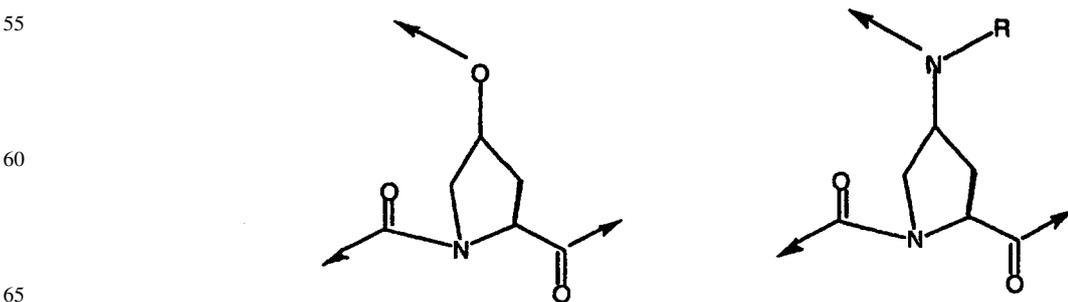
Algunas representaciones preferidas para el radical



son, por ejemplo, las siguientes estructuras a, b, o c:

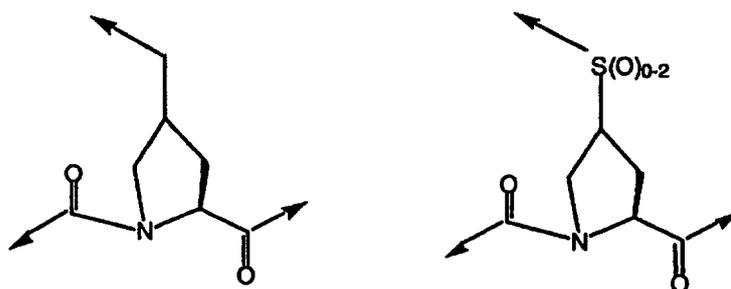


La estructura a se puede seleccionar entre los siguientes tipos de estructuras no limitantes:



5

10



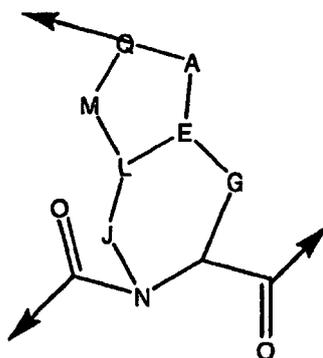
15

Otras realizaciones adicionales preferidas son, por ejemplo, donde el radical:

20

25

30



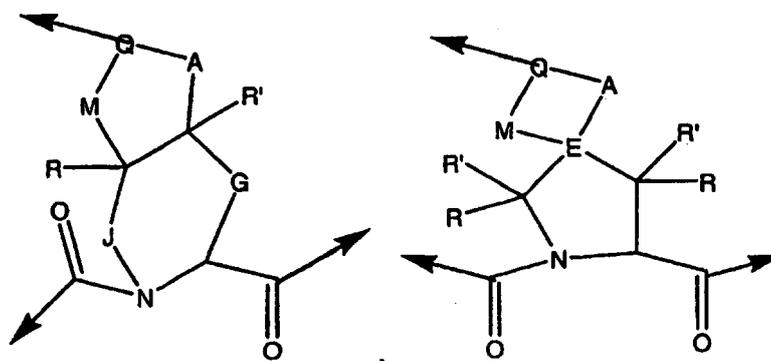
35

tiene a veces las siguientes estructuras, donde las definiciones para las diferentes posiciones se ilustran en las estructuras de los compuestos mostrados más adelante en esta sección:

40

45

50

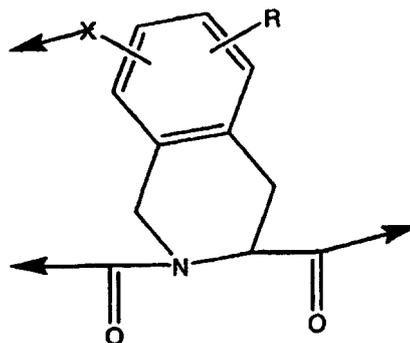


o

55

60

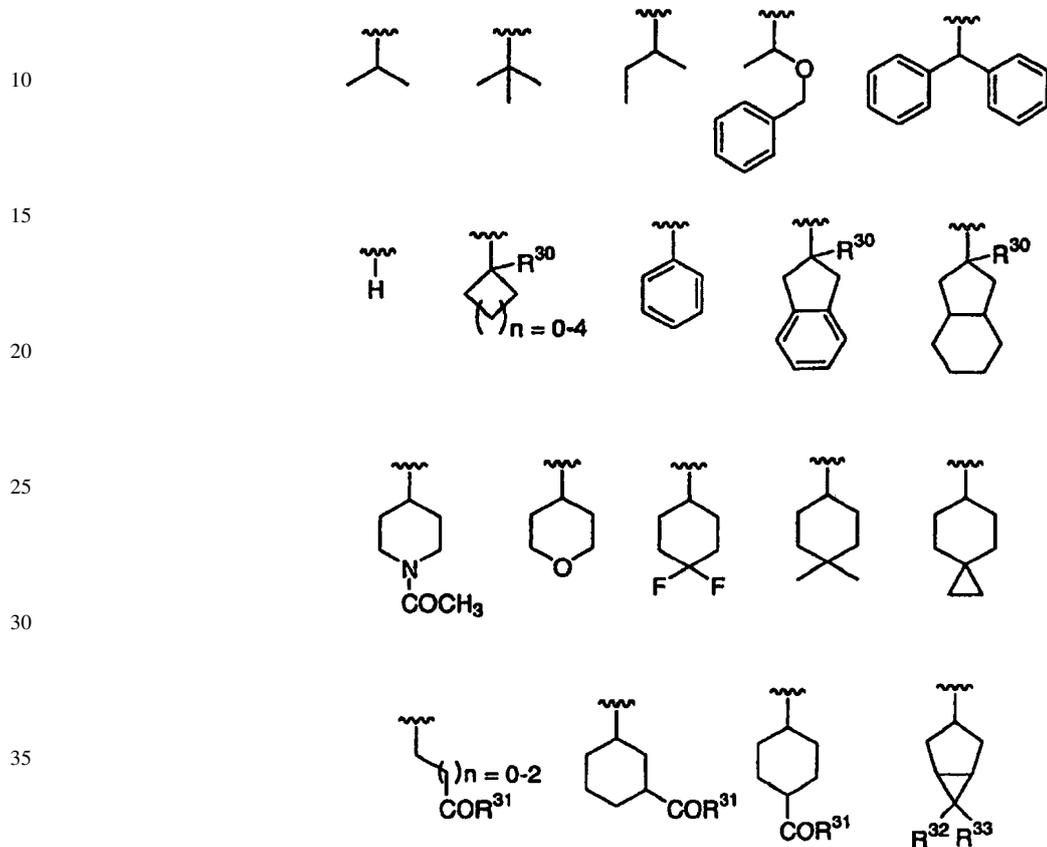
65



ES 2 317 900 T3

En algunos compuestos más preferidos, los radicales G y J se seleccionan independientemente entre $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, y (CRR') , y el radical A-E-L-M-Q es un anillo aromático que consiste en dos a ocho átomos de carbono, cero a seis heteroátomos estando X y Y en *orto*, *para* o *meta* con respecto a los demás.

5 En otras realizaciones preferidas, R^3 en la fórmula I se selecciona entre las siguientes estructuras:



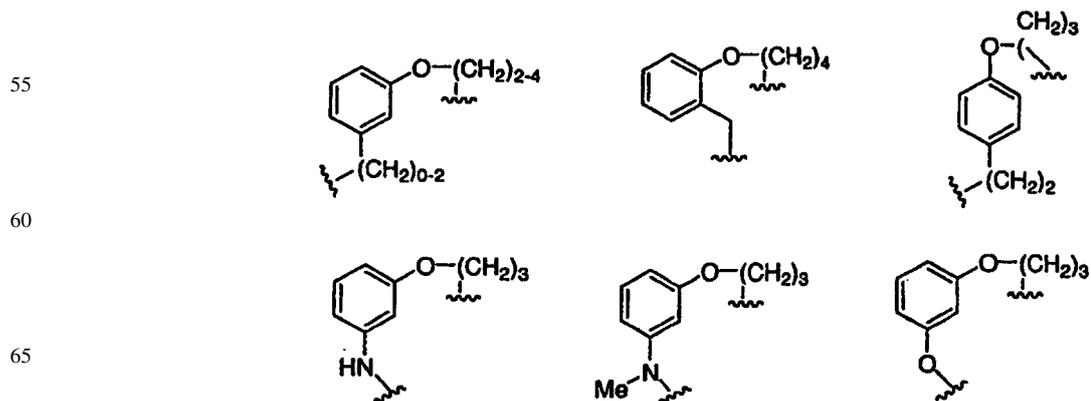
donde

$R^{30} = H, CH_3$ u otros grupos alquilo;

45 $R^{31} = OH, O$ -alquilo, NH_2 o N -alquilo;

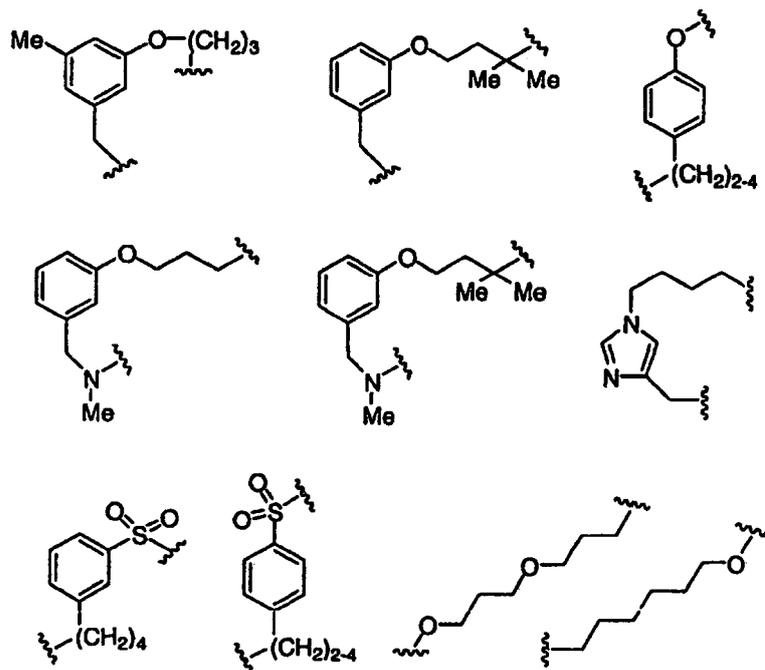
R^{32} y R^{33} pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente entre H, F, Cl, Br y CH_3 ;

y el radical X-Y se selecciona entre las siguientes estructuras:



ES 2 317 900 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



Se observan aclaraciones adicionales y nuevas de las diferentes definiciones observadas para los compuestos representados por la Fórmula I en la sección Reivindicaciones de esta solicitud. También están representadas por los diferentes compuestos enumerados en la memoria y las reivindicaciones. Se debe considerar que tales aclaraciones, definiciones y limitaciones representan la invención completa de esta solicitud.

Los compuestos representativos de la invención que muestran actividad inhibidora de la proteasa de HCV excelente se enumeran más abajo junto con su actividad (intervalos de los valores de K_i en nanomoles, nM). Los números de los Ejemplos hacen referencia a los números de las diferentes estructuras en la sección EJEMPLOS encontradas en las últimas partes de esta solicitud.

TABLA 1

Resultados del análisis continuo de la proteasa de HCV

Número de Ejemplo	K_i^* (nM)
1A	a
1B	b
2	b
3	b
4A	a
4B	b
5	b
6	b

ES 2 317 900 T3

	Número de Ejemplo	Ki* (nM)
5	7A	a
	7B	b
10	8	a
	9	b
15	10A	a
	10B	b
20	11	a
	12A	a
	12B	b
25	13A	a
	13B	b
30	14	b
	15	b
35	16	b
	17	b
40	18	b
	19	b
45	20A	a
	20B	b
50	21	a
	22	b
55	23	a
	24	a
60	25	a
	26A	a

65

ES 2 317 900 T3

	Número de Ejemplo	Ki* (nM)
5	26B	a
	27A	a
10	27B	b
	28A	a
15	28B	b
	29A	a
20	29B	b
	30	b
25	31	b
	37A	a
30	37B	a
	38A	a
35	38B	a
	39	a
40	40	a
	41	a
45	42	a
	43	b
50	44A	a
	44B	a
	46	a
55	53A	a
	53B	a
60	56A	a
	56B	a

65

ES 2 317 900 T3

	Número de Ejemplo	Ki* (nM)
5	57A	a
	57B	b
10	58	a
	59A	b
15	59B	b
	60	a
	61	a
20	62	a
	63	a
25	64	a
	65	b
30	66A	a
	66B	b
35	67A	a
	67B	b
40	68	b
	69A	a
45	69B	b
	70A	a
50	70B	b
	71	b
55	72	b
	73	a
60	74A	a
	74B	b

65

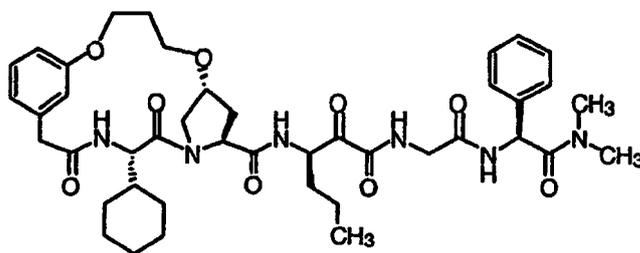
ES 2 317 900 T3

	Número de Ejemplo	Ki* (nM)
5	75A	a
	75B	b
10	76	b
	77	a
	78	a
15	79	a
	80	b
20	81	a
	82	a
25	83	b
	84	a
30	85	a
	86	a
35	87	a
	88	a
40	89	a
	90	a
45	91	a
	92	b
50	93	a
	94	a
55	95	b
	96	a
60	97	a
	98	b

65

	Número de Ejemplo	Ki* (nM)
5	99	a
	100	a
10	101	b
	102	a
15	103	a
	104	a
	105	a
20	106	a
	107	a
25	108	a
	109	a
30	110	b
	111	b
35	Intervalo del análisis continuo Ki* de HCV: Categoría b = 1-100 nM; Categoría a = 101 nM-100 µM	

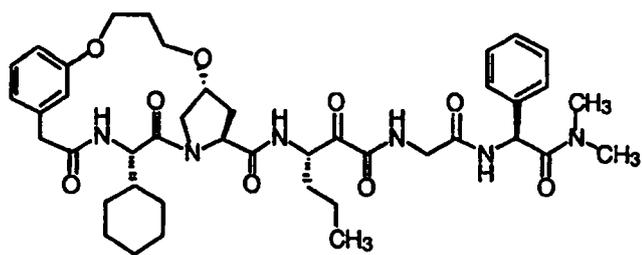
Algunos de los compuestos de la invención y los métodos para sintetizar los diferentes tipos de compuestos la invención se enumeran más abajo, después se describen esquemáticamente, seguidos de los Ejemplos ilustrativos.



1A

5

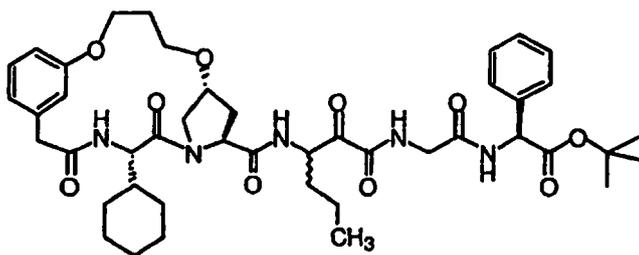
10



1B

15

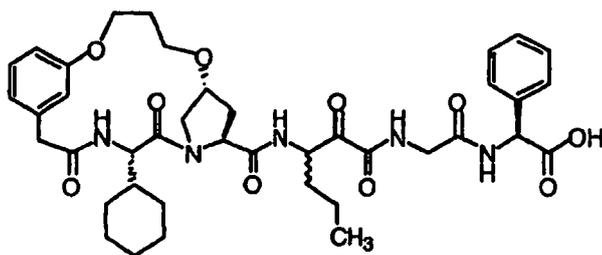
20



2

25

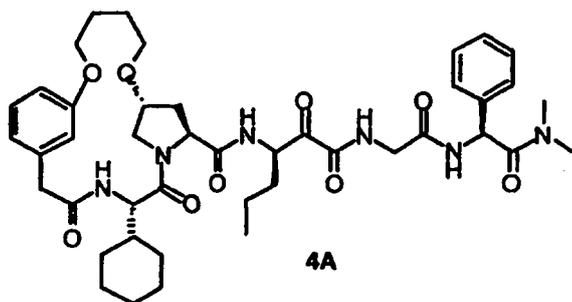
30



3

35

40



4A

45

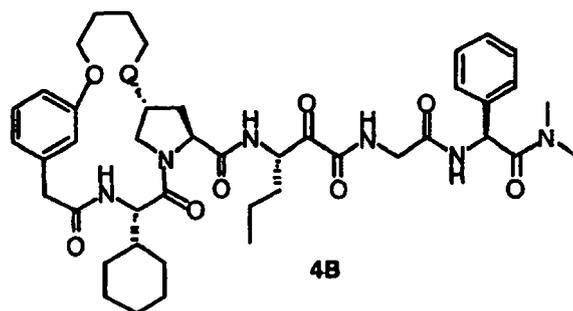
50

55

60

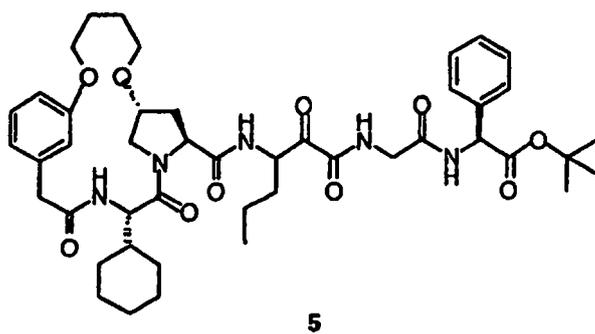
65

5



10

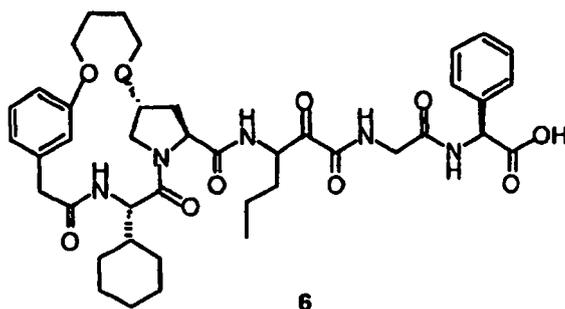
15



20

25

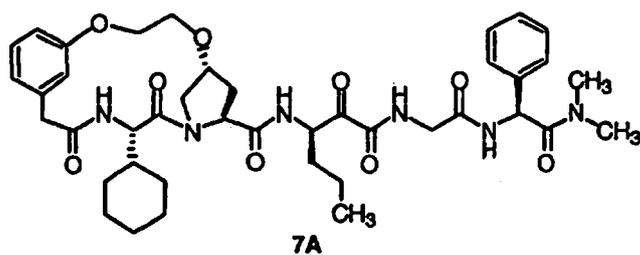
30



35

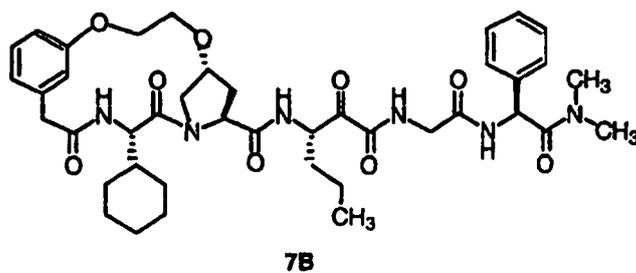
40

45



50

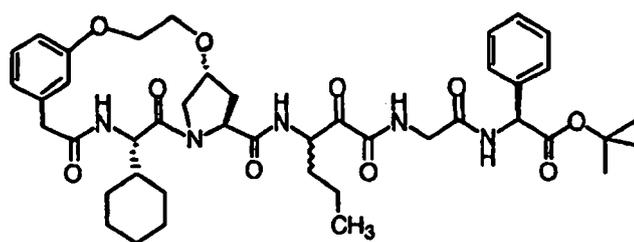
55



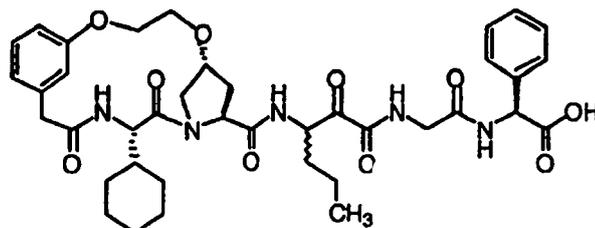
60

65

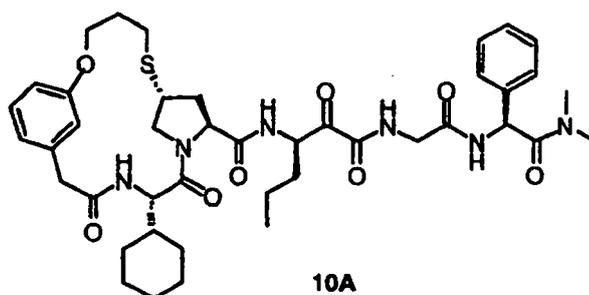
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



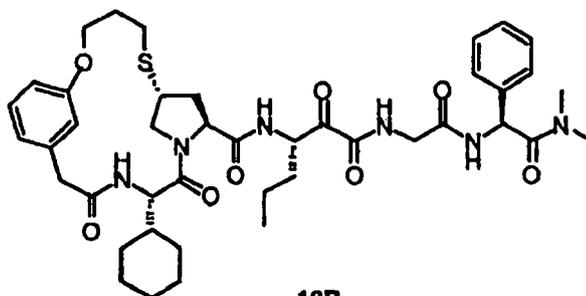
8



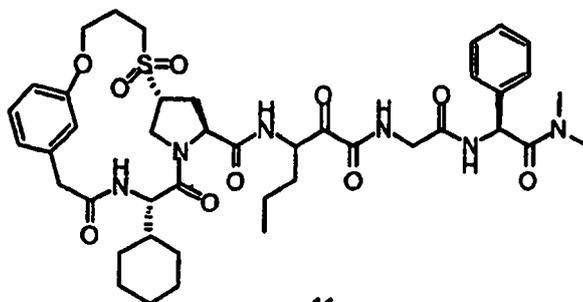
9



10A

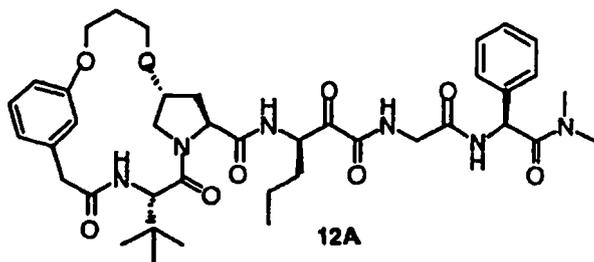


10B



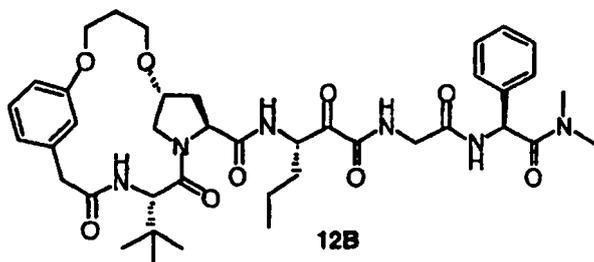
11

5



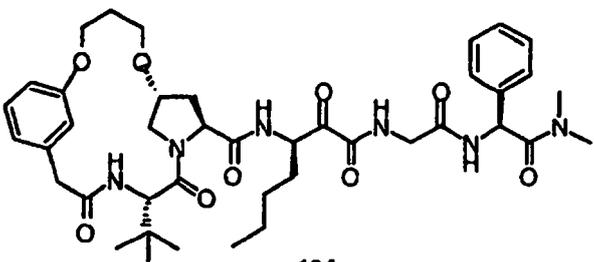
10

15



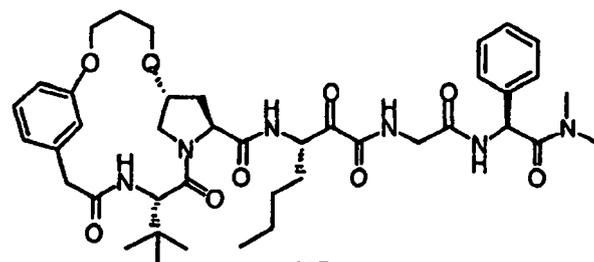
25

30



40

45



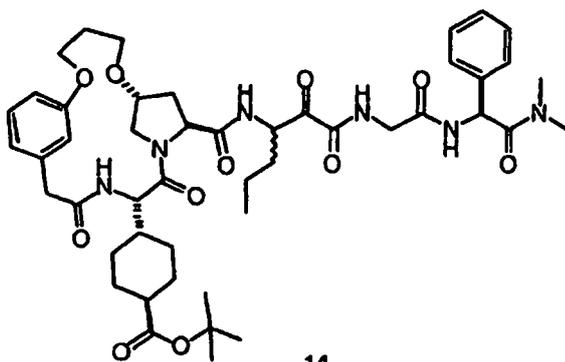
50

55

60

65

5

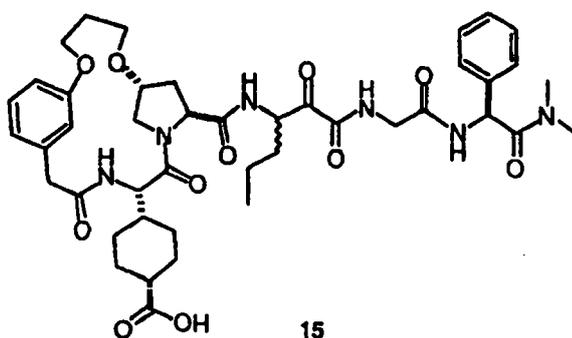


10

15

14

20

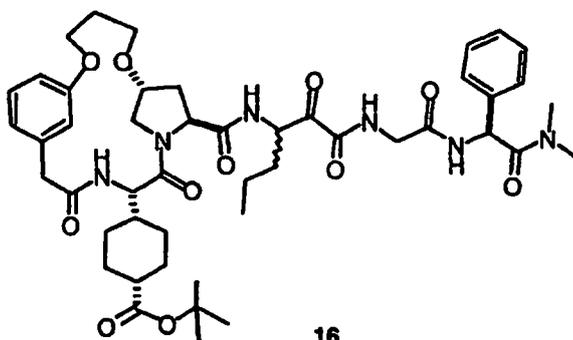


25

30

15

35

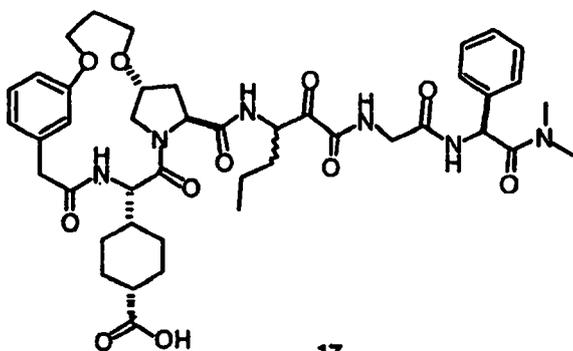


40

45

16

50



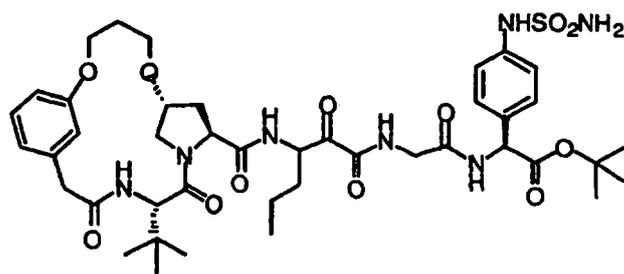
55

60

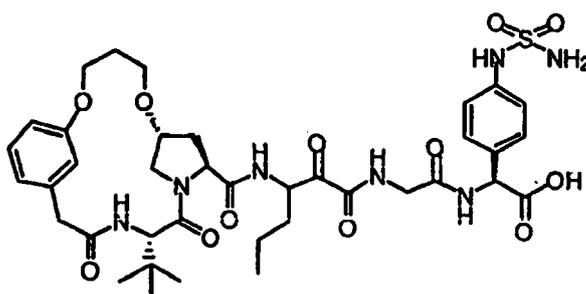
17

65

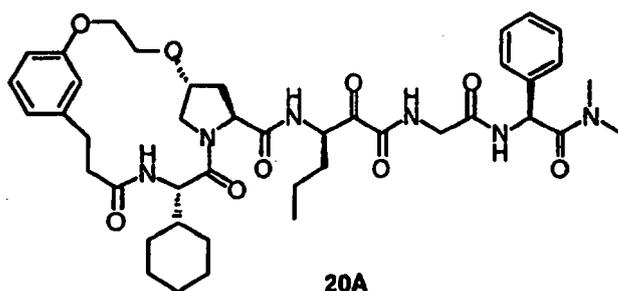
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



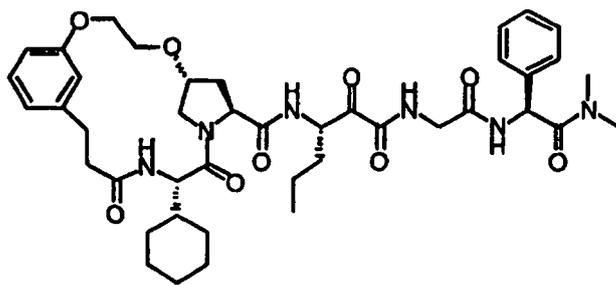
18



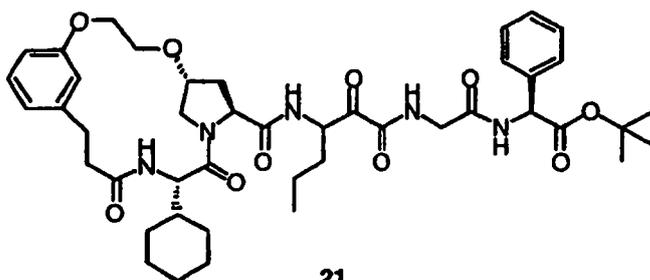
19



20A

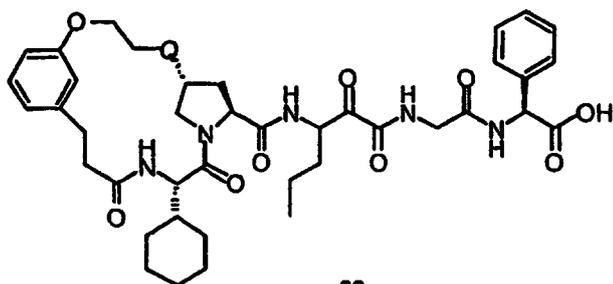


20B



21

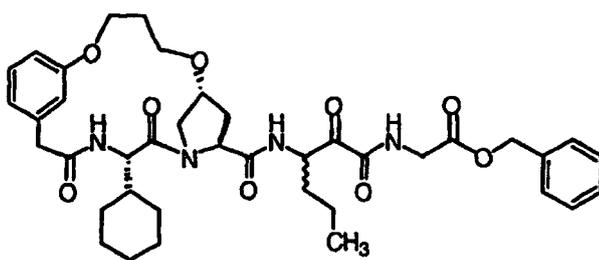
5



22

10

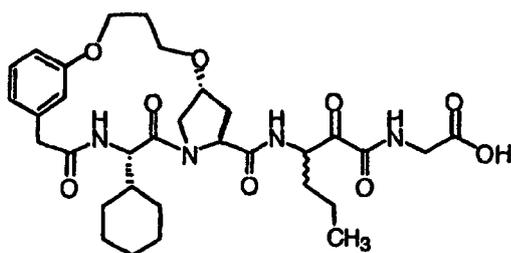
15



23

20

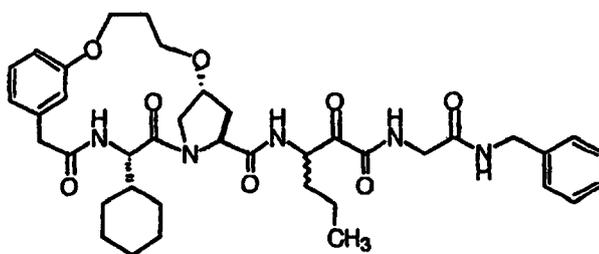
25



24

30

35

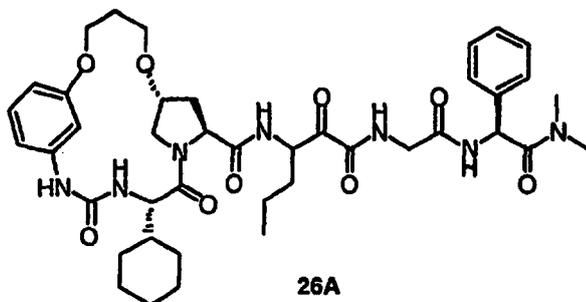


25

40

45

50



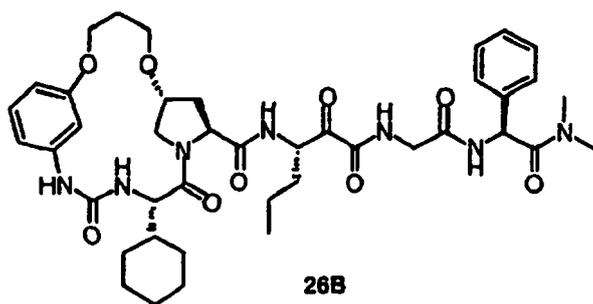
26A

60

65

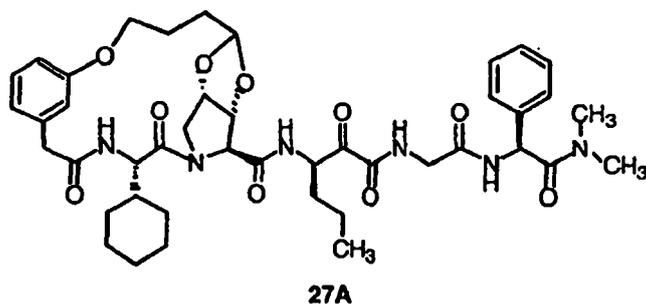
5

10



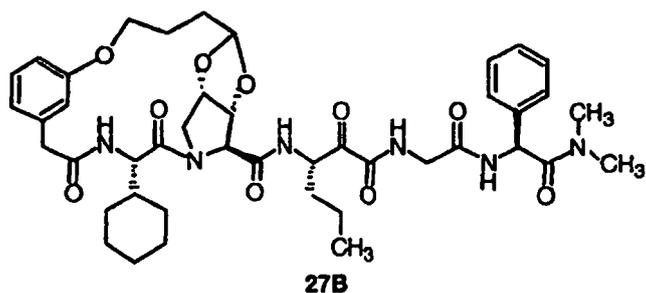
15

20



25

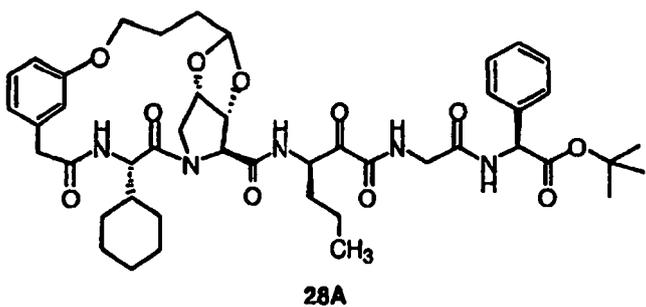
30



35

40

45



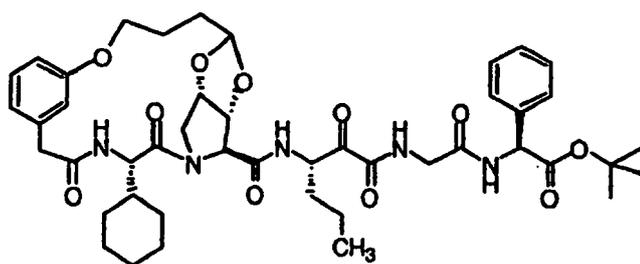
50

55

60

65

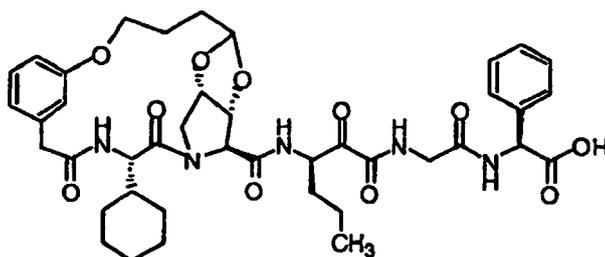
5



10

28B

15

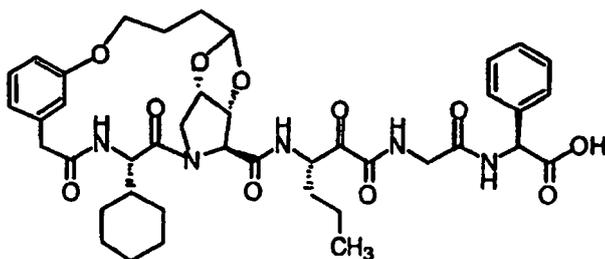


20

25

29A

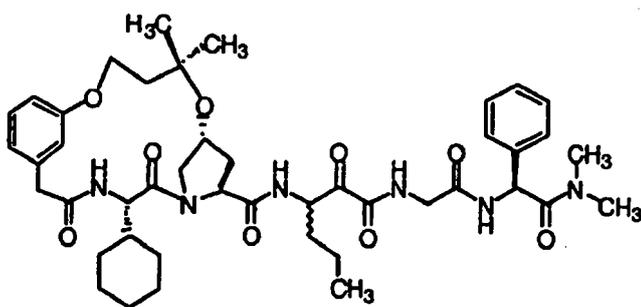
30



35

29B

40

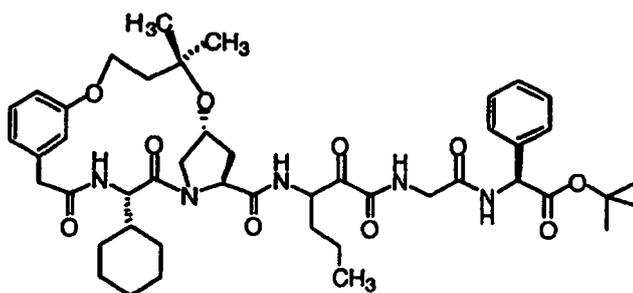


45

50

30

55



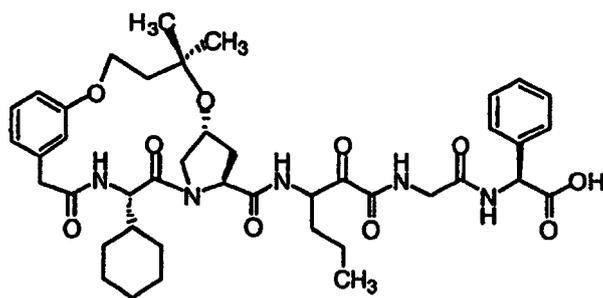
60

65

31

5

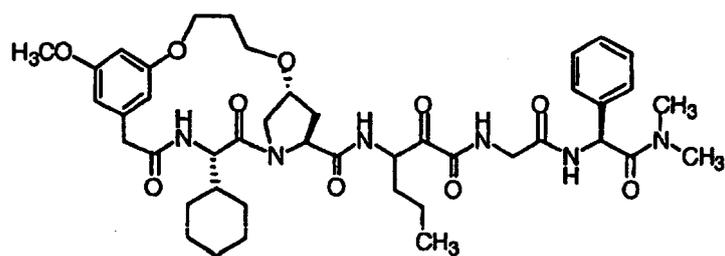
10



32

15

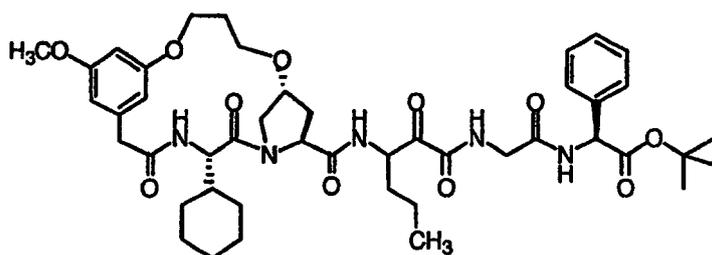
20



33

25

30

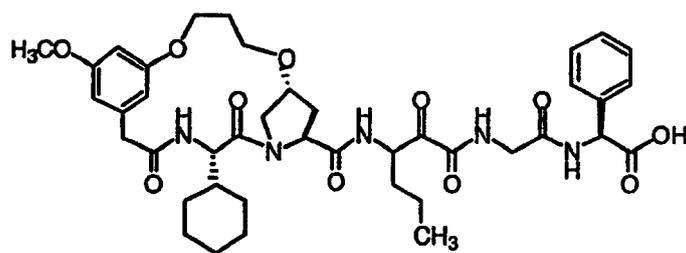


34

35

40

45



35

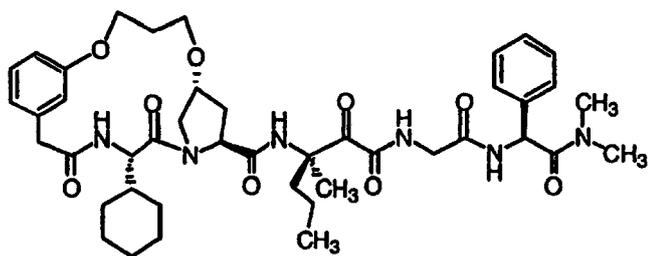
50

55

60

65

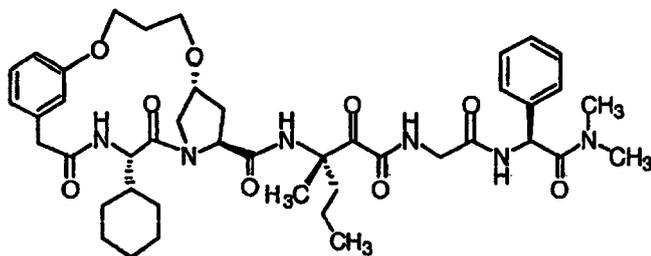
5



10

36A

15

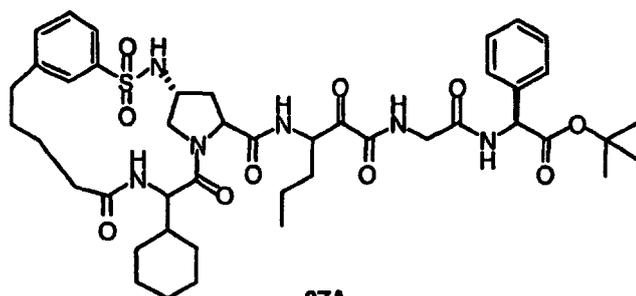


20

25

36B

30

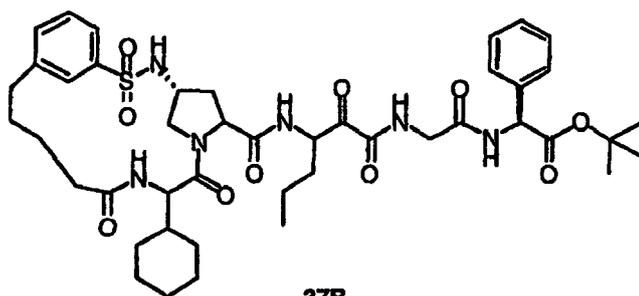


35

40

37A

45



50

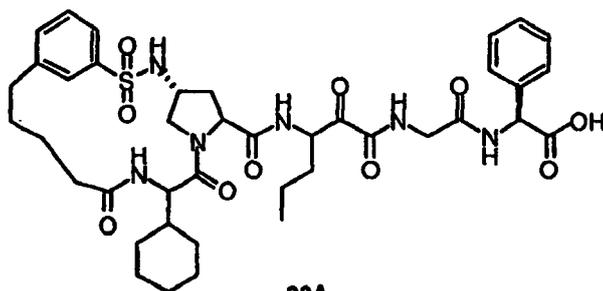
55

37B

60

65

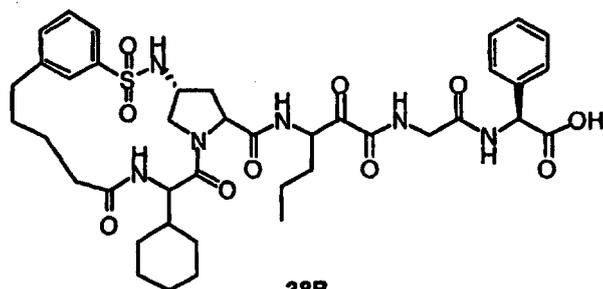
5



38A

10

15

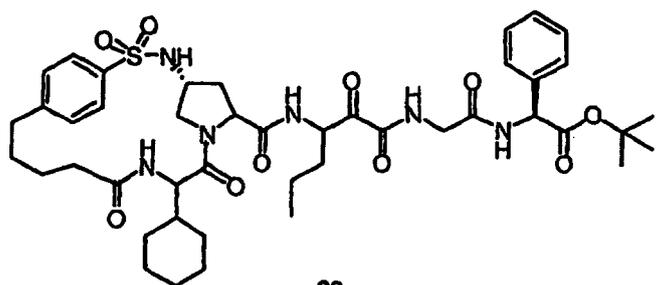


38B

20

25

30

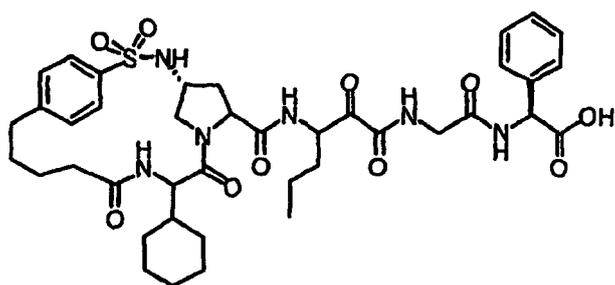


39

35

40

45



40

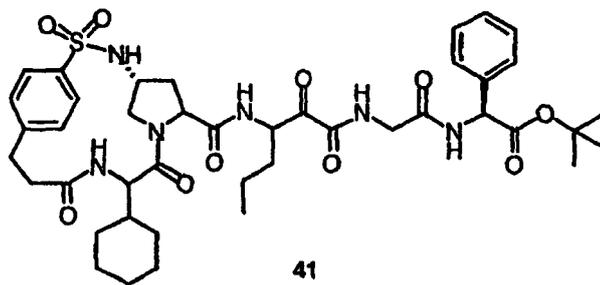
50

55

60

65

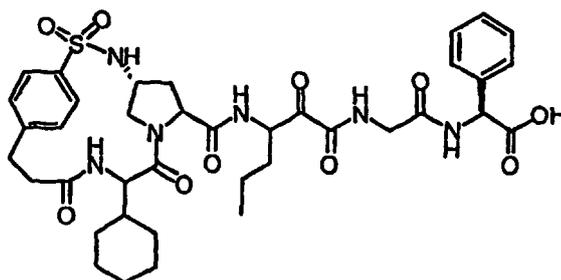
5



41

10

15

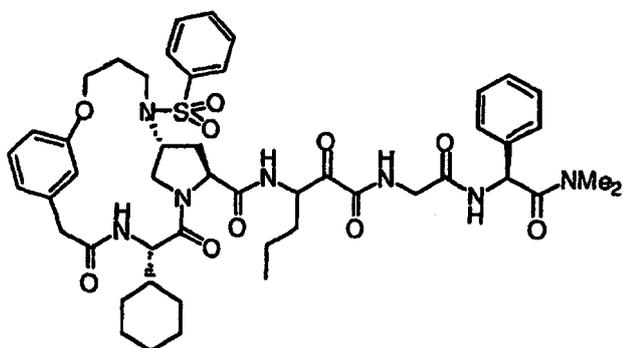


42

20

25

30

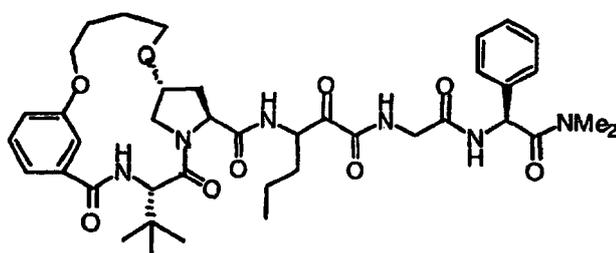


43

35

40

45



44

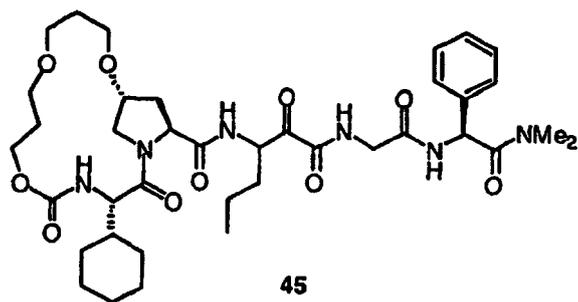
50

55

60

65

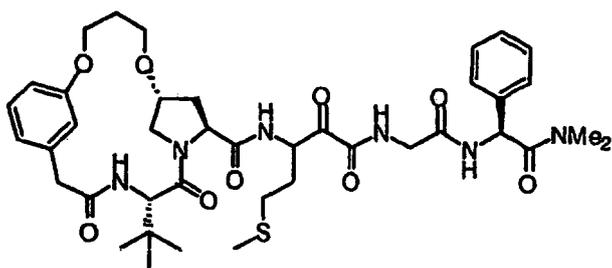
5



45

10

15

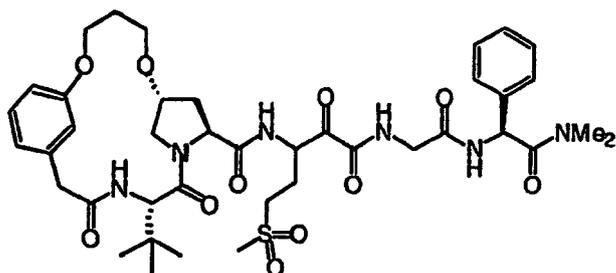


46

20

25

30

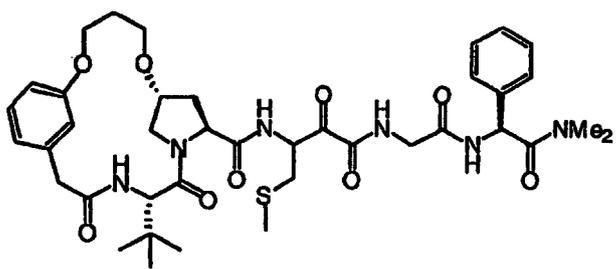


47

35

40

45



48

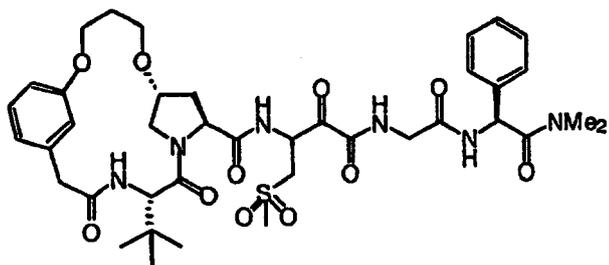
50

55

60

65

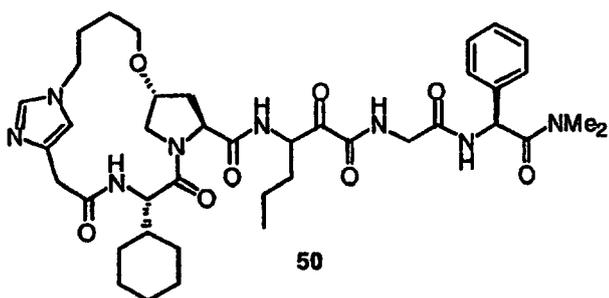
5



10

49

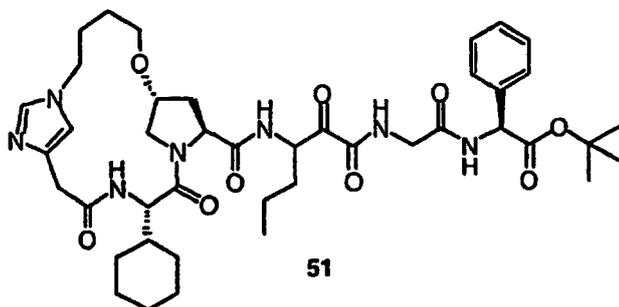
15



20

50

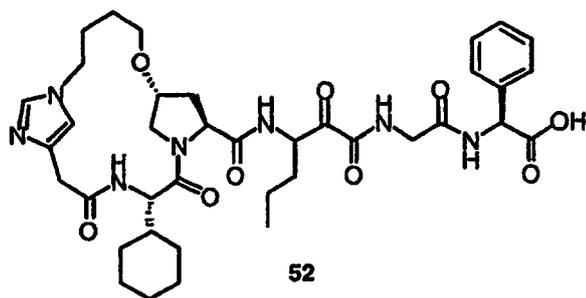
25



35

51

40



45

52

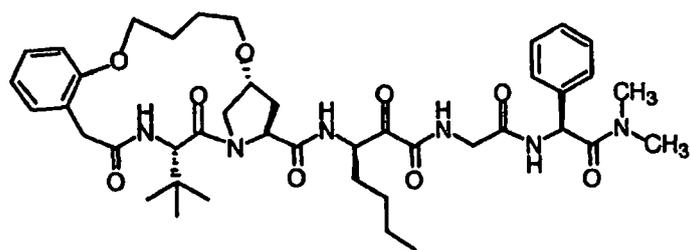
50

55

60

65

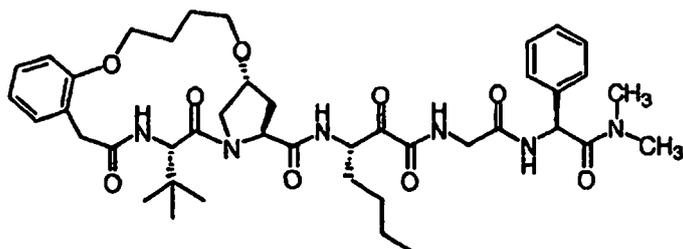
5



10

53A

15

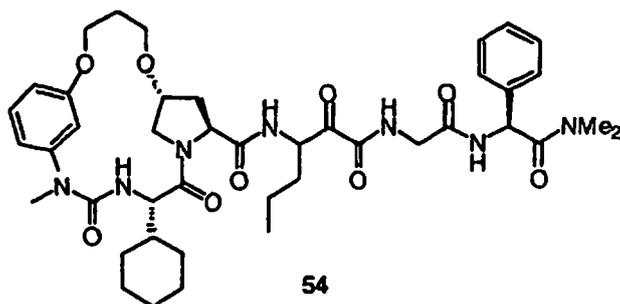


20

53B

25

30

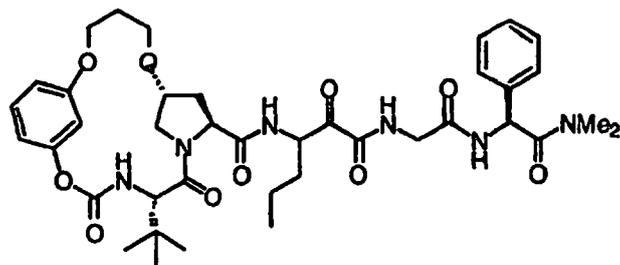


35

54

40

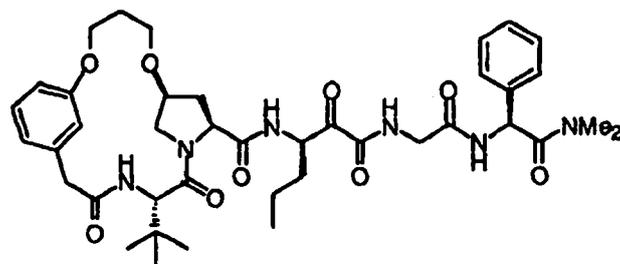
45



50

55

55

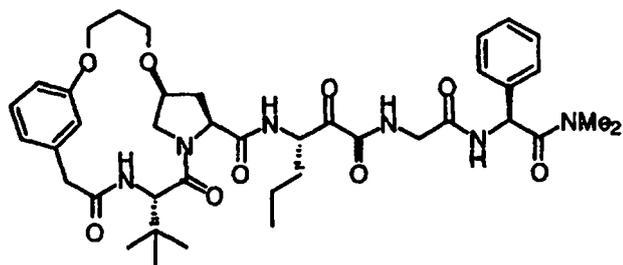


60

56A

65

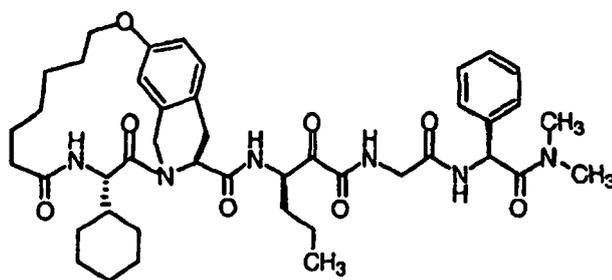
5



56B

10

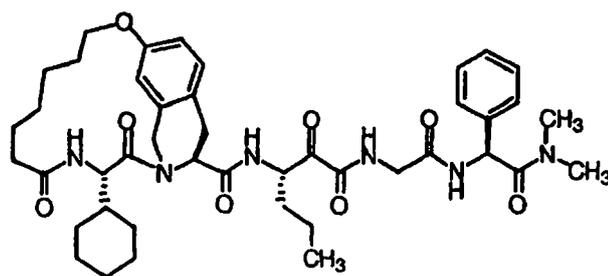
15



57A

20

25

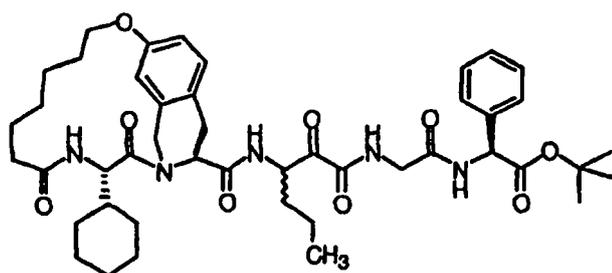


57B

30

35

40



58

45

50

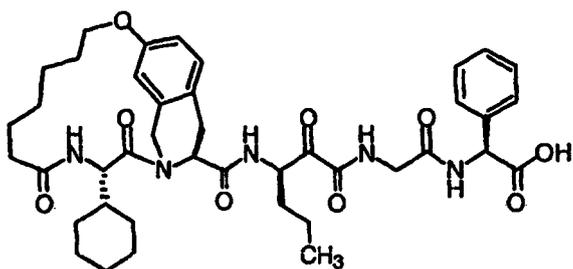
55

60

65

5

10

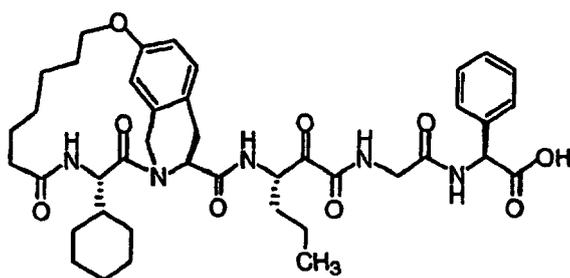


59A

15

20

25

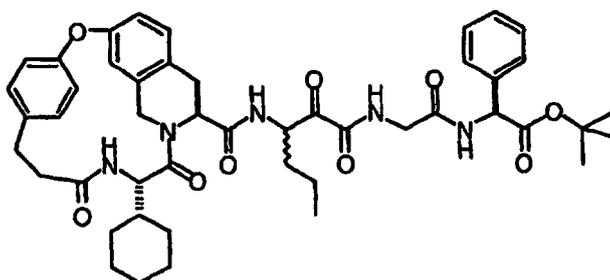


59B

30

35

40

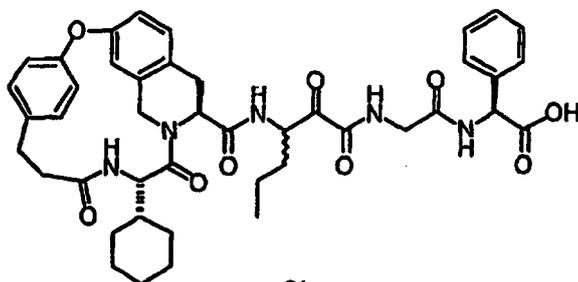


60

45

50

55



61

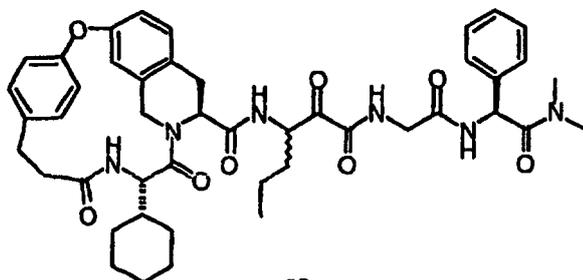
60

65

5

10

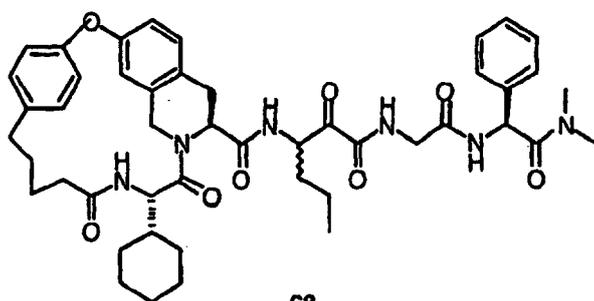
15



62

20

25

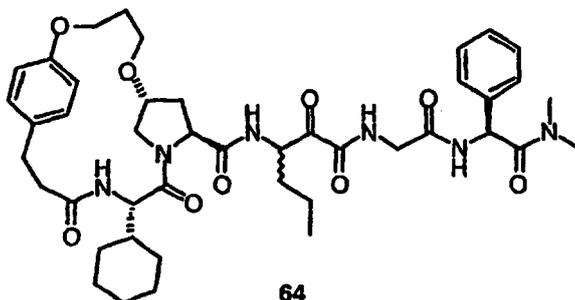


63

30

35

40

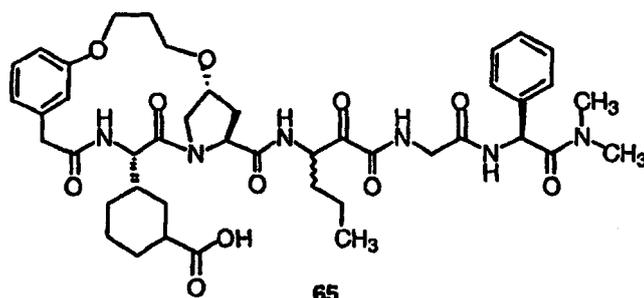


64

45

50

55

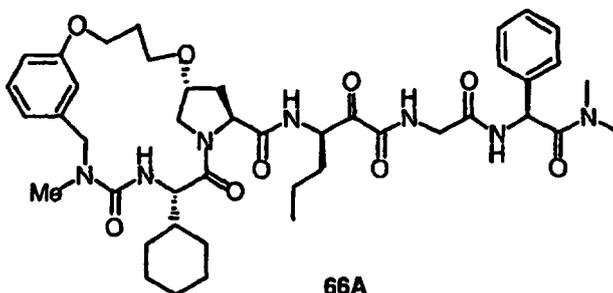


65

60

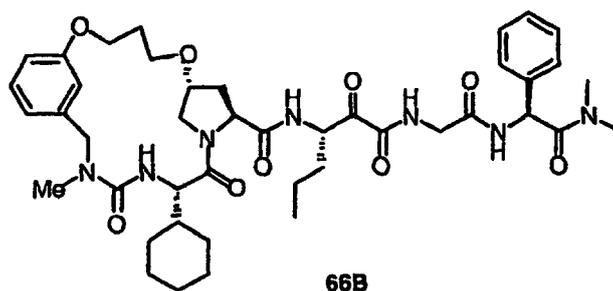
65

5



10

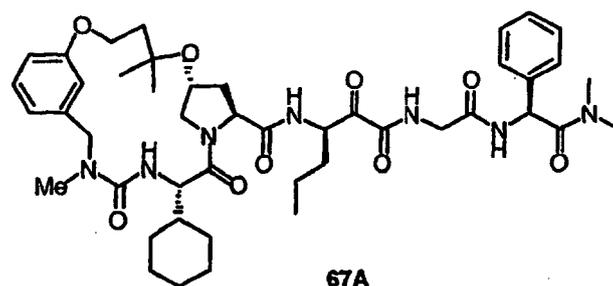
15



20

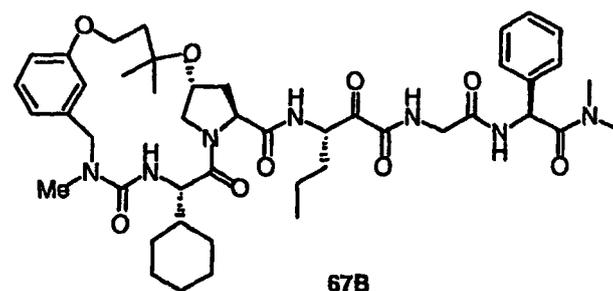
25

30



35

40



45

50

55

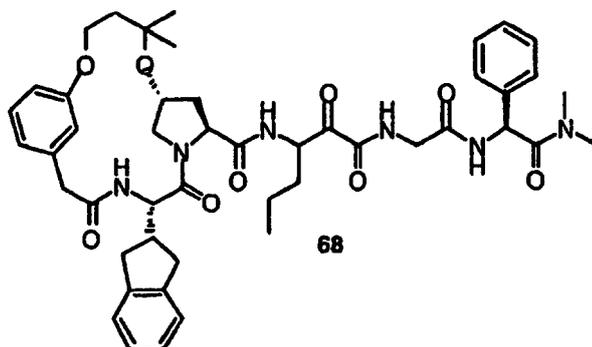
60

65

5

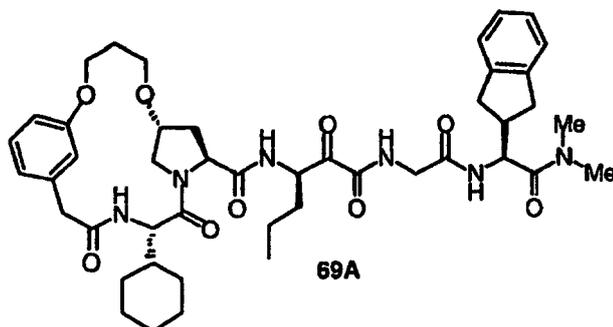
10

15



20

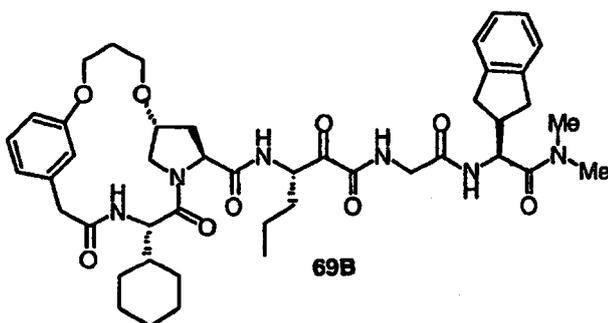
25



30

35

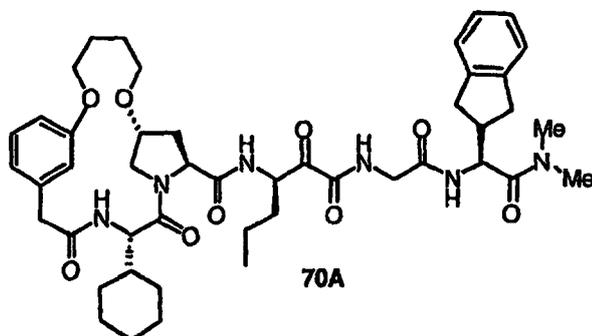
40



45

50

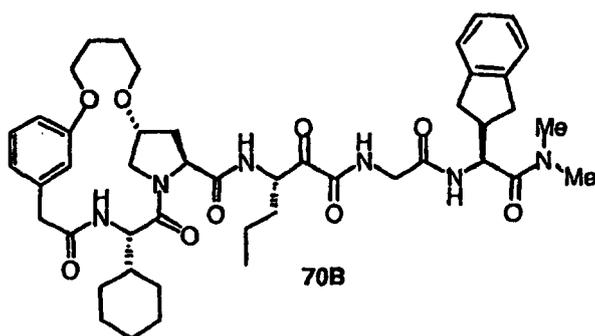
55



60

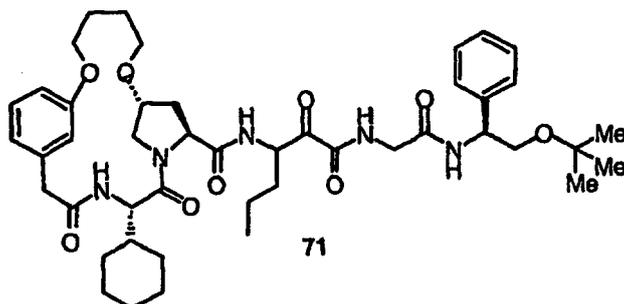
65

5



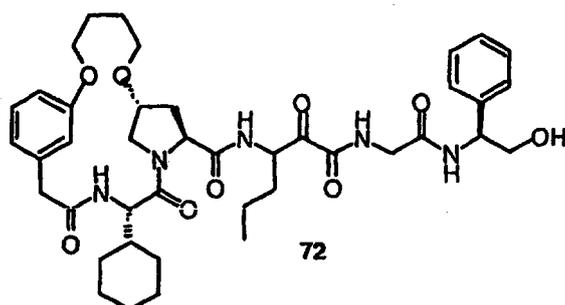
10

15



20

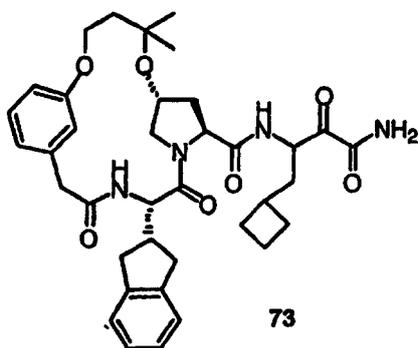
25



35

40

45



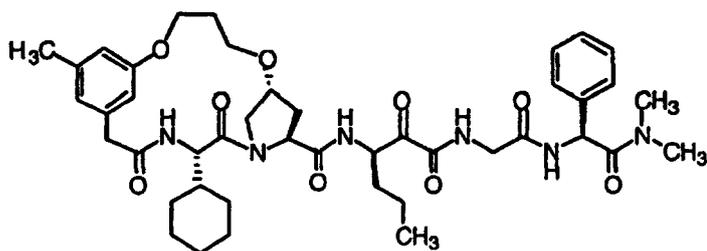
50

55

60

65

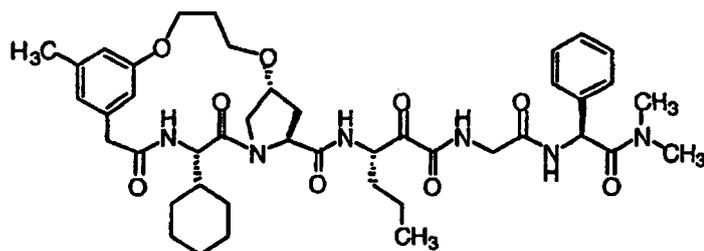
5



74A

10

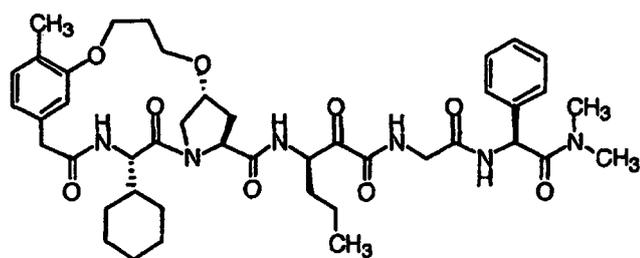
15



74B

20

25

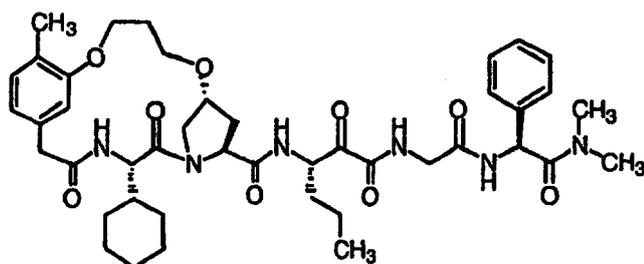


75A

30

35

40

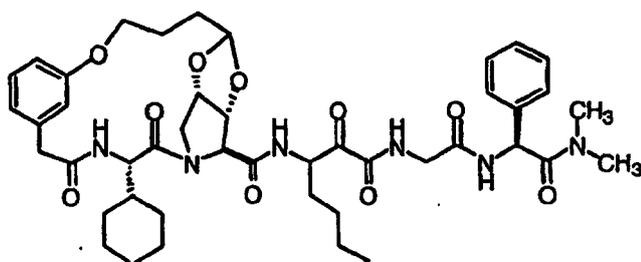


75B

45

50

55

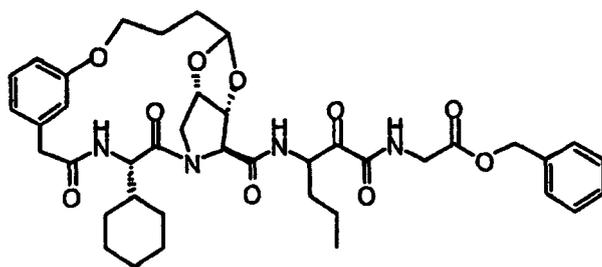


76

60

65

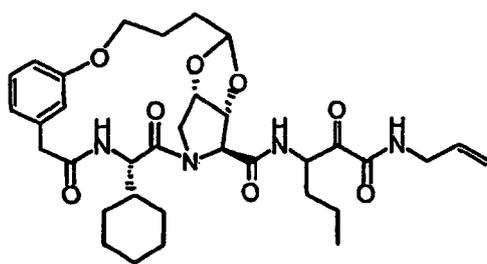
5



77

10

15

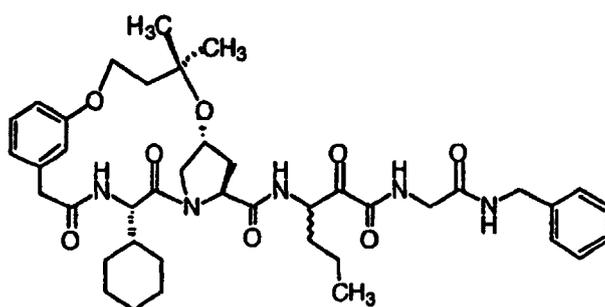


78

20

25

30

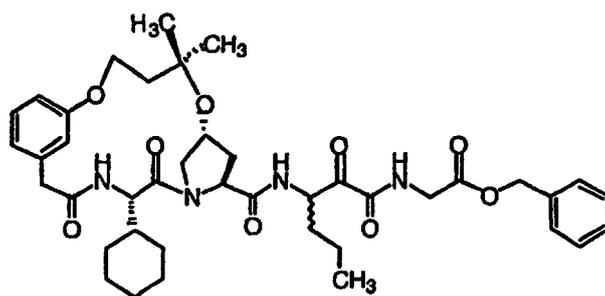


79

35

40

45



80

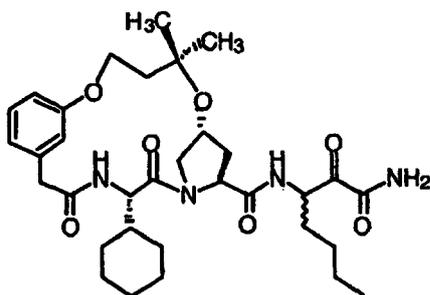
50

55

60

65

5

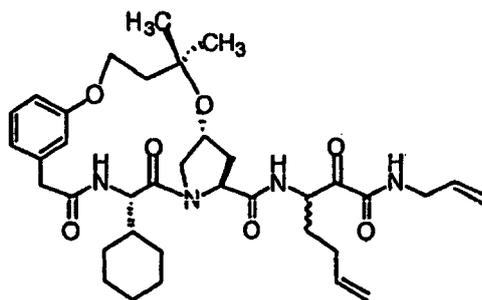


10

85

15

20

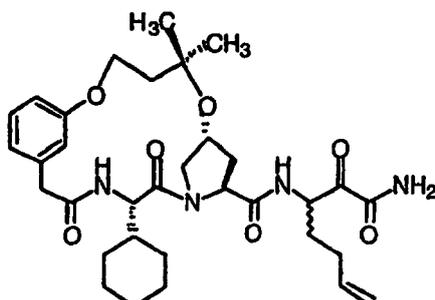


25

86

30

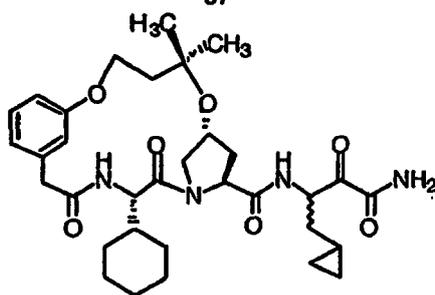
35



40

87

45



50

88

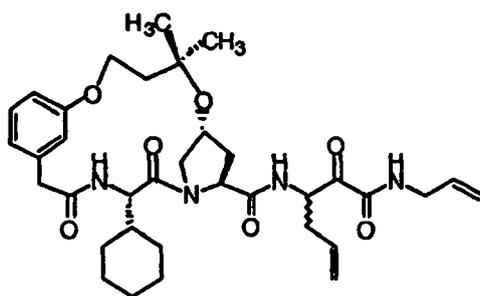
55

60

65

5

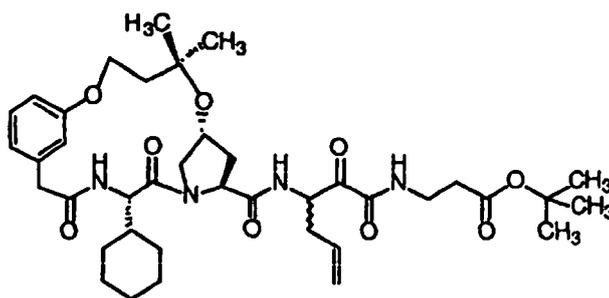
10



89

15

20

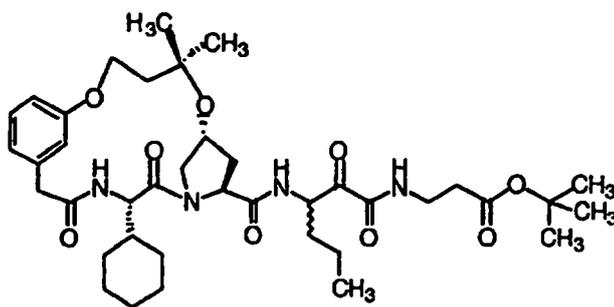


90

25

30

35

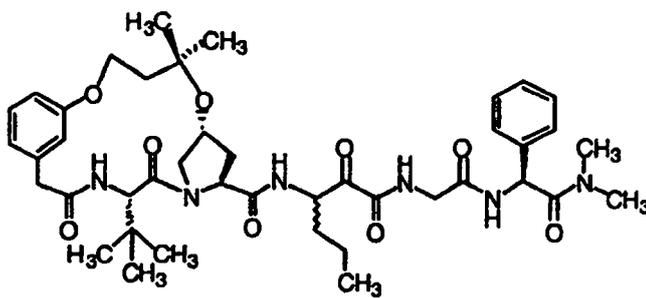


91

40

45

50



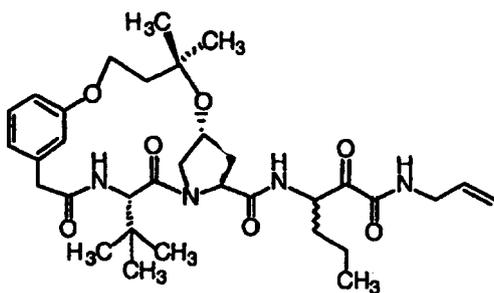
92

55

60

65

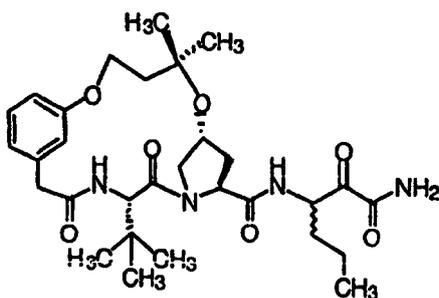
5



93

10

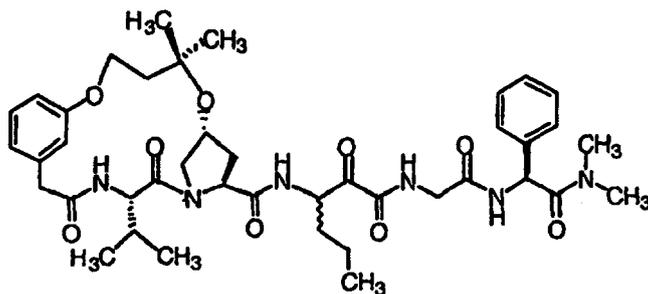
15



94

20

25

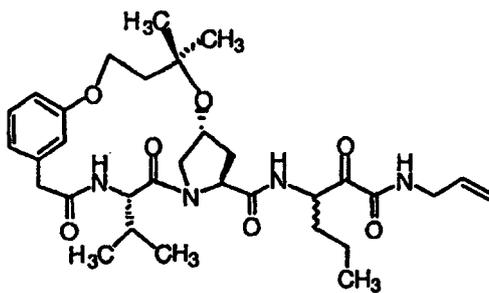


95

30

35

40



96

45

50

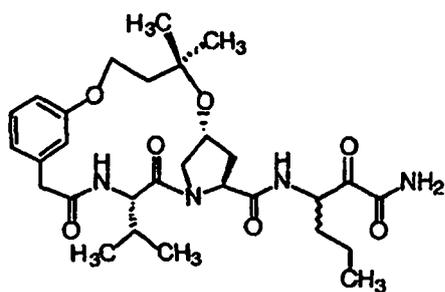
55

60

65

5

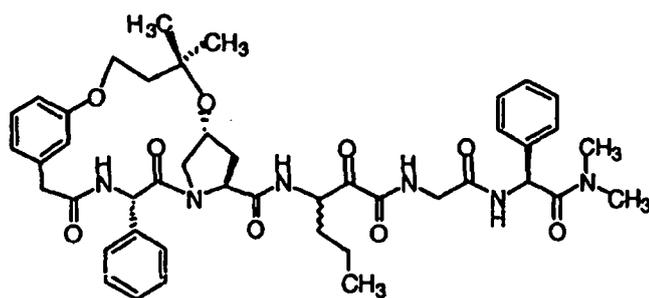
10



97

15

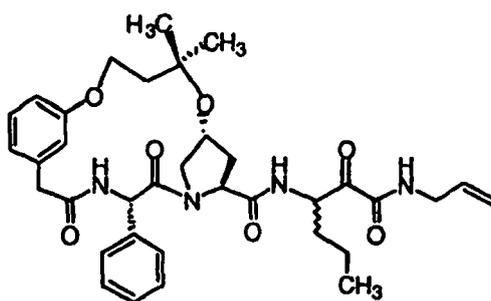
20



98

25

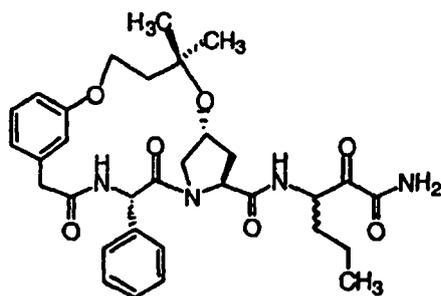
30



99

40

45



100

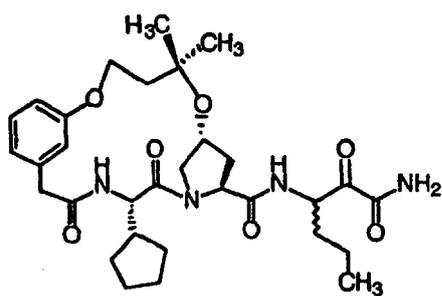
50

55

60

65

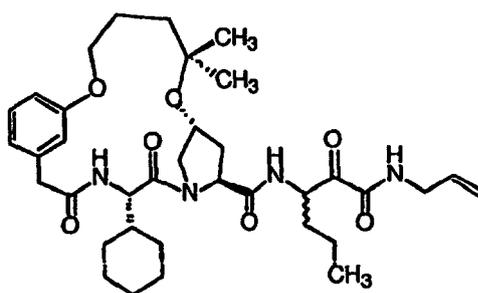
5



105

10

15

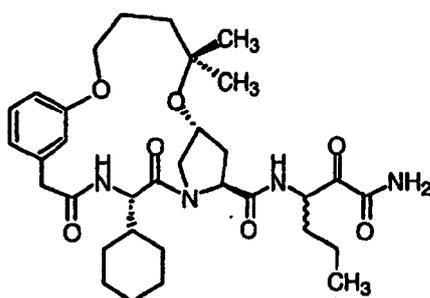


106

20

25

30

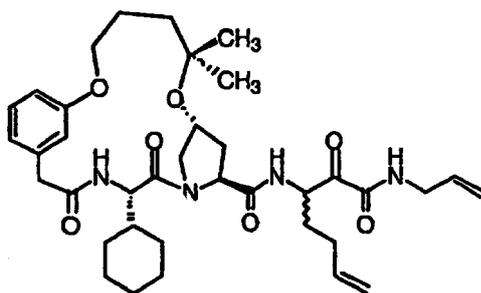


107

35

40

45



108

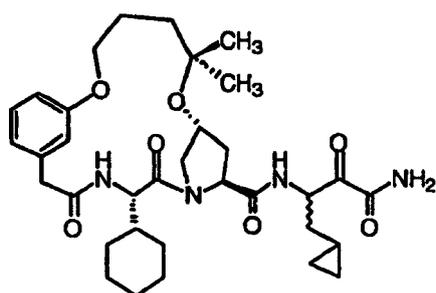
50

55

60

65

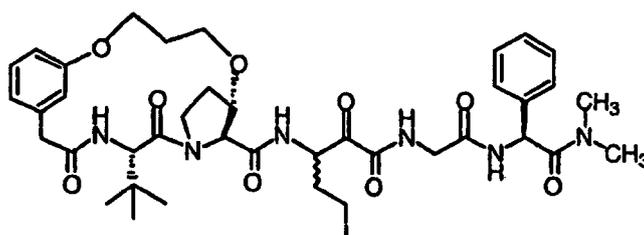
5



109

10

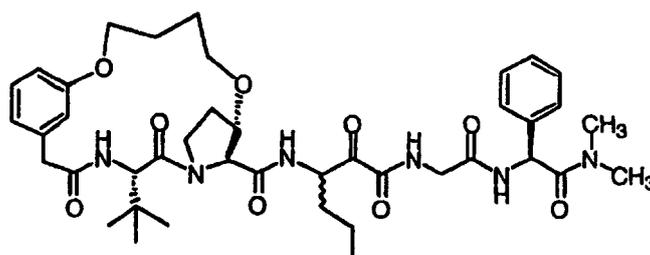
15



110

20

25



111

30

35

40

45

Dependiendo de la estructura, los compuestos de la invención pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos orgánicos o inorgánicos, o bases orgánicas o inorgánicas. Los ejemplos de los ácidos adecuados para tal formación de sales son clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, acético, cítrico, oxálico, malónico, salicílico, málico, fumárico, succínico, ascórbico, maleico, metanosulfónico y otros ácidos minerales y carboxílicos bien conocidos por los expertos en la técnica. Para la formación de sales con bases, las bases son, por ejemplo, NaOH, KOH, NH₄OH, hidróxido de tetraalquilamonio, y similares.

50

En otra realización, esta invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los macrociclos de la invención anteriormente descritos como ingrediente activo. Las composiciones farmacéuticas generalmente comprenden adicionalmente un diluyente portador, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable (referido colectivamente en la presente memoria como sustancias portadoras). Debido a la actividad inhibidora de HCV, tales composiciones farmacéuticas poseen utilidad para tratar la hepatitis C y trastornos relacionados.

55

60

65

En otra realización más, la presente invención describe métodos para preparar composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos macrocíclicos de la invención como ingrediente activo. En las composiciones farmacéuticas y los métodos de la presente invención, los ingredientes activos se administrarán típicamente mezclados con sustancias portadoras adecuadas seleccionadas adecuadamente con respecto a la forma de administración pretendida, esto es comprimidos orales, cápsulas (con relleno sólido, semi-sólido o líquido), polvos para su reconstitución, geles orales, elixires, gránulos dispersables, jarabes, suspensiones, y similares, y compatibles con las prácticas farmacéuticas convencionales. Por ejemplo, para la administración oral en forma de comprimidos o cápsulas, el componente farmacéutico activo se puede combinar con cualquier portador inerte farmacéuticamente aceptable no tóxico oral, tal como lactosa, almidón, sacarosa, celulosa, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, talco, manitol, alcohol etílico (formas líquidas) y similares. Por otra parte, cuando se desee o necesite, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los polvos y los comprimidos pueden comprender de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 por ciento de la composición de la invención.

ES 2 317 900 T3

Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y ceras. Entre los lubricantes se pueden mencionar para su uso en estas formas de dosificación, ácido bórico, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico, y similares. Los disgregantes incluyen almidón, metilcelulosa, goma guar y similares. También se pueden incluir cuando sea apropiado agentes edulcorantes y aromatizantes y conservantes. Algunos de los términos observados antes, a saber disgregantes, diluyentes, lubricantes, aglutinantes y similares, se estudian con más detalle más abajo.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención se pueden formular en una forma de dosificación sostenida para proporcionar la liberación de velocidad controlada de uno o más cualesquiera de los componentes o ingredientes activos para optimizar los efectos terapéuticos, esto es la actividad inhibidora de HCV y similares. Las formas de dosificación adecuadas para la liberación sostenida incluyen comprimidos recubiertos que contienen capas con velocidades de disgregación variables o matrices poliméricas de liberación controlada impregnadas con los componentes activos y modeladas en forma de comprimido o cápsulas que contienen tales matrices poliméricas porosas impregnadas o encapsuladas.

Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Como ejemplo se pueden mencionar las soluciones de agua o agua-propilenglicol para las inyecciones parenterales o la adición de edulcorantes y opacificadores para las soluciones, suspensiones y emulsiones orales. Las preparaciones en forma líquida pueden incluir también soluciones para la administración intranasal.

Las preparaciones en aerosol adecuadas para la inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo, que se pueden combinar con un portador farmacéuticamente aceptable tal como gas comprimido inerte, p. ej. nitrógeno.

Para preparar supositorios, se funde primero una cera de bajo punto de fusión tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos tal como manteca de cacao, y el ingrediente activo se dispersa homogéneamente allí mediante agitación o mezclado similar. La mezcla homogénea fundida se vierte después en moldes del tamaño conveniente, se deja enfriar y se solidifica.

También están incluidas las preparaciones en forma sólida que se pretende convertir, inmediatamente antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para la administración oral o parenteral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

Los compuestos de la invención también se pueden liberar transdérmicamente. Las composiciones transdérmicas pueden adoptar la forma de cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones y pueden estar incluidas en un parche transdérmico de tipo matriz o reservorio como es convencional en la técnica para este fin.

Preferiblemente el compuesto se administra oralmente.

Preferiblemente, la preparación farmacéutica se encuentra en una forma de dosificación unitaria. En tal forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias del tamaño adecuado que contienen cantidades apropiadas de los componentes activos, p. ej., una cantidad eficaz para lograr en propósito deseado.

La cantidad de la composición activa de la invención en una dosis unitaria de preparación se puede variar o ajustar generalmente de aproximadamente 1,0 miligramos a aproximadamente 1.000 miligramos, preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 950 miligramos, más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 500 miligramos, y típicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 miligramos, de acuerdo con la aplicación concreta. La dosificación real empleada se puede variar dependiendo de la edad, el sexo, el peso del paciente y de la gravedad de la condición que esté siendo tratada. Tales mecanismos son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Generalmente, la forma de dosificación oral para seres humanos que contiene los ingredientes activos se puede administrar 1 o 2 veces al día. La cantidad y la frecuencia de la administración serán reguladas de acuerdo con el criterio del clínico que atienda. Un régimen de dosificación diario recomendado generalmente para la administración oral puede oscilar de aproximadamente 1,0 miligramos a aproximadamente 1.000 miligramos al día, en dosis únicas o divididas.

Algunos términos útiles se describen más abajo:

Cápsula - hace referencia a un contenedor o envoltura especial elaborada con metilcelulosa, poli(alcoholes vinílicos), o gelatinas desnaturalizadas o almidón para albergar o contener composiciones que comprenden los ingredientes activos. Las cápsulas con cubierta dura se elaboran típicamente con mezclas de hueso y piel de cerdo con resistencia de gel relativamente alta. La propia cápsula puede contener pequeñas cantidades de colorantes, agentes opacificadores, plastificantes y conservantes.

Comprimido - hace referencia a una forma de dosificación sólida comprimida o moldeada que contiene los ingredientes activos con diluyentes adecuados. El comprimido se puede preparar mediante compresión de mezclas o granulaciones obtenidas mediante granulación en mojado, granulación en seco o mediante compactación.

ES 2 317 900 T3

Gel oral - hace referencia a los ingredientes activos dispersados o solubilizados en una matriz hidrófila semisólida.

Polvo para la reconstitución hace referencia a una mezcla de polvo que contiene los ingredientes activos y diluyentes adecuados que se pueden suspender en agua o zumos.

5 Diluyente - hace referencia a sustancias que constituyen usualmente la porción principal de la composición o forma de dosificación. Los diluyentes adecuados incluyen azúcares tales como lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; almidones derivados de trigo, maíz, arroz y patata; y celulosas tales como celulosa microcristalina. La cantidad de diluyente en la composición puede oscilar de aproximadamente 10 a aproximadamente 90% en peso de la composición total, preferiblemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 75%, más preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 60% en peso, incluso más preferiblemente de aproximadamente 12 a aproximadamente 60%.

15 Disgregante - hace referencia a sustancias añadidas a la composición para ayudarlas a separarse (disgregarse) y liberar los medicamentos. Los disgregantes adecuados incluyen almidones; almidones modificados "solubles en agua fría" tales como carboximetilalmidón sódico; gomas naturales y sintéticas tales como algarrobo, karaya, guar, tragacanto y agar; derivados de celulosa tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica; celulosas microcristalinas y celulosas microcristalinas entrecruzadas tales como croscarmelosa sódica; alginatos tales como ácido algínico y alginato sódico; arcillas tales como bentonitas; y mezclas efervescentes. La cantidad de disgregante en la composición puede oscilar de aproximadamente 2 a aproximadamente 15% en peso de la composición, más preferiblemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 10% en peso.

25 Aglutinante - hace referencia a sustancias que unen o "pegan" polvos entre sí y los hacen cohesivos formando gránulos, sirviendo de este modo como "adhesivo" en la formulación. Los aglutinantes añaden resistencia cohesiva ya disponible en el diluyente o el agente voluminizador. Los aglutinantes adecuados incluyen azúcares tales como sacarosa; almidones derivados de trigo, maíz, arroz y patata; gomas naturales tales como acacia, gelatina y tragacanto; derivados de algas marinas tales como ácido algínico, alginato sódico y alginato de calcio y amonio; sustancias celulósicas tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropilmetilcelulosa; polivinilpirrolidona; e inorgánicas tales como silicato de aluminio y magnesio. La cantidad de aglutinante en la composición puede oscilar de aproximadamente 2 a aproximadamente 20% en peso de la composición, más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 10% en peso, incluso más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 6% en peso.

35 Lubricante - hace referencia a una sustancia añadida a la forma de dosificación para posibilitar que el comprimido, los gránulos, etc. después de haber sido comprimidos, se liberen del molde o el troquel reduciendo la fricción o el desgaste. Los lubricantes adecuados incluyen estearatos metálicos tales como estearato de magnesio, estearato de calcio o estearato de potasio; ácido esteárico; ceras de alto punto de ebullición; y lubricantes solubles en agua tales como cloruro de sodio, benzoato de sodio, acetato de sodio, oleato de sodio, polietilenglicoles y d,l-leucina. Los lubricantes se añaden usualmente en la última etapa antes de la compresión, puesto que deben estar presentes en la superficie de los gránulos o entre ellos y las piezas de la prensa para comprimidos. La cantidad de lubricante en la composición puede oscilar de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 5% en peso de la composición, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2%, más preferiblemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5% en peso.

45 Antiapelmazante - sustancia que evita la aglutinación y mejora las características de flujo de las granulaciones, de manera que el flujo es sin grumos y uniforme. Los antiapelmazantes adecuados incluyen dióxido de silicio y talco. La cantidad de antiapelmazante en la composición puede oscilar de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5% en peso de la composición total, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2% en peso.

50 Agentes colorantes - excipientes que proporcionan coloración a la composición o la forma de dosificación. Tales excipientes pueden incluir colorantes de calidad alimentaria y colorantes de calidad alimentaria adsorbidos sobre un adsorbente adecuado tal como arcilla u óxido de aluminio. La cantidad de agente colorante puede variar de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5% en peso de la composición, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1%.

55 Biodisponibilidad - hace referencia a la velocidad y el grado a los que se absorbe el ingrediente farmacéutico activo o radical terapéutico en la circulación general a partir de una forma de dosificación administrada en comparación con un patrón o control.

60 Los métodos convencionales para preparar comprimidos son conocidos. Tales métodos incluyen métodos en seco tales como compresión directa y compresión de granulación producida mediante compactación, o métodos en mojado u otros procedimientos especiales. Los métodos convencionales para elaborar otras formas para la administración tales como, por ejemplo, cápsulas, supositorios y similares también son bien conocidos.

65 Otra realización de la invención describe la fabricación de las composiciones farmacéuticas descritas antes para el tratamiento de enfermedades tales como, por ejemplo, hepatitis C y similares. El método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica de la invención a un paciente que tenga tal enfermedad o enfermedades y que necesite tal tratamiento.

ES 2 317 900 T3

Como se ha establecido antes, la invención incluye tautómeros, enantiómeros y también otros estereoisómeros de los compuestos. De este modo, como sabe un experto en la técnica, algunos de los compuestos de la invención pueden existir en formas isoméricas. Se contempla que tales variaciones se encuentren dentro del alcance de la invención.

5 Los compuestos macrocíclicos descritos en la presente memoria se pueden preparar mediante diversos mecanismos conocidos en la técnica. Los procedimientos ilustrativos representativos se esbozan en los siguientes esquemas de reacción. Se debe entender que si bien los siguientes esquemas ilustrativos describen la preparación de macrociclos derivados predominantemente de 4-*cis*-hidroxiprolina (“*cis*-HYP”) o ácido 7-hidroxitetrahydroisoquinolino-3-carboxílico (“TIC”), la sustitución de cualquiera de los aminoácidos naturales y no naturales dará como resultado la
10 formación de los macrociclos deseados basados en tal sustitución.

Las abreviaturas que se utilizan en las descripciones de los esquemas, las preparaciones y los ejemplos siguientes son:

15 THF: Tetrahidrofurano
DMF: *N,N*-Dimetilformamida
EtOAc: Acetato de etilo
20 AcOH: Ácido acético
HOObt: 3-Hidroxi-1,2,3-benzotriazin-4(3*H*)-ona
25 EDCI: Hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
NMM: *N*-Metilmorfolina
ADDP: 1,1’-(Azodicarbonil)dipiperidina
30 DEAD: Azodicarboxilato de dietilo
MeOH: Metanol
35 EtOH: Etanol
Et₂O: Éter dietílico
40 Bn: Bencilo
Boc: terc-Butiloxicarbonilo
Cbz: Benciloxicarbonilo
45 Cp: Ciclopentildienilo
Ts: p-toluenosulfonilo
50 Me: Metilo
PyBrOP: Hexafluorofosfato de tris(pirrolidino)-bromofosfonio
DMSO: Dimetilsulfóxido
55 TFA: Ácido trifluoroacético
HOBT: Hidroxibenzotriazol
60 Base de Hünig: Diisopropiletilamina
BOP: Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxtiris(dimetilamino)fosfonio
LDA: Diisopropilamiduro de litio
65 Ph₃P: Trifenilfosfina
LAH: Hidruro de Litio y Aluminio

DMAP: 4-Dimetilaminopiridina

DCC: Diciclohexilcarbodiimida

5 MCPBA: Ácido meta-cloroperbenzoico

BINAP: 2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftol

10 MeCN: acetonitrilo

Pr: Propilo

Ac: Acetilo

15 Ph: Fenilo

Esquemas preparativos generales

20 La preparación del compuesto de fórmula 1h, donde R¹, R², R³ se han definido antes, R' es alquilo, heteroalquilo (OR'', SR''', NR''R'''' donde R'' y R''' son grupos alquilo), un sustituyente halo en posición *orto*, *meta*, o *para* respecto al átomo de oxígeno; R es un grupo alquilo, arilo, o alquilarilo; n es de cero a cinco; X es (CH₂)_m cuando m es de cero a cinco, un átomo de oxígeno, NY donde Y es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, arilo; y PG¹ y PG² son grupos protectores apropiados (PG¹ = t-boc, cbz y PG² = H, Bn etc.) se esboza en el Esquema 1. El ácido de 4-hidroxiprolina protegido (1a) se alquila en la posición 4 con un bromuro de alquilo en presencia de hidruro de sodio. El producto 1b se convierte después en un éster con un alcohol en condiciones ácidas, o con trimetilsilildiazometano. Después de la desprotección, la amina resultante se acopla a un aminoácido protegido con Boc en presencia de HOOBt, EDCI·HCl y NMM. Después de la eliminación del grupo Boc del producto 1d, el dipéptido se hace reaccionar con un ácido hidroxifenilacético sustituido utilizando las mismas condiciones de acoplamiento. La hidrogenación catalítica del éter benílico proporciona el precursor para la macrociclación. La macrociclación se logra en condiciones Mitsunobu utilizando trifenilfosfina y ADDP. (La reacción de *Mitsunobu* está revisada por D. L. Hughes, *Org. Reactions*, 42 (1992) 335, John Wiley & Sons, New York, L. Paquette, ed.). Después de hidrolizar el éster a un ácido con hidróxido de litio, éste se acopla a una amina intermedia para proporcionar 1h.

35

(Esquema pasa a página siguiente)

40

45

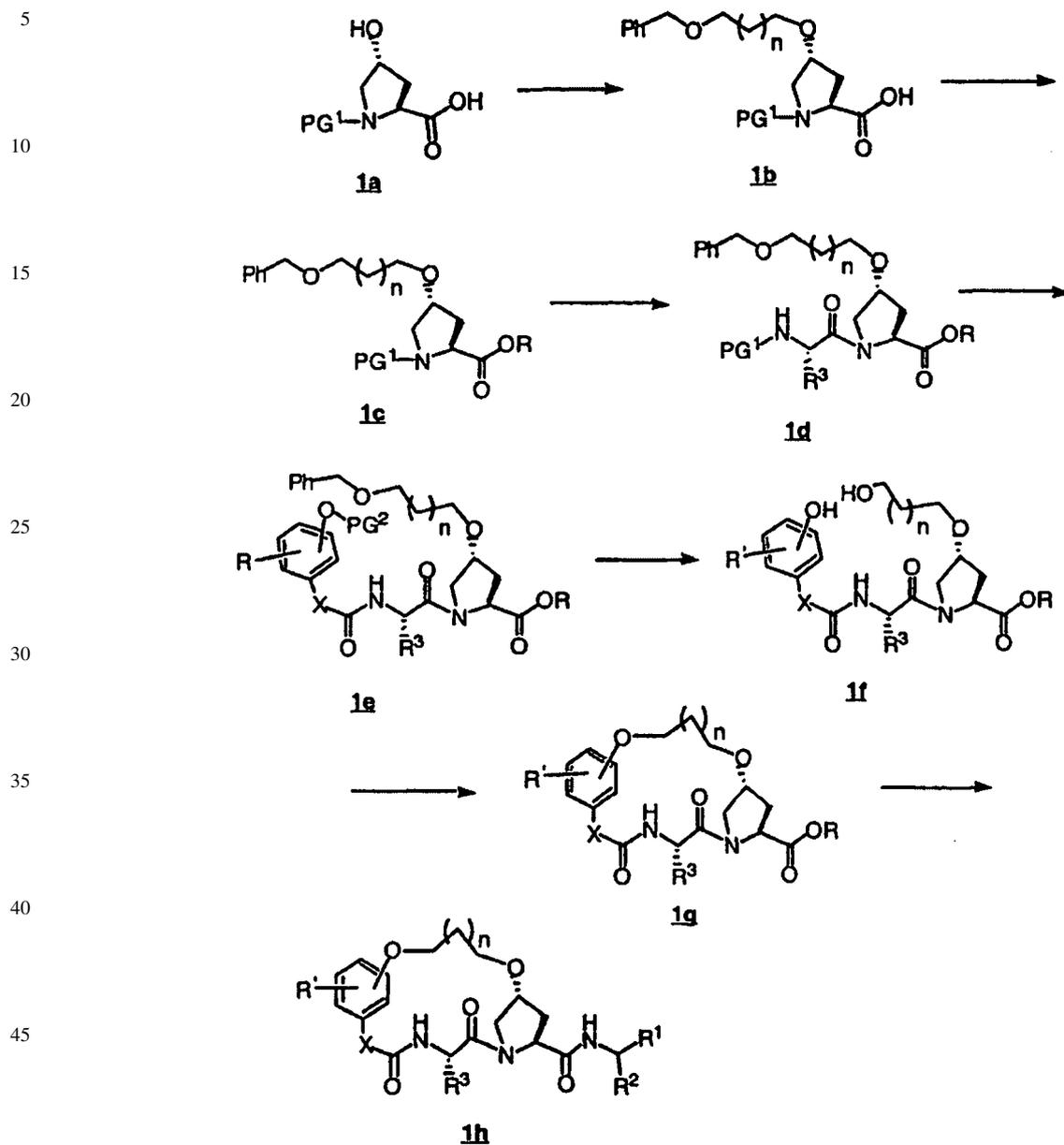
50

55

60

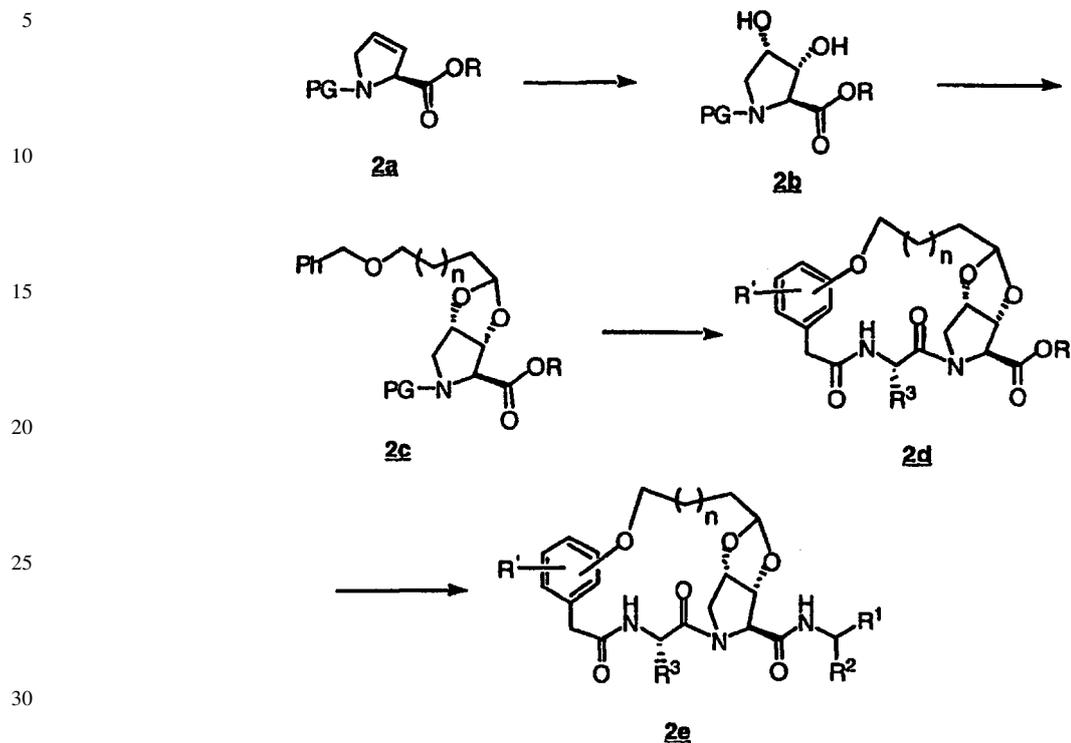
65

Esquema 1



La preparación del compuesto de Fórmula 2e, donde R¹, R², R³, R y R' se han definido antes, se esboza en el Esquema 2. La 3,4-dehidroprolina protegida 2a se dihidroxila diastereoselectivamente para proporcionar el *cis*-diol 2b. La formación del acetal entre 2b y un aldehído se puede conseguir en presencia de una cantidad catalítica de ácido *p*-toluenosulfónico. El derivado de prolina bicíclico 2c se convierte en el éster macrocíclico 2d y con posterioridad en el inhibidor de HCV 2e de acuerdo con la secuencia esbozada en el Esquema 1.

Esquema 2



35 La preparación del compuesto de Fórmula 3f, donde R^1 , R^2 , R^3 , R , R' y n se han definido antes, se esboza en el Esquema 3. Cuando se trata con dietileterato de trifluoroboro, la 4-hidroxi prolina protegida 3a y el alqueno 3b se convierten en el éter de prolina 3c, que experimenta la misma secuencia de transformaciones esbozada en el Esquema 1 para proporcionar el éster macrocíclico 3e y con posterioridad, en el producto final deseado 3f.

40

45

50

55

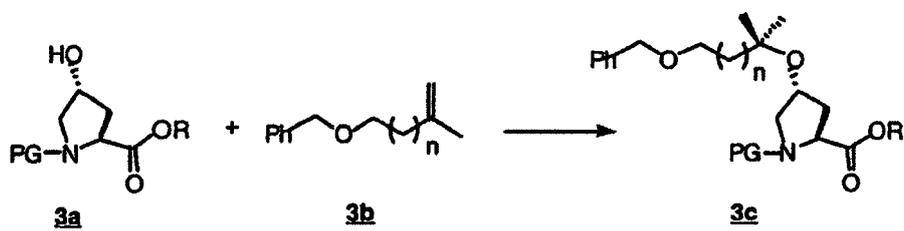
60

65

Esquema 3

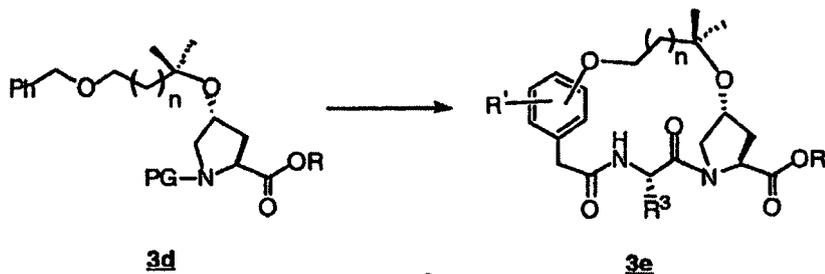
5

10



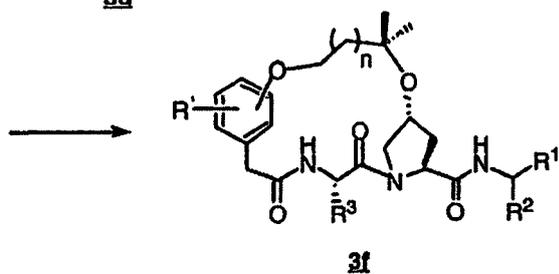
15

20



25

30



35

40

La preparación del compuesto de Fórmula 4f, donde R^1 , R^2 , R^3 , R , y n se han definido antes, se esboza en el Esquema 4. El acoplamiento entre el aminoéster 4a y un aminoácido protegido con Boc se realizó en presencia de NMM, HOObt, y EDCI·HCl. Después de la eliminación del grupo Boc de 4b, el dipéptido se acopla a un ácido alquenocarboxílico terminal para producir 4c. El enlace doble se convierte después en un alcohol a través de hidroboración. La macrociclación del alcohol fenólico se completa en condiciones de Mitsunobu utilizando trifenilfosfina y ADDP. Después de hidrolizar el éster resultante 4e a un ácido con hidróxido de litio, el ácido se acopla a una amina intermedia para proporcionar 4f.

45

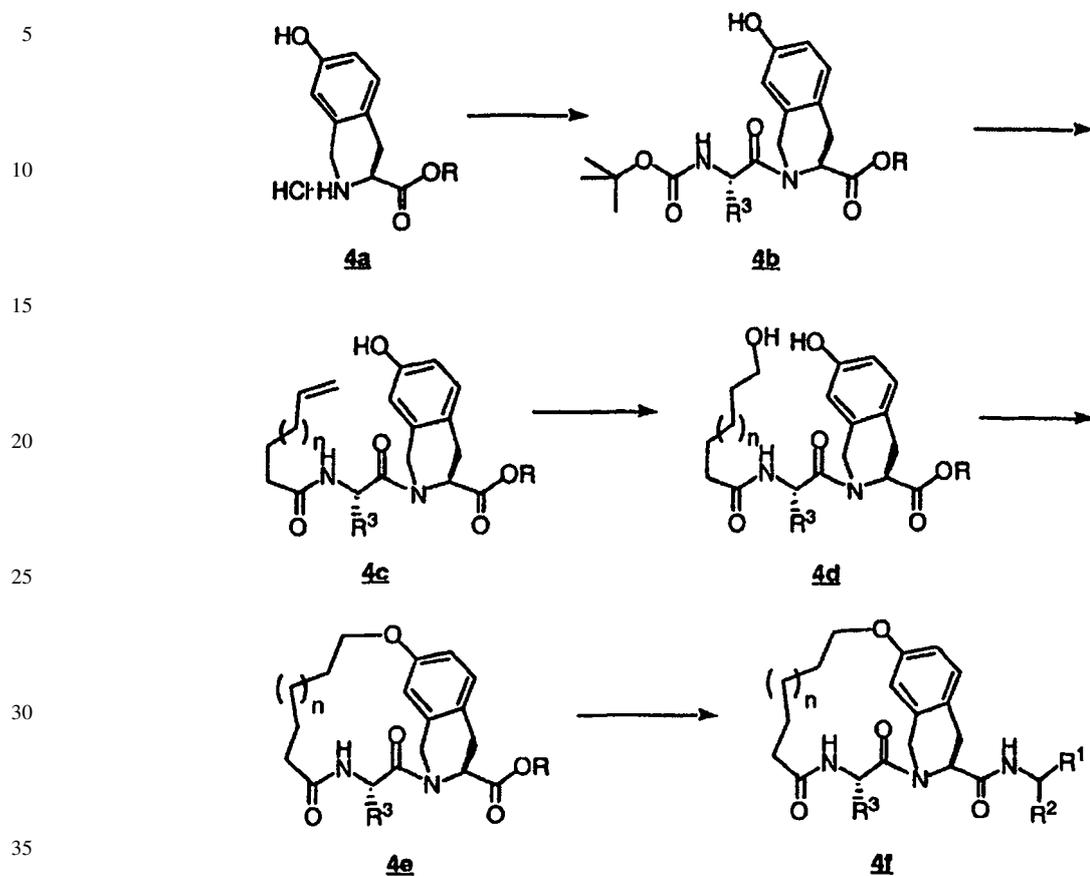
50

55

60

65

Esquema 4



40 La preparación del compuesto de Fórmula 5h en Esquema 5 donde R, R², R³, R⁴ se definen en el Esquema 1, siendo R⁴ alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, y heteroalquilo y R³ es OR, NR₂, o OH. El compuesto 5b se obtuvo mediante una reacción de Wittig de 5a con fosfonoacetato de *tert*-butilo y NaH. El compuesto 5b se convirtió en 5c mediante tratamiento de MCPBA. El epóxido 5c se abrió adicionalmente con NaN₃ para producir el compuesto 5d que se redujo con Pd/C/H₂ a la amina y se protegió con Cbz utilizando Cbz-Cl, Et₃N para obtener el compuesto de fórmula 5e. El compuesto 5e se desprotegió con TFA y se elaboró adicionalmente a 5f. El grupo Cbz de 5f se sometió a hidrogenólisis y después se acopló al compuesto de fórmula 1g utilizando EDCI, HOObt, NMM para obtener 5g. El compuesto del tipo 5g se oxida con reactivo Dess-Martin para generar los compuestos de fórmula 5h.

45

50

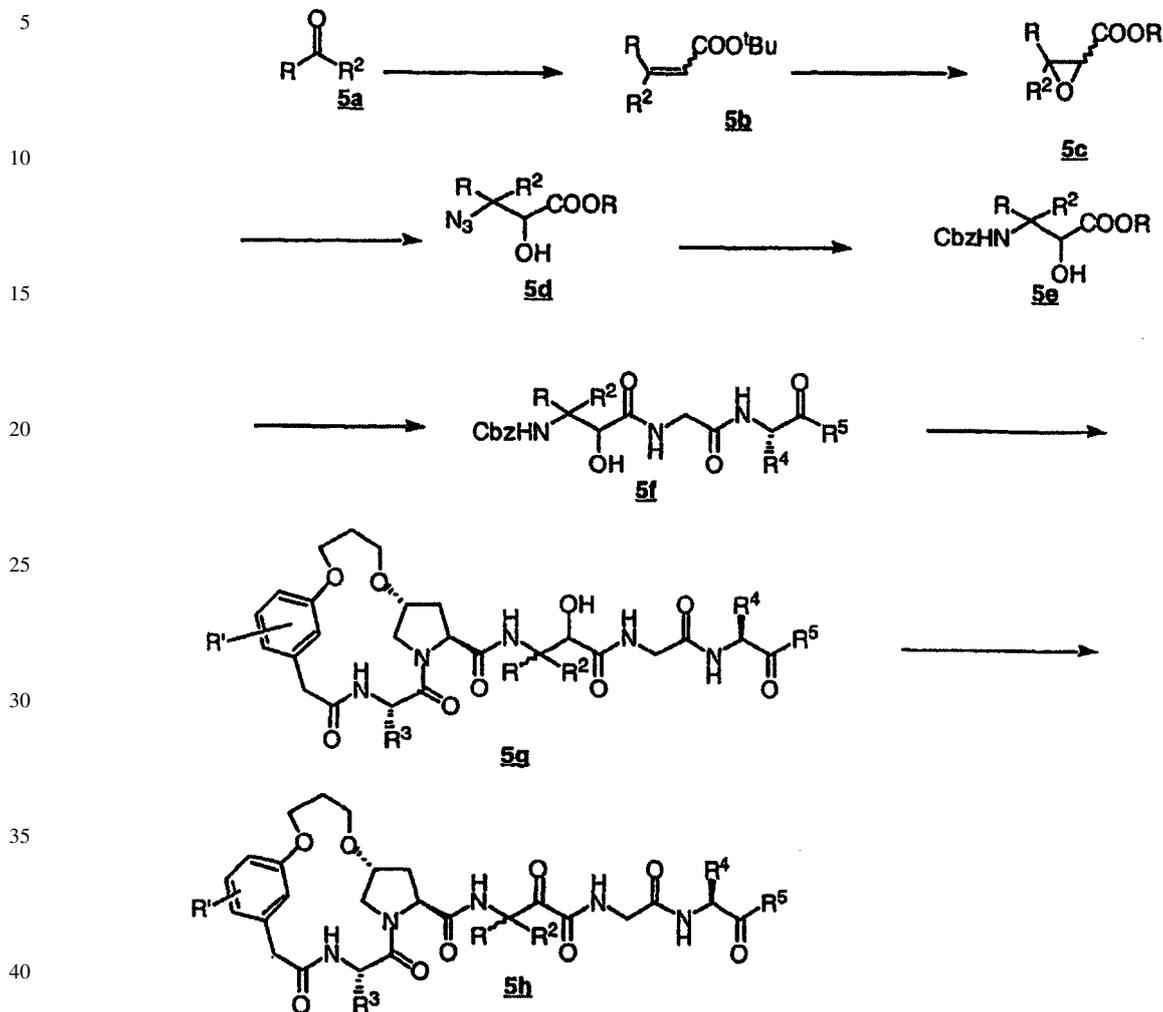
55

60

65

ES 2 317 900 T3

Esquema 5



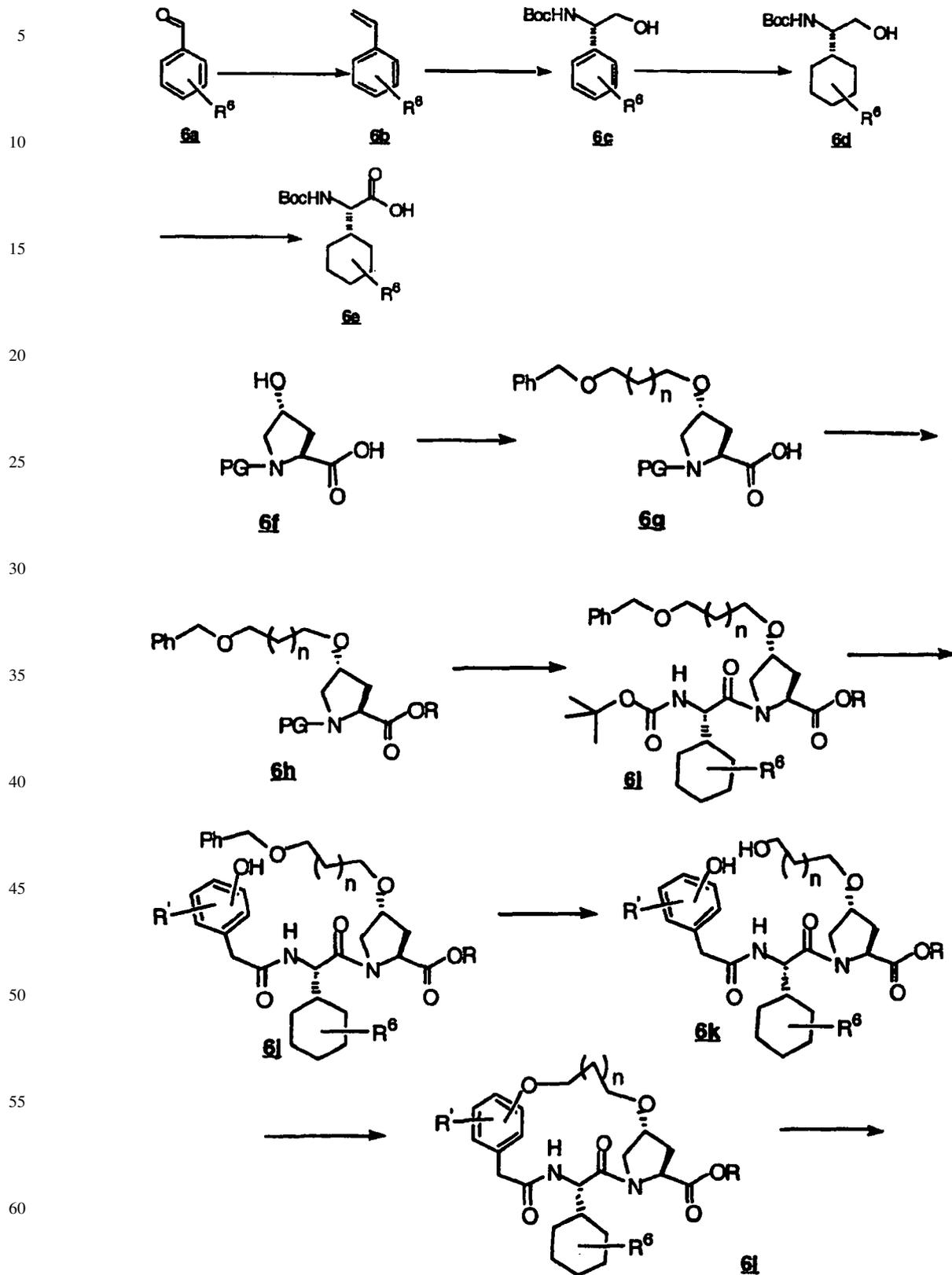
45 El compuesto de fórmula 6m se sintetiza como se esboza en el Esquema 6 donde R^1 , R^2 , R' y n se definen en el Esquema 1 y siendo R^6 alquilo, arilo, éster, ácido carboxílico y carboxilamidas. El compuesto de tipo 6b se sintetiza a partir de 6a mediante una olefinación de Wittig utilizando $\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{I}$ y BuLi. El compuesto 6b se aminohidroxila adicionalmente para sintetizar el compuesto de tipo 6c, que se redujo utilizando Rh/C, y H_2 para proporcionar el compuesto de tipo 6d. El compuesto 6d se oxidó al compuesto de tipo 6e utilizando RuCl_3 y H_5IO_6 . El compuesto 6e se transformó en el compuesto 6l acoplándolo a 6h desprotegido utilizando NMM, EDCI, y HOObt. Se logró de nuevo la extensión del compuesto 6i a 6j mediante acoplamiento con 6i desprotegido y ácido fenilacético apropiadamente sustituido utilizando EDCI, HOObt y NMM. El compuesto 6k obtenido después de la hidrogenolisis del grupo bencilo en 6j se cicló a 6l utilizando las condiciones de Mitsunobu. 6l se transformó adicionalmente en compuestos de tipo 6m como se esboza en el Esquema 1.

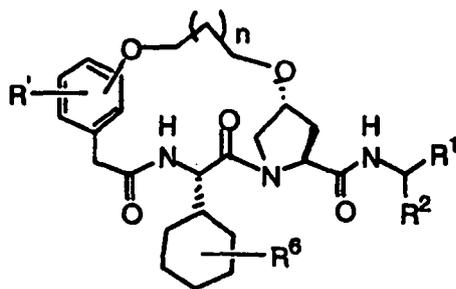
55

60

65

Esquema 6

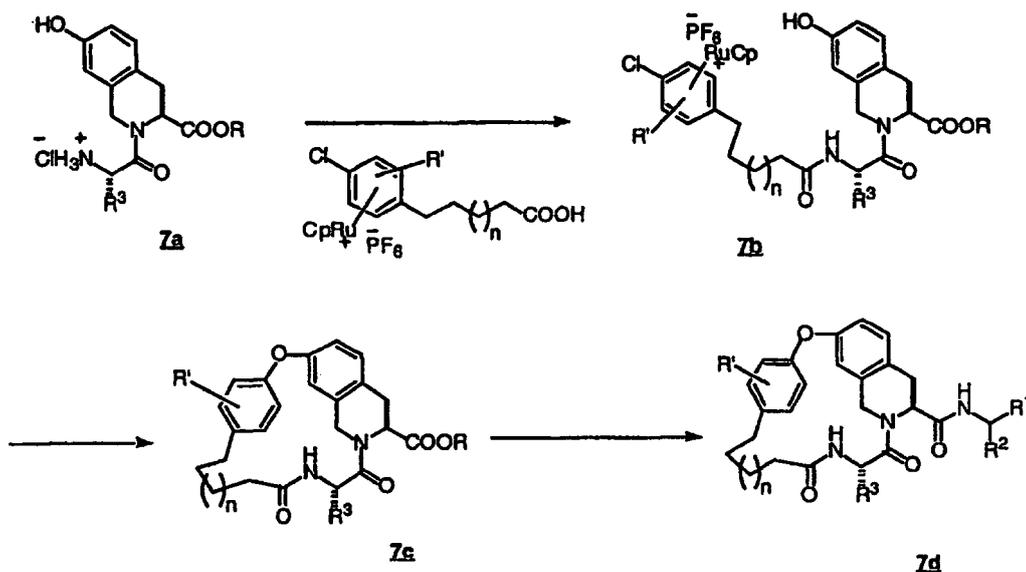




6m

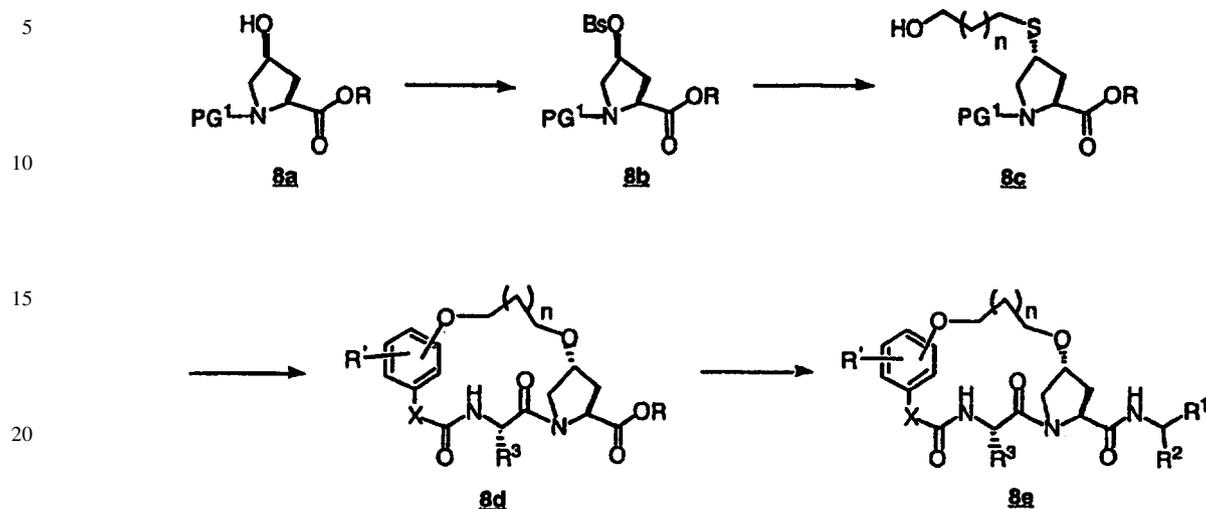
Los compuestos de tipo 7d se sintetizan utilizando la química de areno-rutenio donde los sustituyentes R^1 , R^2 , R^3 , R' se definen en el Esquema 1, y $n=0$ a 3. La síntesis del compuesto de fórmula 7b se obtuvo a partir del compuesto de tipo 7a mediante un acoplamiento con EDCI, HOBt, base de Hünig. El tratamiento de 7b con CS_2CO_3 y la eliminación fotolítica del rutenio convirtió el compuesto de tipo 7b en el tipo 7c, que se transformó adicionalmente en los compuestos 7d como se esboza en el Esquema 1.

Esquema 7



La preparación del compuesto de fórmula 8e, donde R^1 , R^2 , R^3 se han definido antes, R' es alquilo, heteroalquilo (OR'' , SR''' , $NR''R'''$ donde R'' y R''' son grupos alquilo), un sustituyente halo en posición *orto*, *meta*, o *para* respecto al átomo de oxígeno; R es un grupo alquilo, arilo, o alquilarilo; n es de cero a cinco; y X es $(CH_2)_m$ cuando m es de cero a cinco, un átomo de oxígeno, NY donde Y es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, arilo se esboza en el Esquema 8. El derivado de *cis*-4-hidroxiprolina protegido 8a se convierte en el derivado brosilato (Bs = 4-bromobenzenosulfonilo) 8b que se desplaza con el mercaptoalcohol apropiado en condiciones con hidruro de sodio para producir 8c. La conversión en el éster macrocíclico 8d y con posterioridad en el objetivo deseado 8e se completó como se esboza en el Esquema 1.

Esquema 8

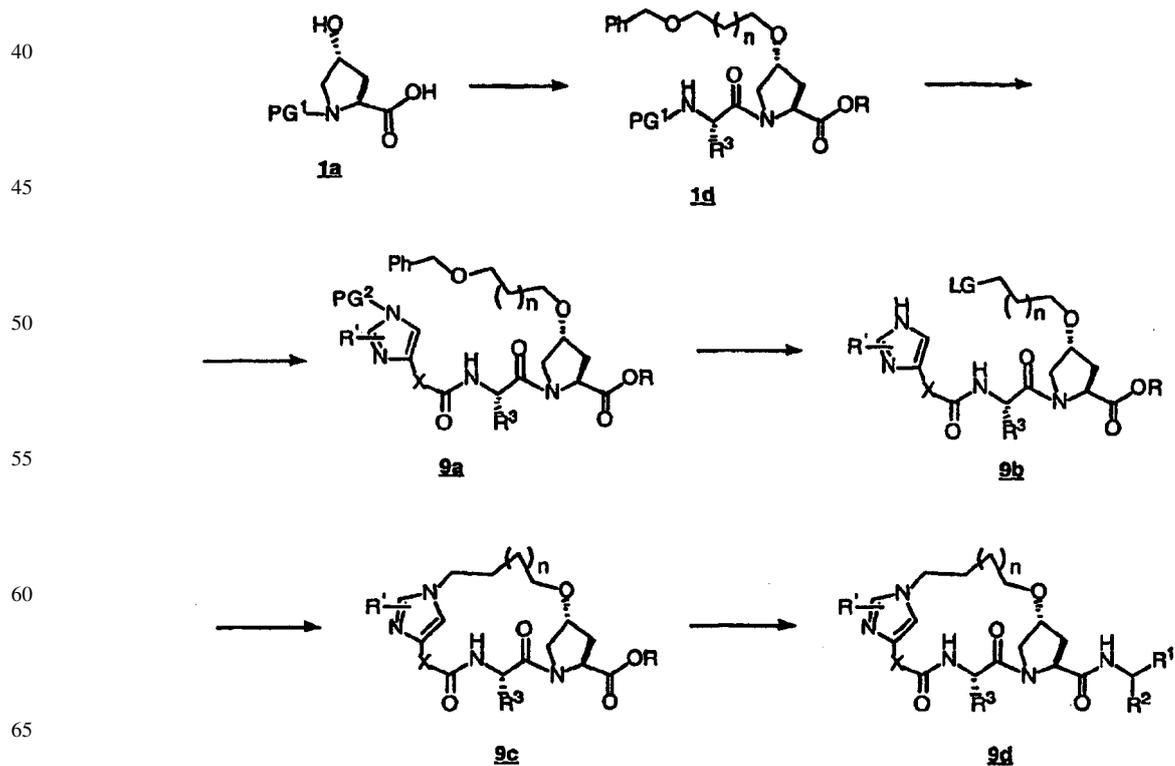


25 La preparación del compuesto de fórmula 9d, donde R^1 , R^2 , R^3 se han definido antes, R' es alquilo, heteroalquilo (OR'', SR''', NR''R'''' donde R'' y R''' son grupos alquilo), un sustituyente halo en posición *orto*, *meta*, o *para* respecto al átomo de oxígeno; R es un grupo alquilo, arilo, o alquilarilo; n es de cero a cinco; X es $(CH_2)_m$ cuando m es de cero a cinco, un átomo de oxígeno, NY donde Y es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, arilo; y LG es un grupo eliminable (p. ej., OTs, Br) se esboza en el Esquema 9. El derivado de 4-hidroxiprolina protegido 1a se convierte en 9a a través de la formación de 1d (que se describe en el Esquema 1). La eliminación del éter bencílico seguido de la conversión en un grupo eliminable apropiado y la separación del grupo protector de N proporcionaron 9b. La conversión en el éster macrocíclico 9c se llevó a cabo mediante tratamiento con carbonato de sodio/yoduro de sodio en acetona a reflujo. La posterior transformación en el objetivo deseado 9d se completó como se esboza en el Esquema 1.

30

35

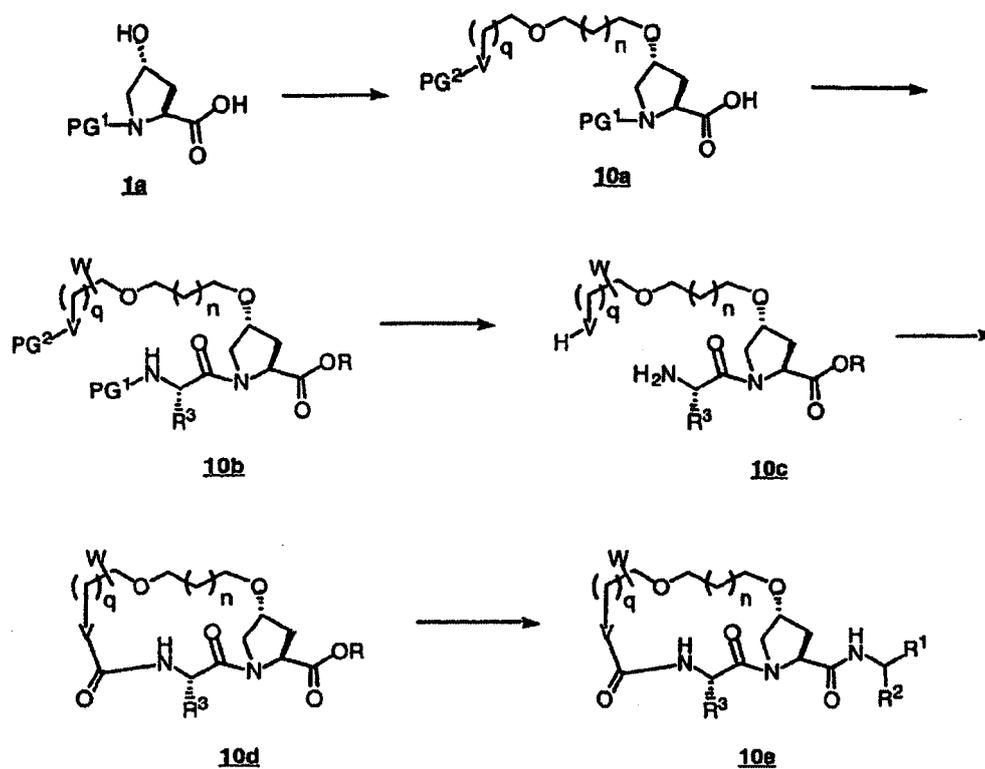
Esquema 9



ES 2 317 900 T3

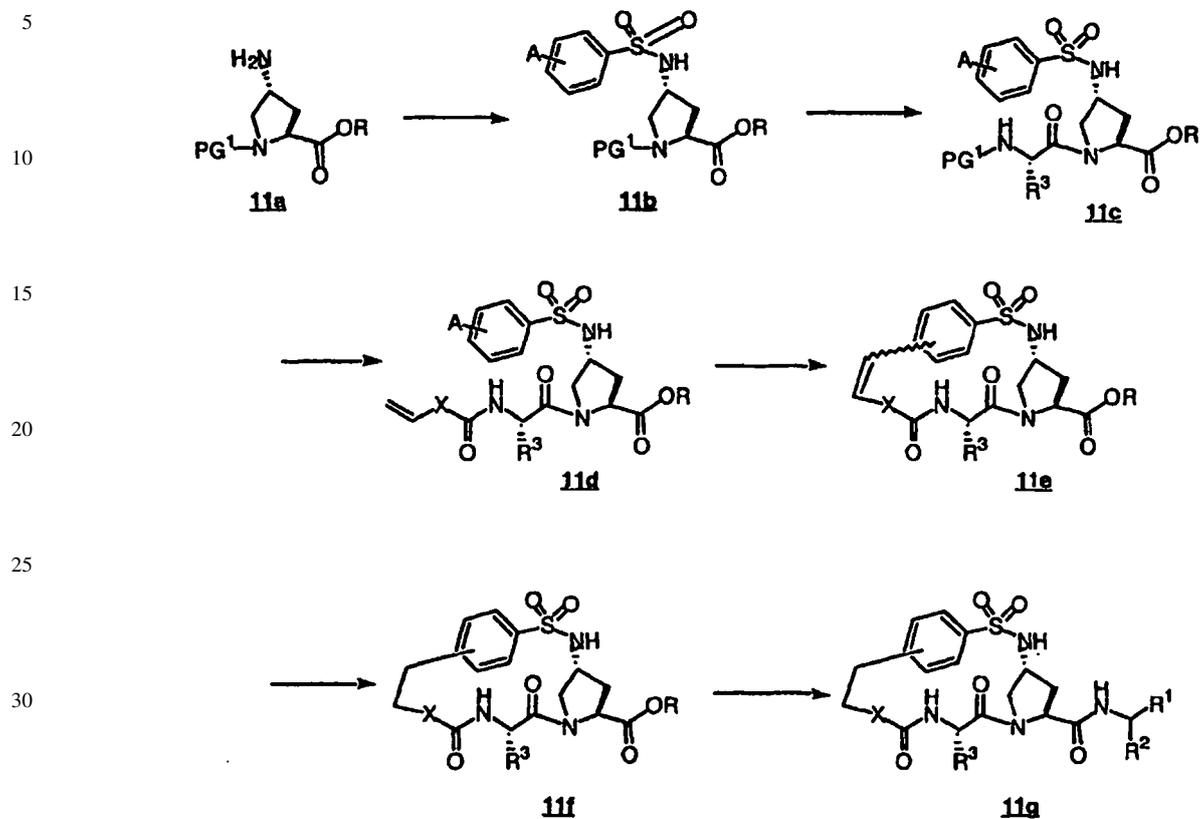
La preparación del compuesto de fórmula 10e, donde R^1 , R^2 , R^3 se han definido antes, R^1 es alquilo, heteroalquilo (OR'', SR''', NR''R''' donde R'' y R''' son grupos alquilo), un sustituyente halo en posición *orto*, *meta*, o *para* respecto al átomo de oxígeno; R es un grupo alquilo, arilo, o alquilarilo; n y q es cualquier combinación de cero a cinco; V es un átomo de oxígeno, NY donde Y es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, arilo; W es alquilo, arilo, alquilarilo, heteroarilo; PG^1 y PG^2 son grupos protectores apropiados (PG^1 = t-boc, cbz y PG^2 = H, Bn, etc.) se esboza en el Esquema 10. El derivado de 4-hidroxiprolina protegido 1a se convierte en 10a como se describe en el Esquema 1. La eliminación del grupo protector (10c) seguido del tratamiento con un equivalente de fosgeno da como resultado el éster macrocíclico 10d. La conversión en el objetivo deseado 10e se completó como se esboza en el Esquema 1.

Esquema 10



La preparación del compuesto de fórmula 11 g, donde R^1 , R^2 , R^3 se han definido antes, R es un grupo alquilo, arilo, o alquilarilo; X es $(CH_2)_m$, $(CH_2)_mO$, $(CH_2)_mNY$ cuando m es de cero a cinco, e Y es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, arilo; A es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno situado apropiadamente; PG^1 es un grupo protector apropiado (PG^1 = t-boc, cbz, etc.) se esboza en el Esquema 11. El derivado de 4-aminoprolina protegido 11a se convierte en 11b mediante tratamiento con el cloruro de bencenosulfonilo adecuado y una base. La eliminación del grupo protector y el acoplamiento a un derivado aminoácido protegido proporcionó 11c. Éste se convirtió en 11d utilizando una estrategia de desprotección, acoplamiento similar. La ciclación catalizada por paladio(0) proporcionó 11e en forma de una mezcla de isómeros que se hidrogenó para proporcionar el éster macrocíclico 11f. La posterior conversión en el objetivo deseado 11g se completó como se esboza en el Esquema 1.

Esquema 11



40

45

50

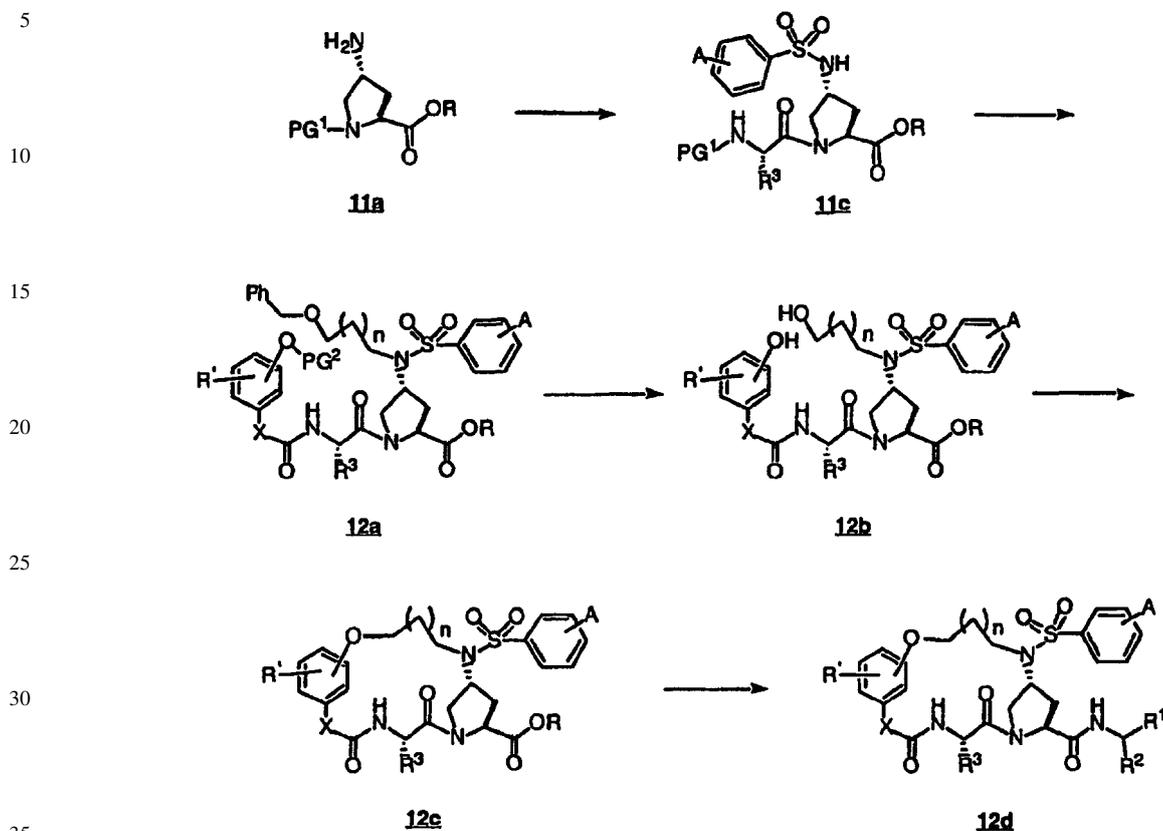
55

60

65

La preparación del compuesto de fórmula 12d, donde R^1 , R^2 , R^3 se han definido antes, R es un grupo alquilo, arilo, o alquilarilo; n es de cero a cinco; X es $(CH_2)_m$ cuando m es de cero a cinco, un átomo de oxígeno, NY donde Y es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, arilo; A es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno situado apropiadamente; y PG^1 y PG^2 son grupos protectores apropiados ($PG^1 = t\text{-boc}$, cbz y $PG^2 = H$, Bn etc.) se esboza en el Esquema 12. El derivado de 4-aminoprolina protegido 11a se convierte en 11c como se describe en el Esquema 11. La conversión de 11c en el éster macrocíclico 12c y la posterior conversión en el objetivo deseado 12d se completó como se esboza en el Esquema 1.

Esquema 12

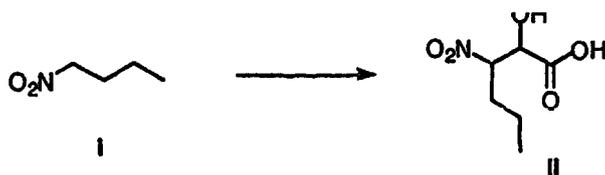
*Preparación de Intermedios*

Intermedio A

Etapa 1

45

50



55

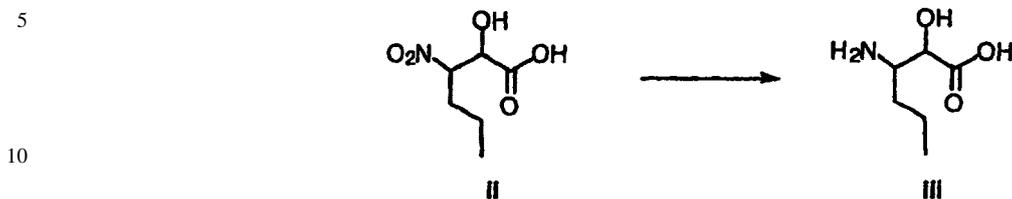
60

65

A una solución agitada de 1-nitrobutano (16,5 g, 0,16 moles) y ácido glioxílico en H₂O (28,1 g, 0,305 moles) y MeOH (122 mL) a 0°C-5°C, se le añadió gota a gota trietilamina (93 mL, 0,667 moles) a lo largo de 2 hrs. La solución se templó a temperatura ambiente, se agitó durante la noche y se concentró hasta sequedad para producir un aceite. El aceite se disolvió después en H₂O y se aciduló a pH =1 con HCl al 10%, seguido de extracción con EtOAc. La solución orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta sequedad para proporcionar el producto ii (28,1 g, rendimiento 99%)

ES 2 317 900 T3

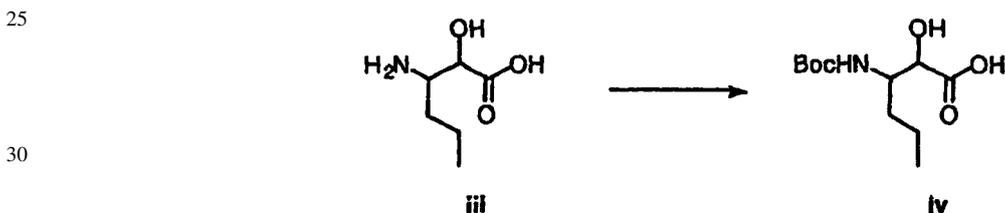
Etapa 2



15 A una solución agitada de la sustancia de partida ii (240 g, 1,35 moles) en ácido acético (1,25 L) se le añadió Pd/C al 10% (37 g). La solución resultante se hidrogenó a 4,01 atm. durante 3 hrs. y después a 4,08 atm. durante la noche. El ácido acético se evaporó después y se formó el azeotropo 3 veces con tolueno, después se trituró con MeOH y éter. La solución se filtró después y se formó el azeotropo dos veces con tolueno para producir un sólido de color blanquecino (131 g, 0,891 mol, 66%).

20

Etapa 3

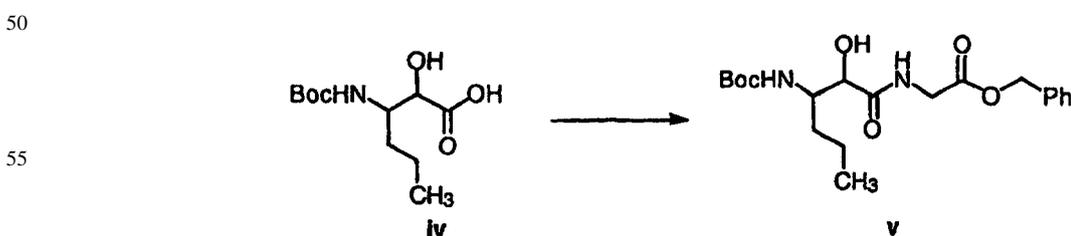


35 A una solución agitada de los aminoácidos iii (2,0 g, 13,6 mmoles) en dioxano (10 mL) y H₂O (5 mL) a 0°C, se le añadió una solución 1 N de NaOH (4,3 mL, 14,0 mmoles). La solución resultante se agitó durante 10 minutos, seguido de la adición de dicarbonato de di-t-butilo (0,110 g, 14,0 mmoles) y se agitó a 0°C durante 15 minutos. La solución se templó después a temperatura ambiente, se agitó durante 45 minutos y mantuvo en el refrigerador durante la noche y se concentró hasta sequedad para producir una sustancia bruta. A la solución de esta sustancia bruta en EtOAc (100 mL) e hielo, se le añadió KHSO₄ (3,36 g) y H₂O (32 mL) y se agitó durante 4-6 minutos. La capa orgánica se separó después y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la capa orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta sequedad para proporcionar el producto en forma de una goma transparente (3,0 g, rendimiento 89%).

40

45

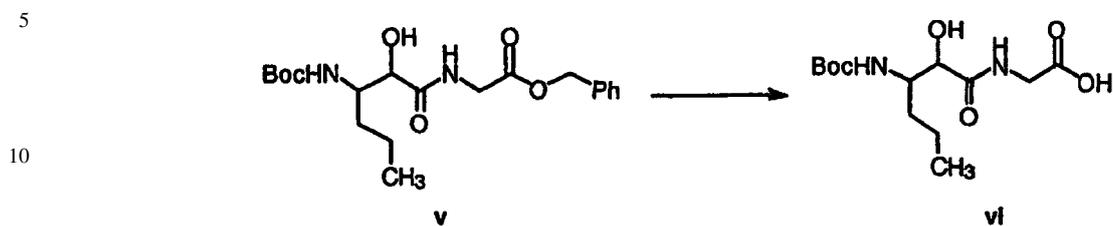
Etapa 4



65 A una solución agitada de la sustancia de partida (3,00 g, 12,0 mmoles) en DMF (15 mL) y CH₂Cl₂ (15 mL) a -20°C se le añadió HOOBt (1,97 g, 12,0 mmoles), N-metilmorfolina (4,0 mL, 36,0 mmoles) y EDCI (2,79 g, 14,5 mmoles) y se agitó durante 10 minutos, seguido de la adición de HCl·H₂N-Gly-OBn (2,56 g, 13,0 mmoles). La solución resultante se agitó a -20°C durante 2 hrs., después se mantuvo en el refrigerador durante la noche y se concentró hasta sequedad, seguido de dilución con EtOAc (150 mL). La solución en EtOAc se lavó después dos veces con NaHCO₃ saturado, H₂O, H₃PO₄ al 5%, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta sequedad para proporcionar el producto (4,5 g, 94%). LRMS *m/z* MH⁺ = 395,1.

ES 2 317 900 T3

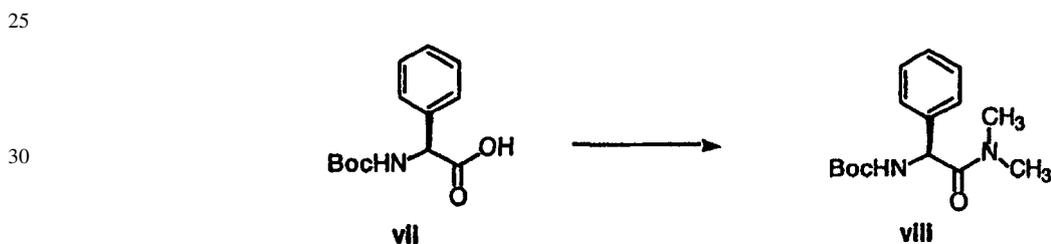
Etapa 5



20

La solución de la sustancia de partida v (7,00 g, 17,8 mmoles) en etanol absoluto (300 mL) se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno en presencia de Pd-C (300 mg, 10%). El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 2h, la mezcla se filtró a través un lecho de celite y la solución resultante se concentró a vacío para proporcionar el producto vi (5,40 g, cuantitativo). LRMS m/z MH^+ = 305,1.

Etapa 6

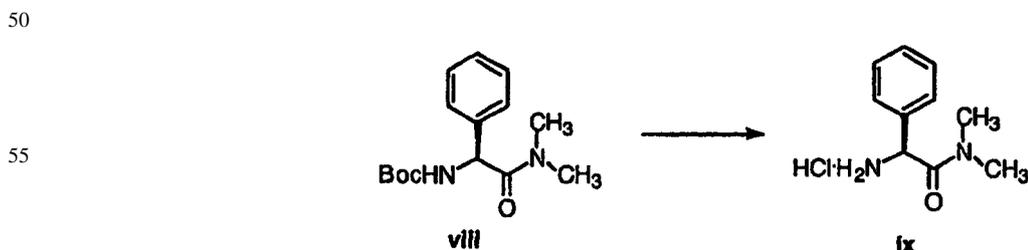


40

45

A una solución de hidrocloreuro de dimetilamina (1,61 g, 19,7 mmoles), *N*-Boc-fenilglicina (4,50 g, 17,9 mmoles), HOObt (3,07 g, 18,8 mmoles) y EDCI (4,12 g, 21,5 mmoles) en DMF anhidra (200 mL) y CH_2Cl_2 (150 mL) a $-20^\circ C$ se le añadió NMM (5,90 mL, 53,7 mmoles). Después de ser agitada a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante la noche (18 h). Después se dejó templando a rt., y se añadieron EtOAc (450 mL), salmuera (100 mL) y H_3PO_4 al 5% (100 mL). Después de separar las capas, la solución orgánica se lavó con H_3PO_4 al 5% (100 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 150 mL), agua (150 mL), y salmuera (150 mL), se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar el producto bruto viii (4,86 g) en forma de un sólido de color blanco, que se utilizó sin purificación adicional.

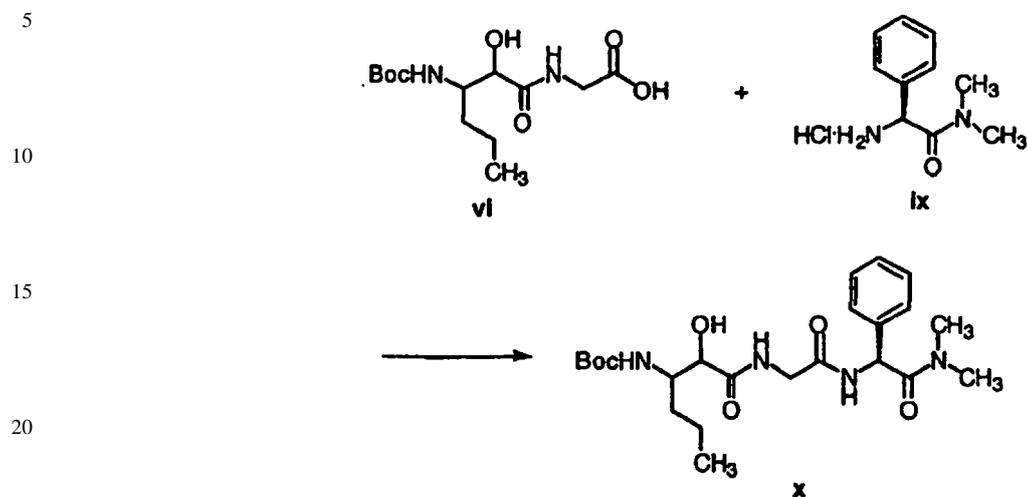
Etapa 7



65

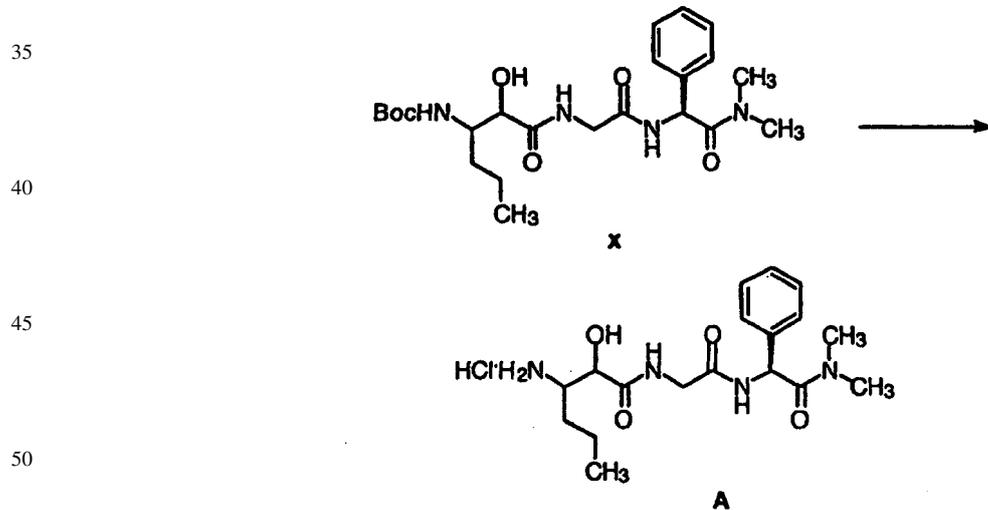
El dietilamiduuro de *N*-Boc-fenilglicina viii (4,70 g, bruto) se disolvió en HCl 4 N (60 mL, 240 mmoles) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 4 h, la solución se concentró a vacío para producir un sólido de color blanco que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional. LRMS m/z MH^+ = 179,0.

Etapa 8



25 El compuesto deseado x se preparó de acuerdo con los procedimientos de acoplamiento descrito en la Etapa 4, LRMS m/z MH^+ = 465,1.

Etapa 9



55 El intermedio A deseado se preparó a partir del tripeptido x de acuerdo con los procedimientos descritos en la Etapa 7, LRMS m/z MH^+ = 365,1.

60

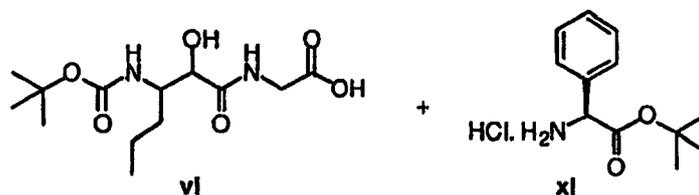
65

Intermedio B

Etapa 1

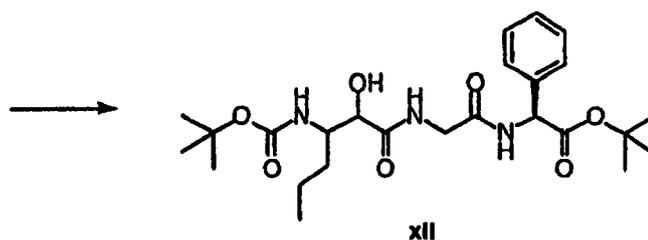
5

10



15

20



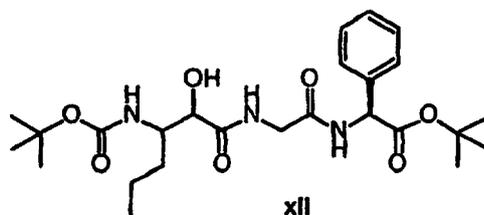
25

30 El producto **xii** deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Intermedio A, Etapa 8 utilizando asequible comercialmente **xi** como pareja de acoplamiento. La sustancia bruta fue suficientemente pura para estudios adicionales. Una porción del producto se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 97/3 diclorometano/MeOH. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{40}N_3O_7$: 494,2866 ($M+H$)⁺. Encontrado: 494,2863.

Etapa 2

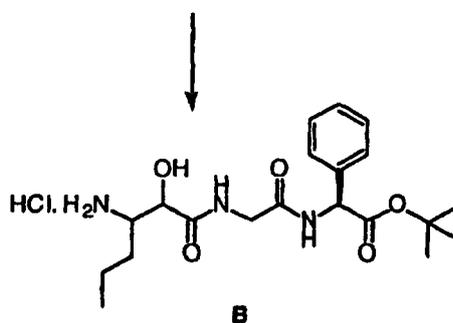
35

40



45

50



55

60

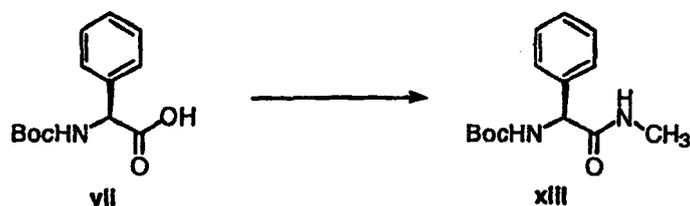
65 El producto **B** deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Intermedio A, Etapa 7. La sustancia bruta se utilizó sin purificación adicional.

Intermedio C

Etapa 1

5

10



15

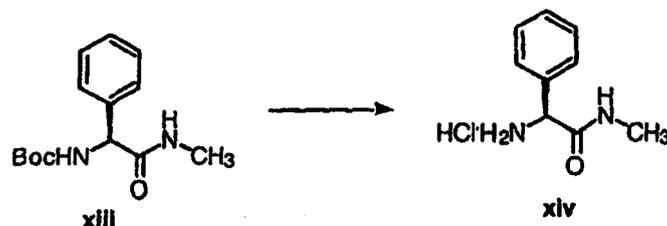
El compuesto xiii deseado se preparó de un modo similar a los procedimientos de acoplamiento descritos en la Etapa 6 para el intermedio A excepto porque se sustituyó metilamina por dimetilamina.

20

Etapa 2

25

30



35

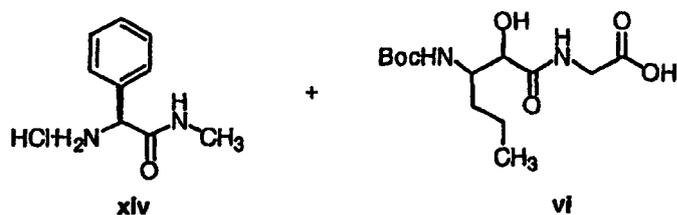
El compuesto xiv deseado se preparó a partir de xiii de acuerdo con los procedimientos descritos en la Etapa 7 para el intermedio A.

40

Etapa 3

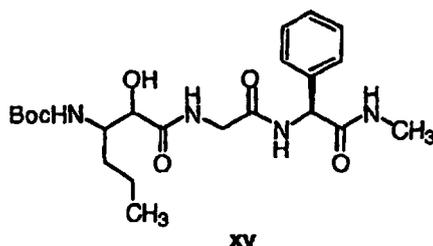
45

50



55

60

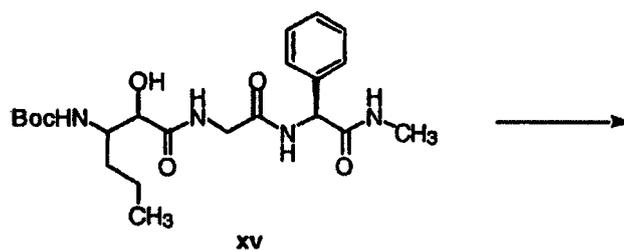


65

El compuesto xv deseado se preparó de acuerdo con los procedimientos de acoplamiento descritos en la Etapa 6 para el intermedio A, excepto porque se sustituyó la amina xiv por la amina ix. LRMS m/z MH^+ = 451,1.

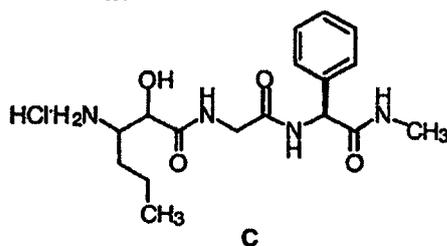
Etapa 4

5



10

15



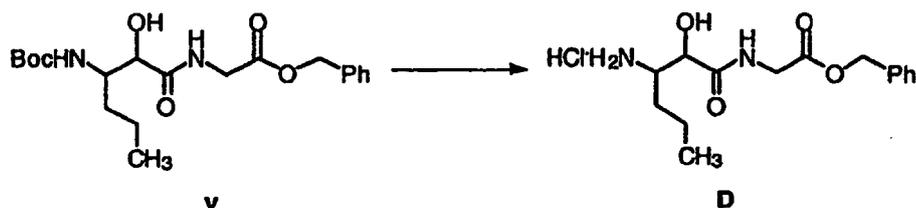
20

El intermedio C deseado se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en la Etapa 7 para el intermedio A. LRMS m/z $\text{MH}^+ = 351,1$. Éste se utilizó sin purificación adicional.

25

Intermedio D

30



35

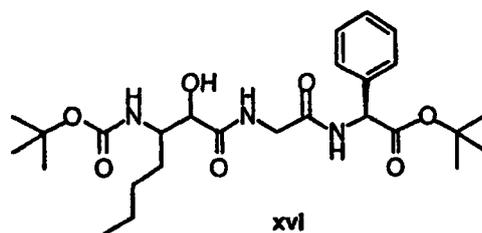
El intermedio D deseado se preparó a partir del compuesto v de acuerdo con los procedimientos descritos en la Etapa 7 para el intermedio A. Éste se utilizó sin purificación adicional.

40

Intermedio E

Etapa 1

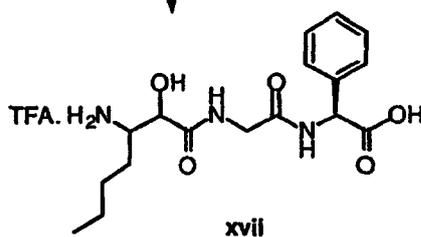
45



55



60



65

ES 2 317 900 T3

A una solución de xvi (5 g) en diclorometano (20 mL) se le añadió TFA (20 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 hrs. Se añadió otra porción de TFA (10 mL) y se dejó estar durante 3 horas adicionales. Todas las sustancias volátiles se evaporaron y se secó *a vacío* para proporcionar un rendimiento cuantitativo de xvii. Esta sustancia se hizo proseguir adicionalmente. (Obsérvese: La sustancia de partida xvi se obtuvo mediante un protocolo similar descrito para B, utilizando nitropentano como precursor).

Etapa 2

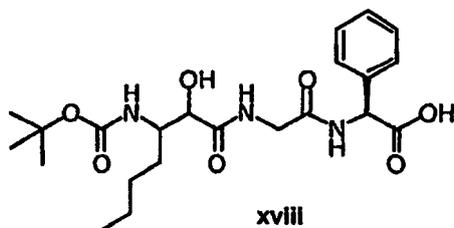
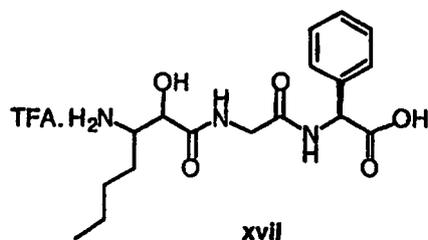
10

15

20

25

30



35 El compuesto deseado xviii se obtuvo mediante el método descrito para el Intermedio A, Etapa 3. Se utilizó carbonato de sodio como base en lugar de NaOH. La sustancia bruta xviii se hizo proseguir adicionalmente sin purificación.

Etapa 3

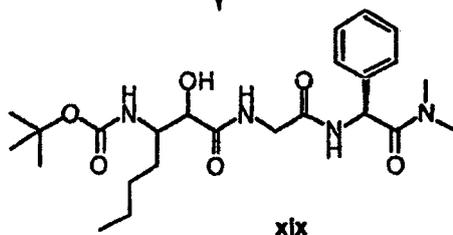
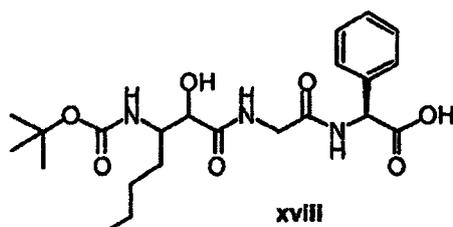
40

45

50

55

60



65 A una solución fría (-20°C) de xviii (4,8 g, 10,7 mmoles) en diclorometano/DMF (4/1, 25 mL) se le añadió hidrocloreuro de dimetilamina (959 mg, 11,77 mmoles), diisopropiletilamina (4,2 mL, 24,1 mmoles) y BOP (6,14 g, 13,89 mmoles). Se dejó estar a -8°C durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con una solución de ácido cítrico al 10%, una solución saturada de NaHCO₃ y salmuera. La capa orgánica se secó

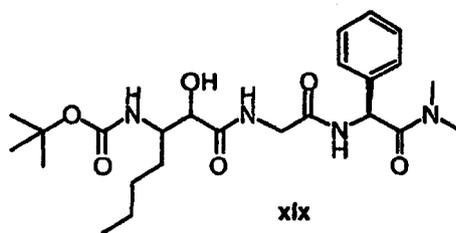
ES 2 317 900 T3

(Na₂SO₄) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 97,5/2,5 para proporcionar 2,4 g de xix (rendimiento 47%). HRMS (FAB) Calcd. para C₂₄H₃₉N₄O₆: 479,2870 (M+H)⁺. Encontrado: 479,2862.

5

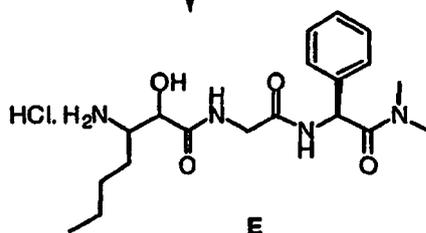
Etapa 4

10



15

20



25

30

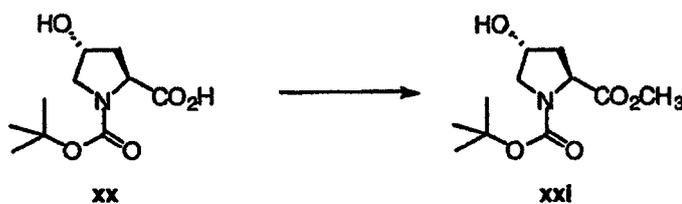
El producto E deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Intermedio A, Etapa 7. La sustancia bruta se utilizó sin purificación adicional.

35

Intermedio F

Etapa 1

40



45

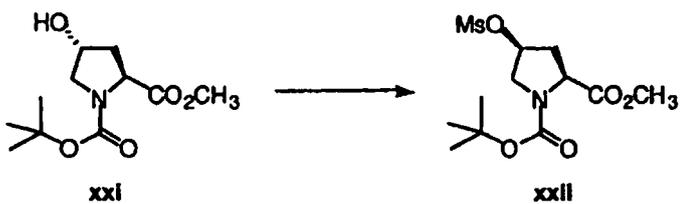
50

A una solución fría (0°C) xx (20,0 g, 86,5 mmoles) en benceno (300 mL) y MeOH (50 mL) se le añadió trimetilsilil-diazometano (2M en hexanos, 56 mL, 112 mmoles) gota a gota hasta que la solución permaneció de color amarillo. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar 21 g de xxi (rendimiento 99%) que fue suficientemente puro como para proseguir adicionalmente. HRMS (FAB) Calcd. para C₁₁H₂₀NO₃: 246,1341 (M+H)⁺. Encontrado: 246,1347.

55

Etapa 2

60

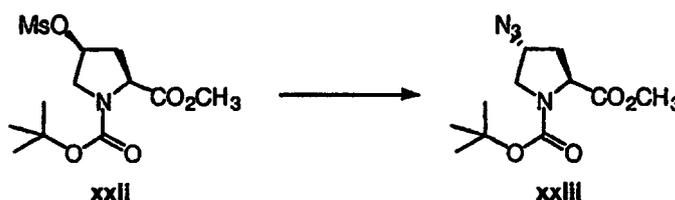


65

ES 2 317 900 T3

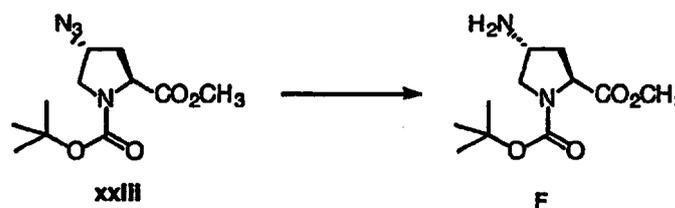
A una mezcla fría (-5°C) agitada mecánicamente de trifenilfosfina (31,97 g, 121,9 mmoles) y ácido metanosulfónico (7,66 mL, 118,1 mmoles) en tolueno se le añadió DEAD (26,47 g, 152 mmoles) lentamente mientras se mantenía la temperatura de reacción por debajo de 35°C. Después de completar la adición, la mezcla de reacción se enfrió a 20°C y se añadió una solución de xxi (23,71 g, 96,8 mmoles) en tolueno seguido de trietilamina (5,39 mL, 38,7 mmoles). La mezcla se calentó a 70-75°C durante 6 hrs. y se enfrió a 5-10°C durante 1 hr. Toda la materia sólida se separó mediante filtración y el producto filtrado se lavó con una solución de KH₂PO₄ al 5% y salmuera. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), y se concentró. La cromatografía en columna instantánea del residuo utilizando diclorometano/EtOAc 95/5 proporcionó 26 g de xxii (rendimiento 83%). HRMS (FAB) Calcd. para C₁₂H₂₂NO₇S: 324,1117 (M+H)⁺. Encontrado: 324,1115,

Etapa 3



El mesilato xxii (26 g, 80,4 mmoles) se disolvió en DMF y todas las sustancias volátiles se evaporaron *a vacio*. (PRECAUCIÓN: Se deben eliminar cantidades traza de diclorometano mediante este procedimiento). A la solución restante se le añadió azida de sodio (5,75 g, 88,4 mmoles) y se templó a 70°C a lo largo de 5 hrs. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró para proporcionar 18 g (rendimiento 83%) de xxiii que fue suficientemente puro para estudios adicionales.

Etapa 4

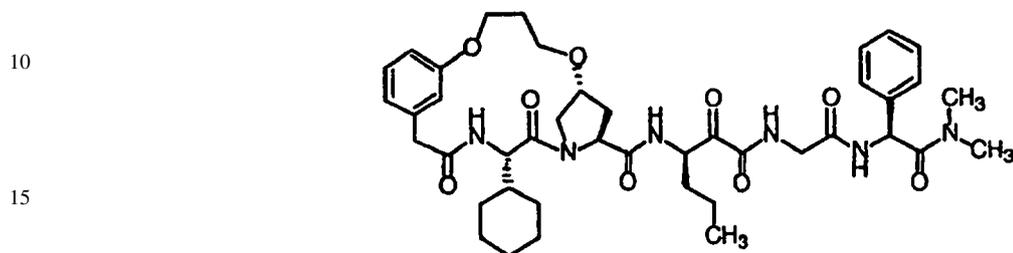


El producto F deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Intermedio A, Etapa 5. La sustancia bruta, se utilizó sin purificación adicional.

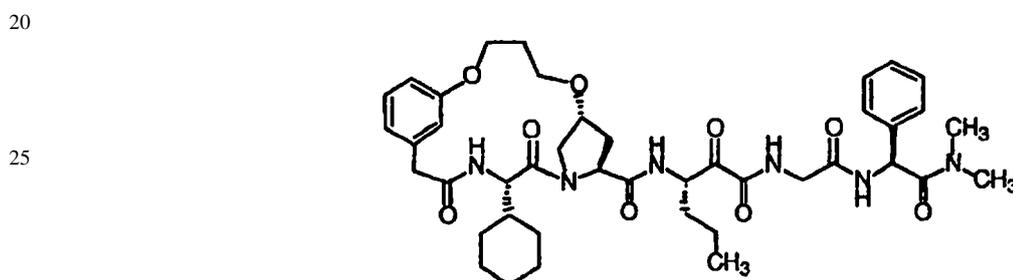
Ejemplos

Ejemplo 1

5 Preparación de los compuestos de Formulas 1A y 1B

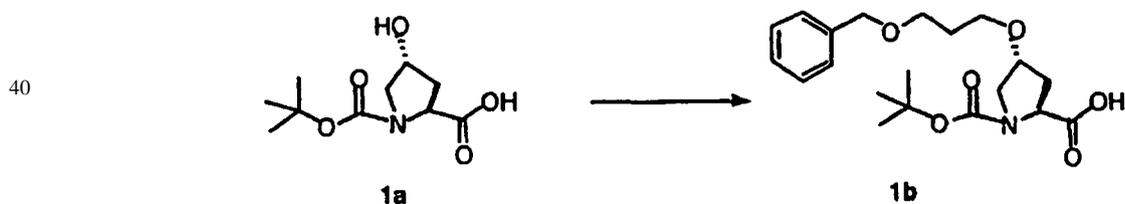


1A



1B

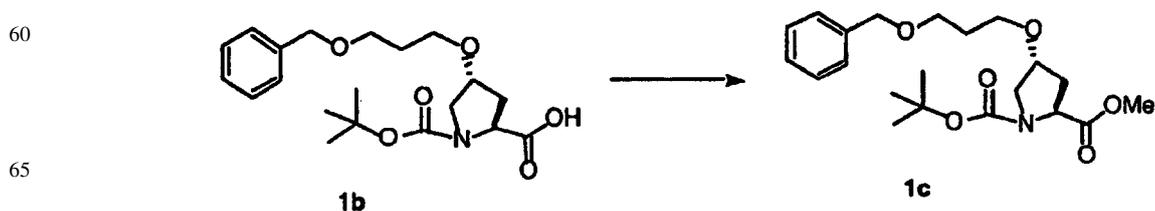
35 Etapa A



50 A una solución de Boc-Hyp-OH (7,0 g, 30,3 mmoles) y éter 3-bromopropilbencílico (7,8 g, 34,0 mmoles) en DMF anhidra (400 mL) a temperatura ambiente se le añadió hidruro de sodio (3,5 g, dispersión al 60% en aceite mineral, 87,5 mmoles) y yoduro de sodio (0,5 g, 3,33 mmoles) agitando. La suspensión resultante se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante la noche (18 h). La reacción se sofocó cuidadosamente con una lenta adición de agua (50 mL) y se aciduló con una solución 6 N de HCl (20 mL). Después de la adición de acetato de etilo (800 mL), salmuera (150 mL) y más agua (150 mL), las dos capas formadas se separaron y la capa orgánica se lavó con H₃PO₄ al 5% (3 X 200 mL). Después se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar 1b en forma de un aceite que se utilizó en la Etapa B sin purificación adicional.

55

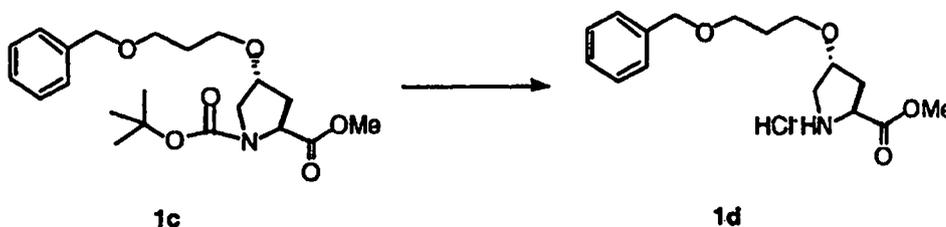
Etapa B



ES 2 317 900 T3

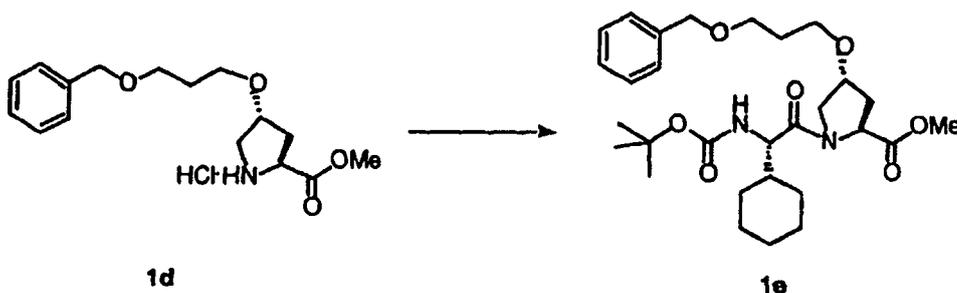
El ácido 1b de la Etapa A se disolvió en benceno (25 mL) y metanol (28 mL). A esta solución a temperatura ambiente se le añadió una solución de trimetilsilildiazometano (27 mL, 2,0 M en ciclohexano) con precaución. Después de ser agitada a temperatura ambiente durante 1 h, se concentró a vacío para producir el éster metílico. La cromatografía instantánea (EtOAc-CH₂Cl₂ de 8 a 20%) proporcionó 1c (5,15 g; 13,1 mmoles, 43%, 2 etapas) en forma de un aceite.

Etapa C



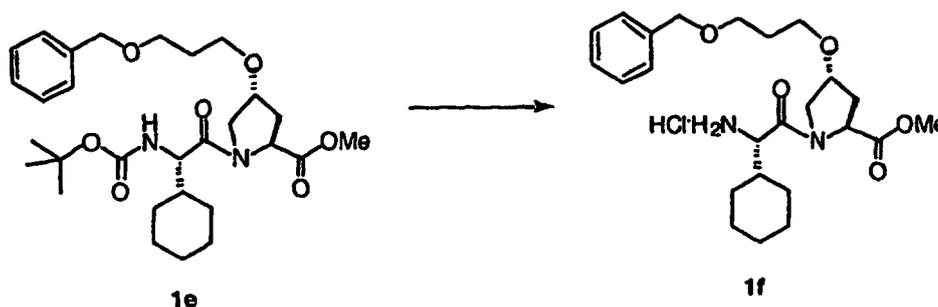
El éster Boc-aminometílico 1c (5,83 g, 14,8 mmoles) se disolvió en HCl 4 N en dioxano (80 mL, 320 mmoles) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 5 h, la solución se concentró a vacío y el residuo se mantuvo a vacío durante la noche para producir un sólido de color blanco que se utilizó en la siguiente reacción de acoplamiento sin purificación adicional.

Etapa D



A una solución del aminoéster 1d (de la Etapa 1 B), N-Boc-ciclohexilglicina (4,10 g, 14,9 mmoles), HOObt (2,60 g, 15,9 mmoles) y EDCI (3,41 g, 17,8 mmoles) en DMF anhidra (150 mL) y CH₂Cl₂ a -20°C, se le añadió NMM (6,50 mL, 59,1 mmoles). Después de ser agitada a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante la noche (18 h). Después se agitó al aire y se dejó templando a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadieron EtOAc (450 mL), salmuera (100 mL) y H₃PO₄ al 5% (100 mL). La solución orgánica separada se lavó con H₃PO₄ al 5% (100 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 150 mL), agua (150 mL), y salmuera (150 mL), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea (EtOAc-CH₂Cl₂ de 10 a 20%) proporcionó 1e (6,60 g, 84% 2 etapas) en forma de un sólido de color blanco. RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7,36-7,25 (m, 5 H), 6,87 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 4,46-4,40 (m, 2 H), 4,25 (t, J = 8,3 Hz, 1 H), 4,11 (s, 1 H), 4,05-4,04 (m, 1 H), 4,03-3,94 (m, 1 H), 3,60 (s, 3 H), 3,50-3,41 (m, 4 H), 2,25-2,20 (m, 1 H), 1,95-1,88 (m, 1 H), 1,77-1,55 (m, 9 H), 1,35 (s, 9 H), 1,19-0,90 (m, 4 H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,0, 170,7, 155,6, 138,8, 128,2, 127,4, 127,3, 78,0, 77,1, 71,9, 66,6, 65,1, 57,4, 56,3, 51,8, 34,5, 29,6, 28,6, 28,2, 25,9, 25,6, 25,5.

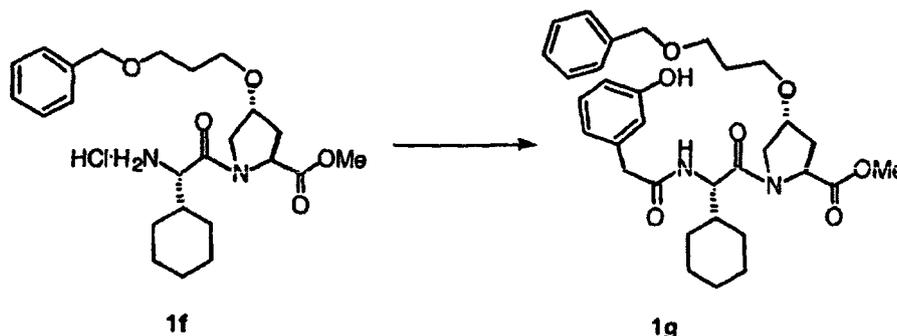
Etapa E



ES 2 317 900 T3

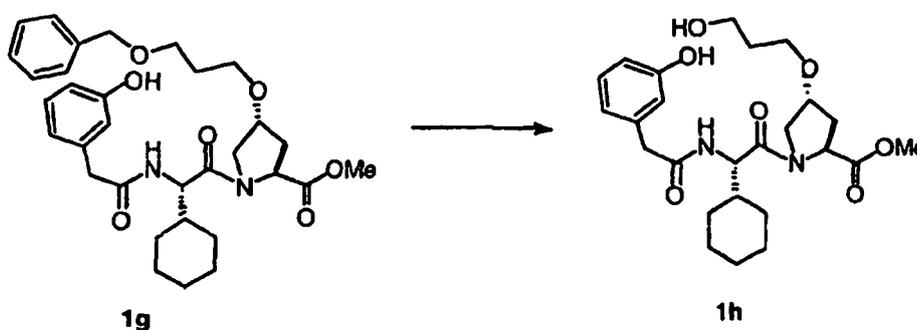
El éster Boc-aminomético 1e (6,53 g, 12,3 mmoles) se disolvió en HCl 4 N (60 mL, 240 mmoles) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 4 h, la solución se concentró a vacío y el residuo se mantuvo a vacío durante la noche para producir un sólido de color blanco que se utilizó en la siguiente reacción de acoplamiento sin purificación adicional. RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 7,36-7,27 (m, 5 H), 4,43 (s, 2 H), 4,35-4,31 (m, 1 H), 3,88 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 3,62 (s, 3 H), 3,62-3,57 (m, 2 H), 3,53-3,41 (m, 3 H), 2,32-2,27 (m, 1 H), 1,97-1,91 (m, 1 H), 1,79-1,60 (m, 8 H), 1,17-1,07 (m, 5 H); RMN ^{13}C (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 171,5, 167,4, 138,6, 133,3, 129,1, 128,8, 128,2, 127,4, 77,1, 71,9, 66,5, 65,3, 57,8, 54,9, 52,4, 52,0, 34,0, 29,6, 27,7, 27,0, 25,6, 25,5, 25,48; HRMS m/z 433,2702 [calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5$, 433,2702].

Etapa F



A una solución de la amina 1f (de la Etapa 1 D), ácido 3-hidroxifenilacético (1,90 g, 12,5 mmoles), HOOBt (2,10 g, 12,9 mmoles) y EDCI (2,85 g, 14,9 mmoles) en DMF anhidra (250 mL) y CH_2Cl_2 (100 mL) a -20°C , se le añadió NMM (4,20 mL, 38,2 mmoles). Después de ser agitada a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante la noche (18 h). Después se agitó al aire y se dejó templando a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadieron EtOAc (500 mL), salmuera (100 mL) y H_3PO_4 al 5% (100 mL). La solución orgánica separada se lavó con H_3PO_4 al 5% (100 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 150 mL), agua (150 mL), y salmuera (150 mL), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea (EtOAc- CH_2Cl_2 de 10 a 20%) proporcionó 1g (6,30 g, 11,1 mmoles, 90% (2 etapas)) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 9,26 (s, 1 H), 8,19 (d, $J = 8,5$ Hz, 1 H), 7,36-7,25 (m, 5 H), 7,05-7,01 (m, 1 H), 6,66-6,64 (m, 1H), 6,60-6,57 (m, 1 H), 4,46-4,39 (m, 2 H), 4,34 (t, $J = 8,3$ Hz, 1 H), 4,29-4,25 (m, 1 H), 4,09-4,08 (m, 1 H), 3,91 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 3,66-3,58 (m, 1 H), 3,61 (s, 3 H), 3,50-3,39 (m, 5 H), 3,30 (d, $J = 13,7$ Hz, 1 H), 2,24-2,18 (m, 1 H), 1,95-1,89 (m, 1 H), 1,74-1,57 (m, 8 H), 1,18-0,89 (m, 5 H); RMN ^{13}C (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,0, 170,3, 170,0, 157,1, 138,6, 137,6, 128,9, 128,2, 127,4, 127,3, 119,6, 116,1, 113,2, 76,9, 71,8, 66,6, 65,2, 57,4, 54,7, 51,9, 51,8, 41,8, 34,4, 29,6, 28,5, 28,0, 25,5, 25,5; HRMS m/z 567,3073 [calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_7$, 567,3070].

Etapa G

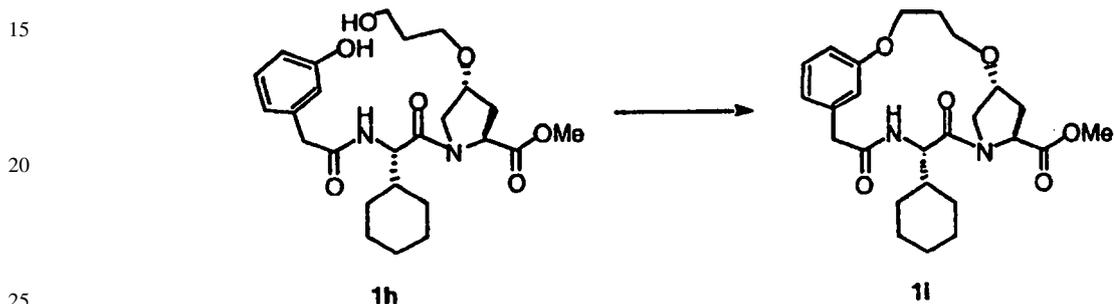


A una solución del éter bencílico 1g (6,23 g, 11,0 mmoles) en etanol (200 mL) en nitrógeno a temperatura ambiente se le añadió Pd-C al 10% (1,5 g) cuidadosamente. La suspensión resultante se agitó vigorosamente a temperatura ambiente en hidrógeno durante 23 h. Después de una filtración cuidadosa, la solución se concentró a vacío. La cro-

ES 2 317 900 T3

matografía instantánea (MeOH-CH₂Cl₂ de 2 a 5%) proporcionó 1h (4,54 g, 9,52 mmoles, 87%) en forma de un aceite incoloro. RMN ¹H (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9,26 (s, 1 H), 8,22 (d, *J* = 8,6 Hz, 1 H), 7,06-7,02 (m, 1 H), 6,66-6,58 (m, 3 H), 4,42-4,40 (m, 1 H), 4,35-4,31 (s, 1 H), 4,27 (t, *J* = 8,3 Hz, 1 H), 4,10-4,09 (m, 1 H), 3,92 (d, *J* = 11,2 Hz, 1 H), 3,64 (dd, *J* = 11,2, 4,3 Hz, 1 H), 3,61 (s, 3 H), 3,59-3,43 (m, 5 H), 3,40-3,38 (m, 1 H), 2,26-2,21 (m, 1 H), 1,97-1,90 (m, 1 H), 1,74-1,55 (m, 8 H), 1,18-0,89 (m, 5 H); RMN ¹³C (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,0, 170,3, 170,1, 157,1, 137,6, 129,0, 119,6, 116,0, 113,3, 76,9, 65,2, 57,6, 57,4, 54,8, 51,9, 51,8, 41,7, 34,4, 32,6, 28,5, 28,0, 25,9, 25,52, 25,49; HRMS *m/z* 477,2606 [calculado para C₂₅H₃₆N₂O₇, 477,2601].

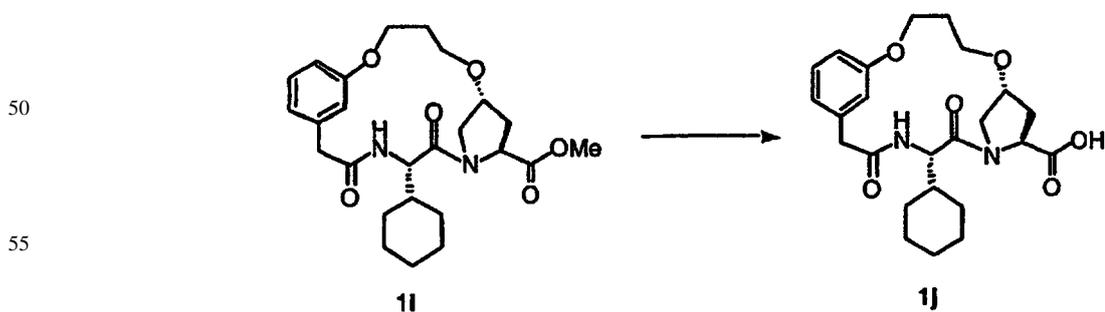
10 Etapa H



30 Una solución del alcohol fenólico 1h (4,50 g, 9,43 mmoles) y ADDP (6,60 g, 26,2 mmoles) en CH₂Cl₂ anhidro se hizo burbujear con argón a través de un burbujeador de vidrio fritado durante 20 min. A esta solución a 0°C se le añadió trifetilfosfina (4,10 g, 16,3 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 20 min, se añadió una segunda porción de trifetilfosfina (3,40 g, 13,5 mmoles). La solución se templó después a temperatura ambiente y se agitó durante la noche (24 h) en nitrógeno hasta que la TLC indicó el completo consumo de la sustancia de partida. Después de la eliminación del disolvente a vacío, el residuo se purificó parcialmente mediante cromatografía instantánea (MeOH en CH₂Cl₂ de 1 a 2%) para proporcionar una mezcla del macrociclo 1i y óxido de trifetilfosfina. RMN ¹H (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8,47 (d, *J* = 9,7 Hz, 1 H), 7,17-7,13 (m, 1 H), 6,79 (s, 1 H), 6,73 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 6,71 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 4,50-4,45 (m, 1 H), 4,24 (dd, *J* = 10,3, 7,6 Hz, 1 H), 4,17-4,06 (m, 4 H), 3,68 (d, *J* = 15,1 Hz, 1 H), 3,63 (s, 3 H), 3,60-3,51 (m, 2 H), 3,37 (d, *J* = 15,1 Hz, 1 H), 3,35-3,27 (m, 1 H), 2,51-2,43 (m, 1 H), 1,85-1,47 (m, 9 H), 1,22-1,12 (m, 3 H), 0,97-0,88 (m, 2 H) RMN ¹³C (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,0, 70,0, 169,8, 158,4, 138,1, 129,1, 121,8, 115,4, 112,2, 77,0, 64,9, 63,6, 57,0, 54,3, 53,4, 51,8, 41,3, 33,2, 28,9, 28,5, 28,2, 26,0, 25,2; HRMS *m/z* 459,2495 [calculado para C₂₅H₃₄N₂O₆, 459,2495].

40

45 Etapa I



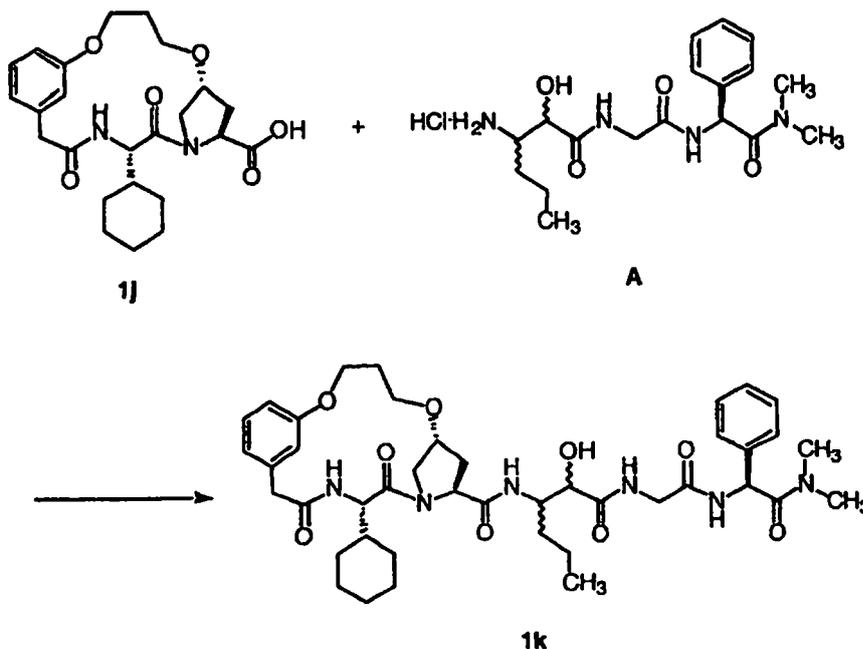
60 Una solución acuosa de hidróxido de litio (0,45 g en 30 mL de H₂O) se añadió a una solución a 0°C del éster metílico 1i en THF (30 mL) y metanol (30 mL). La mezcla se agitó en un baño de hielo y se templó a temperatura ambiente junto con él durante 4 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de eliminar las sustancias volátiles a vacío a vacío, se añadieron EtOAc (150 mL) y agua (30 mL) y se separaron las dos capas. La solución acuosa se extrajo de nuevo con CH₂Cl₂ (150 mL), después de lo cual se aciduló a pH = 1. Después se añadió EtOAc (200 mL) y la solución acuosa se saturó con cloruro de sodio sólido. Después de la separación de las capas, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 150 mL). Las soluciones orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 1j (1,45 g, 3,26 mmoles, 35%, 2 etapas) en forma

65

ES 2 317 900 T3

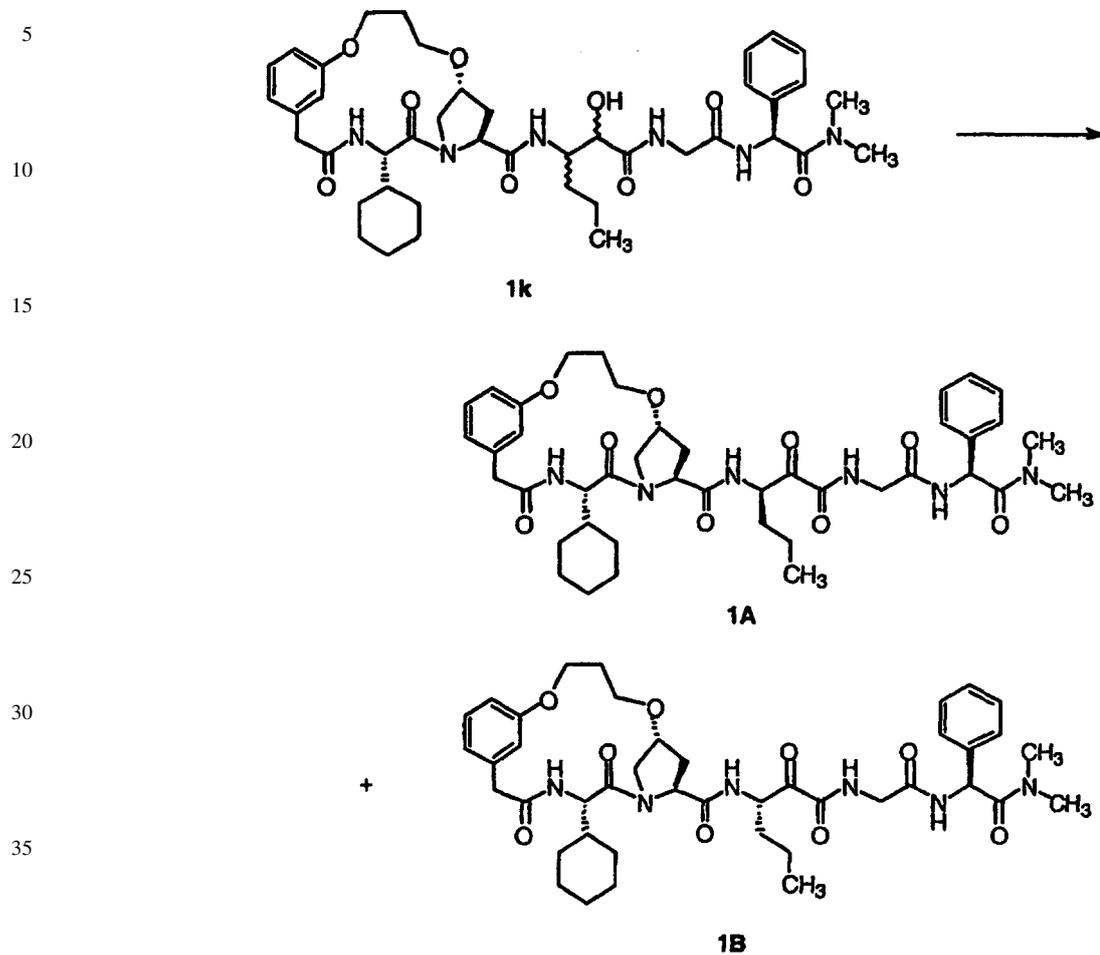
de una espuma de color amarillo descolorido. RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 12,32 (s ancho, 1 H), 8,45 (d, $J = 9,5$ Hz, 1 H), 7,17-7,13 (m, 1 H), 6,73-6,70 (m, 1 H), 6,79 (s, 1 H), 6,73-6,70 (m, 2 H), 4,47 (t, $J = 9,7$ Hz, 1 H), 4,17-4,00 (m, 5 H), 3,68 (d, $J = 15,1$ Hz, 1 H), 3,58-3,45 (m, 2 H), 3,39-3,21 (m, 2 H), 2,47-2,41 (dd, $J = 13,4, 7,6$ Hz, 1 H), 1,85-1,56 (m, 9 H), 1,19-1,11 (m, 3 H), 0,93-0,87 (m, 2 H); RMN ^{13}C (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 173,2, 170,2, 170,0, 158,4, 138,1, 129,3, 122,0, 115,5, 112,2, 77,3, 65,1, 63,8, 57,3, 54,2, 53,7, 41,5, 33,6, 29,0, 28,6, 28,4, 26,1, 25,4; HRMS m/z 445,2335 [calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6$, 445,2339].

Etapa J



A una solución del ácido 1j (0,59 g, 1,33 mmoles), la amina A ($\text{H}_2\text{N-NVa-CH(OH)-CO-Gly-Phg-NMe}_2$, 0,55 g, 1,37 mmoles), HOObt (250 mg, 1,53 mmoles) y EDCI (315 mg, 1,64 mmoles) en DMF anhidra (50 mL) y CH_2Cl_2 (50 mL) a -20°C se le añadió NMM (0,50 mL, 4,55 mmoles). Después de agitar a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante 40 h. Después se añadieron EtOAc (200 mL), salmuera (50 mL) y H_3PO_4 al 5% (50 mL). La solución orgánica separada se lavó, sucesivamente, con H_3PO_4 al 5% (80 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 80 mL), agua (80 mL), y salmuera (80 mL), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea ($\text{MeOH-CH}_2\text{Cl}_2$ de 4 a 7,5%) proporcionó 1k en forma de una mezcla de cuatro diastereómeros (0,59 g, 0,75 mmoles, 56%) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,54-8,35 (m, 2 H), 7,95-6,98 (m, 8 H), 6,79-6,77 (m, 1 H), 6,72-6,70 (m, 2 H), 5,96-5,73 (m, 2 H), 4,53-4,45 (m, 1 H), 4,35-3,61 (m, 11 H), 3,54-3,41 (m, 1 H), 3,40-3,22 (m, 1 H), 2,93-2,92 (m, 3 H), 2,84 (s, 3 H), 2,42-2,17 (m, 1 H), 1,87-1,55 (m, 10 H), 1,49-1,06 (m, 7 H), 0,98-0,75 (m, 5 H); RMN ^{13}C (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,1, 171,9, 171,8, 170,8, 170,7, 170,4, 170,4, 170,3, 170,0, 169,8, 169,7, 169,6, 169,2, 169,2, 167,9, 167,8, 167,8, 158,4, 158,3, 138,2, 138,15, 138,11, 138,07, 137,6, 137,50, 137,48, 129,1, 128,5, 128,3, 127,8, 127,7, 121,7, 121,6, 115,4, 115,3, 112,09, 112,07, 112,0, 111,9, 76,9, 76,8, 73,3, 72,1, 71,9, 64,9, 64,8, 63,2, 58,7, 58,5, 57,9, 57,8, 54,6, 54,5, 54,48, 53,8, 53,78, 53,7, 53,66, 53,0, 52,9, 51,0, 50,8, 50,7, 41,6, 41,5, 41,4, 41,3, 36,6, 35,3, 33,9, 33,86, 33,5, 32,9, 32,1, 29,9, 29,0, 28,9, 28,5, 28,4, 28,3, 26,0, 25,9, 25,3, 25,25, 25,2, 18,6, 18,56, 18,5, 13,8, 13,7; HRMS m/z 791,4339 [calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_9$, 791,4344, error = 1 ppm].

Etapa K



45

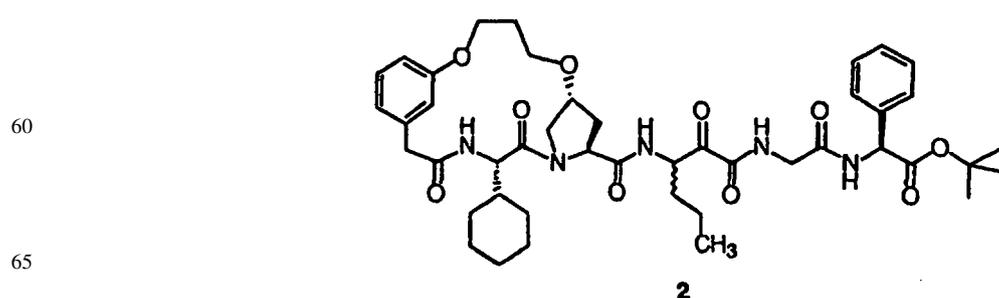
A una mezcla de la hidroxiamida 1k (0,57 g, 0,72 mmoles) y reactivo Dess-Martin (0,76 g, 1,8 mmoles) a 0°C se le añadió CH₂Cl₂ anhidro. La suspensión resultante de color blanco se agitó vigorosamente a 0°C y se templó a temperatura ambiente junto con el baño de hielo durante 4 h. Se añadieron soluciones de bicarbonato de sodio acuoso saturado y bisulfito de sodio (50 mL de cada una) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 10 min después de separar las capas. La solución acuosa se extrajo con (2 X 150 mL). La solución orgánica combinada se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea (MeOH-CH₂Cl₂ de 2 a 4%) proporcionó dos diastereómeros 1A (250 mg, 0,32 mmoles) y 1B (217 mg, 0,28 mmoles, rendimiento combinado 82%) en forma de sólidos de color blanco.

50

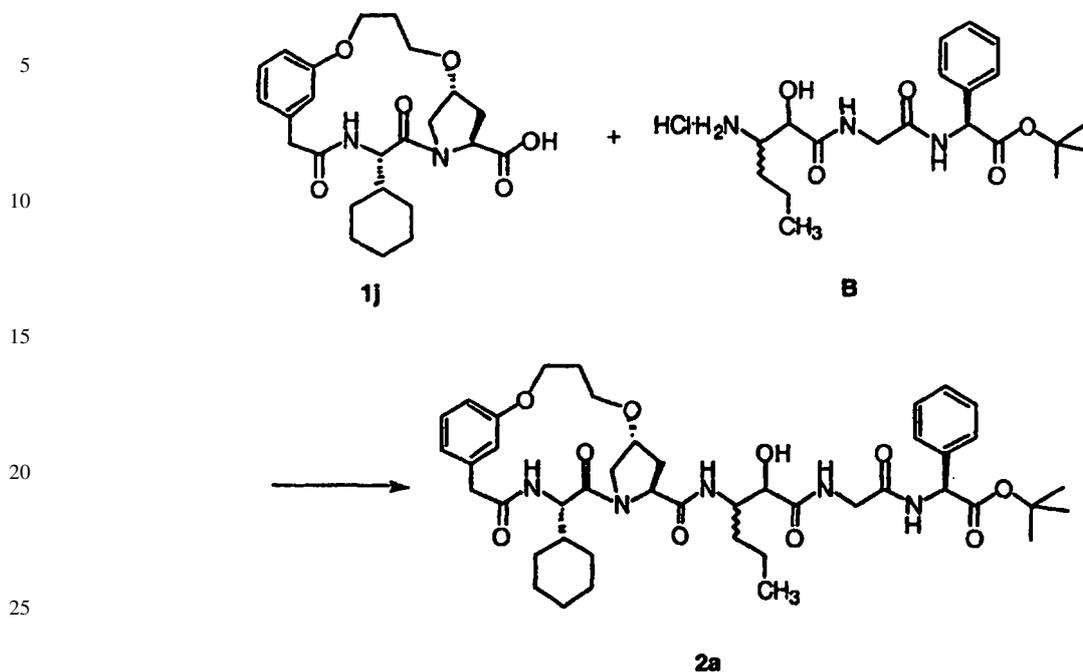
Ejemplo 2

55

Preparación del Compuesto 2

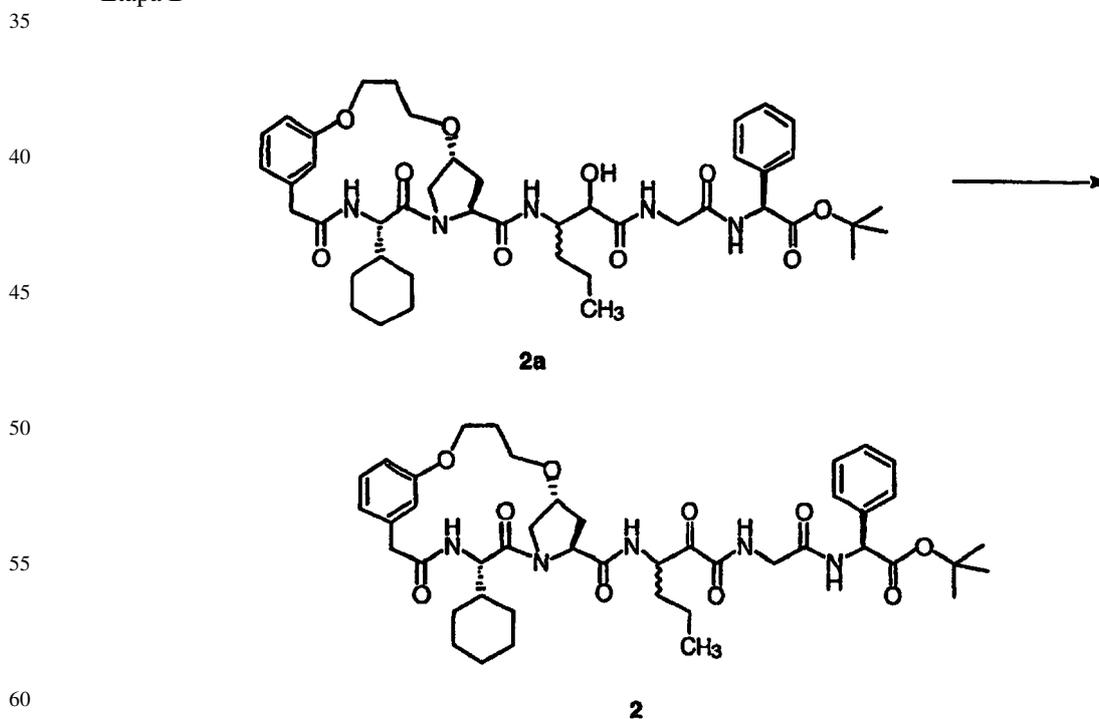


Etapa A



30 El compuesto 2a deseado se preparó de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J, excepto porque se sustituyó la amina B por la amina A. La hidroxiamida se obtuvo en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 60%.

Etapa B



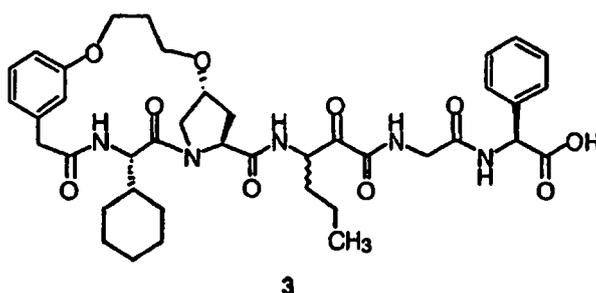
65 La cetoamida deseada se preparó a partir de la hidroxiamida 2a de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa K. El producto se obtuvo en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 78%. RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,69-8,57 (m, 1 H), 8,45- 8,36 (m, 1 H), 7,95-7,72 (m, 1 H), 7,64-7,53 (m, 1 H), 7,41-7,31 (m, 5 H), 7,16-6,97 (m, 1 H), 6,79-6,70 (m, 3 H), 5,97-5,75 (m, 1 H), 5,31-5,27 (m, 1 H), 4,52-4,44 (m, 1 H), 4,35-3,61 (m, 11 H), 3,54-3,41 (m, 1 H), 3,39-3,21 (m, 1 H), 2,42-2,16 (m, 1 H), 1,85-

ES 2 317 900 T3

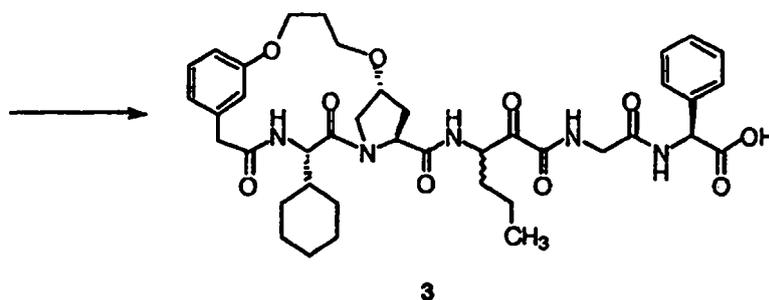
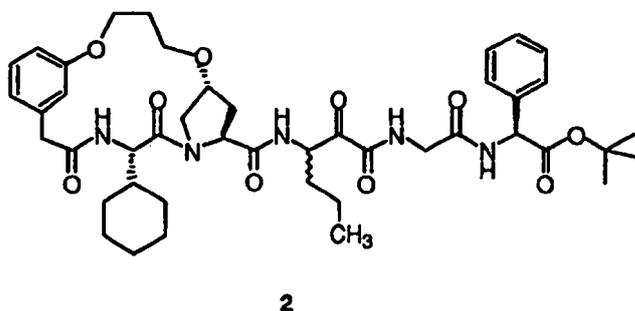
1,54 (m, 9 H), 1,49-1,05 (m, 16 H), 0,95-0,70 (m, 5 H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,3, 172,2, 172,0, 171,9, 170,9, 170,7, 170,5, 170,5, 170,4, 170,1, 169,9, 169,7, 169,5, 168,6, 168,5, 158,5, 158,4, 138,2, 138,2, 138,1, 136,7, 132,1, 131,6, 131,5, 129,2, 129,1, 128,8, 128,7, 128,1, 127,7, 127,6, 127,6, 127,5, 127,4, 127,4, 121,7, 116,4, 115,4, 115,4, 113,3, 112,1, 112,1, 112,0, 81,3, 77,0, 76,9, 76,9, 73,4, 72,3, 72,0, 64,9, 64,8, 63,3, 58,8, 56,9, 56,8, 54,7, 54,6, 54,6, 53,9, 53,9, 53,8, 51,1, 50,8, 41,6, 41,4, 41,3, 34,0, 33,9, 29,1, 29,0, 28,6, 28,5, 28,4, 28,4, 28,3, 27,5, 26,0, 26,0, 25,4, 25,3, 25,2, 18,7, 18,6, 18,5, 13,9, 13,8; HRMS *m/z* 820,4493 [calculado para C₄₄H₆₁N₅O₁₀, 820,4497].

Ejemplo 3

Preparación del Compuesto de Fórmula 3 siguiente



Etapa A



Una solución del éster *t*-butilico 2 (26 mg, 0,032 mmoles) en ácido trifluoroacético (2 mL) y CH₂Cl₂ (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de eliminar las sustancias volátiles a vacío, el residuo se disolvió en MeOH-CH₂Cl₂ al 50%, y se concentró hasta sequedad a vacío para proporcionar un sólido de color blanquecino (24 mg, 0,032 mmoles, cuant.). RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8,73-8,65 (m, 2 H), 8,40 (dd, *J* = 9,5, 2,6 Hz, 1 H), 8,24-8,05 (1 H), 7,64-7,55 (m, 1 H), 7,41-7,32 (m, 5 H), 7,15 (t, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 6,80-6,71 (m, 3 H), 5,35 (dd, *J* = 7,5, 1,9 Hz, 1 H), 5,04-4,96 (m, 1 H), 4,48-4,43 (m, 1 H), 4,37-4,22 (m, 1 H), 4,16-3,27 (m, 11 H), 2,35-2,31 (m, 1 H), 1,84-0,70 (m, 21 H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 196,7, 171,7, 171,4, 171,3, 170,0, 169,7, 167,5, 161,0, 160,7, 158,5, 158,5, 158,4, 138,2, 138,2, 137,1, 137,0, 132,1, 132,1, 131,6, 131,5, 131,5, 129,2, 128,8, 128,7, 128,7, 128,6, 128,0, 127,7, 127,5, 127,5, 121,8, 115,4, 112,2, 76,9, 76,8, 65,0, 64,9, 63,4, 63,3, 58,2, 57,4, 56,3, 56,2, 56,2, 54,6, 54,5, 53,8, 53,4, 53,2, 41,5, 41,5, 41,4, 40,2, 33,9, 33,7, 31,9, 31,7, 29,2, 29,0, 28,6, 28,3, 26,1, 25,3, 18,7, 18,6, 13,5; HRMS *m/z* 762,3705 [calculado para C₄₀H₅₁N₅O₁₀, 762,3714].

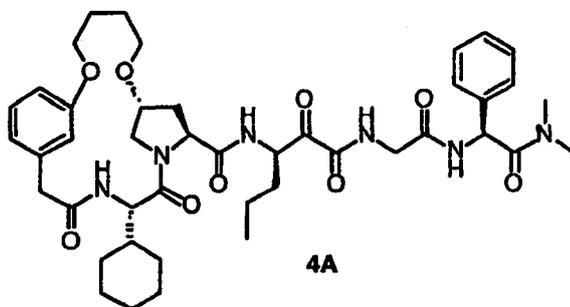
Ejemplo 4

Preparación de los Compuestos de Formulas 4A y 4B

5

10

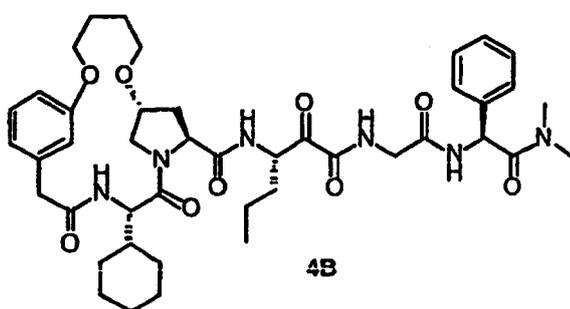
15



20

25

30

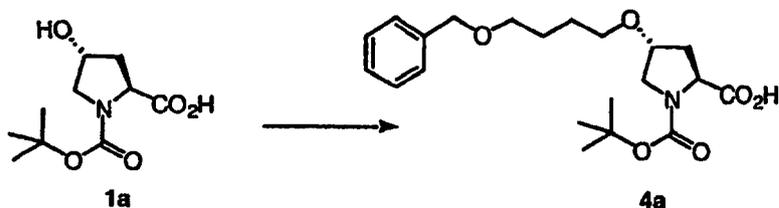


35

Etapa A

40

45



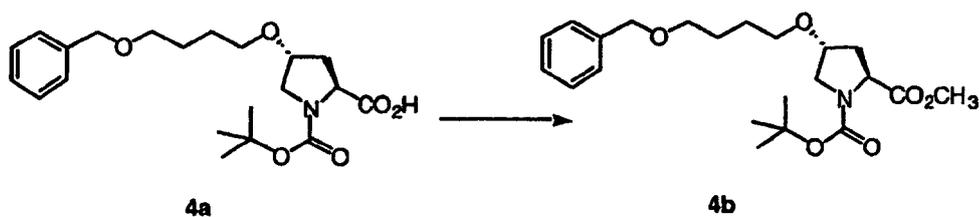
El producto 4a deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa A. La sustancia bruta se llevó a la siguiente etapa tal cual.

50

Etapa B

55

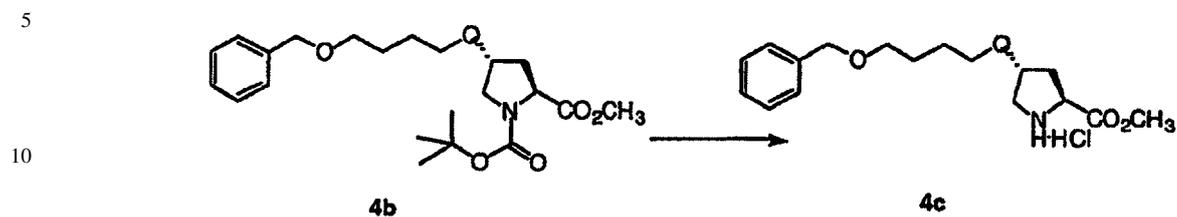
60



65

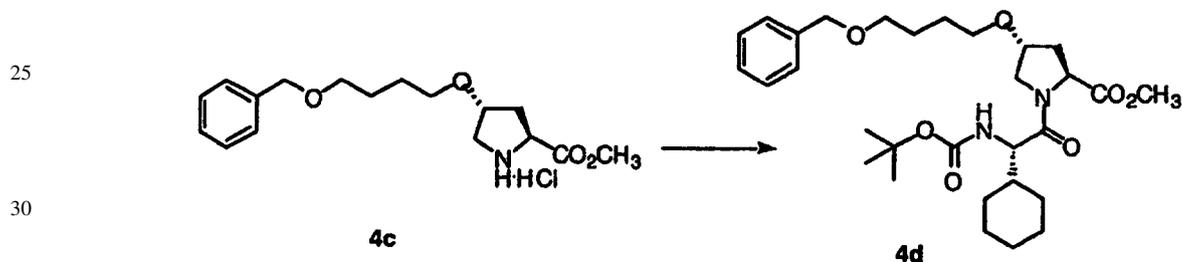
El producto 4b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa B. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando hexanos/acetato de etilo 80/20 a 75/25 para proporcionar 4b con un rendimiento de 50% en forma de un aceite incoloro.

Etapa C



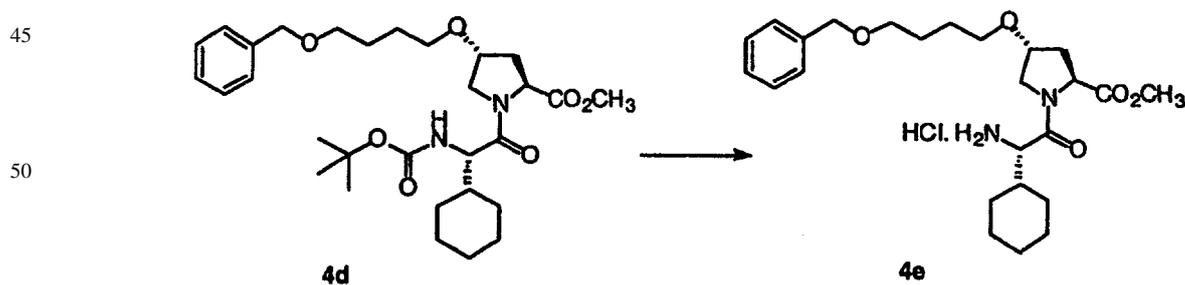
15 El compuesto 4c deseado se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia se hizo proseguir tal cual.

Etapa D



35 El producto 4d deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa D. La sustancia tras la elaboración fue suficientemente pura para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{30}H_{47}N_2O_7$: 547,3383 (M+H)⁺. Encontrado: 547,3372.

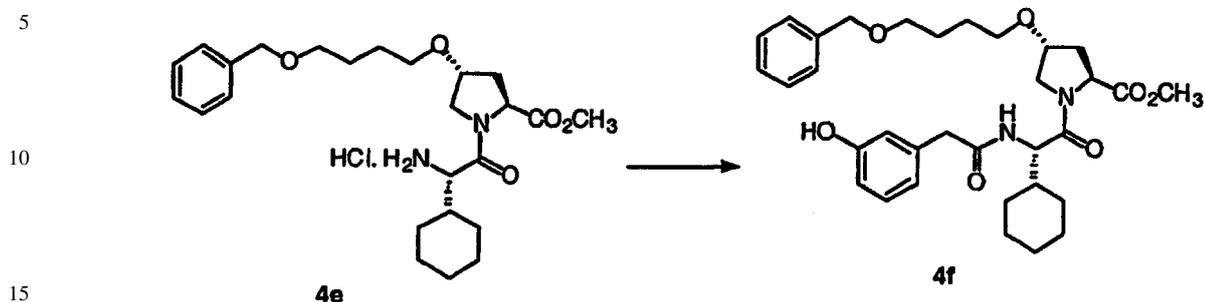
Etapa E



60 El producto 4e deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia bruta se llevó a la siguiente etapa tal cual.

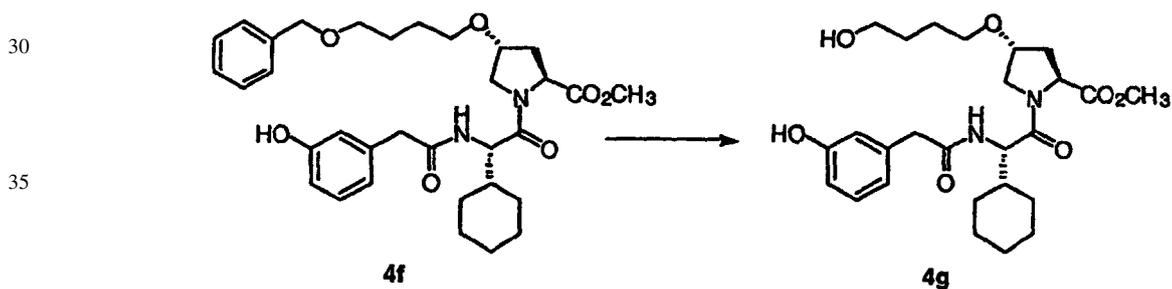
65

Etapa F



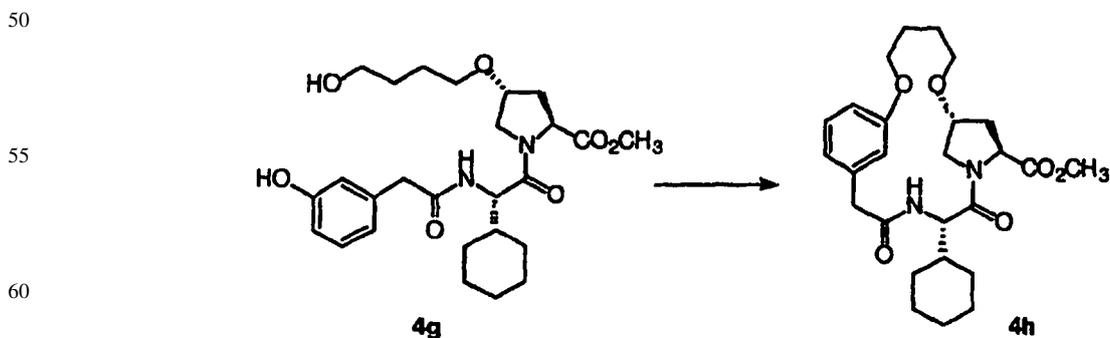
20 El producto 4f deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa F. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 80/20 a 60/40 para proporcionar 4f con un rendimiento de 85%. HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_7$: 581,3227 (M+H)⁺. Encontrado: 581,3222.

Etapa G



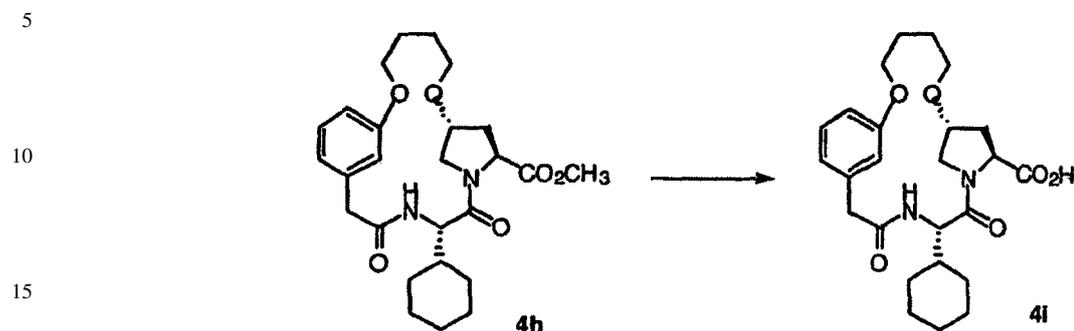
45 El producto 4g deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa G. La sustancia bruta se llevó a la siguiente etapa tal cual. HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_7$: 491,2757 (M+H)⁺. Encontrado: 491,2761.

Etapa H



65 El producto 4h deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa H. La purificación mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/metanol 99/1 proporcionó 4h junto con óxido de trifetilfosfina. Esta mezcla se recogió para la siguiente etapa.

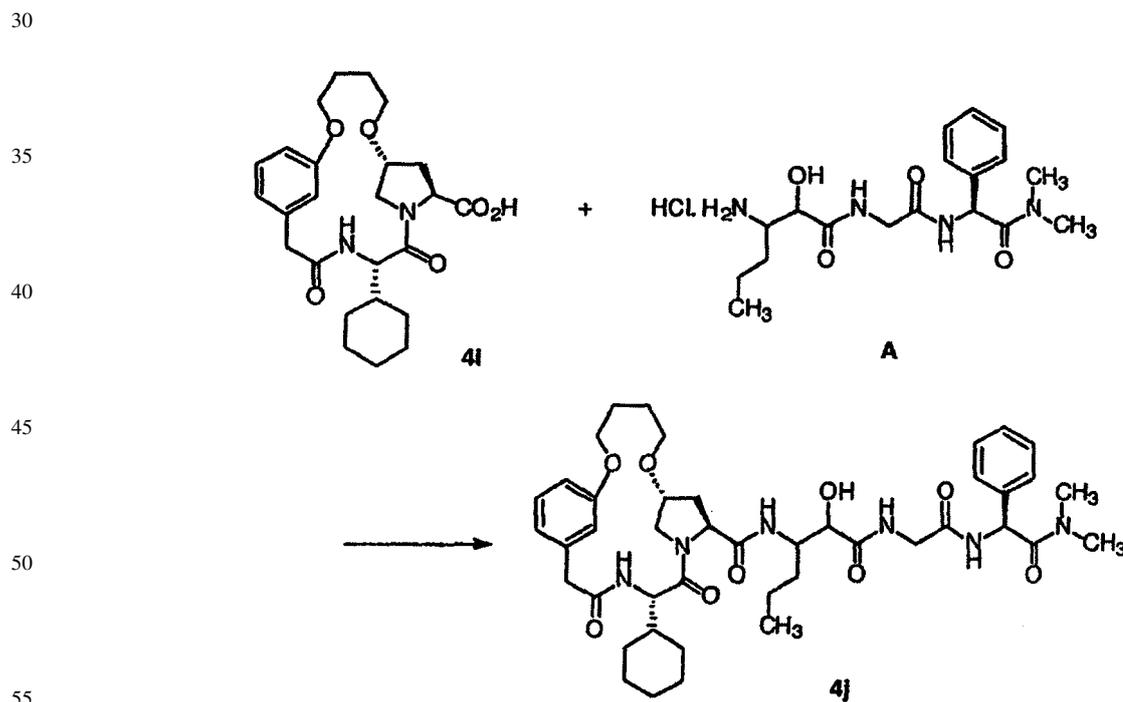
Etapa I



20 El producto deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1 Etapa I. Rendimiento de 4i (para 2 etapas) = 24%. RMN ^1H (DMSO- d_6) δ 0,90-0,95 (m, 2H), 1,10-1,16 (m, 3H), 1,51-1,79 (m, 11 H), 2,43 (dd, 1H), 3,29-3,32 m, 2H), 3,50-3,54 (m, 1 H), 3,62-3,68 (m, 2H), 3,91-3,99 (m, 3H), 4,04-4,08 (m, 2H), 4,46 (t, 1 H), 6,67-6,72 (m, 3H), 7,13 (t ap., 1 H), 8,36 (d, 1 H), 12,40 (s ancho, 1H); RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ 25,26, 25,31, 25,97, 26,62, 28,42, 33,28, 39,75, 41,49, 53,50, 54,28, 57,45, 67,57, 67,98, 77,25, 111,07, 115,23, 121,48, 129,11, 137,99, 158,33, 170,07, 172,92; HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_6$: 459,2495 (M+H) $^+$. Encontrado: 459,2494.

25

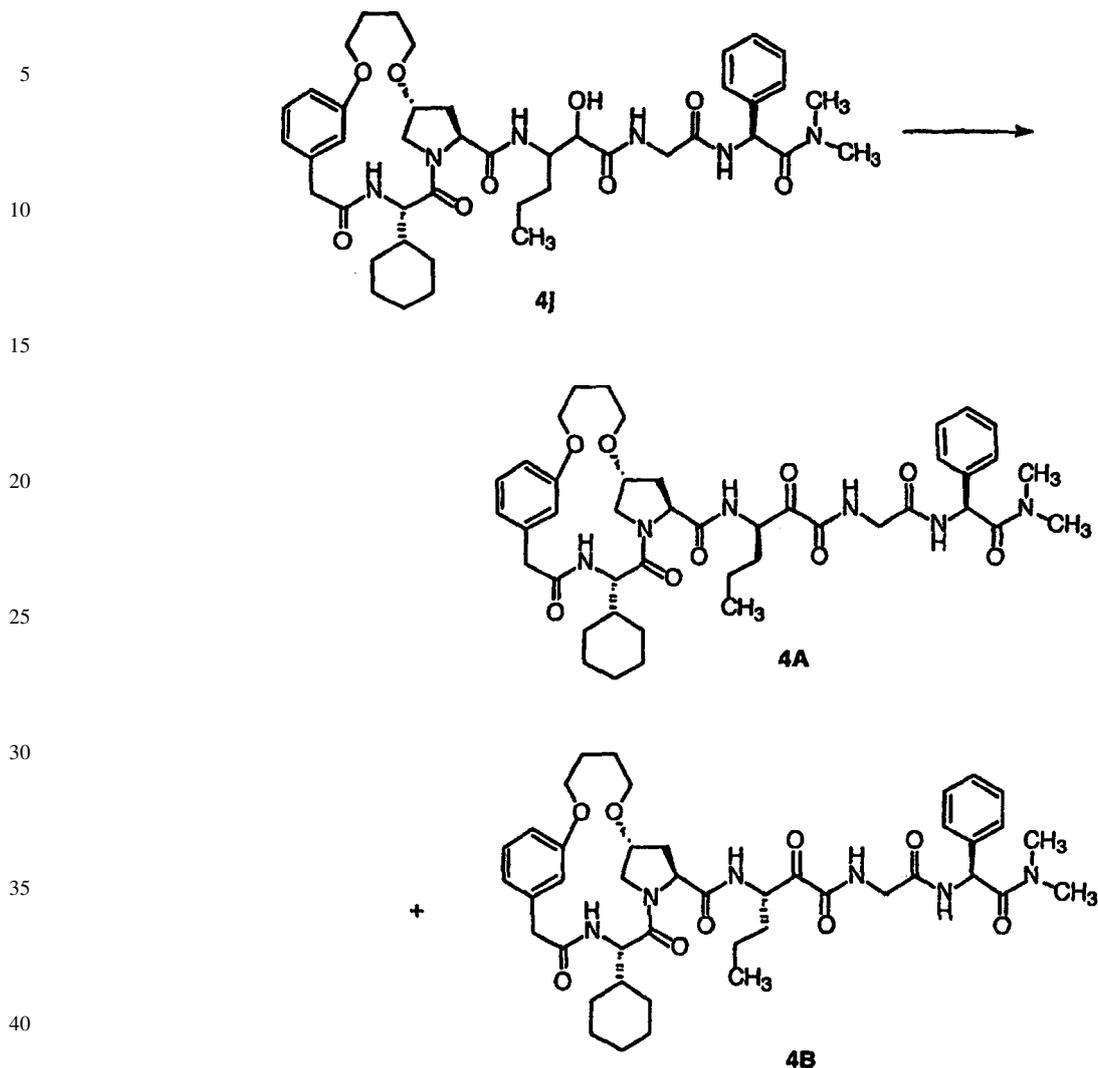
Etapa J



60 El producto 4j esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{43}\text{H}_{61}\text{N}_6\text{O}_9$: 805,4500 (M+H) $^+$. Encontrado: 805,4492.

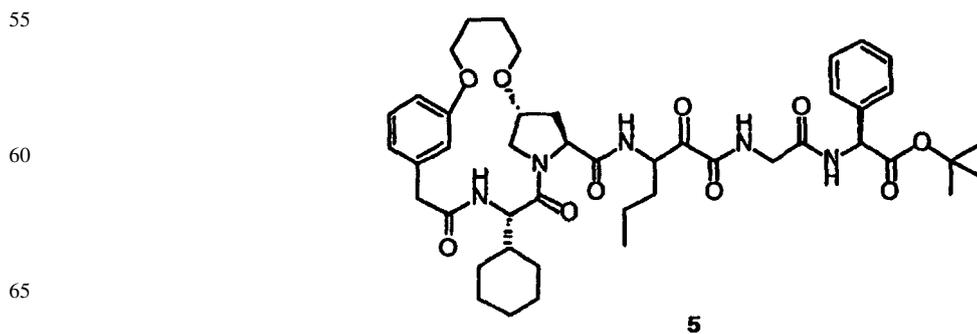
65

Etapa K

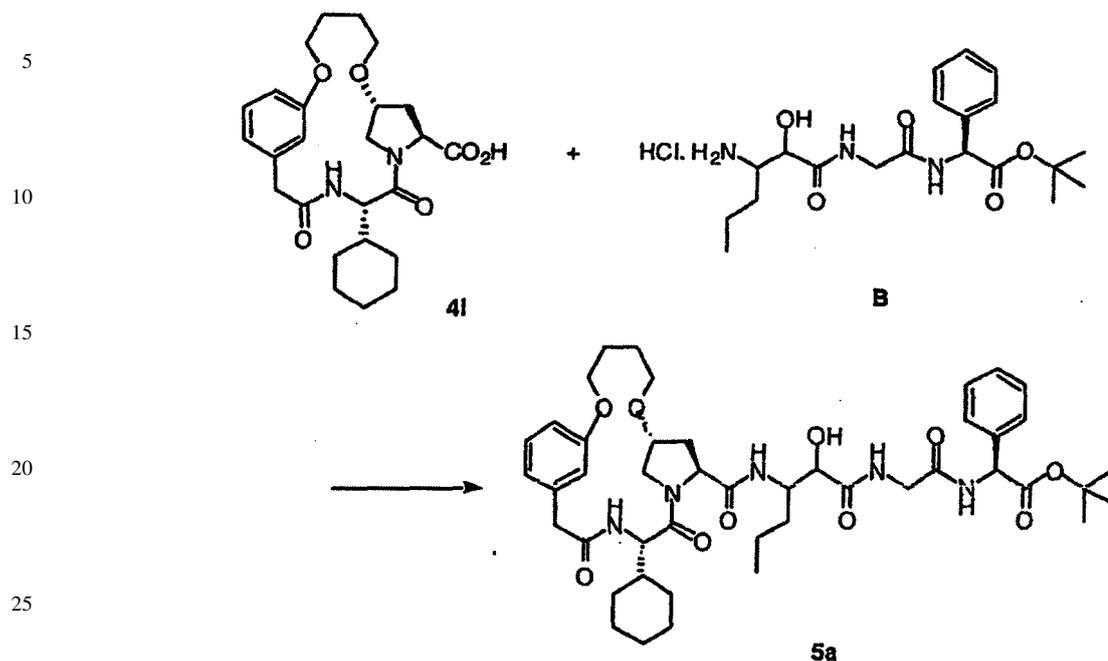


45 Los productos deseados 4A y 4B se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 100/0 a 99/1 proporcionó los isómeros separados 4A y 4B, y algo de mezcla. Rendimiento combinado = 34% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{43}H_{59}N_6O_9$: 803,4344 (M+H)⁺. Encontrado: 803,4339 (4A), 803,4347 (4B).

50 Ejemplo 5

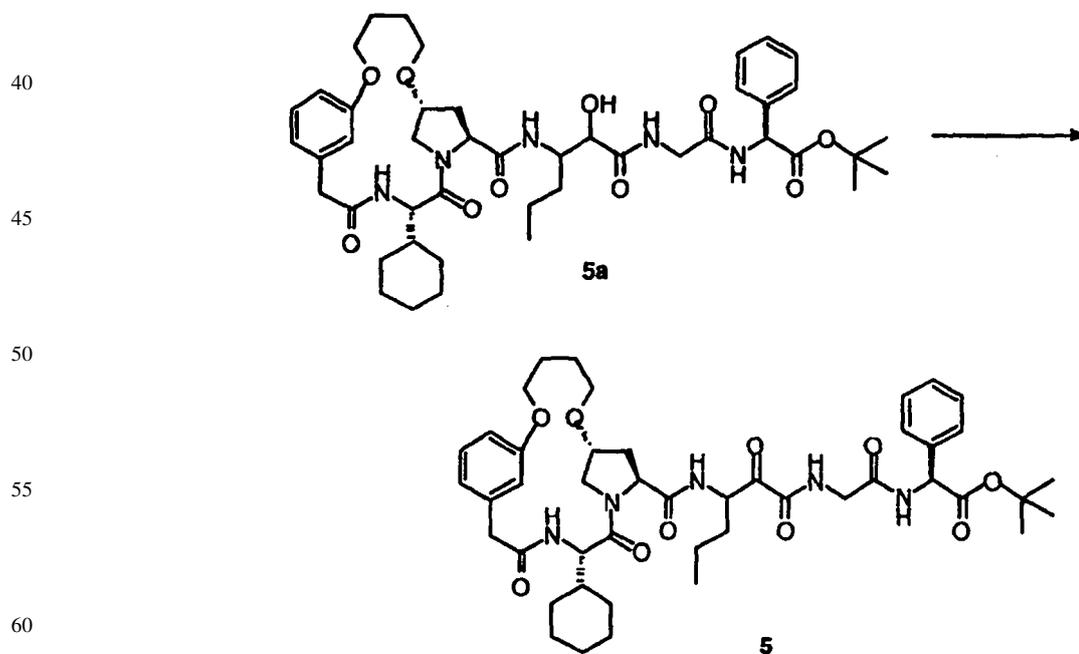
Preparación del Compuesto 5

Etapa A



30 El producto 5a esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 2, Etapa A. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para C₄₅H₆₄N₅O₁₀: 834,4653 (M+H)⁺. Encontrado: 834,4648.

Etapa B



65 El producto 5 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 99/1 proporcionó 5 en forma de una mezcla de diastereómeros con un rendimiento de 31% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para C₄₅H₆₂N₅O₁₀: 832,4497 (M+H)⁺. Encontrado: 832,4497.

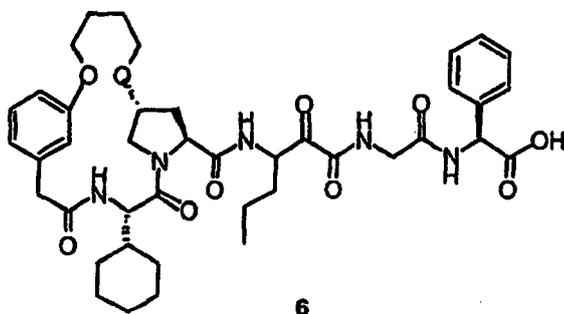
Ejemplo 6

Preparación del Compuesto 6:

5

10

15



6

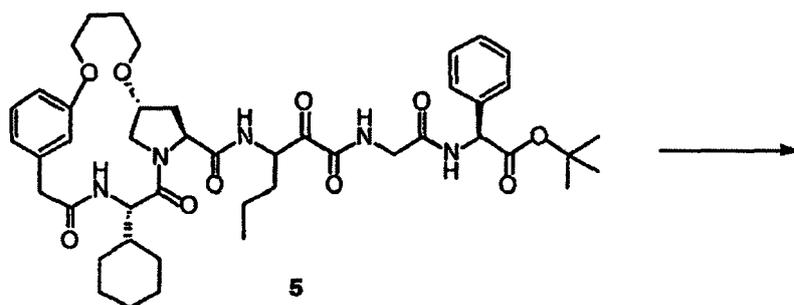
20

Etapa A

25

30

35

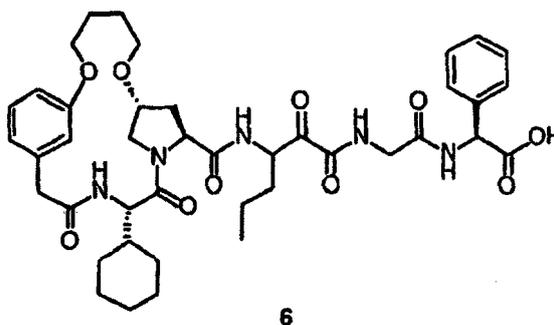


5

40

45

50



6

55

El producto 6 esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 3, Etapa A con un rendimiento cuantitativo. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{41}H_{54}N_5O_{10}$: 776,3871 (M+H)⁺. Encontrado: 776,3865.

60

65

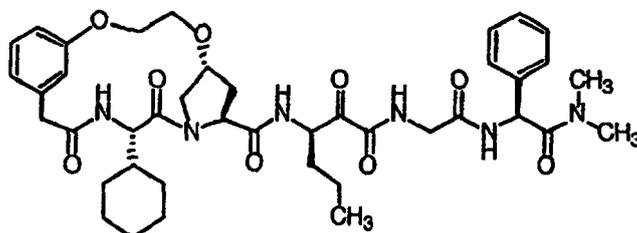
Ejemplo 7

Preparación de los compuestos 7A y 7B

5

10

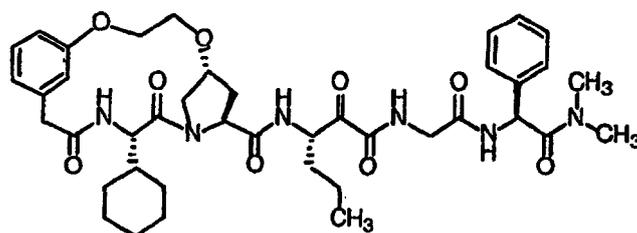
15



7A

20

25



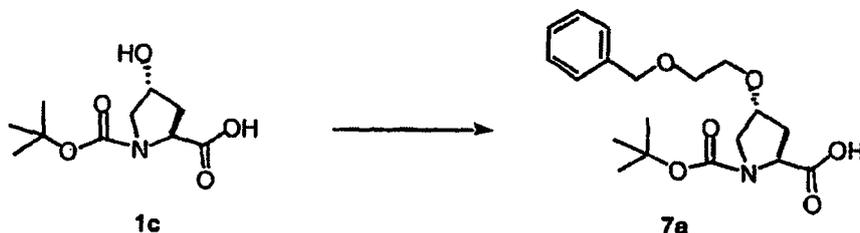
7B

30

Etapa A

35

40



1c

7a

45

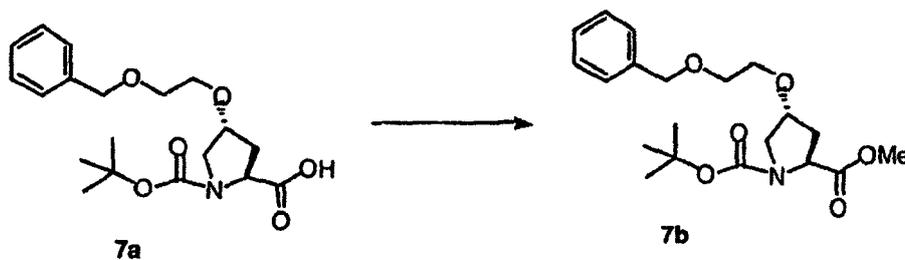
El compuesto deseado 7a se preparó a partir de 1c de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa A. El producto bruto se utilizó en la Etapa B sin purificación adicional.

50

Etapa B

55

60



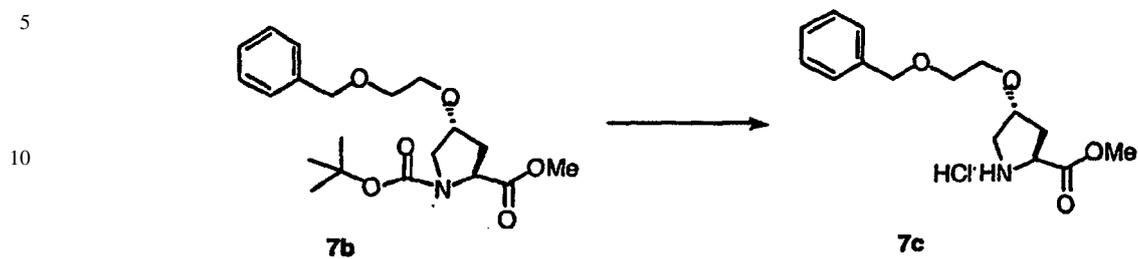
7a

7b

65

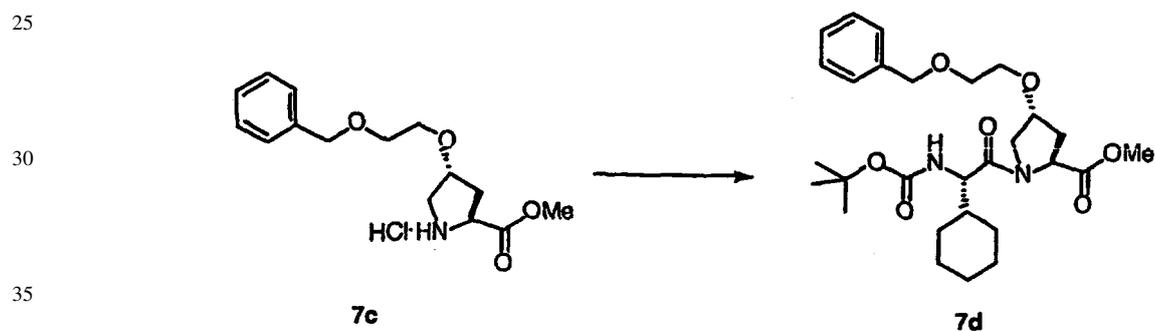
El compuesto deseado 7b se preparó a partir de 7a de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa B.

Etapa C



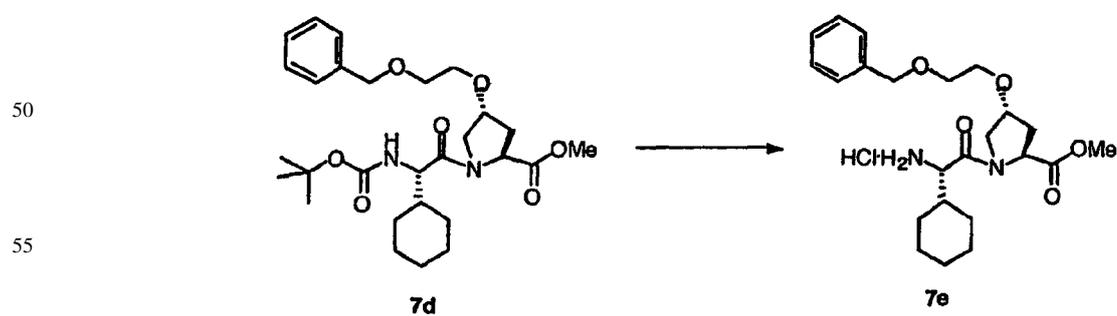
El compuesto deseado 7c se preparó a partir de 7b de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa C. El producto se utilizó en la Etapa D sin purificación adicional.

Etapa D



El compuesto deseado 7d se preparó a partir de 7c de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa D.

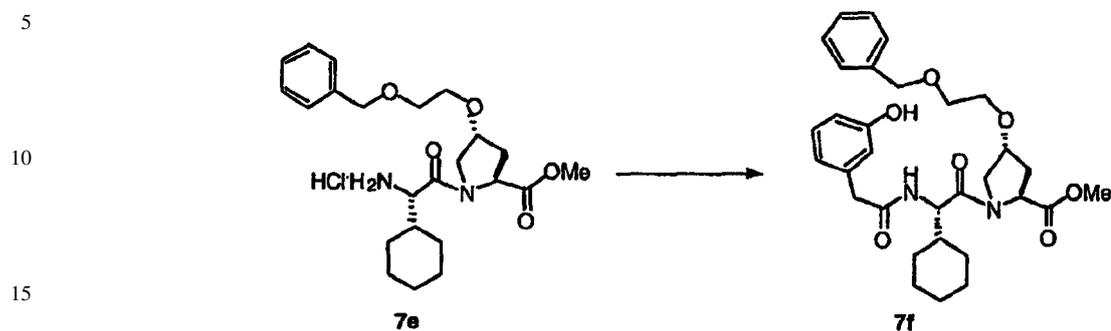
Etapa E



El compuesto deseado 7e se preparó a partir de 7d de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa E. El producto se utilizó en la Etapa F sin purificación adicional.

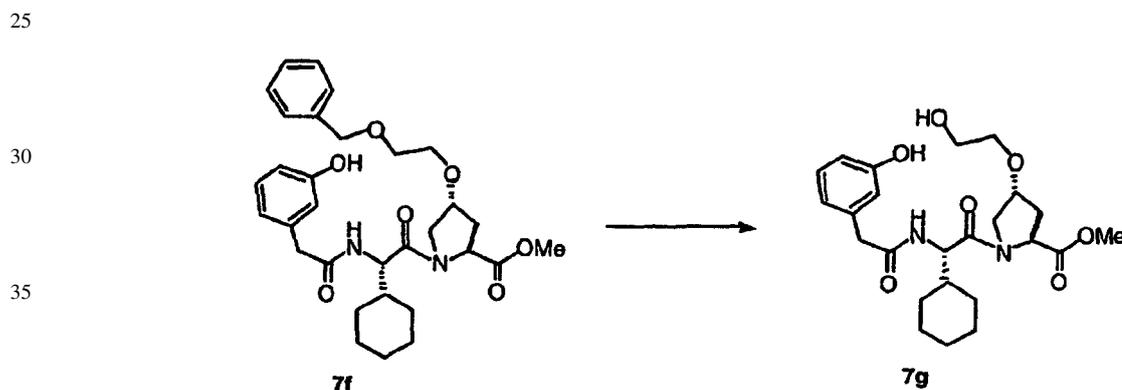
65

Etapa F



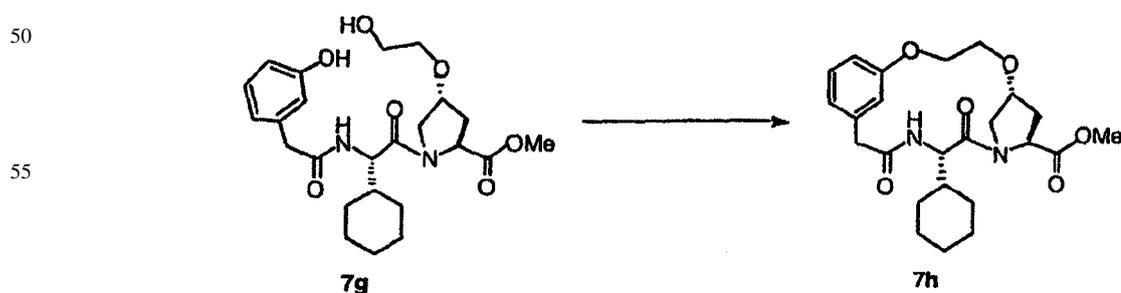
20 El compuesto deseado 7f se preparó a partir de 7e de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa F.

Etapa G



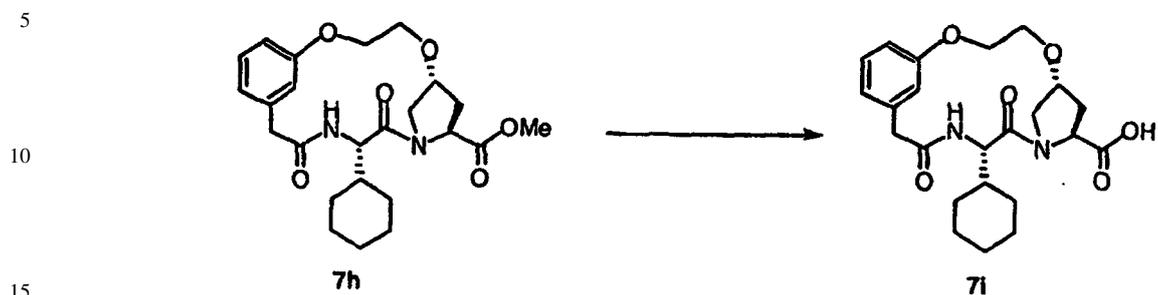
El compuesto deseado 7g se preparó a partir de 7f de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa F.

Etapa H



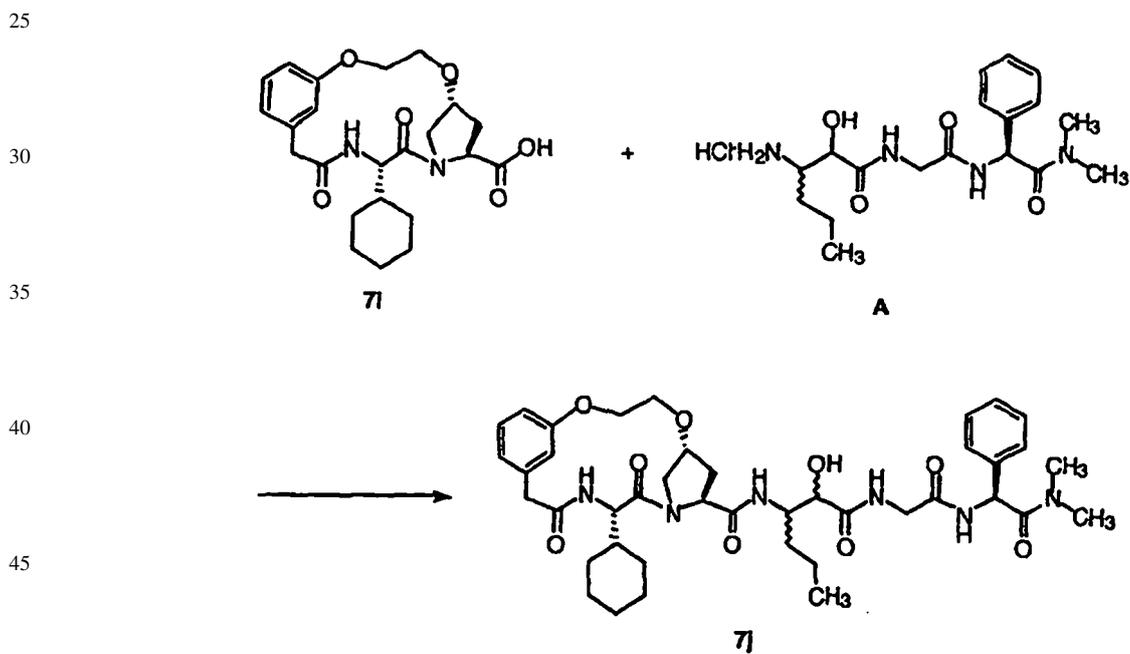
Una solución del alcohol fenólico 7g (830 mg, 1,79 mmoles) y ADDP (1,36 g, 5,39 mmoles) en CH_2Cl_2 anhidro (200 mL) se hizo burbujear con Argón a través de un burbujeador de vidrio fritado durante 20 min. A esta solución a 0°C se le añadió trifenilfosfina (1,41 g, 5,38 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 20 min, la solución se templó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche (20 h) en nitrógeno. Después de la eliminación del disolvente a vacío, el residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (MeOH en CH_2Cl_2 de 1 a 3%) para proporcionar una mezcla del producto 7h deseado y óxido de trifenilfosfina, que se utilizó en la Etapa I sin purificación adicional.

Etapa I



20 El compuesto deseado 7i se preparó a partir de 7h con un rendimiento de 36% (2 etapas) de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa I.

Etapa J



55 El compuesto deseado 7j se preparó a partir de 7i y A con un rendimiento de 56% de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa J.

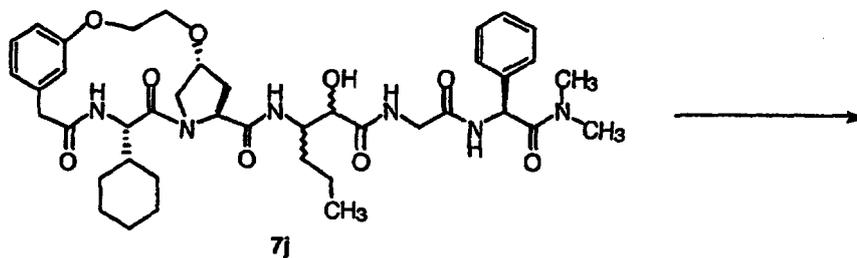
60

65

Etapa K

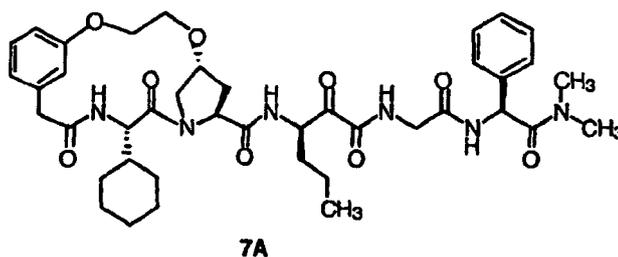
5

10



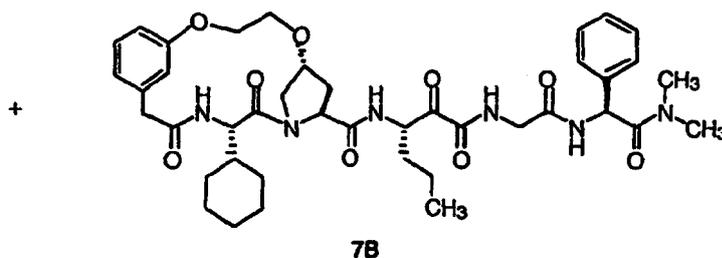
15

20



25

30



35

40

El compuesto deseado 7A y 7B se prepararon a partir de 7j de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa K.

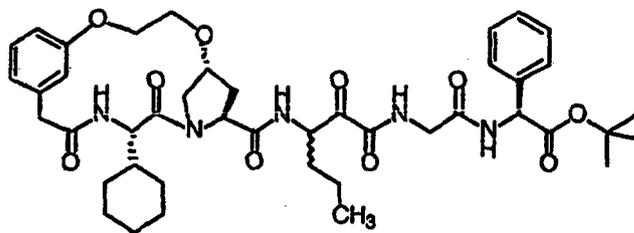
Ejemplo 8

45

Preparación del Compuesto de Fórmula 8:

50

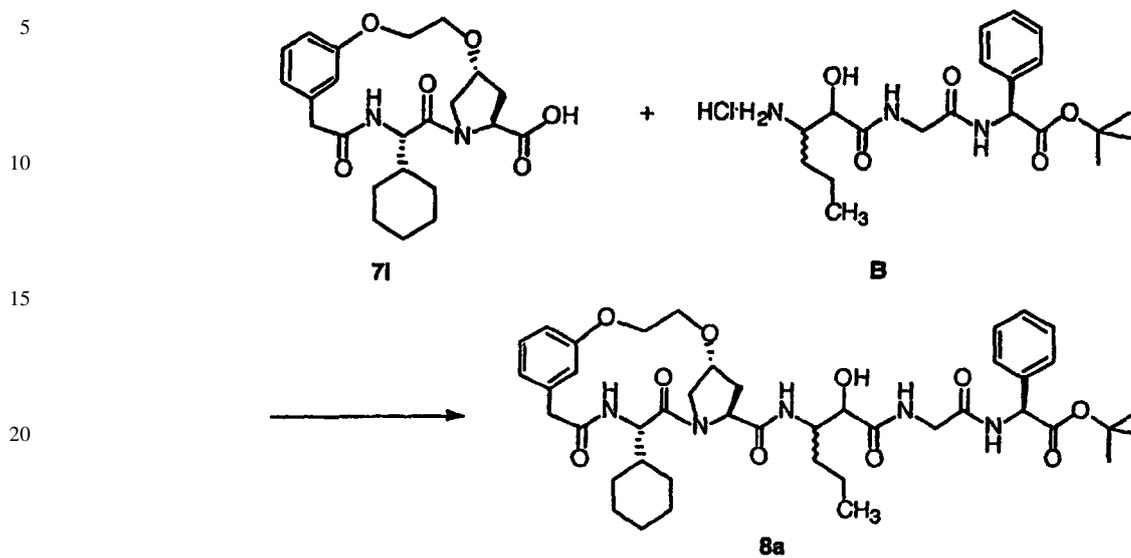
55



60

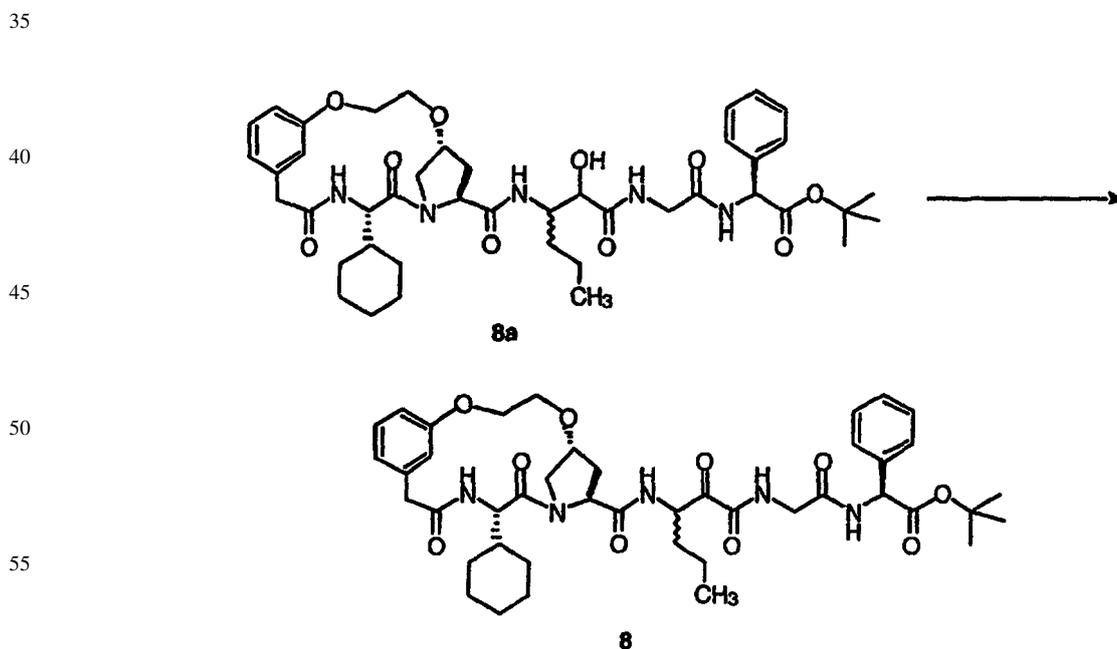
65

Etapa A



30 El compuesto deseado 8a se preparó de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J, excepto porque se sustituyó la amina B por la amina A. El producto se obtuvo en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 57%.

Etapa B



65 El compuesto deseado 8 se preparó con un rendimiento de 72% a partir de 8a de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa K.

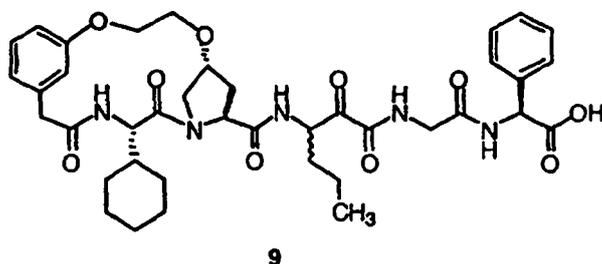
Ejemplo 9

Preparación del Compuesto de Fórmula 9

5

10

15

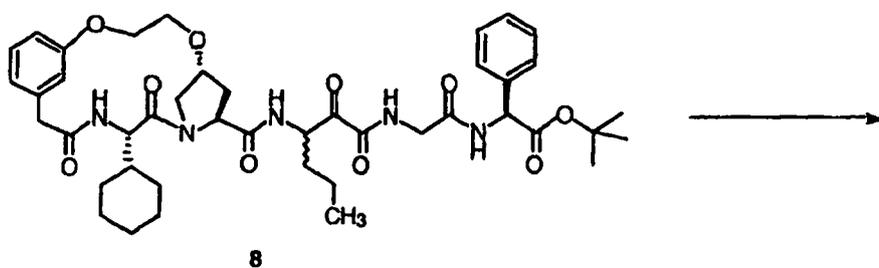


9

20 Etapa A

25

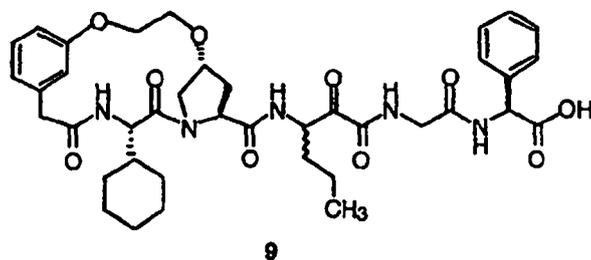
30



8

35

40



9

45

El compuesto deseado 9 se preparó cuantitativamente a partir de 8 de acuerdo con el método del Ejemplo 3, Etapa A.

50

55

60

65

ES 2 317 900 T3

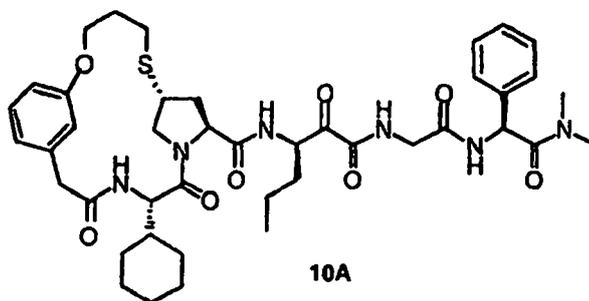
Ejemplo 10

Preparación de los Compuestos de Fórmula 10A y 10B

5

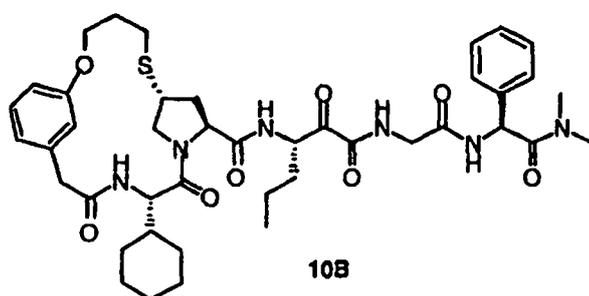
10

15



20

25

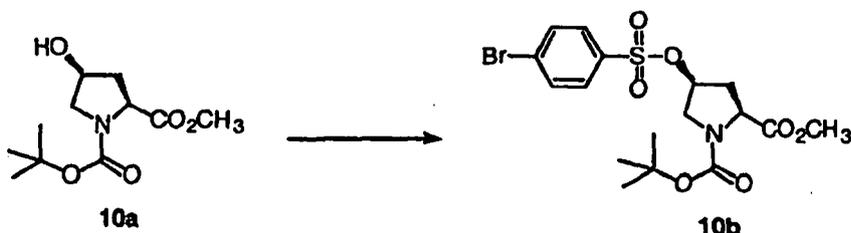


30

Etapa A

35

40



45

50

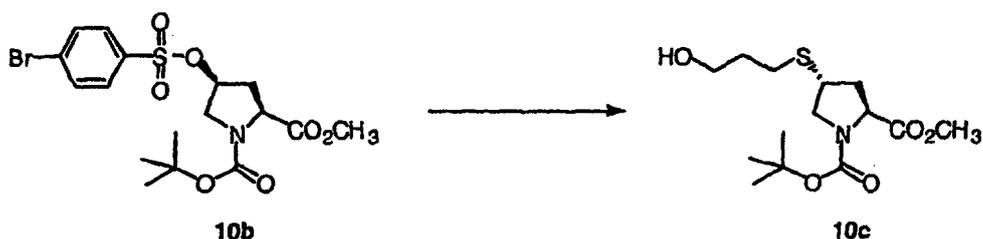
55

60

A una solución a 0°C de 10a (10 g, 41 mmoles) en diclorometano (60 mL) se le añadió trietilamina (28,68 mL, 204 mmoles) lentamente. Después se añadieron cloruro de 4-bromobencenosulfonilo (20,91 g, 82 mmoles) y DMAP (unos pocos cristales) y la temperatura se mantuvo a 0°C durante 30 min. La mezcla de reacción se dejó estar en el refrigerador (~5°C) durante la noche seguido de calentamiento lento a temperatura ambiente a lo largo de dos horas. En este momento el análisis TLC reveló el completo consumo de la sustancia de partida. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio, y una solución acuosa al 10% de ácido cítrico. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La mezcla bruta se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 100/0 a 95/5 para proporcionar 18,4 g (rendimiento 97%) del brosilato 10b en forma de un sólido de color blanco; RMN H¹ (mezcla de rotámeros, CDCl₃) 81,41 y 1,45 (2s, 9H), 2,40-2,50 (m, 2H), 3,59-3,69 (m, 5H), 4,33-4,37 y 4,46 (2dd, 1H), 5,11 (m, 1H), 7,72-7,74 (m, 4H); RMN C¹³ (mezcla de rotámeros, CDCl₃) δ 28,18, 28,27, 36,01, 36,98, 51,59, 52,03, 52,20, 52,35, 56,95, 57,22, 57,28, 78,35, 79,53, 80,66, 129,10, 129,26, 132,66, 135,66, 135,81, 153,25, 153,64, 171,45, 171,78; HRMS (FAB) Calcd. para C₁₇H₂₃NO₇SBr: 464,0379 (M+H)⁺. Encontrado: 464,0375.

65

Etapa B



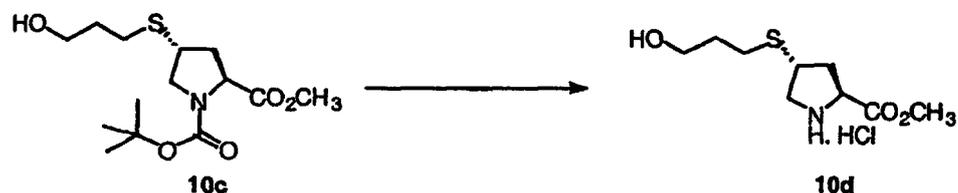
15

20

25

A una suspensión de hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 187 mg, 4,68 mmoles) en DMF a 0°C se le añadió 3-mercaptopropanol (0,42 mL, 4,85 mmoles) en atmósfera de argón. La mezcla se agitó durante 30 min mientras se mantenía la temperatura. Se añadió lentamente una solución del brosilato 10b (1,5 g, 3,23 mmoles) en DMF (volumen total =10 mL) y la mezcla se templó a temperatura ambiente a lo largo de 2 hrs. La reacción se sofocó vertiéndola en una solución fría de ácido cítrico al 10%. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo, la capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La sustancia bruta se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 85/15 para proporcionar 800 mg (rendimiento 78%) del sulfuro 10c en forma de un aceite; RMN H¹ (mezcla de rotámeros, CDCl₃) 81,41 y 1,47 (2s, 9H), 1,83-1,89 (m, 2H), 2,13-2,34 (m, 2H), 2,69 (t, 2H), 3,23-3,49 (m, 2H), 3,73-3,78 (m, 5H), 3,86-3,95 (m, 1 H), 4,33-4,37 y 4,42-4,46 (2dd, 1 H); RMN C¹³ (mezcla de rotámeros, CDCl₃) δ 28,21, 28,30, 32,15, 32,23, 36,65, 37,27, 40,45, 40,89, 52,16, 52,35, 52,50, 52,84, 58,32, 58,55, 61,22, 61,41, 80,35, 153,49, 153,99, 173,05, 173,23; HRMS (FAB) Calcd. para C₁₄H₂₆NO₅S: 320,1532 (M+H)⁺. Encontrado: 320,1528.

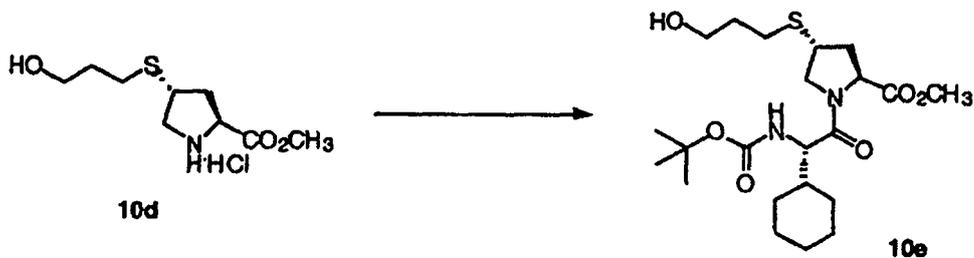
30 Etapa C



45

El compuesto deseado 10d se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, Etapa C. Las condiciones de reacción fueron 0°C, 1 hr. La sustancia se llevó a la siguiente etapa tal cual.

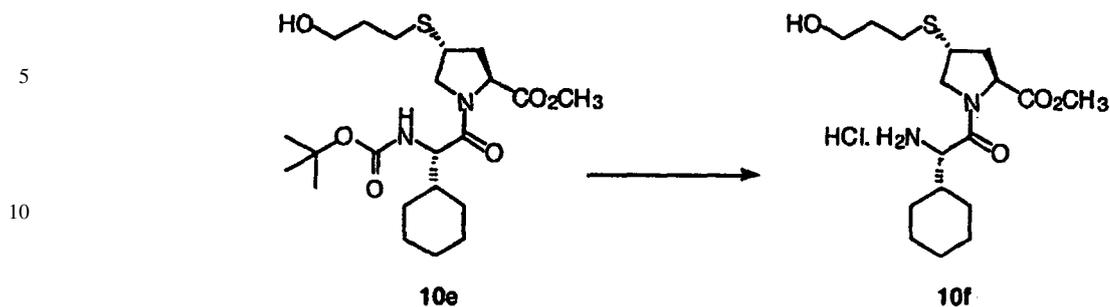
50 Etapa D



65

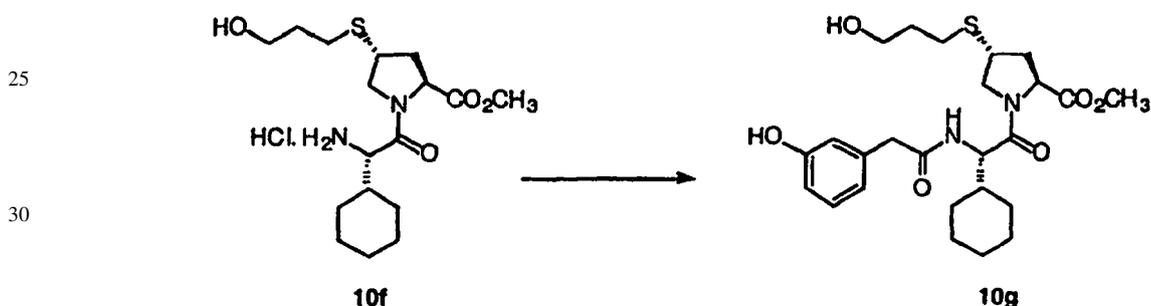
El compuesto deseado 10e se preparó mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D. La reacción de acoplamiento se llevó a cabo a -8°C durante 2 días. Después de la elaboración el producto 10e fue suficientemente puro mediante TLC y se obtuvo con un rendimiento de 80%; HRMS (FAB) Calcd. para C₂₂H₃₉N₂O₆S: 459,2529 (M+H)⁺. Encontrado: 459,2523.

Etapa E



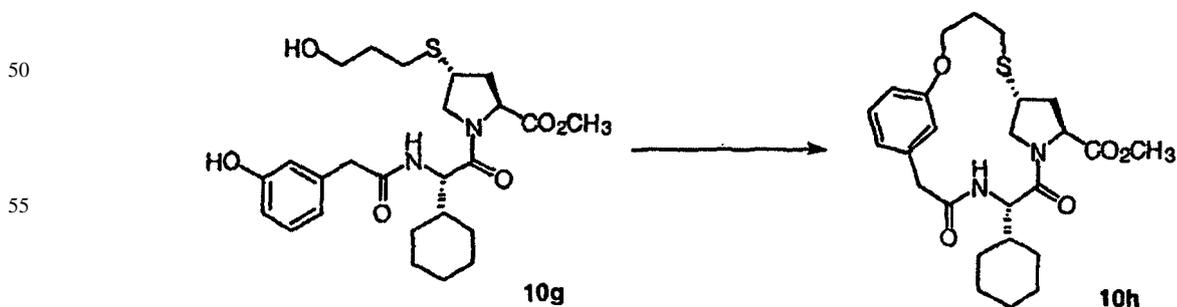
15 El compuesto deseado 10f se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia se hizo proseguir tal cual.

Etapa F



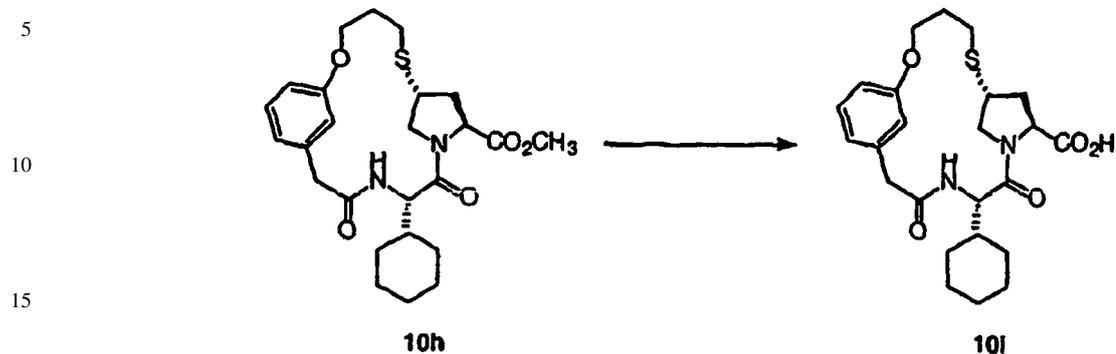
35 El compuesto deseado 10g se preparó mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa F. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 para proporcionar 10g con un rendimiento de 40% en forma de un sólido de color blanco; RMN H^1 (mezcla de rotámeros, $CDCl_3$) δ 0,90-1,26 (m), 1,66-1,88 (m), 2,22-2,31 (m, 2H), 2,73 (t, 2H), 3,47 (s), 3,5-3,55 (m), 3,65-3,75 (m), 3,88-3,94 (dd, 1H), 4,07-4,12 (dd, 1H), 4,53 (t, 1H), 4,62 (t, 1H), 6,73-6,80 (m, 4H), 7,17 (t, 1 H); RMN C^{13} (mezcla de rotámeros, $CDCl_3$) δ 25,80, 25,89, 26,14, 27,71, 28,55, 29,22, 31,88, 35,46, 40,58, 42,44, 43,16, 52,32, 52,90, 55,49, 58,46, 60,30, 114,59, 116,27, 121,01, 130,02, 135,90, 156,73, 171,25, 171,87, 171,96; HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{37}N_2O_6S$: 493,2372 (M+H) $^+$. Encontrado: 493,2364.

Etapa G



65 El compuesto deseado 10h se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. El producto bruto se suspendió en acetato de etilo/hexano 80/20, y la materia sólida se separó mediante filtración. El producto filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando hexano/acetona 80/20 para producir 22% de 10h en forma de un sólido. RMN H^1 ($CDCl_3$) δ 0,98-1,30 (m), 1,64-1,90 (m), 2,06-2,14 (m, 1H), 2,16-2,21 (dd, 2H), 2,62-2,70 (m, 2H), 3,38-3,46 (m, 2H), 3,60-3,66 (m, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,88-3,94 (dd, 1H), 4,07-4,15 (m, 1H), 4,22-4,29 (m, 1H), 4,48 (t, 1H), 4,60 (t, 1H), 5,97 (br t, 1H), 6,76-6,81 (m, 2H), 6,99 (br s, 1H), 7,20 (dd, 1H); HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{35}N_2O_5S$: 475,2267 (M+H) $^+$. Encontrado: 475,2260.

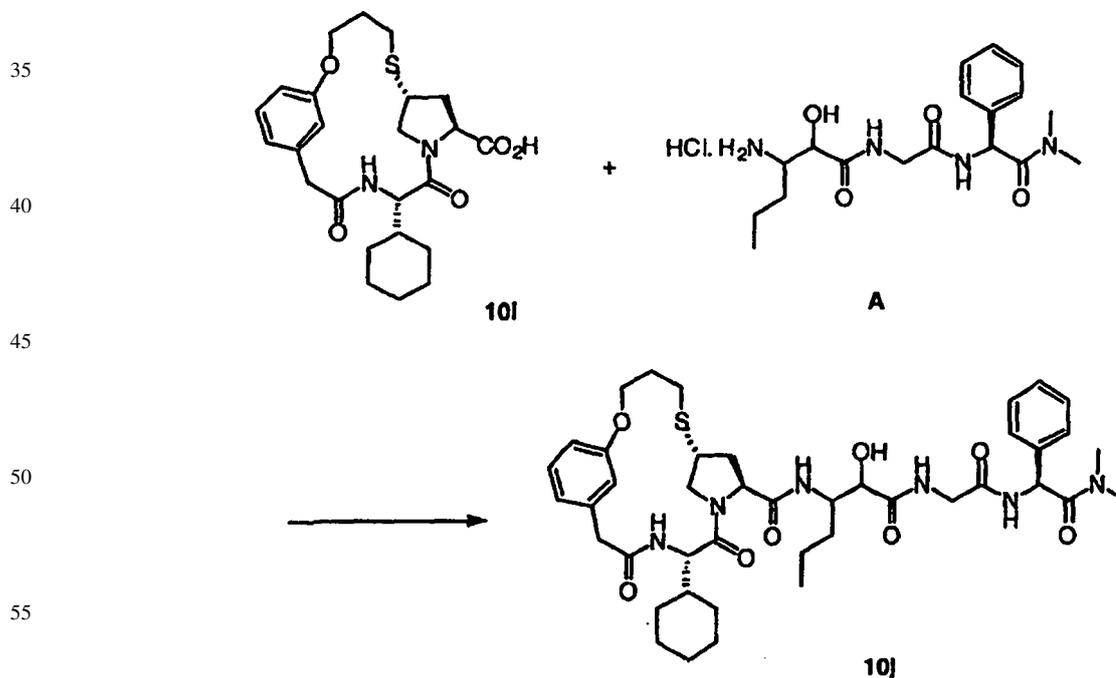
Etapa H



20 El intermedio avanzado 10i se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 1, Etapa H, con un rendimiento cuantitativo en forma de un sólido de color blanco; RMN ^1H (DMSO- d_6) δ 0,88-0,96 (m, 2H), 1,10-1,14 (m, 3H), 1,59-1,76 (m, 7H), 1,88-1,94 (m, 1H), 2,09 (t ap., 1 H), 2,61 (dd, 1H), 3,32 (d ap., 1H), 3,40-3,45 (m, 2H), 3,61 (d ap., 1H), 3,83 (q, 1H), 4,13 (t ap., 1 H), 4,19 (t, $J = 7,32 \text{ Hz}$, 1 H), 4,40 (t, $J = 9,52 \text{ Hz}$, 1H), 6,76-6,79 (m, 2H), 6,89 (s, 1H), 7,16 (t ap., 1H), 8,39 (d, 1H), 12,5 (s ancho, 1H); RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ 25,33, 25,41, 26,01, 26,44, 28,09, 28,62, 29,24, 34,90, 39,50, 41,40, 42,30, 53,18, 54,44, 58,06, 66,94, 114,88, 115,25, 122,28, 129,20, 137,84, 157,90, 169,25, 170,29, 172,59; HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 461,2110 (M+H) $^+$. Encontrado: 461,2104.

25

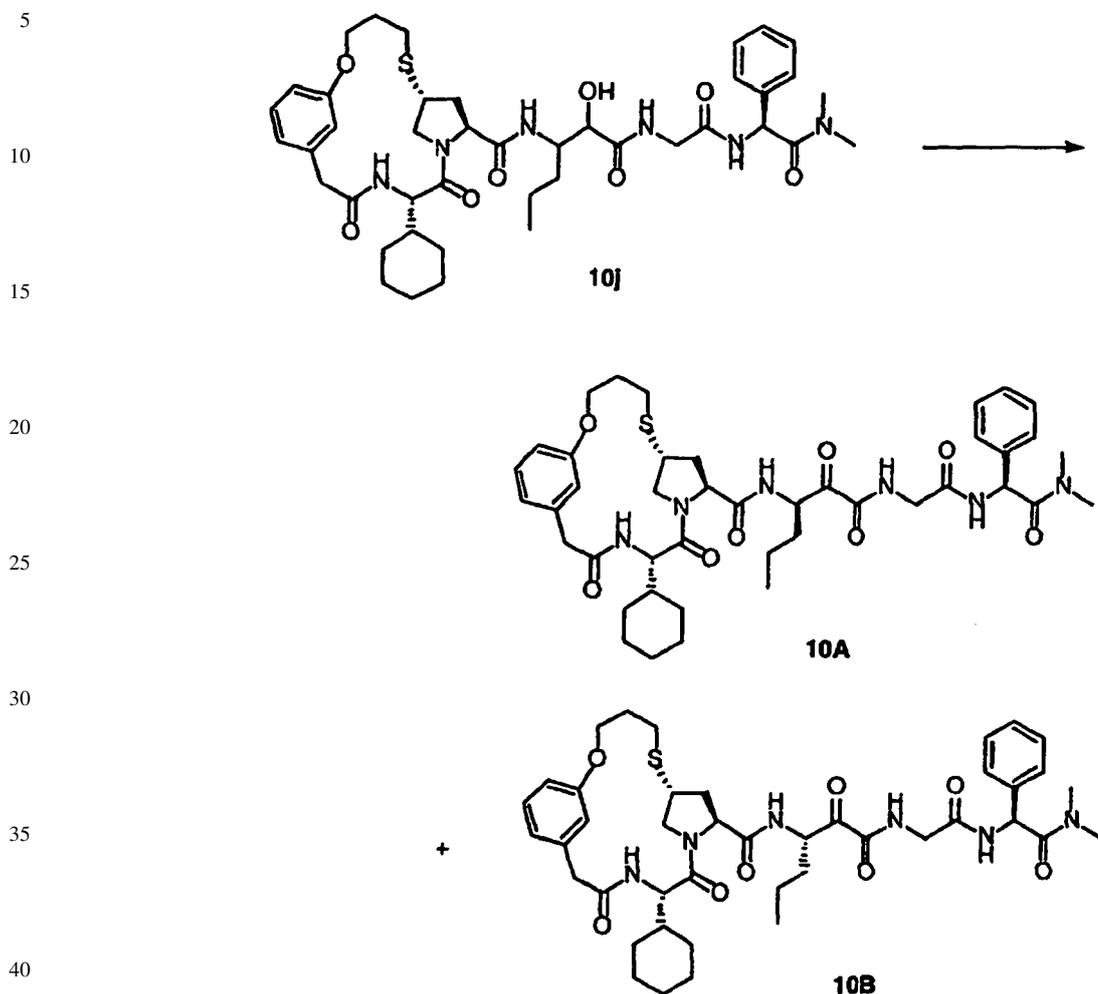
Etapa I



60 El compuesto 10j deseado se preparó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa I, con un rendimiento cuantitativo en forma de un sólido de color amarillo descolorido. La sustancia obtenida tras la elaboración fue suficientemente pura mediante TLC para manipulaciones adicionales; HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$: 807,4115 (M+H) $^+$. Encontrado: 807,4103.

65

Etapa J



45 A una solución de 10j (180 mg, 0,22 mmoles) en diclorometano se le añadieron sucesivamente DMSO (0,313 mL, 4,4 mmoles), DCC (908 mg, 4,4 mmoles), y ácido dicloroacético (36,4 μ L, 0,44 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Ésta se sofocó mediante la adición de una solución acuosa al 5% de ácido cítrico (5mL) y MeOH (1 mL) y se agitó durante 30 min. La materia sólida se separó mediante filtración, y el producto filtrado se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó *a vacío*. La sustancia bruta se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 100/0 a 98/2 para producir 105 mg (60%) de 10A y 10B en forma de una mezcla de diastereómeros. Una parte de la mezcla (36 mg) se sometió a cromatografía en columna de nuevo para proporcionar el isómero puro 10A (más polar, sólido de color blanco, 8 mg) y el isómero puro 10B (menos polar, sólido de color blanco, 6 mg), siendo el resto mezcla. HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$: 805,3959 (M+H)⁺. Encontrado: 805,3958 (10A), 805,3950 (10B).

50

55

60

65

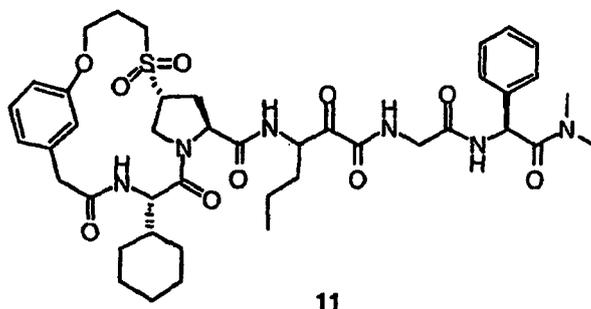
Ejemplo 11

Preparación del Compuesto de Fórmula 11

5

10

15

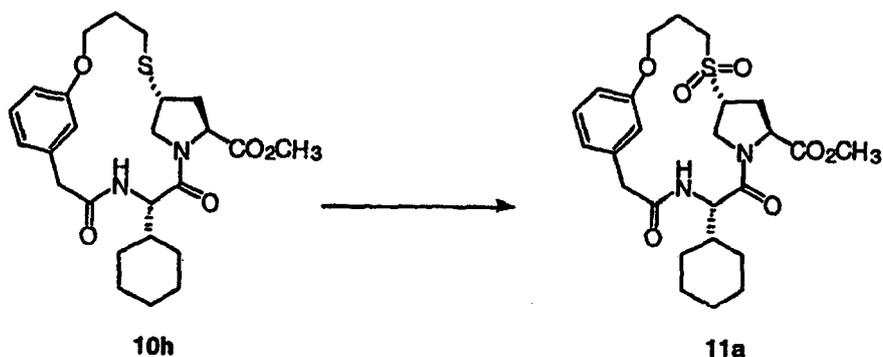


11

20

Etapa A

25



10h

11a

30

35

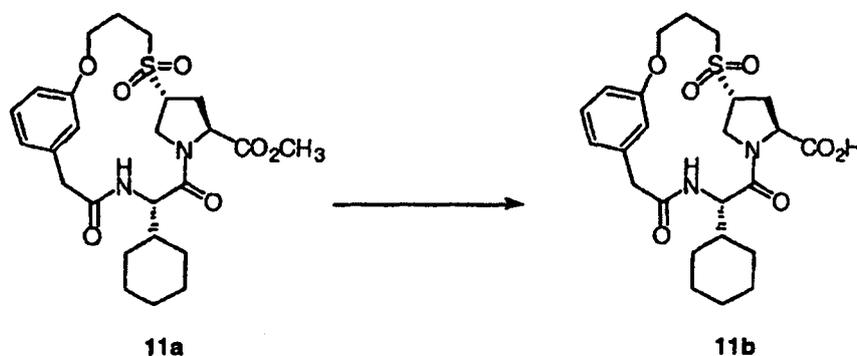
40

A una solución fría (0°C) de 10h (200 mg, 0,42 mmoles) en diclorometano (10 mL) se le añadió MCPBA (60%, 364 mg, 1,26 mmoles). La mezcla de reacción se templó lentamente a temperatura ambiente a lo largo de 16 hrs. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con una solución de bicarbonato de sodio saturado y bisulfito de sodio. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 proporcionó 11a (138 mg, rendimiento 65%). HRMS (FAB) Calcd. para C₂₅H₃₅N₂O₇S: 507,2165 (M+H)⁺. Encontrado: 507,2158.

45

Etapa B

50



11a

11b

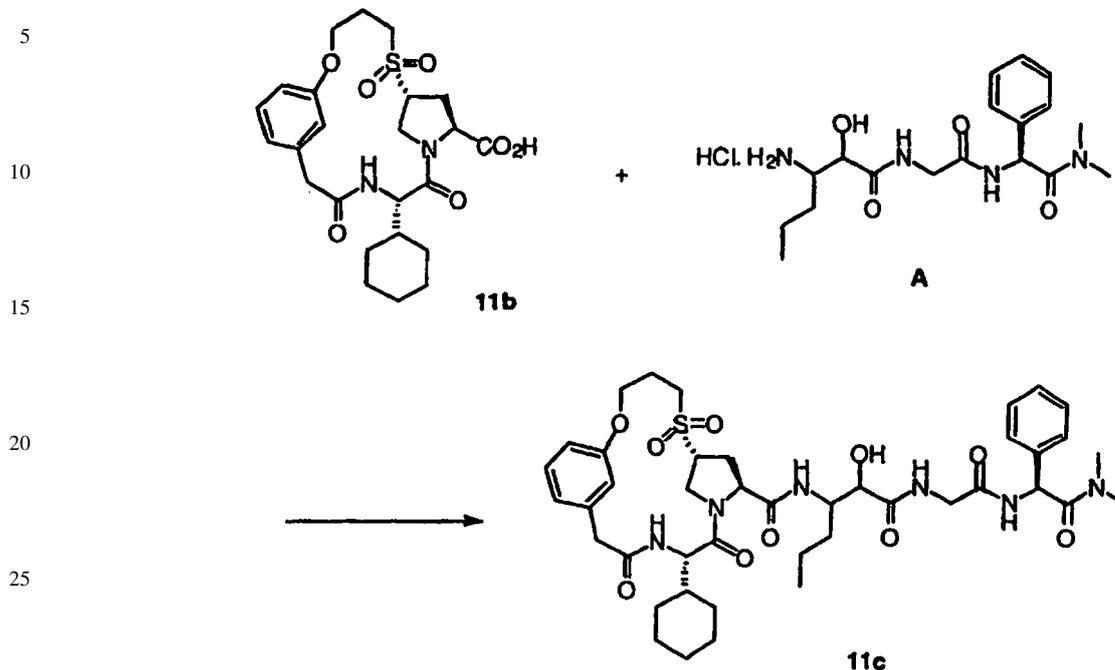
55

60

65

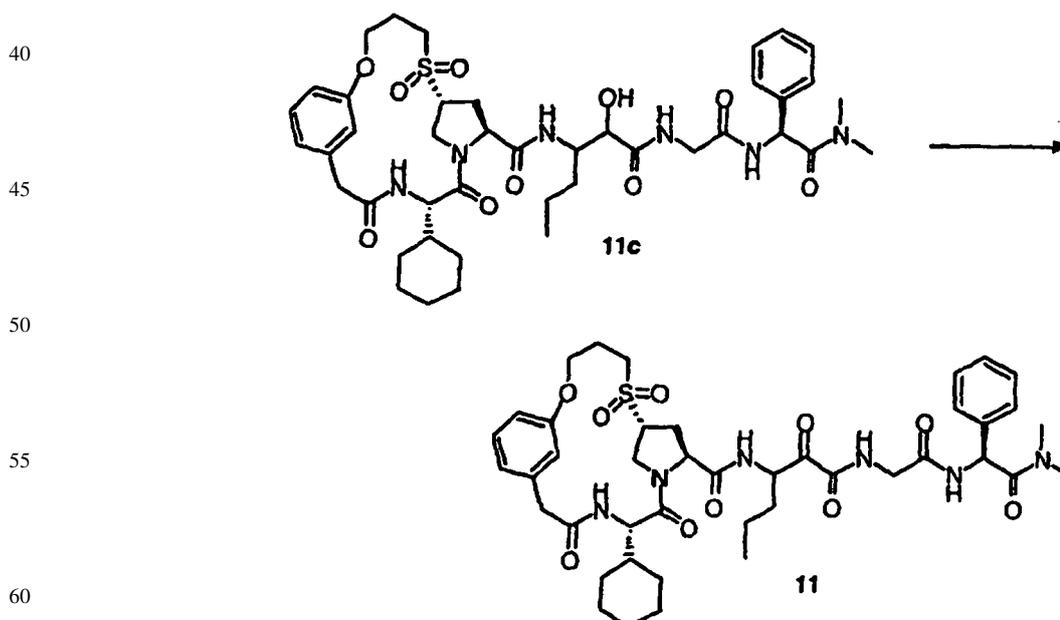
El producto 11b esperado se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 1, Etapa I con un rendimiento de 90% en forma de un sólido de color blanco; HRMS (FAB) Calcd. para C₂₄H₃₃N₂O₇S: 493,2008 (M+H)⁺. Encontrado: 493,2012.

Etapa C



30 El compuesto deseado 11c se preparó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J, con un rendimiento cuantitativo. La sustancia obtenida tras la elaboración fue suficientemente pura mediante TLC para manipulaciones adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{42}H_{59}N_6O_{10}S$: 839,4013 (M+H)⁺. Encontrado: 839,4019.

Etapa C



65 El producto 11 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 proporcionó 11 con un rendimiento de 4% (2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{42}H_{57}N_6O_{10}S$: 837,3857 (M+H)⁺. Encontrado: 837,3865.

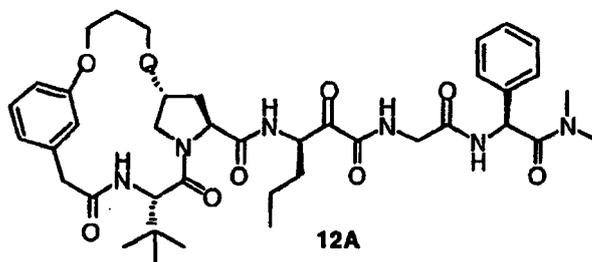
Ejemplo 12

Preparación de los Compuestos de Formulas 12A y 12B

5

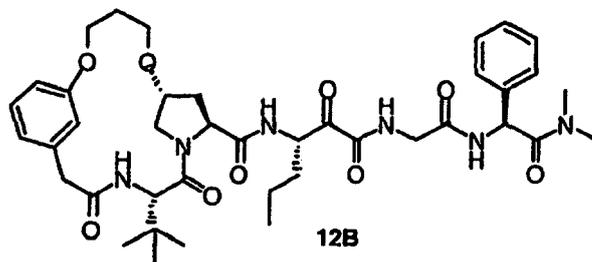
10

15



20

25

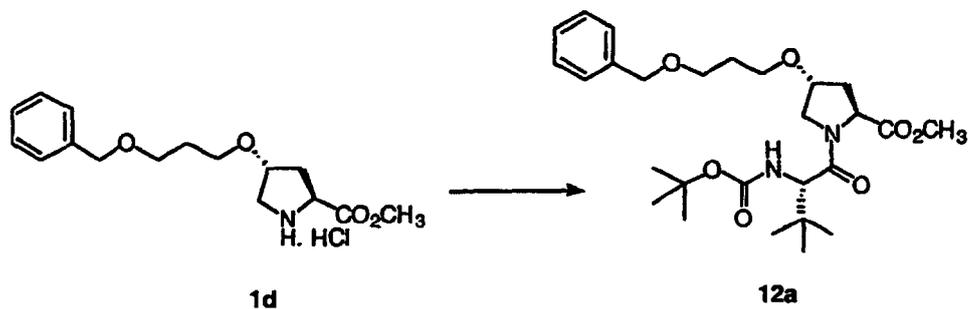


30

Etapa A

35

40



45

50

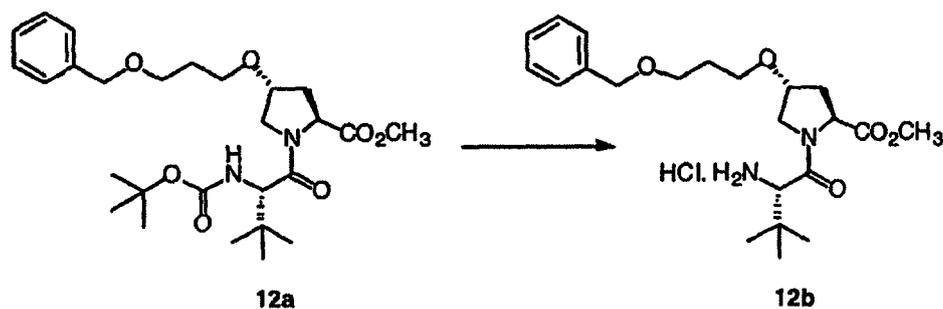
El producto 12a deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D utilizando N-boc-terc-butilglicina como pareja de acoplamiento. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 90/10 para proporcionar 12a con un rendimiento de 73%. RMN C^{13} (mezcla de rotámeros, $CDCl_3$) δ 26,20, 28,31, 29,07, 30,06, 34,94, 35,86, 37,06, 51,21, 52,16, 52,84, 57,78, 58,33, 65,95, 66,92, 72,97, 75,48, 79,45, 127,55, 127,66, 128,35, 138,45, 155,62, 165,06, 171,13, 172,54; HRMS (FAB) Calcd. para $C_{27}H_{43}N_2O_7$: 507,3070 (M+H)⁺. Encontrado: 507,3077.

55

Etapa B

60

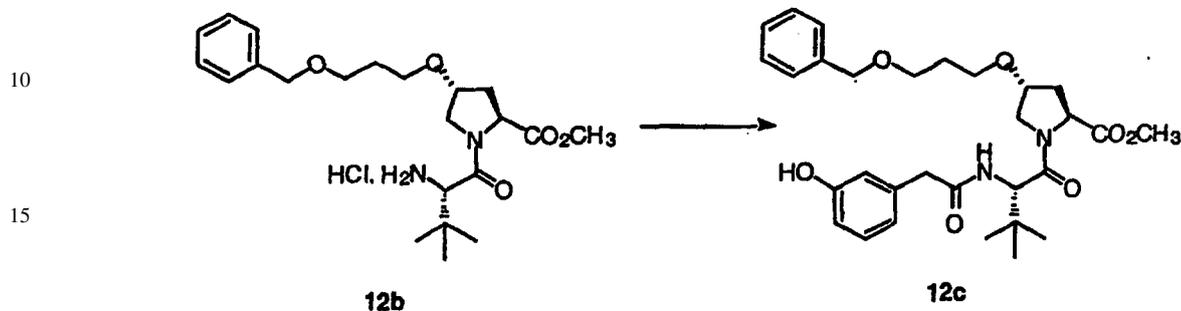
65



ES 2 317 900 T3

El compuesto 12b deseado se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia se hizo proseguir a la siguiente etapa.

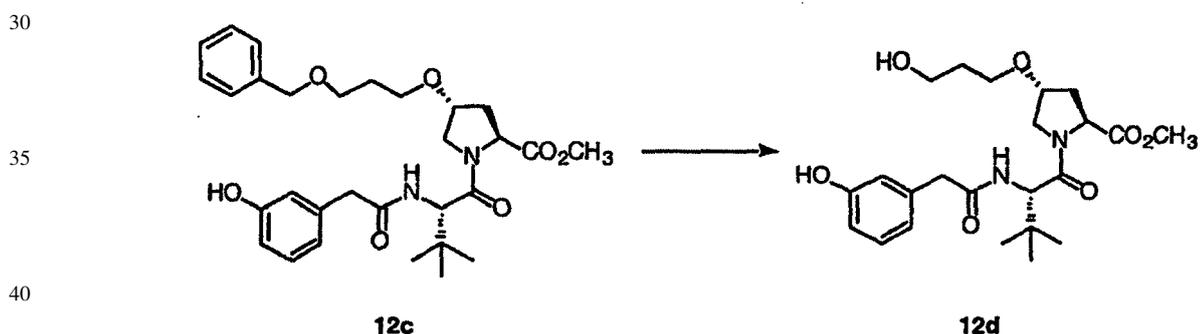
5 Etapa C



20 El producto 12c deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa F. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 99/1 para producir 12c en 91%. RMN C^{13} ($CDCl_3$) δ 26,24, 29,93, 34,95, 35,96, 43,48, 52,18, 53,09, 57,06, 58,06, 66,10, 66,92, 72,93, 77,43, 114,59, 116,14, 120,87, 127,58, 127,64, 127,74, 128,37, 130,02, 135,95, 138,39, 156,90, 170,65, 171,06, 172,38; HRMS (FAB) Calcd. para $C_{30}H_{41}N_2O_7$: 541,2914 (M+H)⁺. Encontrado: 541,2921.

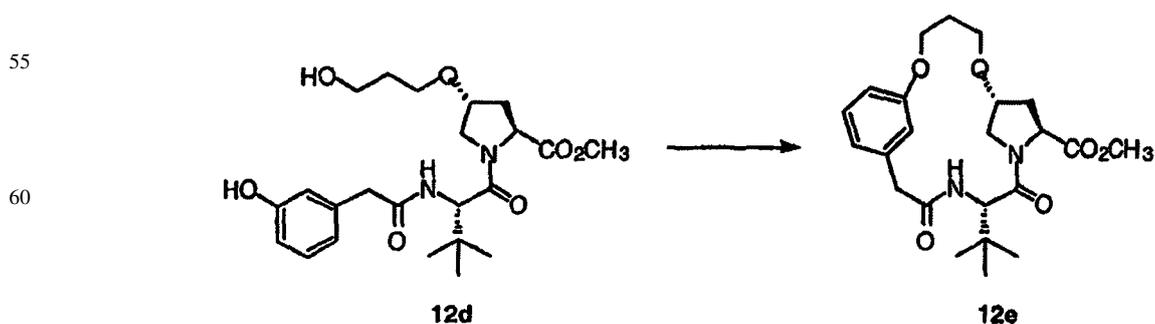
25

Etapa D



45 El producto 12d deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. El producto obtenido después de separar mediante filtración el catalizador fue suficientemente puro para las subsiguientes manipulaciones. RMN C^{13} ($CDCl_3$) δ 26,27, 32,09, 35,44, 35,67, 43,19, 52,21, 52,74, 57,60, 58,21, 58,75, 65,78, 77,74, 114,74, 116,02, 120,68, 130,07, 135,66, 157,11, 170,59, 172,05, 172,51; HRMS (FAB) Calcd. para $C_{23}H_{35}N_2O_7$: 451,2444 (M+H)⁺. Encontrado: 451,2436.

50 Etapa E



ES 2 317 900 T3

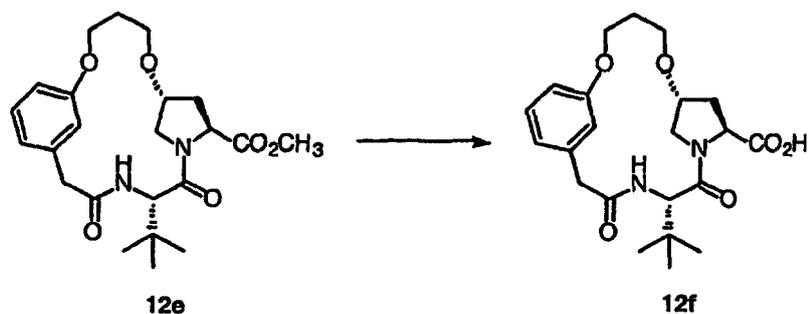
El producto 12e deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. La sustancia bruta se suspendió en acetato de etilo/hexano (aprox. 1/1) y la materia sólida no disuelta se separó mediante filtración. Se repitió de nuevo una vez este procedimiento, el producto filtrado se concentró y se aplicó a la columna en forma de una solución en diclorometano. La columna se hizo eluir con hexano/acetona 75/25 para producir 29% de 12e. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{23}H_{33}N_2O_6$: 433,2339 (M+H)⁺. Encontrado: 433,2339.

Etapa F

10

15

20



25

30

El intermedio avanzado 12f se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 1, Etapa I, con un rendimiento cuantitativo; RMN H^1 (DMSO- d_6) δ 0,96 (s, 9H), 1,66-1,70 (m, 1 H), 1,75-1,82 (m, 2H), 2,43 (dd, 1 H), 3,32-3,36 (m, 2H), 3,48-3,52 (m, 1 H), 3,55 (dd, 1 H), 3,84 (d ap., 1H), 3,99 (d ap., 1 H), 4,06-4,10 (m, 3H), 4,16 (dd, 1H), 4,69 (d, 1 H), 6,70-6,72 (m, 3H), 7,15 (t ap., 1 H), 8,42 (d, 1 H), 12,43 (s ancho, 1 H); RMN C^{13} (DMSO- d_6) δ 26,25, 28,54, 33,31, 34,97, 41,22, 53,96, 56,11, 56,97, 63,36, 64,96, 76,84, 111,94, 115,25, 121,73, 129,13, 138,36, 158,27, 169,85, 170,15, 173,04; HRMS (FAB) Calcd. para $C_{22}H_{31}N_2O_6$: 419,2182 (M+H)⁺. Encontrado: 419,2180.

Etapa G

35

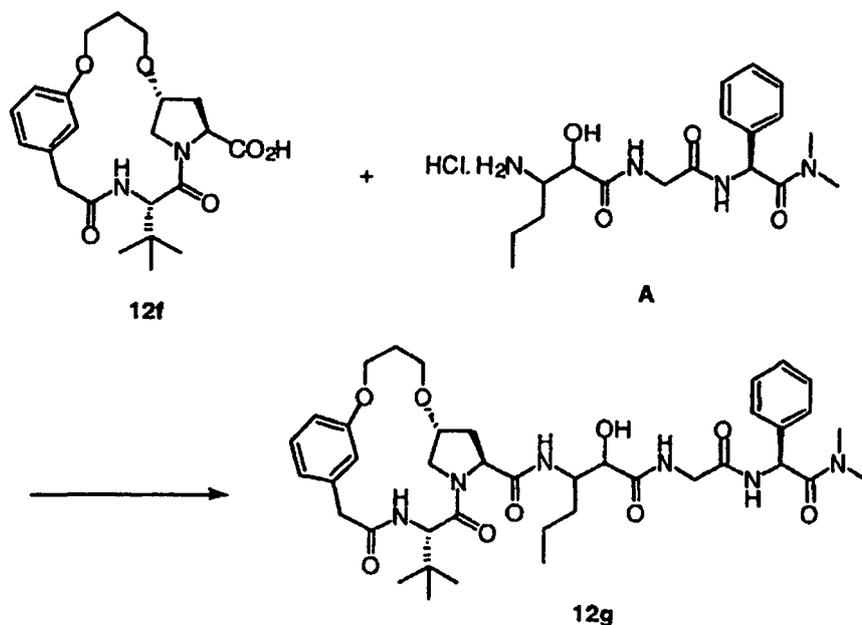
40

45

50

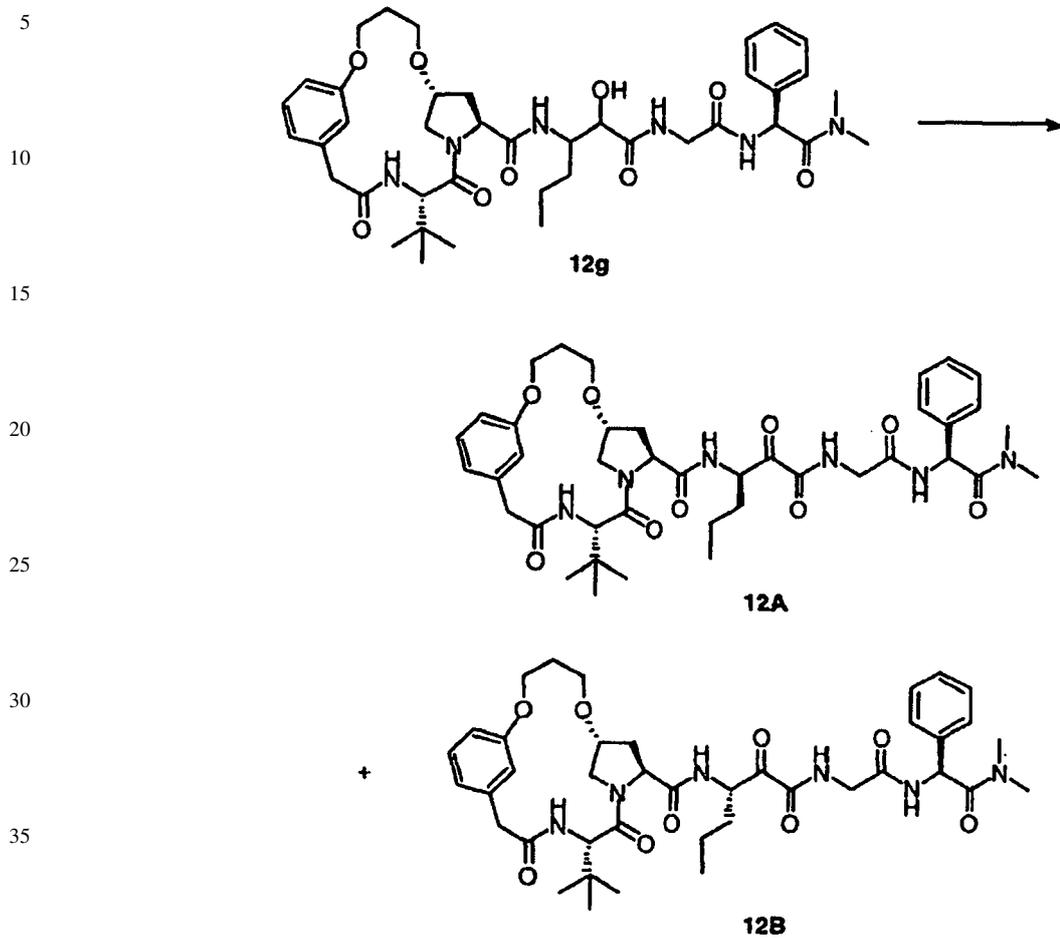
55

60



El producto 12g esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{57}N_6O_9$: 765,4187 (M+H)⁺. Encontrado: 765,4175.

Etapa H



Los productos deseados 12A y 12B se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 a 96/4 proporcionó los isómeros separados 12A y 12B, y algo de mezcla. Rendimiento combinado = 57% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{55}N_6O_9$: 763,4031 (M+H)⁺. Encontrado: 763,4040 (12A), 763,4047 (12B).

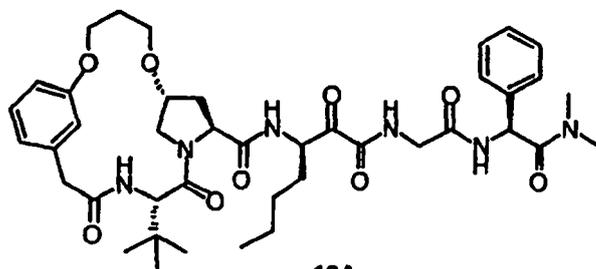
Ejemplo 13

Preparación de los Compuestos de Formulas 13A y 13B

5

10

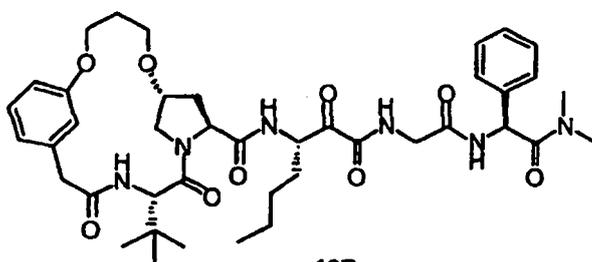
15



13A

20

25



13B

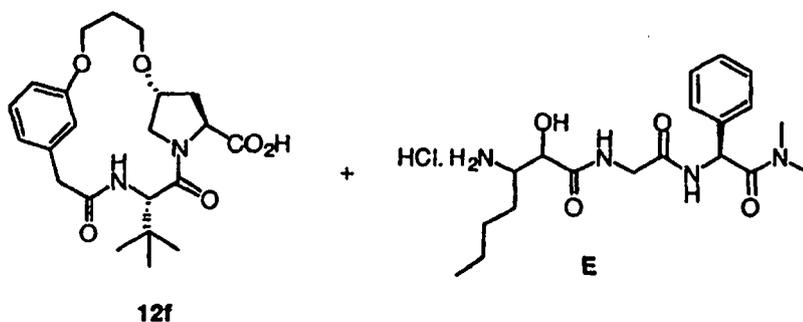
30

Etapa A

35

40

45

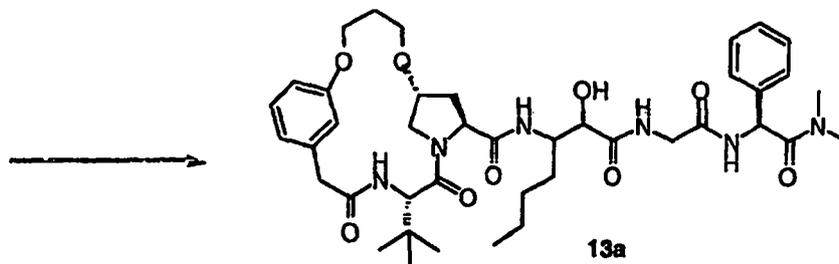


12f

E

50

55



13a

60

65

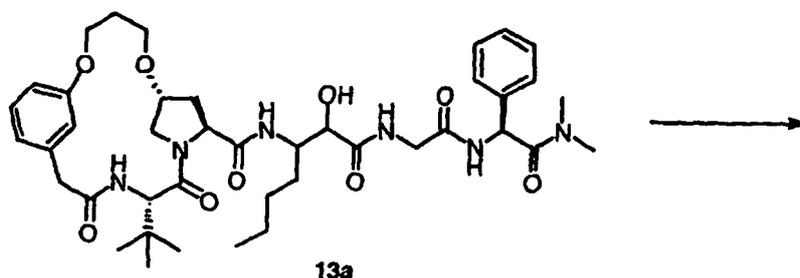
El producto 13a esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{41}H_{59}N_6O_9$: 779,4344 (M+H)⁺. Encontrado: 779,4350.

Etapa B

5

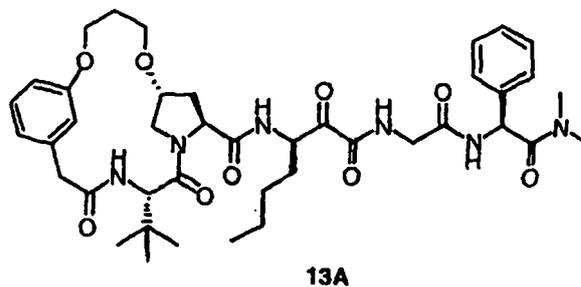
10

15



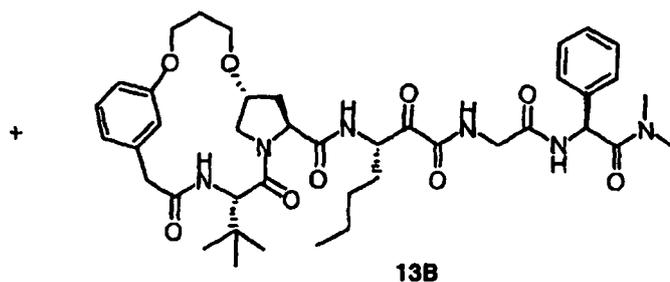
20

25



30

35



40

Los productos 13A y 13B deseados se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 100/0 a 96/4 proporcionó los isómeros separados 13A y 13B, y algo de mezcla. Rendimiento combinado = 50% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{41}H_{57}N_6O_9$: 777,4187 (M+H)⁺. Encontrado: 777,4177 (13A), 777,4185 (13B).

45

Ejemplo 14

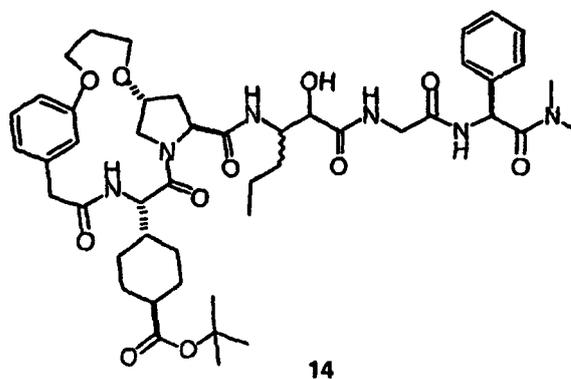
Preparación del Compuesto 14

50

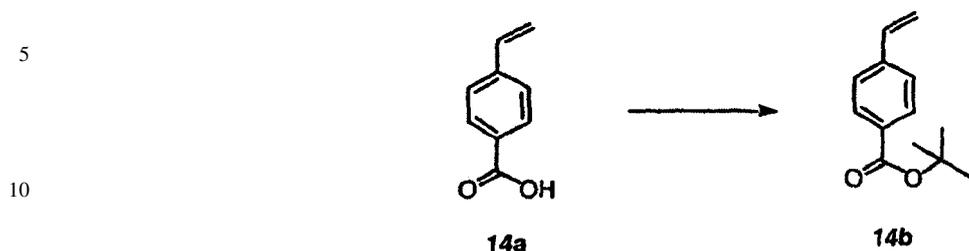
55

60

65



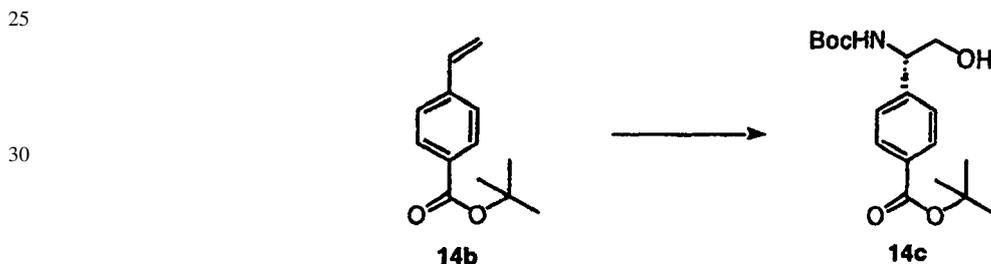
Etapa A



15 Una solución de ácido vinilbenzoico 14a (10 g, 68 mmoles) en benceno seco (150 mL) se trató con *di*terc-butilacetato de DMF (69 g, 340 mmoles, 5,0 equiv.) y se calentó a reflujo durante 4h. La mezcla de reacción se concentró *a vacío* y se diluyó con NaOH acuoso (1M, 300 mL). La mezcla de reacción se extrajo en éter dietílico (3x100 mL). La capa orgánica combinada se extrajo con NaOH acuoso (1 M, 100 mL), H₂O (2x100 mL), salmuera (1x100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío. El residuo se destiló a presión reducida para producir 14b 9,2 g (66,2%) de un aceite incoloro.

20

Etapa B



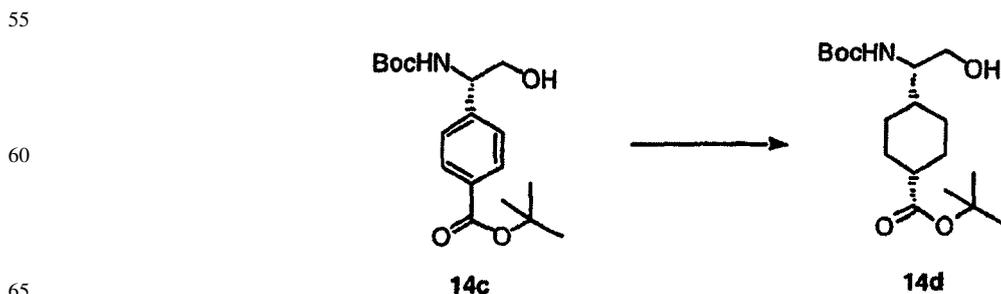
35 Una solución de carbamato de terc-butilo (5,96 g, 50,9 mmoles) en 1-PrOH (68 mL) se trató con NaOH acuoso (128 mL, 0,41 M) e hipoclorito de terc-butilo (5,5 g, 50,9 mmoles). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió (DHQ)₂Phal (780 mg, 1,00 mmoles) en 1-PrOH (64 mL). Se añadió una solución de 4-vinilbenzoato de terc-butilo 14b en 1-PrOH (119 mL) seguido de K₂OsO₄·DH₂O (248 mg, 0,7, mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 4-5 h. La reacción viró a color verde y toda la sustancia de partida desapareció con la formación de un nuevo producto. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se diluyó con H₂O (300 mL) y se extrajo con EtOAc (3x100 mL). La capa orgánica combinada se extrajo con HCl acuoso (200 mL), salmuera (100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró, se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía (SiO₂, EtOAc/Hexanos 1:2) para producir 14c en forma de un sólido incoloro (4,6 g, 82%). RMN H¹ (CD₃OD, δ) 7,90 (d, 2 H, J=6,0 Hz), 7,40 (d, 2 H, J=6,3 Hz), 7,22 (d ancho, 1 H, J=5,7 Hz), 4,69 (s ancho, 1 H), 3,71-3,62 (m, 2 H) 1,58 (s, 9 H), 1,39 (s, 9 Hz); RMN C¹³ (CD₃OD 75 MHz) 169,7, 160,5, 149,8, 134,5, 132,9, 130,4, 84,7, 82,9, 68,7, 60,7, 31,25, 30,9 MS (FAB) 675,2 ([2M+1]⁺, 15), 338 ([M+1]⁺, 15), 282 (65), 225 (50), 165 (100); HRMS calculado para C₁₈H₂₈NO₅ (M+1): 338,1887; encontrado 338,1967.

40

45

50

Etapa C

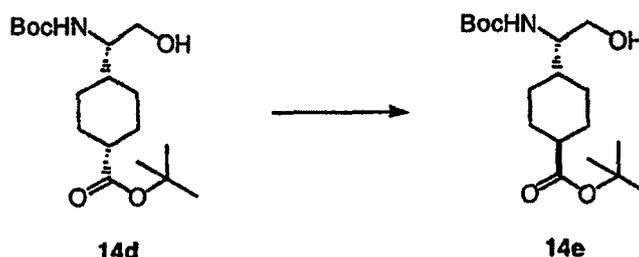


ES 2 317 900 T3

Una solución del compuesto aromático 14c (1,0 g, 2,96 mmoles) en CH₃OH (20 mL) se trató con Rh/C (10% p/p, 100 mg) y se hidrogenó (4,08 atm.) durante 2d. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de celite y el residuo se concentró a vacío para producir 14d. El producto bruto se purificó mediante cromatografía (SiO₂, EtOAc/Hex 2:3) para producir el compuesto *cis* 14d (830 mg, 83%) que se purificó adicionalmente mediante cristalización en hexanos.

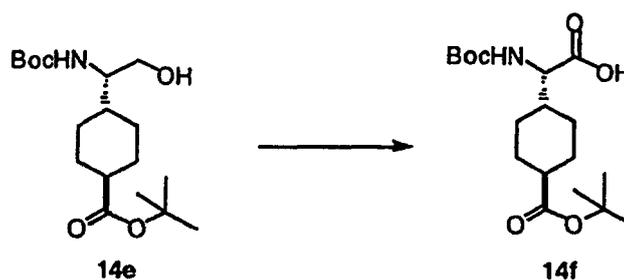
5 RMN H¹ (CD₃OD, δ) 6,31 (d, 1 H, J=6,9 Hz), 3,58-3,49 (s, 2 H), 3,40 (d ancho, 1 H, J=4,8 Hz), 2,48-2,46 (m, 1 H), 2,1-1,98 (m, 2 H), 1,61-1,2 (m, 7 H), 1,45 (s, 9 H), 1,42 (s, 9 H); RMN C¹³ (CD₃OD, 75 MHz) 176,2, 158,5, 81,2, 79,8, 63,1, 57,2, 41,8, 38,8, 28,8, 28,3, 27,7, 27,5, 25,9, MS (FAB) 687,2 ([2M+1]⁺, 5), 344 ([M+1]⁺, 20), 232 (40), 188(100), 107 (13); HRMS calculado para C₁₈H₃₄NO₅ (M+1): 344, 2437; Encontrado: 344,2444, CHN calculado para C₁₈H₃₃NO₅ C=64,07%, H= 8,07%,N= 4,15% Encontrado C=64,32%, H=8,21%, N=4,32%.

Etapa E



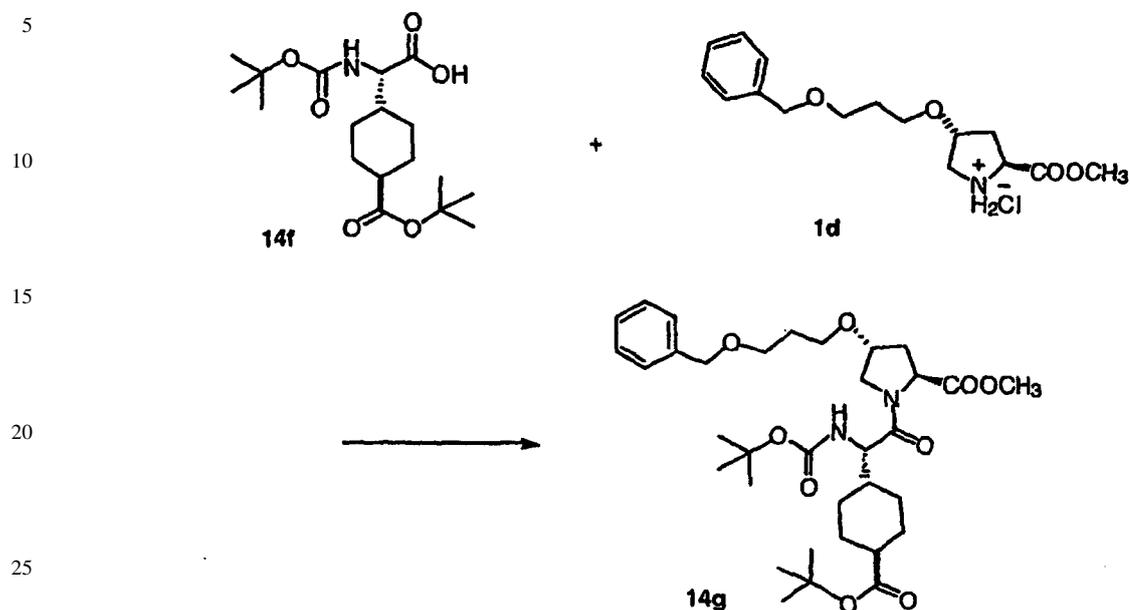
Una solución del aminoalcohol 14d (3,3 g, 11,08 mmoles) en THF seco (200 mL) se enfrió a -78°C (hielo seco/acetona, temperatura interna -68°C) se trató con LDA (44 mL, solución 2M en heptanos, 88 mmoles, 8,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 2 h y se sofocó con CH₃OH (20 mL). La mezcla de reacción se trató con HCl acuoso (150 mL, 1 M) y se extrajo con éter (3x100 mL). La capa de éter combinada se extrajo con salmuera (50 mL), se secó (MgSO₄), se concentró a vacío y se purificó mediante cristalización en hexanos en ebullición. El sólido separado de las aguas madre fue predominantemente el estereoisómero *cis*, donde la concentración de las aguas madre produjo el isómero *trans* puro. La secuencia anterior se repitió dos veces más para obtener 2,7 g del compuesto *trans* y 600 mg de mezcla *cis/trans*. RMN C¹³ (CDCl₃, 75 MHz) 175,3,156,6, 79,8, 63,6, 57,0, 44,1, 38,3, 37,7, 28,9, 28,6, 28,4, 28,1, 26,6, 26,1. MS (electropulverización) 344 (M⁺, 50), 288 (50) 232 (90), 188 (100).

Etapa F



Una solución del alcohol 14e (2,6 g, 7,6 mmoles) en CH₃CN (150 mL) y CCl₄ (150 mL) se trató con H₂O (22 mL), se enfrió a 0°C, se trató con ácido peryódico (7,05 g, 30,92 mmoles, 4,0 equiv.) y RuCl₃·3H₂O (60 mg, 0,3 mmoles, 4% en % en moles). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 3h, y se concentró a vacío. El residuo se diluyó con agua (150 mL) y se extrajo con EtOAc (3x100 mL). La capa orgánica combinada se extrajo con H₂O (100 mL) y con NaOH acuoso (1M, 3x100 mL). Las capas acuosas combinadas se acidularon con HCl (6M, pH~1) y se extrajeron con EtOAc (3x100 mL). Las capas de acetato de etilo se reunieron, se extrajeron con salmuera (100 mL), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a vacío para producir el ácido 14f (1,8 g, 66%) que se utilizó para acoplamiento adicional sin purificación adicional. MS (FAB) 380,2 ([M+Na]⁺, 30) 358 ([M+1]⁺, 5), 302 (20), 258 (20), 246 (100), 202 (70), 200 (20).

Etapa G

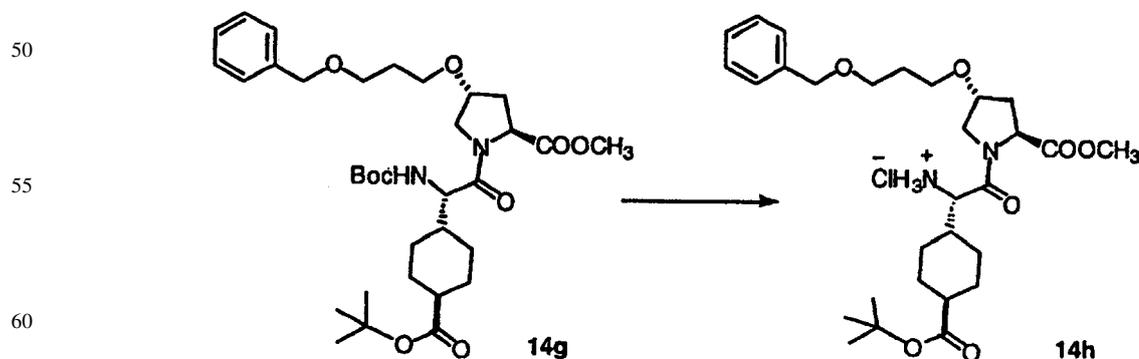


30 Una solución de Boc-*trans*-4-*tert*butylcarboxil-ciclohexilglicina 14f (1,9 g, 5,3 mmoles) en CH₂Cl₂ (30 mL) se trató con el compuesto de prolina 1d (1,92 g, 5,85 mmoles, 1,1 equiv.) y se enfrió a 0°C. La mezcla de reacción se trató con base de Hünig (1,51 g, 11,7 mmoles, 2,2 equiv., 2,15 mL) seguido de la adición de reactivo BOP (2,6 g, 5,85 mmoles, 1,1 equiv.) La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 12 h, se diluyó con HCl acuoso (1M, 100 mL) y se extrajo con EtOAc (3x100 mL). Las capas de acetato de etilo combinadas se extrajeron con NaOH acuoso (1M, 100 mL), salmuera (100 mL) se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, se concentraron a vacío y se purificaron mediante cromatografía (SiO₂, EtOAc/Hexanos 2:3) para producir 14g en forma de una espuma incolora (1,8 g, 54%); RMN H¹ (CD₃OD, δ, mezcla de rotámetros) 7,32-7,23 (m, 5 H), 6,64 (d, 1 H, *J*=9,0Hz), 4,47-4,39 (m, 3 H), 4,19-4,04 (m, 3 H), 3,74 (s, 3 H), 3,66-3,56 (m, 4 H), 2,55-2,10 (m, 2 H), 1,99-1,00 (m, 12H), 1,42 (s, 9 H), 1,40 (s, 9 H). RMN C¹³ (CD₃OD, δ, mezcla de rotámetros), 175,6, 174,6, 172,4, 172,0, 156,4, 138,5, 128,1, 127,5, 127,4, 127,3, 79,8, 79,7, 79,0, 77,5, 72,5, 66,7, 65,4, 58,1, 56,6, 52,1, 51,3, 43,9, 40,4, 39,4, 38,6, 34,6, 29,8, 28,4, 27,9, 27,3, 26,1, 25,4, 24,5; MS (FAB) 633 ([M+1]⁺, 11), 533 (55), 477 (24), 428 (5), 294 (100), 234 (12) 156 (40), 128 (39); CHN Calcd. para C₃₄H₅₂NO₉ C 64,53% H 8,28% N 4,43%; Encontrado C 64,41% H 8,00% N 4,19%.

35

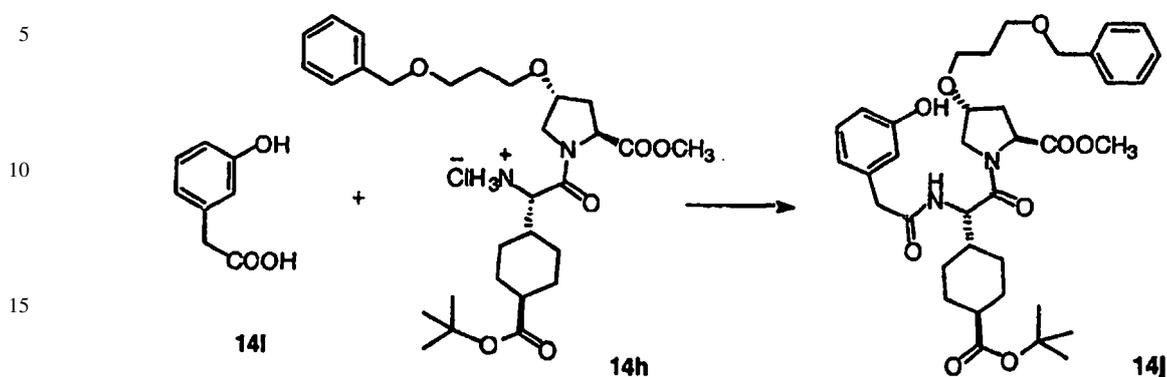
40

Etapa H



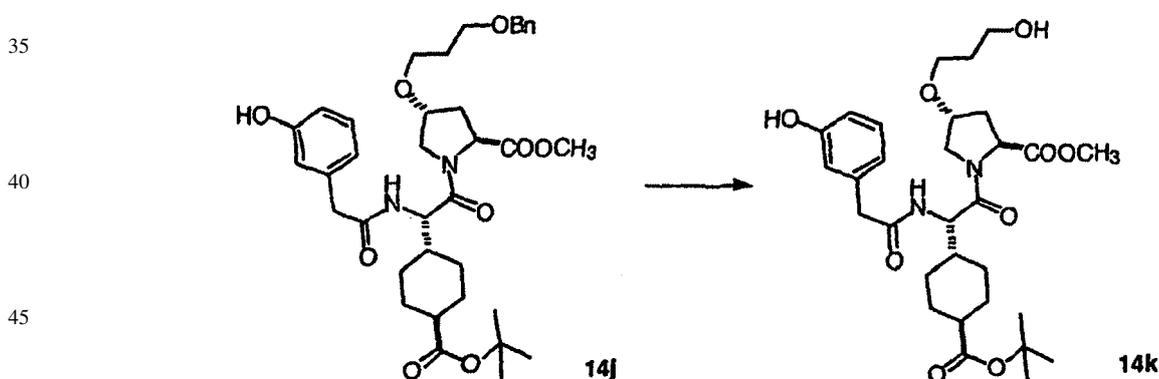
65 Una solución de Boc-*trans*-4-*tert*-butylcarboxi-ciclohexilglicina 14g (1,8 g) en HCl (solución 4M en dioxano, 60 mL) se agitó a rt. durante 4-5 h. La reacción estuvo seguida de TLC (EtOAc/Hex 3:7) para la desaparición de la sustancia de partida y la aparición de un producto de la línea base. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se secó en la bomba durante la noche. El sólido 14h se utilizó para los acoplamiento sin purificación adicional.

Etapa I



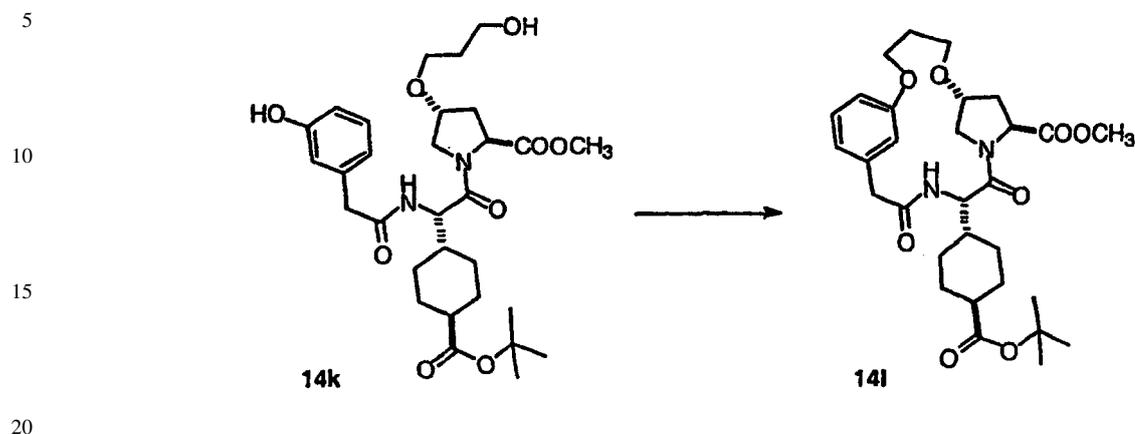
Una solución de ácido 3-hidroxifenilacético 14l (501 mg, 3,29 mmoles, 1,8 equiv.) e hidrocloreto de amina 14h (1,79 g, 2,99 mmoles) en CH_2Cl_2 seco (30 mL) se trató con base de Hünig (850 mg, 6,59 mmoles, 2,20 equiv., 1,2 mL) y reactivo BOP (1,5 g, 3,29 mmoles, 1,1 equiv.) a 0°C y se agitó a rt. durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se diluyó con HCl acuoso (1M, 250 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x100 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaOH acuoso (1x100 mL), salmuera (1x100 mL), se secaron (Na_2SO_4) se filtraron, se concentraron a vacío y se purificaron mediante cromatografía (EtOAc/Hexanos 1:1) para producir 14j en forma de un sólido incoloro (710 mg, 36%).

Etapa J



Una solución del compuesto acoplado 14j (710 mg, 1,1 mmoles) en CH_3OH (50 mL) se trató con catalizador de Pearlman ($\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ al 10%) y se hidrogenó (H_2 , 2,72 atm.) durante 12h. El Pd/C se separó mediante filtración a través de un tapón de celite y el producto filtrado se concentró y se utilizó para la siguiente ciclación sin purificación adicional R_f 0,12 (acetona/Hexanos 3:7); RMN ^1H (CD_3OD , δ , mezcla de rotámeros) 8,25 (s ancho, 1H), 7,01 (t ancho, 1 H, $J=7,2$ Hz), 6,72 (s ancho, 1 H), 6,65 (d, 2 H, $J=7,8$ Hz), 4,79-4,70 (s ancho, 3 H), 4,55-4,41 (s ancho, 2 H), 4,20-4,12 (s ancho, 2 H), 3,77 (s, 3 H), 3,66-3,44 (m ancho, 6 H) 2,43-1,04 (m ancho, 14 H) 1,40 (s, 9 H); RMN ^{13}C (CD_3OD , δ , mezcla de rotámeros): 175,5, 174,6, 172,6, 172,4, 171,3, 161,1, 157,3, 136,8, 136,7, 129,3, 120,0, 115,7, 113,6, 100,0, 94,8, 79,9, 79,8, 77,5, 65,1, 58,5, 58,2, 55,6, 55,5, 54,3, 52,2, 51,5, 43,9, 42,1, 39,4, 35,0, 32,4, 28,6, 28,4, 27,5, 27,2, 27,1, 26,1, 25,2, 25,0; MS (FAB): 577 ($[\text{M}+1]^+$, 70), 521 (10), 443 (10), 387 (10), 374 (10), 318 (15), 290 (100), 248 (30); HRMS calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_9$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 577,3125; Encontrado 577,3133.

Etapa K

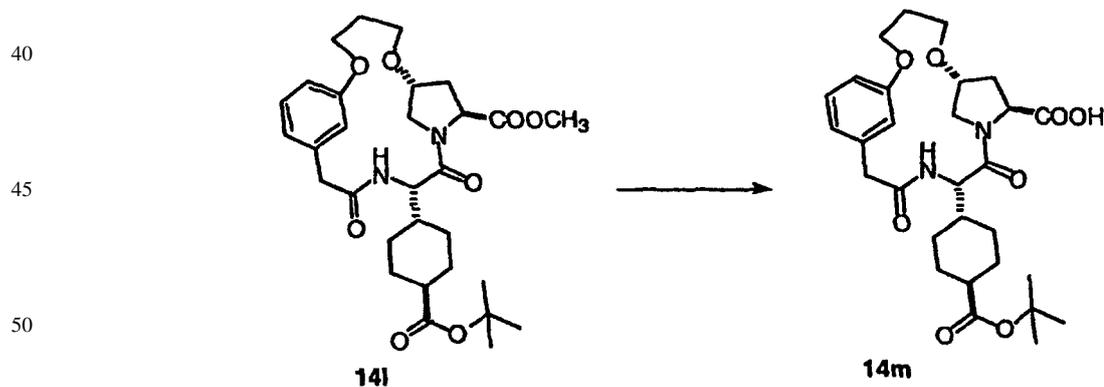


Una solución del alcohol 14k (600 mg, 1,05 mmoles) y ADDP (787 mg, 3,12 mmoles, 3,0 equiv.) en CH_2Cl_2 (30 mL) se trató con Ph_3P (818 mg, 3,12 mmoles, 3,0 equiv.) bajo una presión positiva de N_2 seco a 0°C . La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 24 h, se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (SiO_2 , acetona/Hexanos 2:3) para producir un sólido incoloro 14l (120 mg, 22%) del producto cíclico; R_f 0,73 (acetona/Hexanos 1:1); RMN ^1H (CD_3OD , δ) 7,13 (t, 1 H $J=7,8$ Hz), 6,76 (s, 1 H), 6,71 (t, 2 H, $J=8,1$ Hz), 4,58 (d, 1 H, $J=9,9$ Hz), 4,37 (dd, 1 H, $J=7,8$, 2,7 Hz), 4,23-4,11, (m, 4 H), 3,74-3,61 (m, 2 H), 3,66 (s, 3 H), 3,59-3,40 (m, 2 H), 2,54-2,41 (m, 1 H), 2,19-2,10 (m, 1 H), 1,98-1,42 (m, 10 H), 1,43 (s, 9 H); RMN ^{13}C (CD_3OD , δ) 175,6, 172,4, 172,1, 170,8, 159,0, 137,0, 129,1, 121,7, 115,7, 112,2, 94,8, 79,8, 77,4, 65,2, 64,0, 57,6, 55,2, 53,8, 51,3, 44,0, 41,5, 39,1, 33,3, 28,7, 28,1, 26,9; MS (electropulverización) 559 ($[\text{M}+1]^+$, 100) 327 (10), 189 (20); HRMS calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_8$ ($\text{M}+1$) $^+$: 559,3019; Encontrado: 559,3025; CHN calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ C= 63,47%, H=7,63%, N=4,93%; Encontrado C=63,57%, H=7,46%, N=4,93%.

25

30

Etapa L



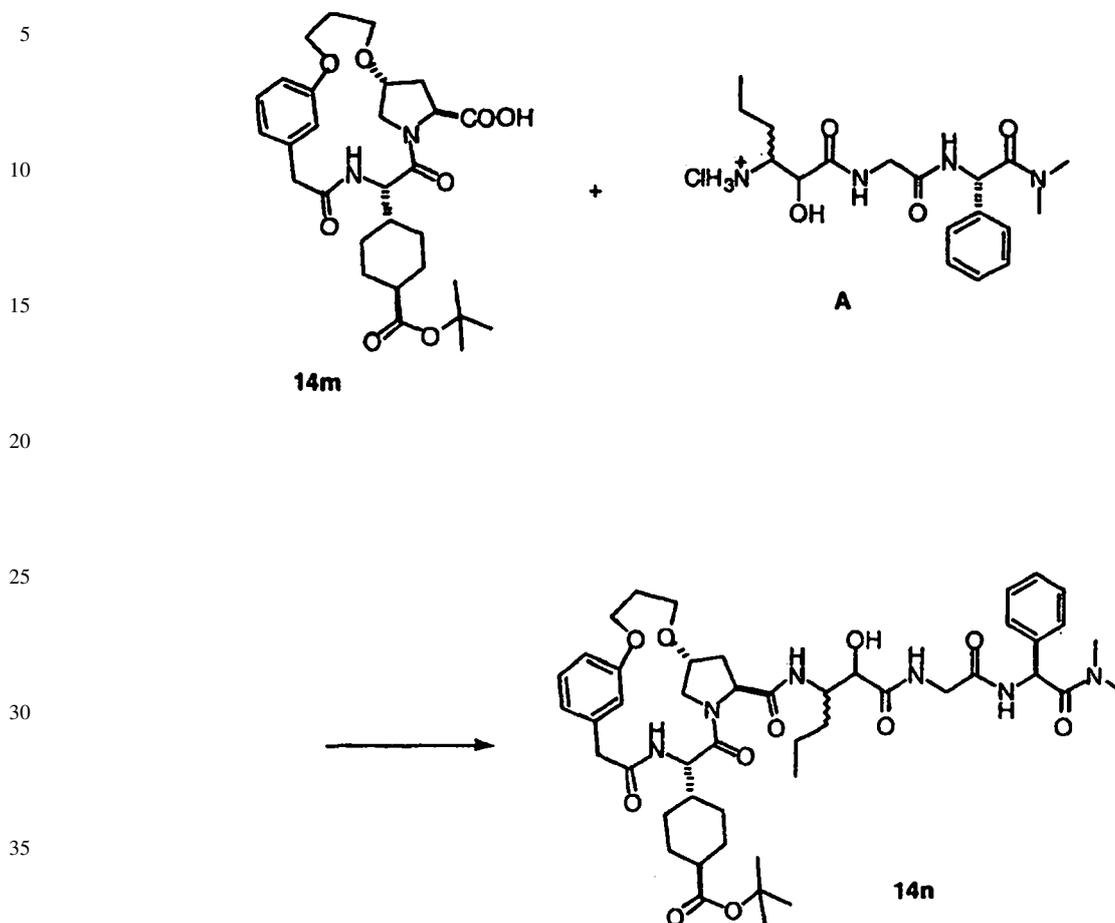
Una solución del éster metílico 14l (120 mg, 0,22 mmoles) en THF (5,0 mL) y H_2O (1,0 mL) se trató con LiOH (20 mg, 0,5 mmoles, 2,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 3h y se añadió CH_3OH (1,0 mL) y se agitó durante 1 h adicional. La mezcla de reacción se agitó con HCl (4,0 M en Dioxano, 1 mL) y se concentró a vacío y el agua se liofilizó para producir un sólido incoloro 14m que se utilizó para el siguiente acoplamiento.

55

60

65

Etapa M



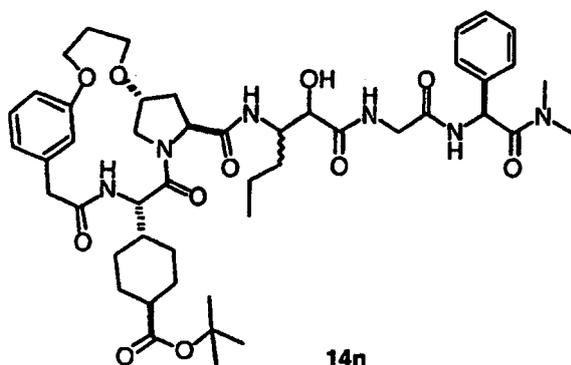
Una solución del ácido carboxílico 14m (110 mg, 0,21 mmoles) en DMF (3,0 mL) y CH_2Cl_2 (5,0 mL) se trató con base de Hünig (109 mg, 0,84 mmoles, 4,0 equiv. 155,0 μL) y HOObt (52 mg, 0,315 mmoles, 1,5 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se trató con EDCI (61 mg, 0,31 mmoles, 1,5 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a 0°C y se trató con el hidrocloreuro de amina A al cabo de 30 min. La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 24 h y se concentró a vacío para eliminar el DMF y el CH_2Cl_2 . El residuo se diluyó con HCl acuoso (100 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3x75 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaOH acuoso (1M, 3x50 mL), salmuera (100 mL) y se concentraron a vacío. El residuo 14n (79 mg) se oxidó sin purificación adicional.

Etapa N

5

10

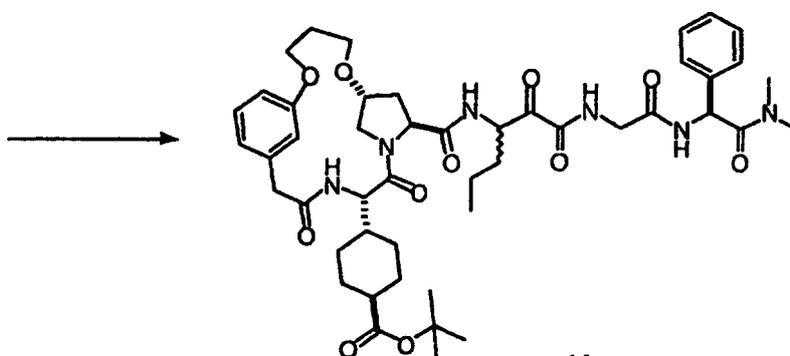
15

**14n**

20

25

30

**14**

35

40

Una solución del alcohol 14n (79 mg, 88 μ moles) en CH_2Cl_2 (4,0 mL) se trató con reactivo Dess-Martin (110 mg, 0,25 mmoles, 2,5 equiv.) La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 3 h y la mezcla se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía (SiO_2 , acetona/hexanos 1:1) para proporcionar el producto oxidado 14 (29 mg, 38%) en forma de un sólido incoloro; MS (FAB) 889 $[(\text{M}+1)^+]$, 100, 844 (20), 833 (60), 788 (30), 760 (10), 655 (10), 527 (20); HRMS calculado para $\text{C}_{47}\text{H}_{65}\text{N}_6\text{O}_{11}$: 889,4711; Encontrado: 889,4732.

Ejemplo 15

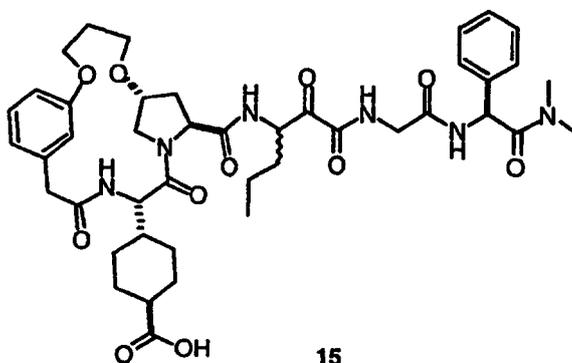
45

Preparación del Compuesto 15

50

55

60

**15**

65

Etapa A

5

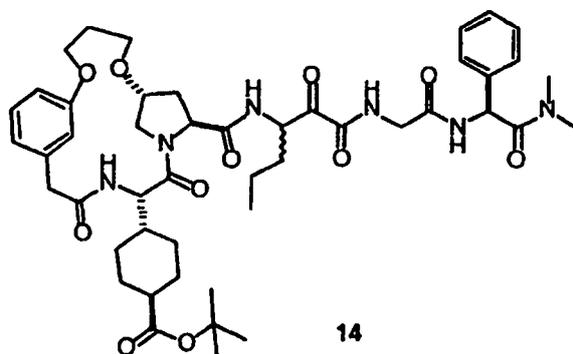
10

15

20

25

30



35

Una solución de éster *tert*-butílico 14 (20,0 mg, 22,0 μ moles) se trató con TFA/ CH_2Cl_2 (1:1, 4 mL) y se agitó a rt. durante 4 h. La desaparición del éster con respecto a la línea base estuvo seguida de TLC ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:24). Después de completar la desprotección la mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se trató repetidamente con CH_2Cl_2 /Hexanos y se concentró para producir un sólido de color blanco 15 (19 mg, 100%); MS (Electropulverización) 833 ($[\text{M}+1]^+$, 60), 661 (10), 530 (40), 391 (75), 279 (100).

40

Ejemplo 16

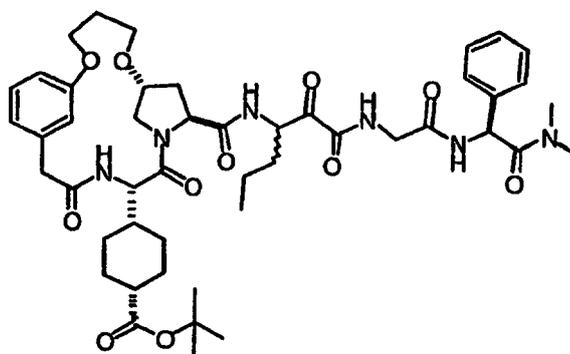
Preparación del Compuesto 16

45

50

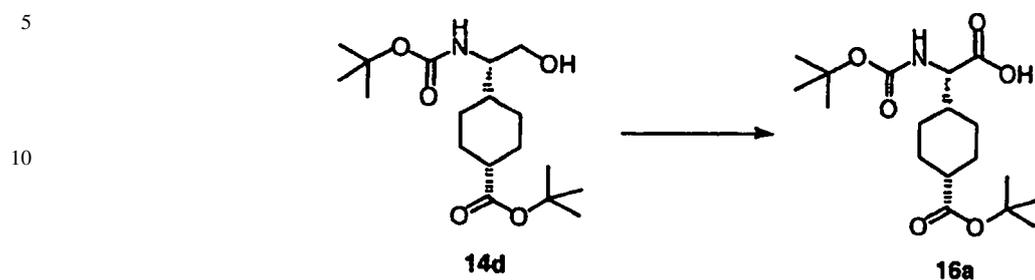
55

60



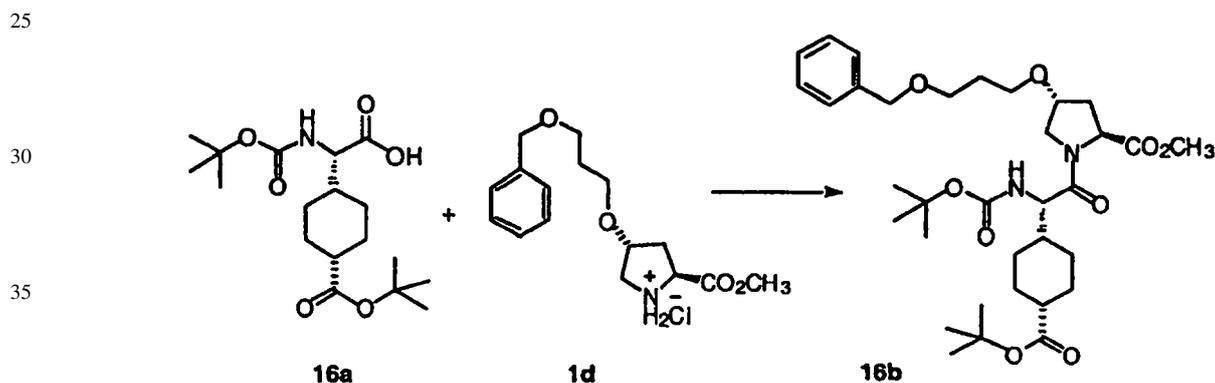
65

Etapa A



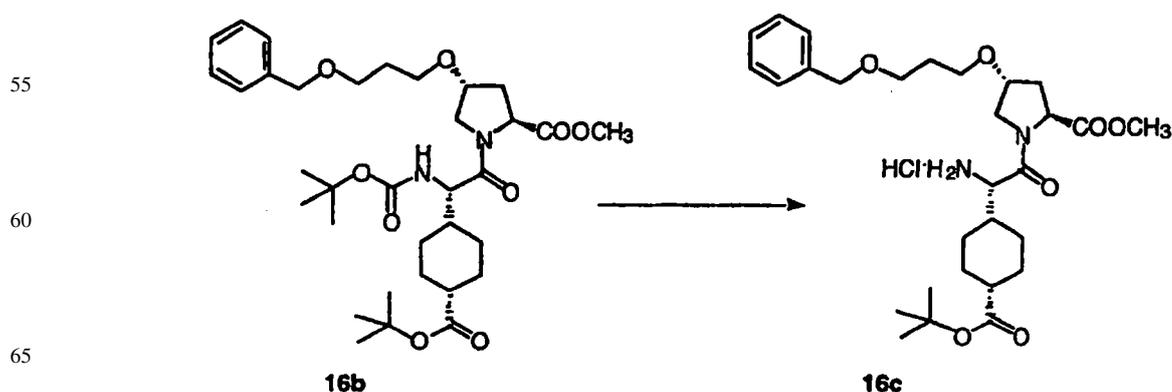
20 El compuesto deseado 16a se preparó a partir de 14d con un rendimiento de 70% de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa F. Éste se utilizó para los acoplamientos sin purificaciones adicionales; MS (FAB): 380,2 ($[M+Na]^+$, 30) 358 ($[M+1]^+$, 5), 302 (20), 258(20), 246 (100), 202 (70), 200 (20); HRMS calculado para $C_{18}H_{32}NO_6$ ($M+1$) $^+$: 358,2230; Encontrado: 358,2237.

Etapa B



45 El compuesto deseado 16b se preparó a partir de 16a con un rendimiento de 41% de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa G; $[\alpha]_D^{25}$ -52,7 (c 0,3 $CHCl_3$, 25); RMN H^1 ($CDCl_3$, δ) 7,35-7,21 (m, 5 H), 6,63 (d, 1 H, $J=9,3$ Hz), 4,46 (d, 2 H, $J=4,3$ Hz), 4,41 (t, 1 H, $J=9,3$ Hz), 4,38-4,07 (m, 3 H), 3,68 (s, 3 H), 3,66-3,43 (m, 5 H), 2,45 (p, 1 H, $J=4,2$ Hz), 2,32 (dd, 1 H, $J=7,8$, 5,7 Hz), 2,02-1,90 (m, 3 H), 1,90-1,56 (m, 3 H), 1,56-1,24 (m, 24 H); RMN C^{13} (CD_3OD , δ) 174,7, 172,4, 172,0, 156,4, 138,4, 128,0, 127,5, 127,4, 79,8, 79,0, 77,5, 72,5, 66,6, 65,3, 58,0, 55,3, 52,1, 51,3, 40,4, 38,6, 34,7, 29,7, 27,4, 27,03, 26,1, 24,5; MS (FAB) 633,2 ($[M+1]^+$, 100); HRMS calculado para $C_{34}H_{53}N_2O_9$ ($M+1$) $^+$: 633,3751; Encontrado 633,3759.

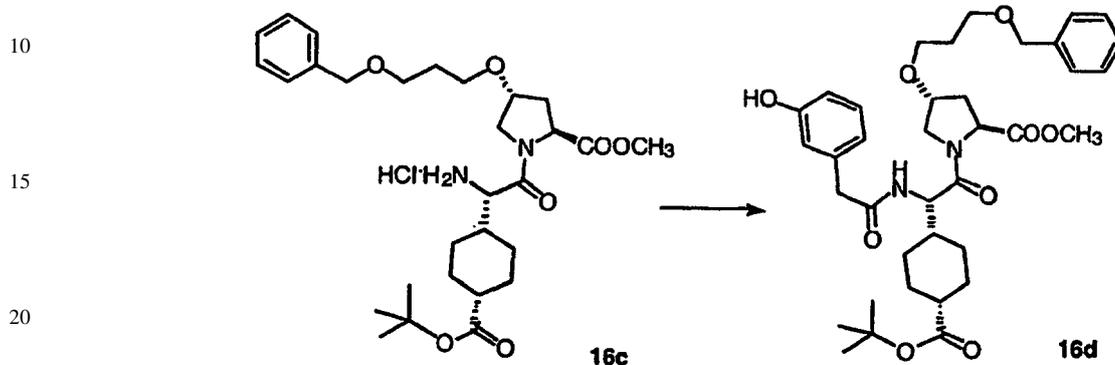
Etapa C



ES 2 317 900 T3

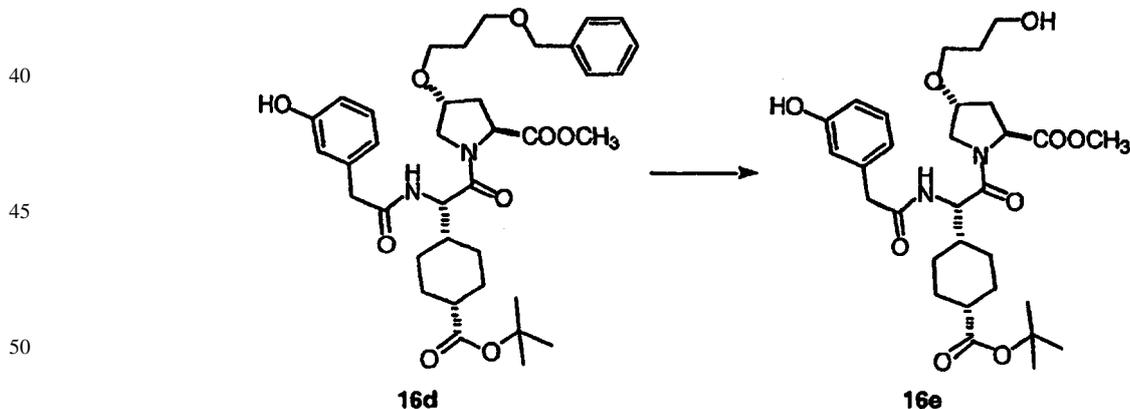
El compuesto deseado 16c se preparó a partir de 16b de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa H. El producto se utilizó sin purificación adicional.

5 Etapa D



25 El compuesto deseado 16d se preparó a partir de 16c con un rendimiento de 41% de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa I. RMN ^1H (CHCl_3 , δ) 7,34-7,26 (m, 5 H), 7,12 (t, 1 H, $J=7,5$ Hz), 6,72-6,67 (m, 3 H), 4,76-4,64 (m, 1 H), 4,47 (s, 2H), 4,51-4,42 (m, 1 H), 4,11-4,02 (m, 2 H), 3,68 (s, 3 H), 3,70-3,65 (m, 1 H), 3,55-3,43 (m, 6 H), 2,54-2,42 (m, 1 H), 2,28-2,39 (m, 1 H), 2,1-1,9 (m, 3 H), 1,86-1,64 (4 H), 1,50-1,38 (m, 14 H); RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ) 175,0, 172,4, 171,5, 171,1, 157,1, 138,5, 136,0, 130,1, 128,5, 127,9, 127,7, 121,0, 116,0, 114,8, 80,5, 77,6, 73,0, 30 66,9, 66,2, 58,2, 54,3, 52,5, 52,3, 43,4, 39,4, 39,9, 34,9, 30,0, 28,2, 26,8, 26,6, 26,0, 24,0; MS (FAB) 689 [(M+Na) $^+$, 35), 667 [(M+H) $^+$, 23), 633 (5), 294 (100), 204 (39), 156 (63).

35 Etapa E

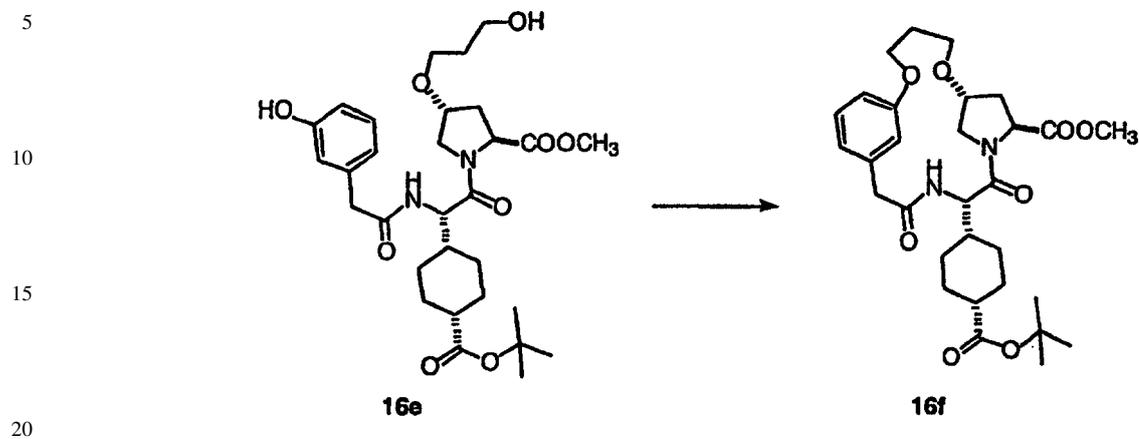


55 El compuesto deseado 16e se preparó a partir de 16d de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa J. El producto se utilizó sin purificación adicional.

60

65

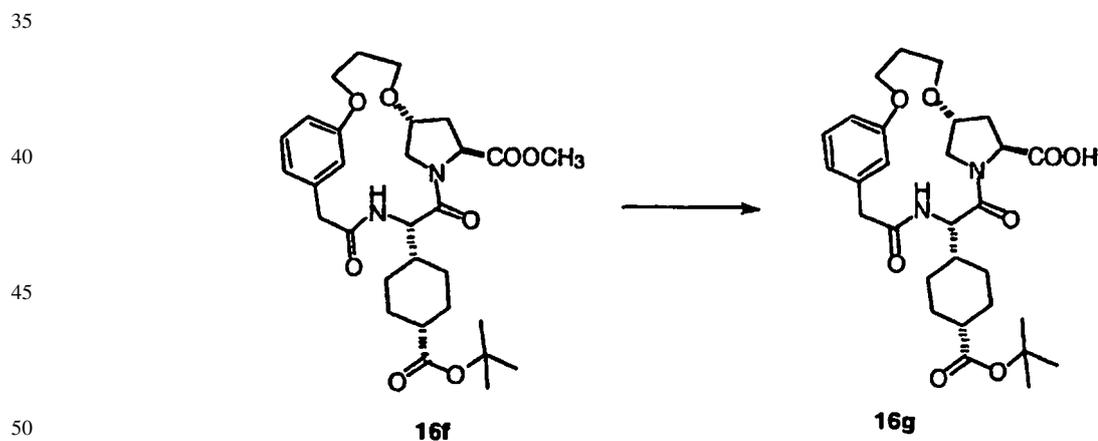
Etapa F



25 El compuesto deseado 16f se preparó de 16e con un rendimiento de 20% de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa K. RMN ^1H (CDCl_3 , δ) 8,56 (d, 1 H, $J=7,2$ Hz), 7,14 (t, 1 H, $J=6$ Hz), 6,86 (s, 1 H), 6,66 (d, 1 H, $J=6$ Hz), 6,73 (dd, 1 H, $J=6,3, 15$ Hz), 4,86-4,77 (m, 1 H), 4,40 (dd, 1 H, $J=3,0, 2,7$ Hz), 4,24-4,13 (m, 4 H), 3,70 (s, 3 H), 3,70-3,66 (m, 2 H), 3,66-3,32 (m, 3 H), 2,53 (dd, 1 H, $J=5,7, 3,9$ Hz), 2,45-2,42 (m, 1 H), 1,99-1,80 (m, 6 H), 1,60-1,57 (m, 4 H), 1,45-1,43 (m, 11 H); RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ) 175,8, 173,3, 173,0, 171,7, 160,0, 138,0, 130,1, 122,7, 116,8, 113,3, 81,0, 78,6, 66,3, 65,2, 58,8, 55,1, 52,5, 42,6, 42,4, 38,9, 34,6, 30,0, 28,2, 28,0, 27,0, 26,9, 26,8, 26,2; MS (FAB) 559 (M^+ , 33), 327 (33), 225 (100).

30

Etapa G

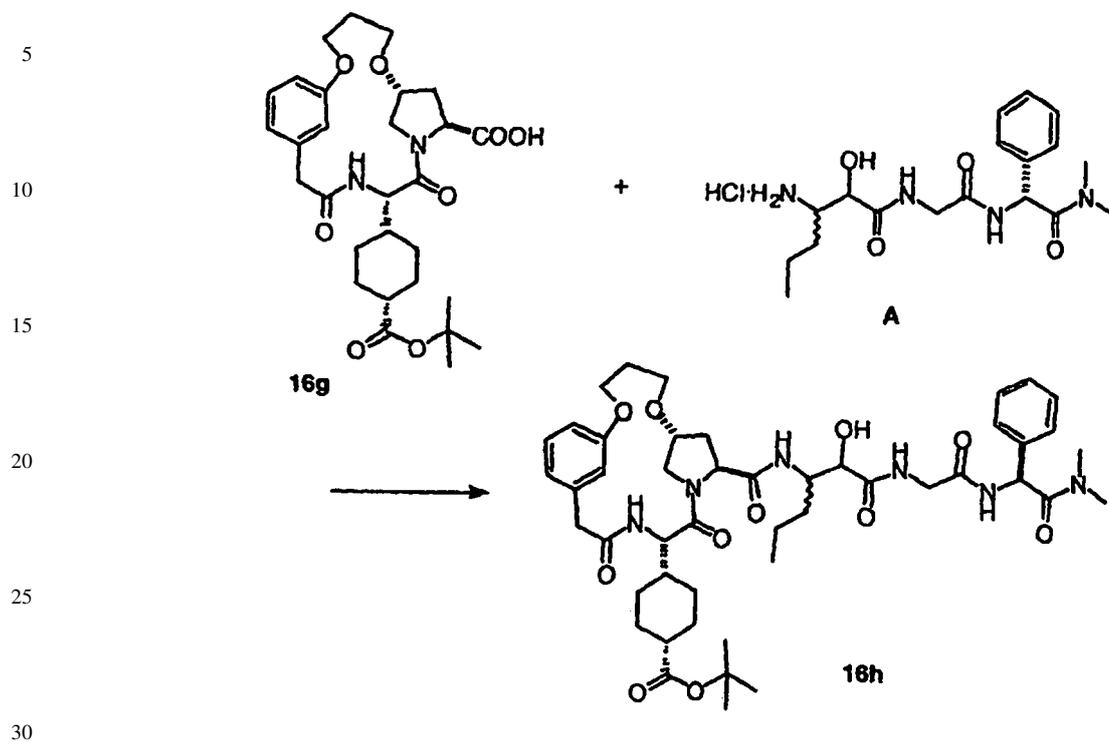


55 El compuesto deseado 16g se preparó a partir de 16f de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa H. El producto se utilizó sin purificación adicional.

60

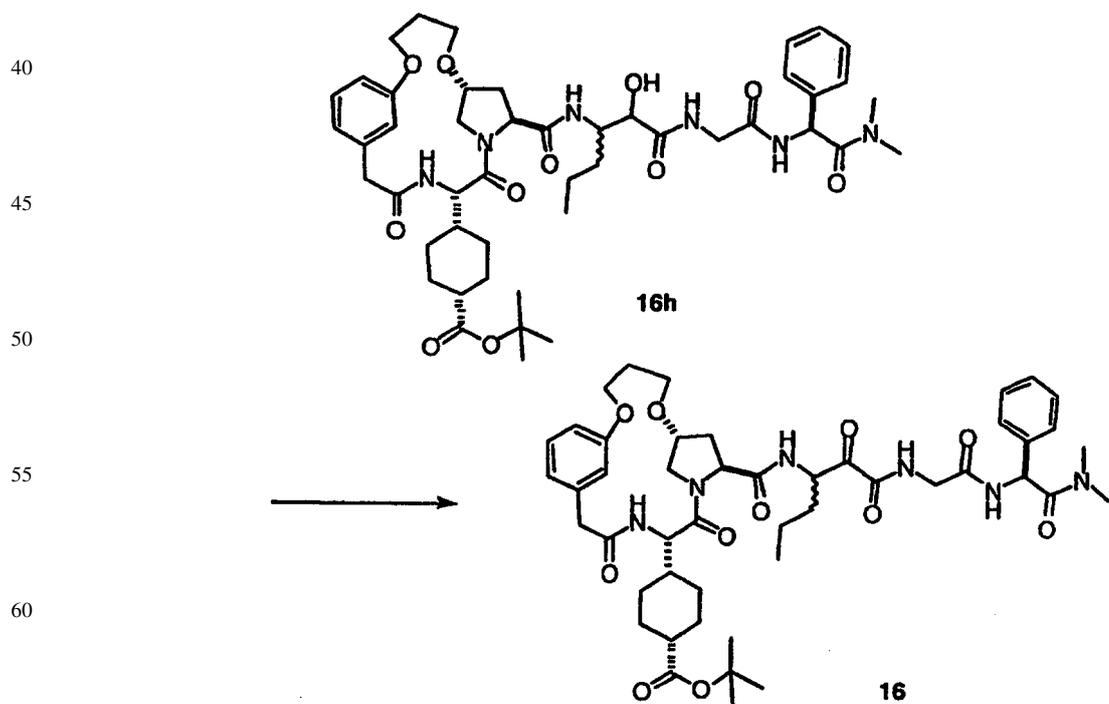
65

Etapa H



El compuesto deseado 16h se preparó a partir de 16g y A de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa L. El producto se utilizó sin purificación adicional.

Etapa I



El compuesto deseado 16 se preparó en forma de un sólido incoloro a partir de 16h con un rendimiento de 40% de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 14, Etapa N. MS (electropulverización) 889 [(M+1)⁺, 85), 637 (20), 530 (75), 265 (100); HRMS calculado para C₄₇H₆₅N₆O₁₁: 889,4711; Encontrado 889,4699.

Ejemplo 17

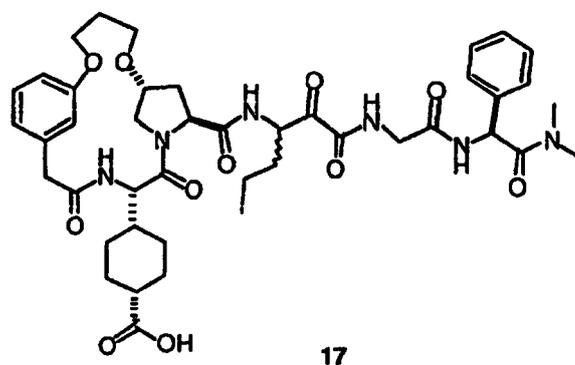
Preparación del Compuesto 17

5

10

15

20



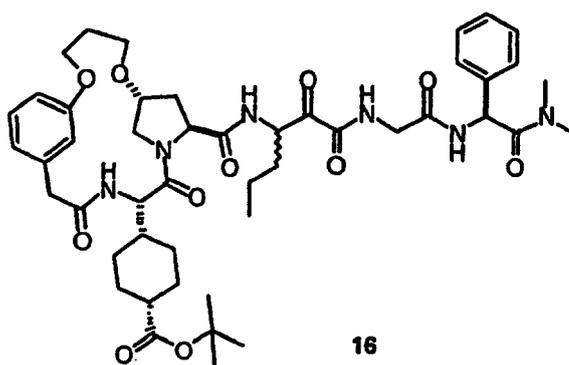
25

Etapa A

30

35

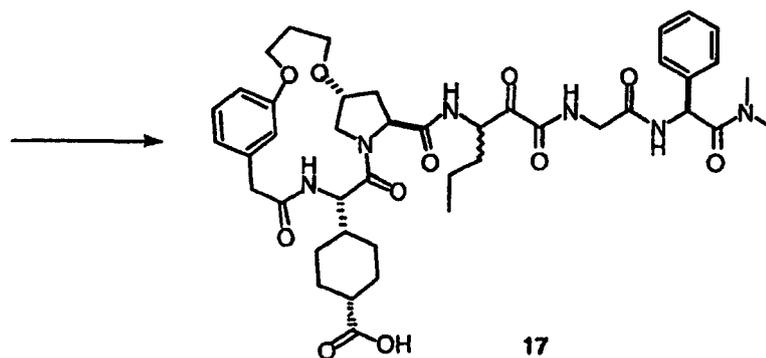
40



45

50

55



60

El compuesto deseado 17 se preparó a partir de 16 cuantitativo y de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 15, Etapa A. MS (FAB) 833 [(M+1)⁺, 100], 788 (10), 723 (5), 308 (100).

65

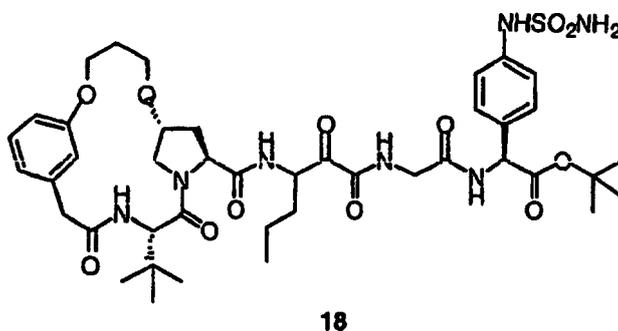
Ejemplo 18

Preparación del Compuesto de Fórmula 18

5

10

15

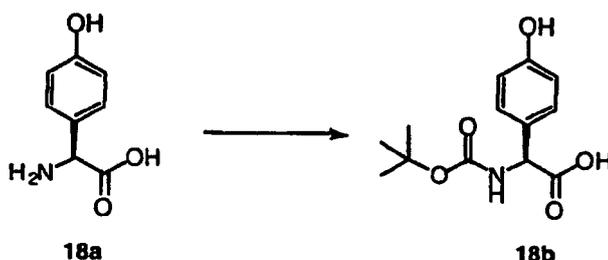


20

Etapa A

25

30



35

40

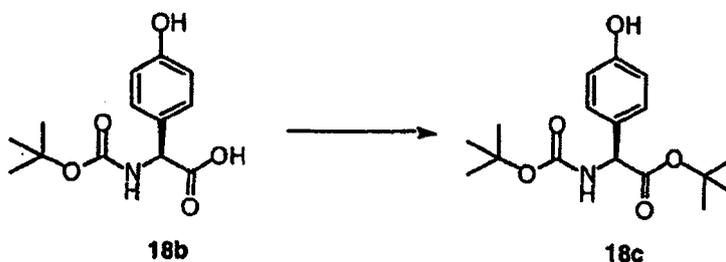
A una suspensión fría (0°C) de 18a (15,0 g, 90 mmoles) en dioxano (100 mL), agua (100 mL), y bicarbonato de sodio saturado (100 mL) se le añadió una solución de anhídrido terc-butoxicarbonílico (7,2 g, 33 mmoles) en dioxano (100 mL). La mezcla de reacción se templó lentamente a temperatura ambiente a lo largo de 6 hr. La mezcla de reacción se concentró a vacío. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con éter dietílico (2 x 150 mL). La capa de éter capa se descartó. La capa acuosa se aciduló lentamente con ácido cítrico sólido (pH - 4) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 150 mL). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró a vacío para proporcionar 18b (14,6 g, rendimiento 61%) en forma de una espuma de color blanco.

45

Etapa B

50

55

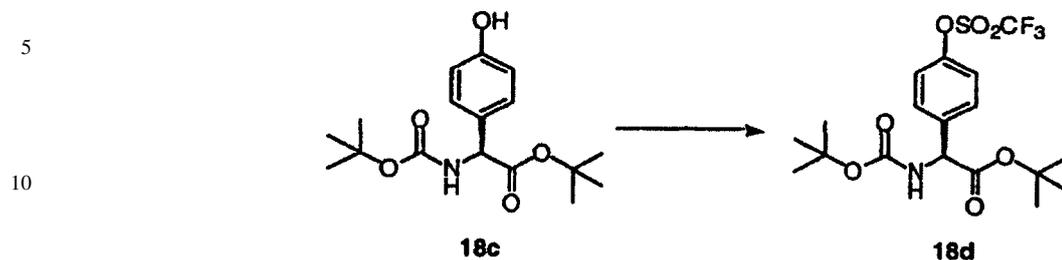


60

65

A una solución a 80°C de 18b (14,6 g, 54,68 mmoles) en tolueno (230 mL) se le añadió di-terc-butilacetato de DMF (53 mL, 218,72 mmoles) gota a gota a lo largo de 2 hrs. La mezcla de reacción se mantuvo a la misma temperatura durante 1 hr una vez completada la adición. Después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 96/4 a 90/10 para proporcionar el compuesto requerido 18c (7,53 g, rendimiento 43%). HRMS (FAB) Calcd. para C₁₇H₂₆NO₅: 324,1811 (M+H)⁺. Encontrado: 324,1807.

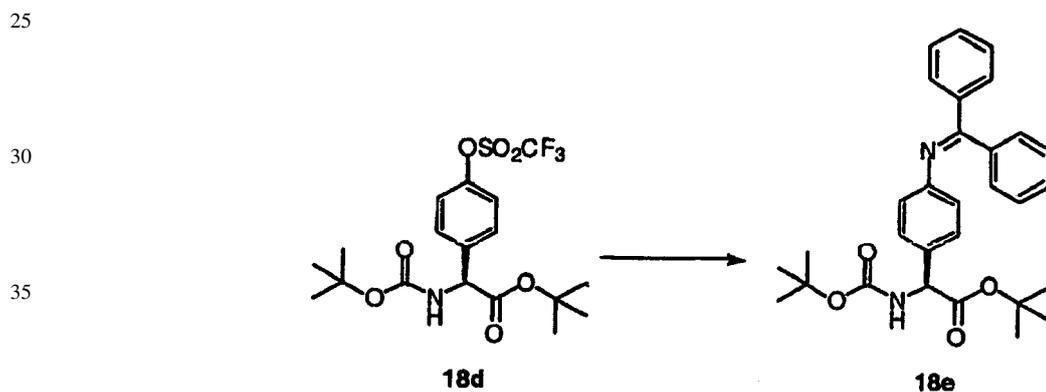
Etapa C



15 A una solución fría (0°C) de 18c (7,5 g, 23,22 mmoles) en diclorometano (100 mL) se le añadió trietilamina (7,12 mL, 51,08 mmoles) seguido de anhídrido triflico (4,30 mL, 25,54 mmoles) gota a gota. La mezcla de reacción se templó lentamente a temperatura ambiente a lo largo de 4 hrs. Ésta se sofocó con una solución saturada de bicarbonato y se extrajo en diclorometano. La capa orgánica combinada se lavó con bicarbonato saturado y salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo de color pardo se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano para proporcionar 7,74 g de 18d (rendimiento 73%).

20

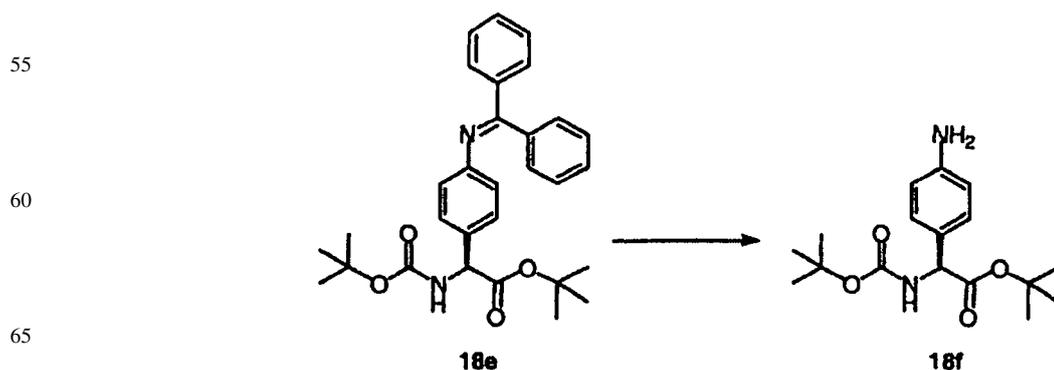
Etapa D



40 A una matraz secado en un horno se le añadieron THF (75 mL, desoxigenado previamente haciendo burbujear argón), acetato de paladio (74 mg, 0,33 mmoles), R-(+)-BINAP (311 mg, 0,495 mmoles), y carbonato de cesio (5,38 g, 16,5 mmoles) en atmósfera de argón. A esta mezcla se le añadió 18d (5,0 g, 11 mmoles) seguido de difenilacetimidina (2,77 mL, 16,5 mmoles). El matraz se lavó con un chorro de argón y se calentó a reflujo durante 12 hrs. (durante la noche). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con éter (500 mL). La capa orgánica se lavó con una solución saturada de cloruro de amonio (2 x 300 mL), se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La purificación mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 100/0 a 90/10 proporcionó el producto 18e (3,58 g) requerido con un rendimiento de 67%.

45

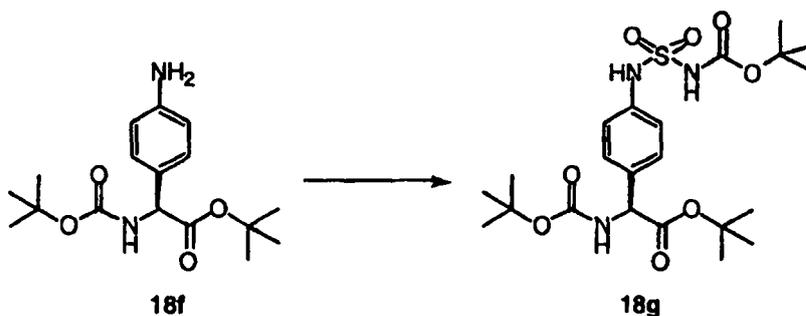
Etapa E



ES 2 317 900 T3

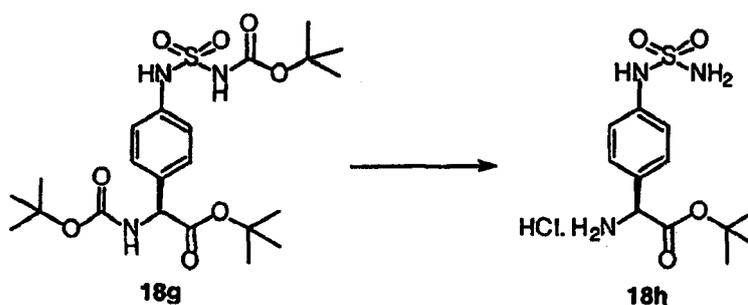
A una solución de 18e (3,0 g, 6,17 mmoles) en metanol (62 mL) se le añadió acetato de sodio (1,218 g, 14,8 mmoles), e hidrocloreto de hidroxilamina (0,774 g, 11,11 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 hrs. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con diclorometano y se lavó con una solución 0,1 N de NaOH. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4) y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 95/5 a 92/8 proporcionó 18f (1,31 g) con un rendimiento de 66%.

Etapa F



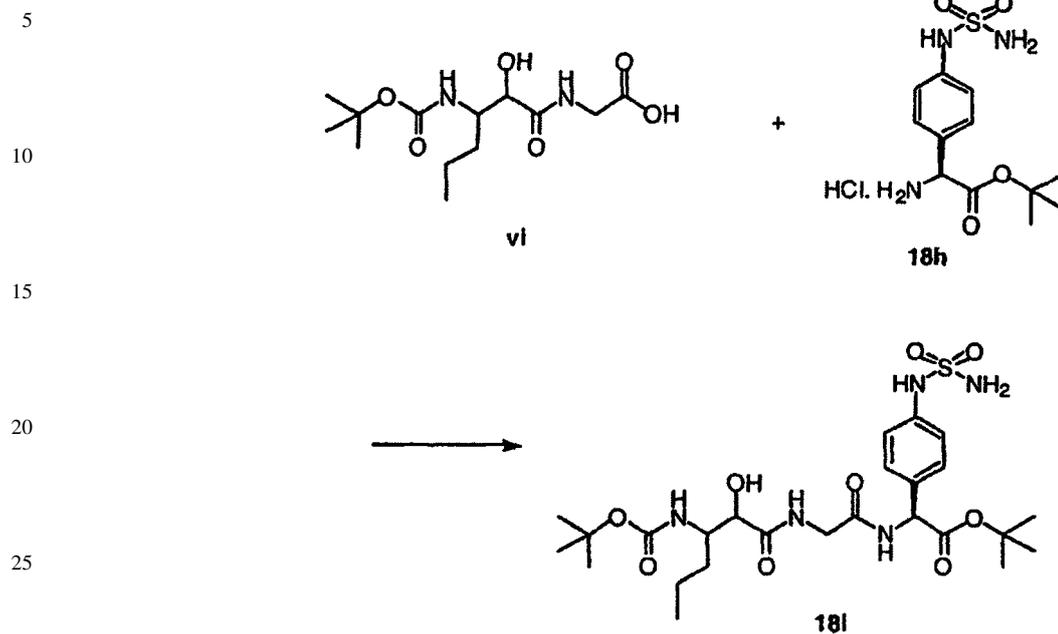
A una solución fría (-20°C) de diclorometano (2 mL) se le añadió isocianato de clorosulfonilo (0,16 mL, 1,87 mmoles). A esto se le añadió terc-butanol (0,18 mL, 1,87 mmoles) en diclorometano (2 mL) y lentamente se templó a 0°C a lo largo de 2,5 hrs. En este momento se añadió gota a gota una solución de 18f (0,6 g, 1,87 mmoles) en diclorometano (6 mL) que contenía trietilamina (0,52 mL, 3,73 mmoles). La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente a lo largo de 12 hrs. (durante la noche). Se añadió bicarbonato saturado y diclorometano y la capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. La purificación mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 95/5 a 90/10 proporcionó 18g (0,59 g) con un rendimiento de 63%.

Etapa G



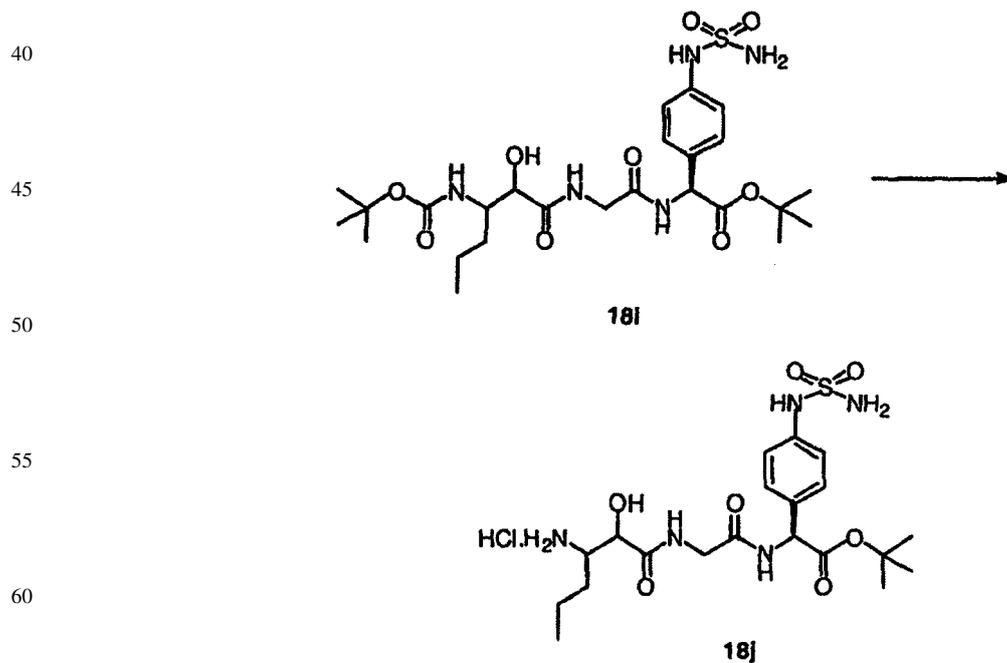
El producto 18h esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia se llevó a la siguiente etapa tal cual.

Etapa H



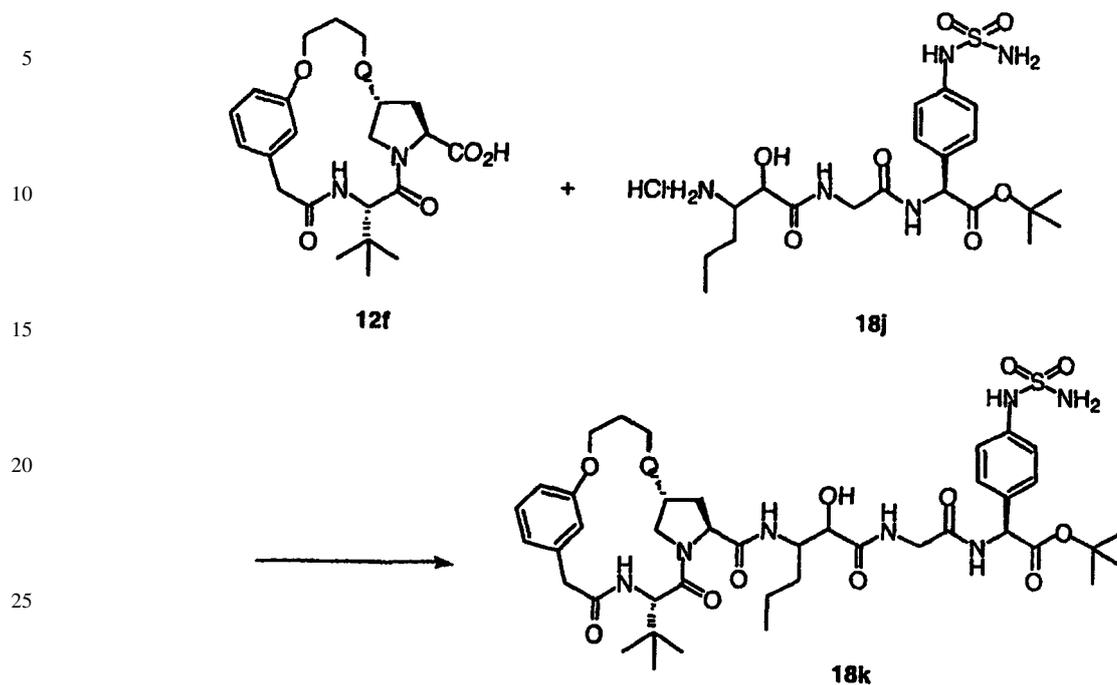
30 El producto 18i esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa D. La sustancia bruta se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 a 90/10 para proporcionar 18i con un rendimiento de 34%.

35 Etapa I



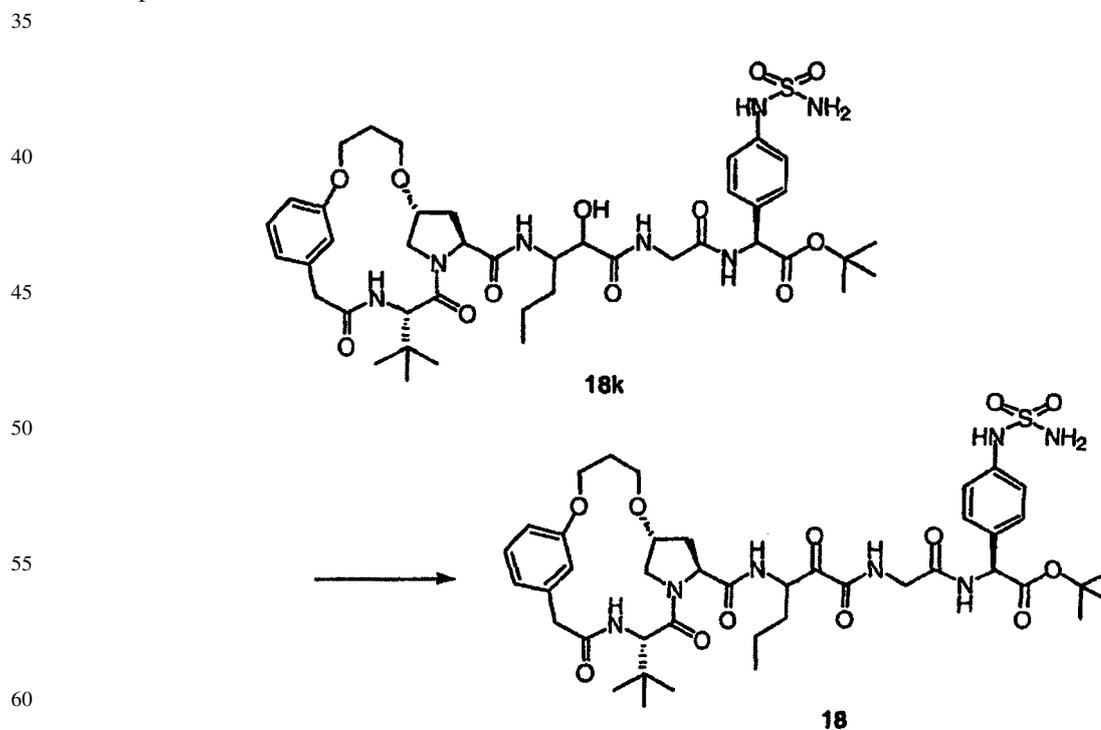
65 El producto 18j esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia se llevó a la siguiente etapa tal cual.

Etapa J



El producto 18k esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa.

Etapa K



El producto 18 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 98/2 a 92/8 proporcionó 11 en forma de una mezcla de diastereómeros con un rendimiento de 13% (para 2 etapas).

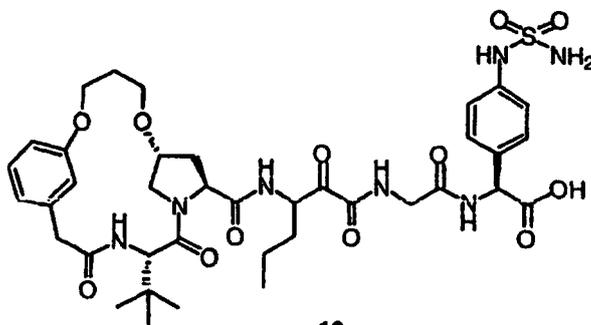
Ejemplo 19

Preparación del Compuesto de Fórmula 19

5

10

15



19

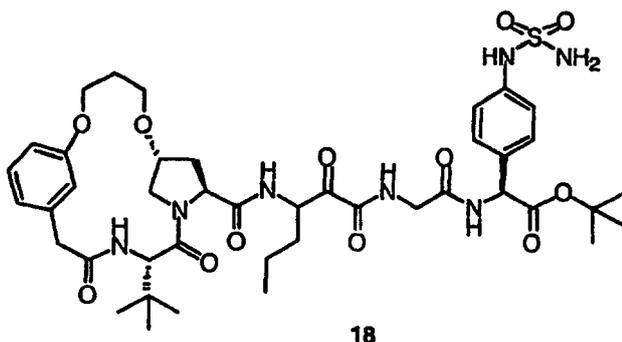
20

Etapa A

25

30

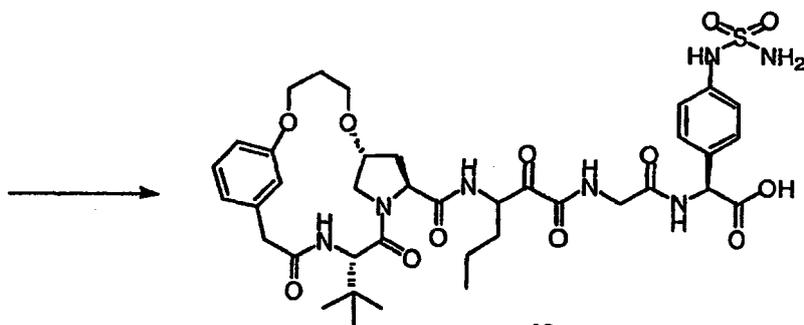
35



18

40

45



19

50

55

El producto 19 esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 3, Etapa A, con un rendimiento cuantitativo.

60

65

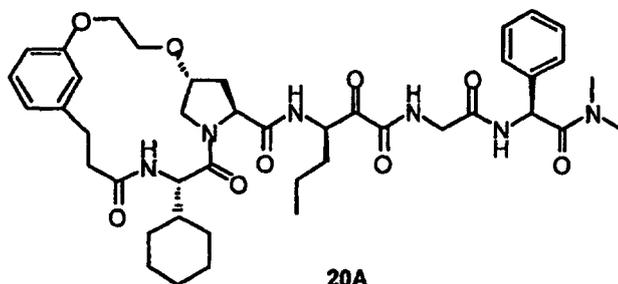
Ejemplo 20

Preparación de los Compuestos de Formulas 20A y 20B

5

10

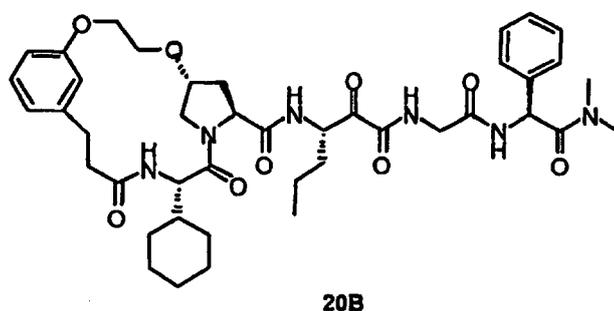
15



20

25

30

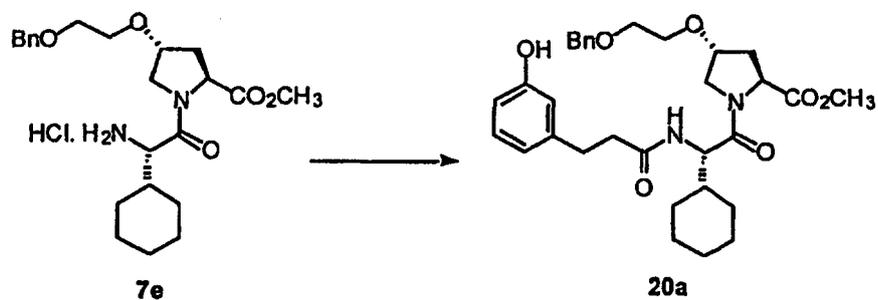


Etapa A

35

40

45



El producto 20a deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa F. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 para proporcionar 20a con un rendimiento de 97%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{32}H_{43}N_2O_7$: 567,3070 (M+H)⁺. Encontrado: 567,3073.

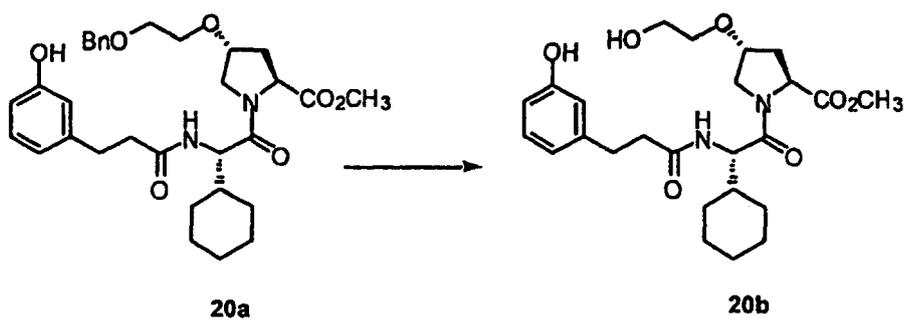
50

Etapa B

55

60

65



ES 2 317 900 T3

El producto 20b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 98/2 a 96/4 para proporcionar 20b con un rendimiento de 81%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{37}N_2O_7$: 477,2601 (M+H)⁺. Encontrado: 477,2606.

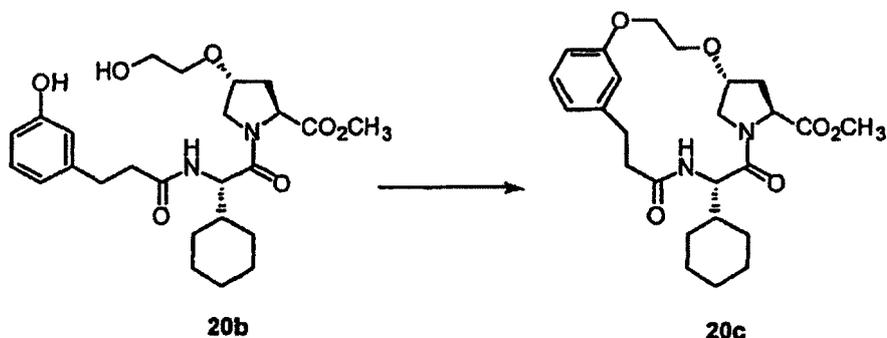
5

Etapa C

10

15

20



25

El producto 20c deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. La purificación mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/metanol 99/1 proporcionó 20c junto con óxido de trifetilfosfina. Esta mezcla se recogió para la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{35}N_2O_6$: 459,2495 (M+H)⁺. Encontrado: 459,2490.

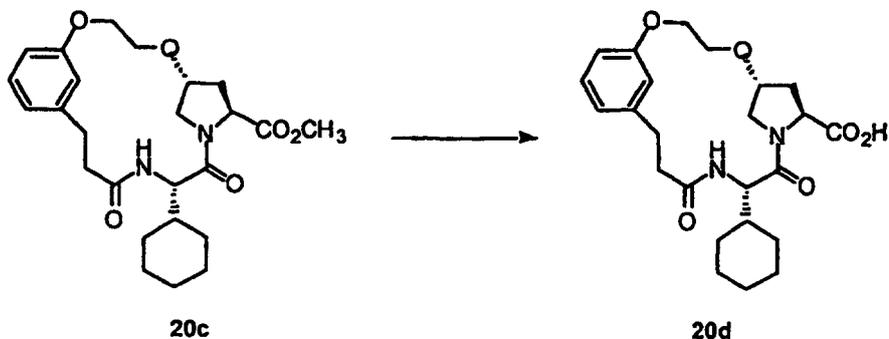
30

Etapa D

35

40

45



50

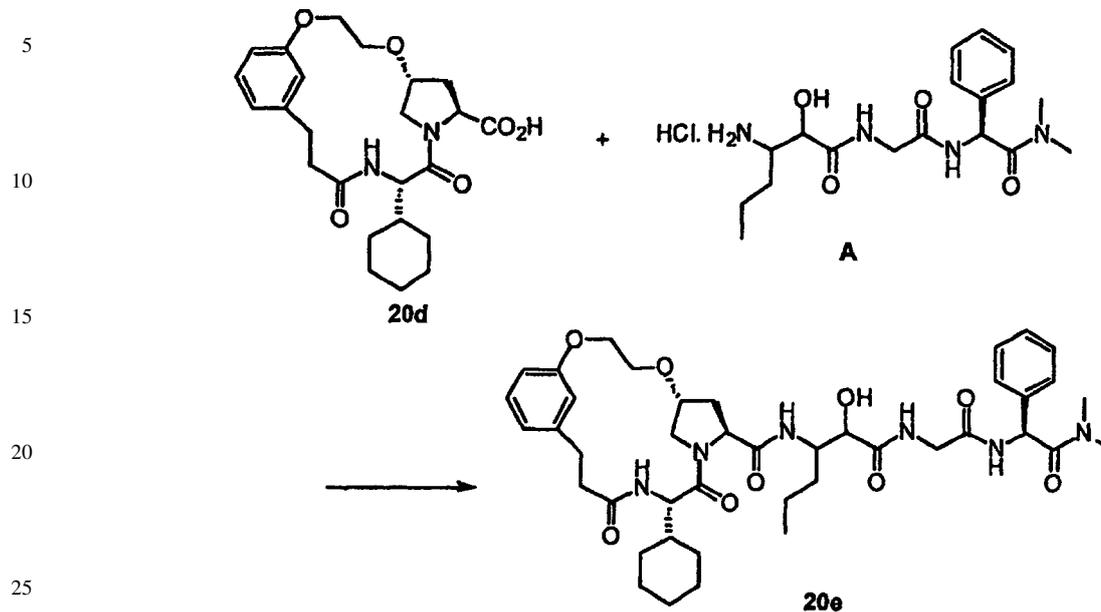
El producto 20d deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa I. Rendimiento de 20d (para 2 etapas) = 23%. RMN H^1 (DMSO- d_6) 0,84 (m, 2H), 1,10 (m, 3H), 1,56-1,67 (m, 6H), 1,75-1,81 (m, 1H), 2,32-2,49 (m, 3H), 2,55-2,59 (m, 1 H), 2,94 (dt, 1H), 3,50 (dd, 1H), 3,56-3,65 (m, 2H), 3,99 (dd, 1 H), 4,06-4,23 (m, 4H), 4,37 (t, 1H), 6,64-6,74 (m, 3H), 7,08 (t ap., 1H), 7,95 (d, 1H), 12,30 (s ancho, 1 H); RMN C^{13} δ (DMSO- d_6) 25,25, 25,97, 28,30, 28,55, 30,61, 33,77, 36,04, 39,41, 52,52, 54,02, 57,22, 66,38, 68,03, 77,49, 114,75, 115,37, 121,14, 128,86, 142,66, 158,92, 169,87, 170,83, 172,99; HRMS (FAB) Calcd. para $C_{24}H_{33}N_2O_6$: 445,2339 (M+H)⁺. Encontrado: 445,2343.

55

60

65

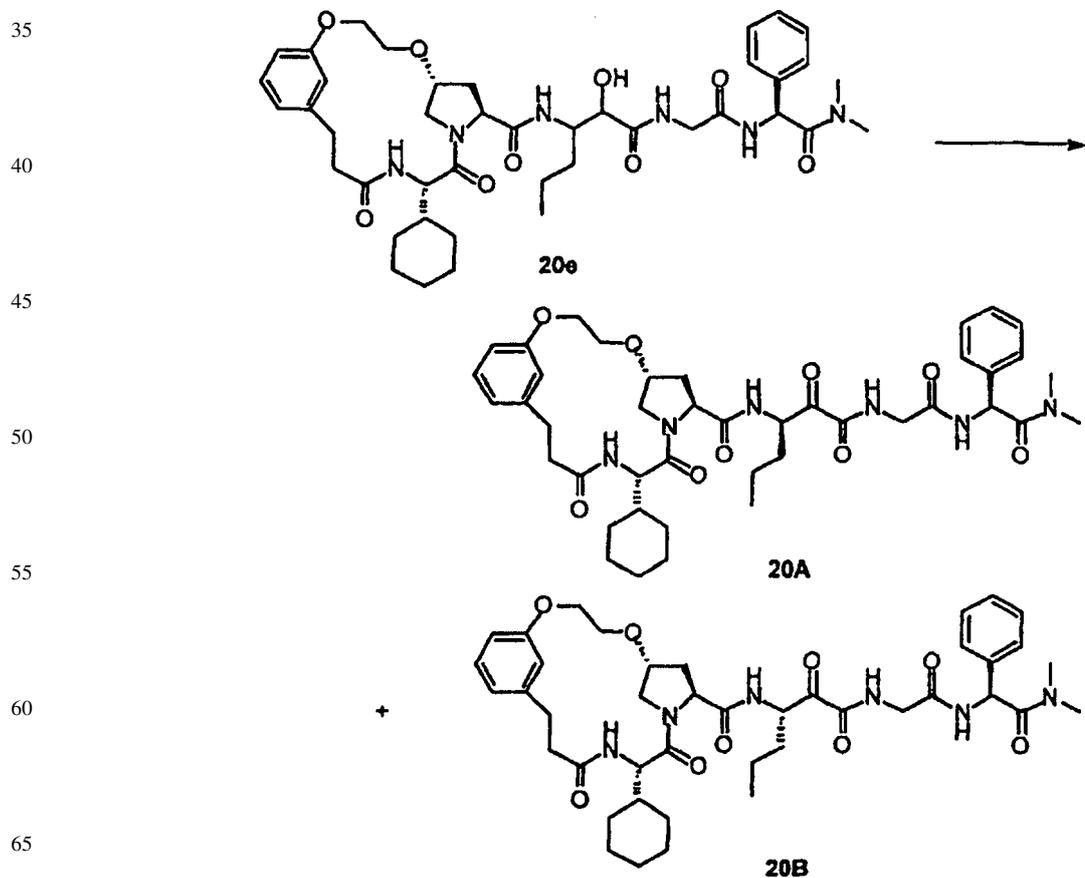
Etapa E



El producto 20e esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa.

30

Etapa F



Los productos deseados 20A y 20B se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 100/0 a 98/2 proporcionó los isómeros separados 20A y 20B, y algo de mezcla. Rendimiento combinado = 50% (para 2 etapas) HRMS (FAB) Calcd. para $C_{42}H_{57}N_6O_9$: 789,4187 ($M+H$)⁺. Encontrado: 789,4179 (20A) y 789,4187 (20B).

5

Ejemplo 21

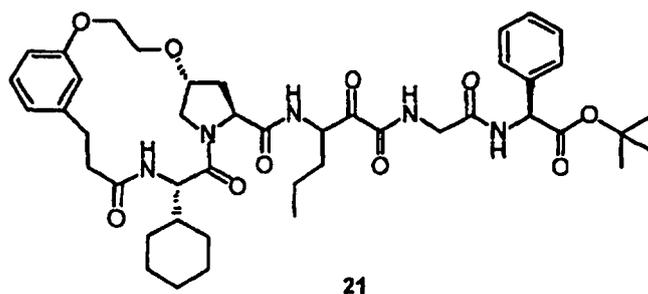
Preparación del Compuesto de Fórmula 21

10

15

20

25

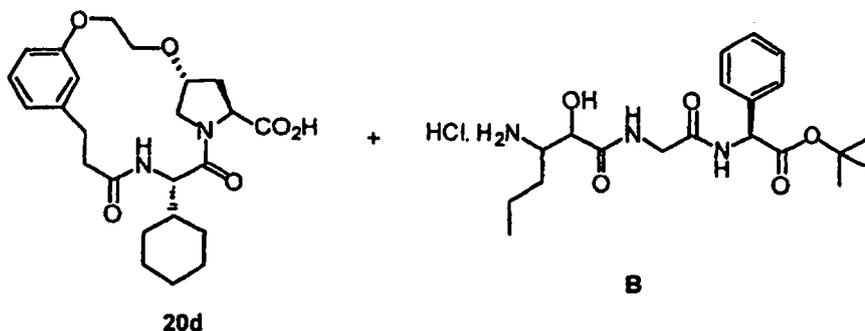


Etapa A

30

35

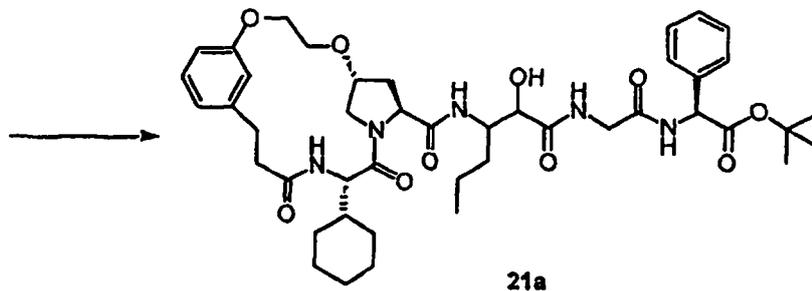
40



45

50

55

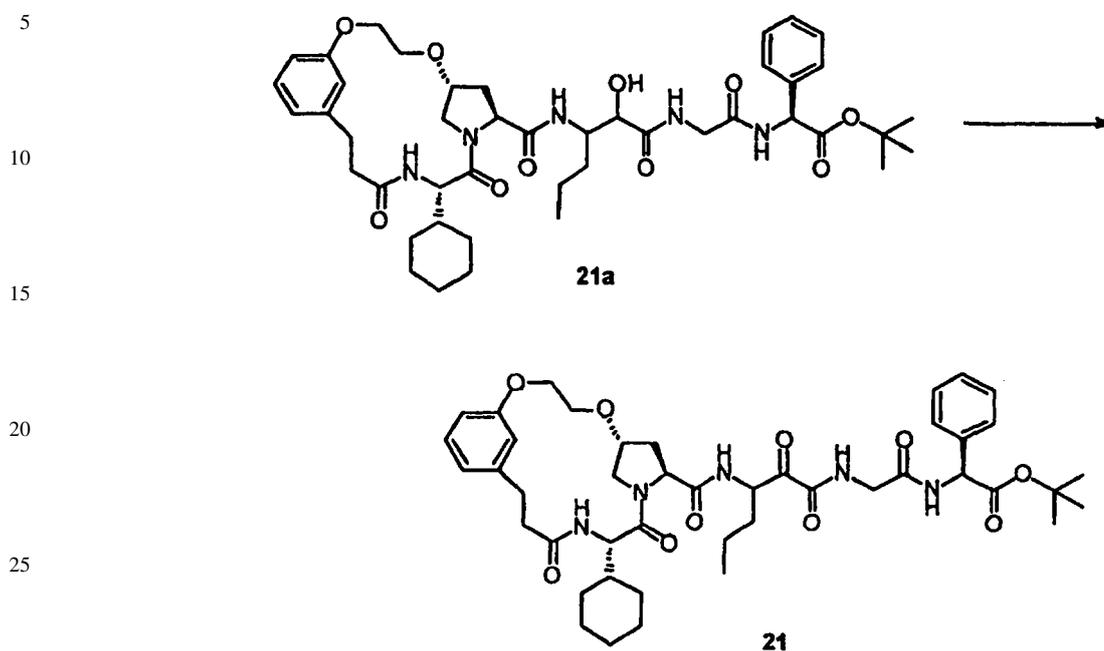


El producto 21a esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 2, Etapa A. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa.

60

65

Etapa B

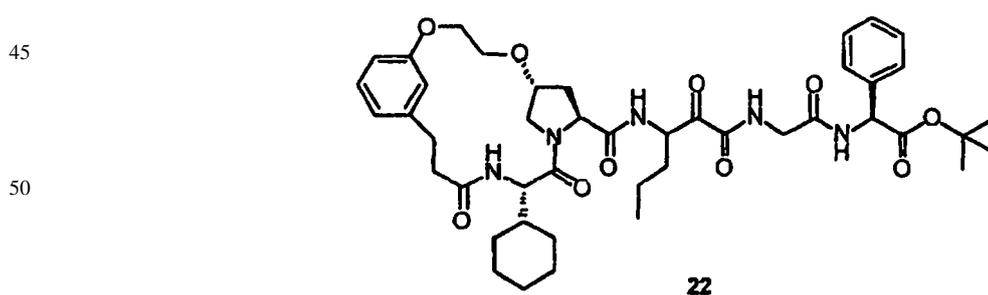


35

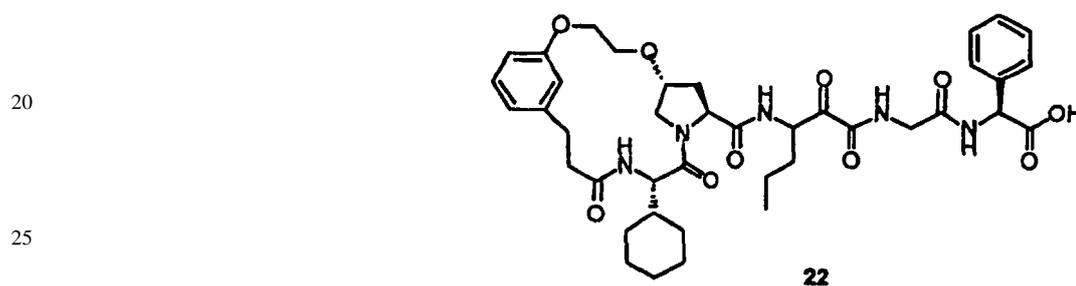
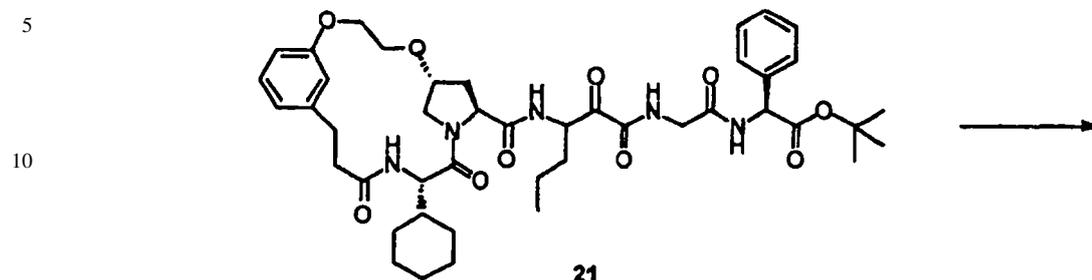
El producto 21 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 2, Etapa B. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 100/0 a 98/2 proporcionó 21 con un rendimiento de 38%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{44}H_{60}N_5O_{10}$: 818,4340 (M+H)⁺. Encontrado: 818,4329.

Ejemplo 22

40 *Preparación del Compuesto de Fórmula 22*

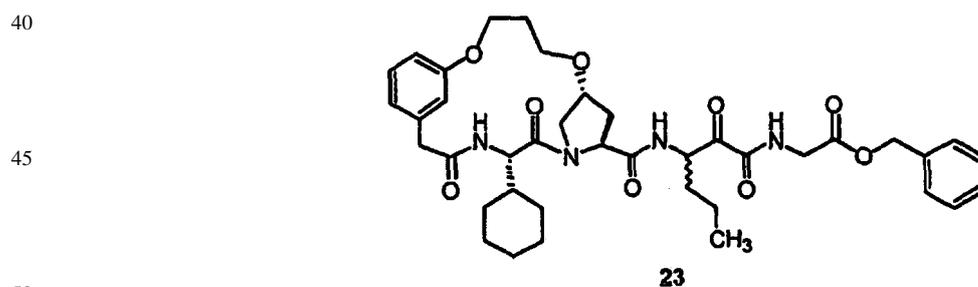


Etapa A



30 El producto 22 esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 3, Etapa A, con un rendimiento cuantitativo. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{52}N_5O_{10}$: 762,3714 (M+H)⁺. Encontrado: 762,3722.

Ejemplo 23

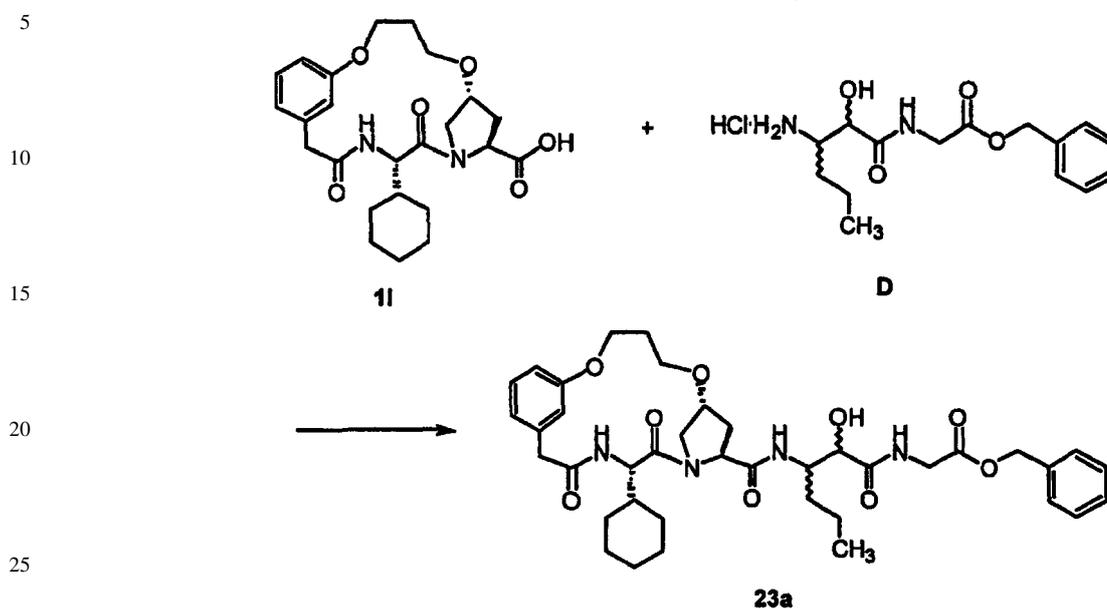
Preparación del Compuesto de Fórmula 23

55

60

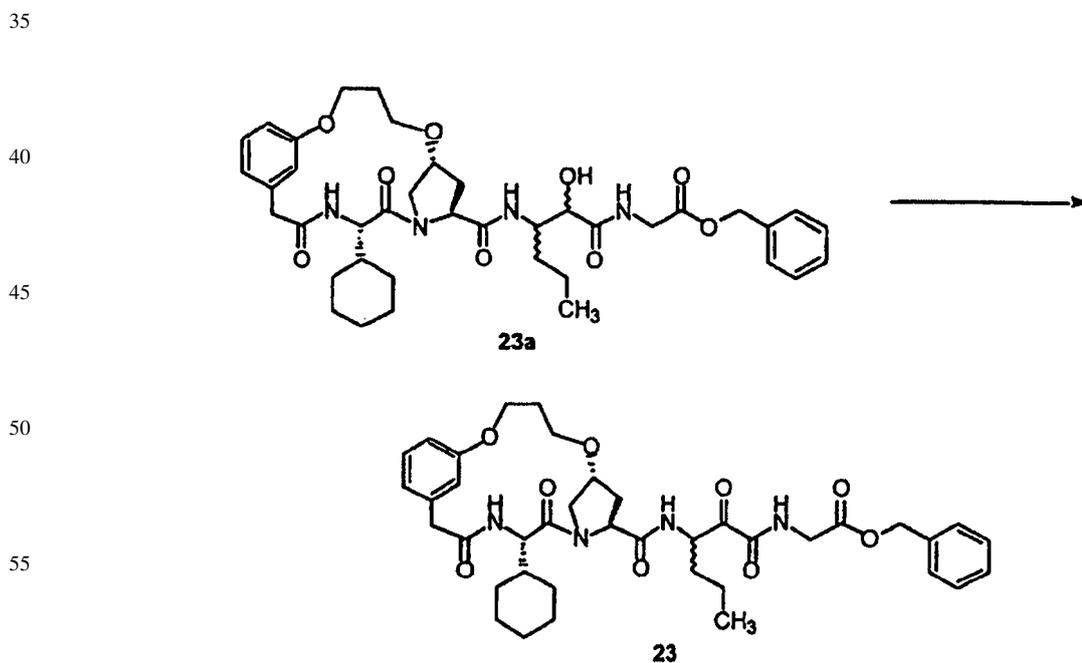
65

Etapa A



30 El compuesto deseado 23a se preparó con un rendimiento de 58% de 11 y D de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J.

Etapa B



65 El compuesto 23 deseado se preparó con un rendimiento de 79% a partir de 23a de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa K.

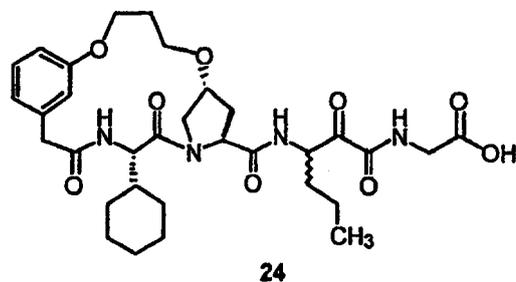
Ejemplo 24

Preparación del Compuesto de Fórmula 24

5

10

15



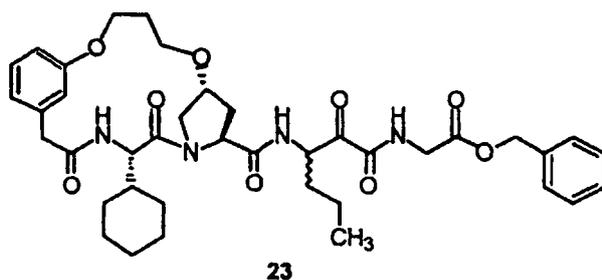
20

Etapa A

25

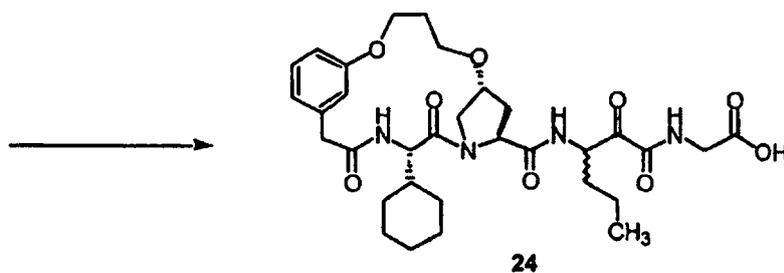
30

35



40

45



50

55

La solución del éster bencílico 23 (80 mg, 0,11 mmoles) en etanol (30 mL) y metanol (15 mL) se agitó a rt. durante 3 h en hidrógeno en presencia de paladio sobre carbono (50 mg). El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de la filtración cuidadosa a través de un lecho de celite, los disolventes se eliminaron después *a vacío* para producir un sólido de color blanco (67 mg, cuant.).

60

65

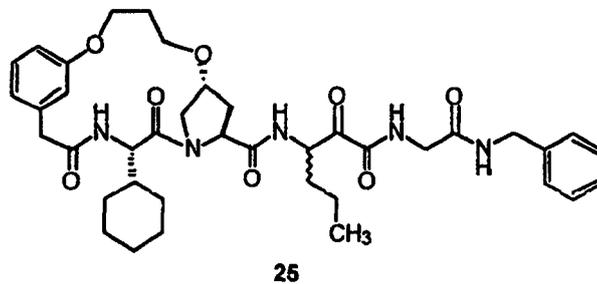
Ejemplo 25

Preparación del Compuesto de Fórmula 25

5

10

15



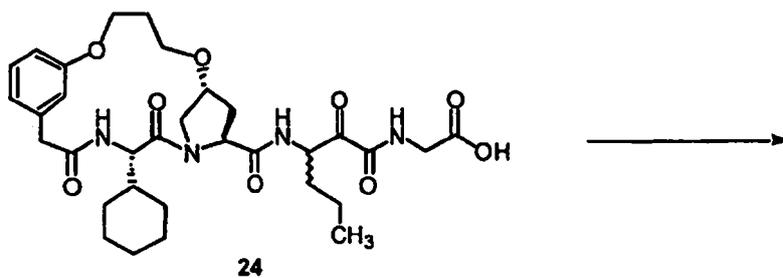
20

Etapa A

25

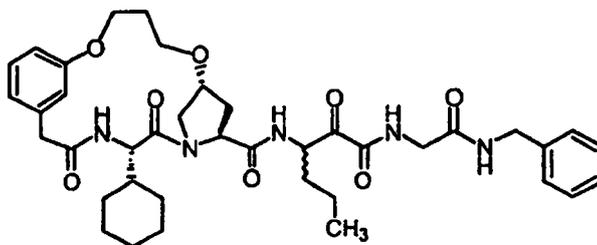
30

35



40

45



50

El compuesto deseado 25 se preparó con un rendimiento de 53% a partir de 24 de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J, excepto porque se sustituyó benzilamina por la amina A.

55

60

65

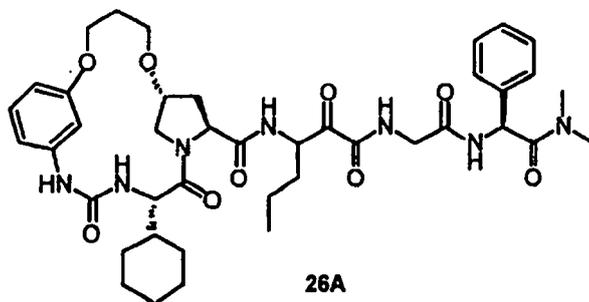
Ejemplo 26

Preparación de los Compuestos de Formulas 26A y 26B

5

10

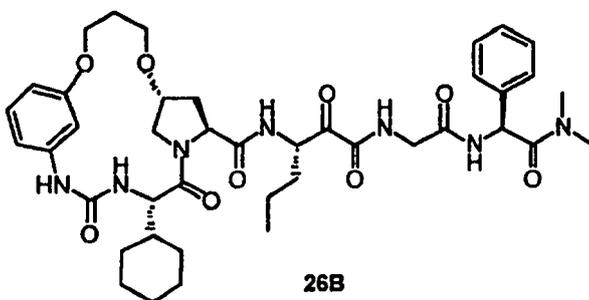
15



20

25

30

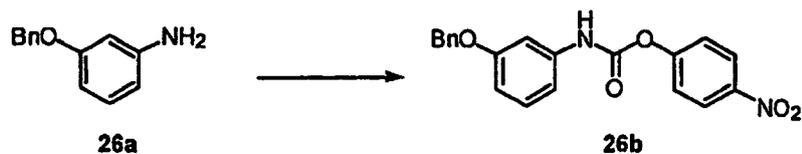


35

Etapa A

40

45



50

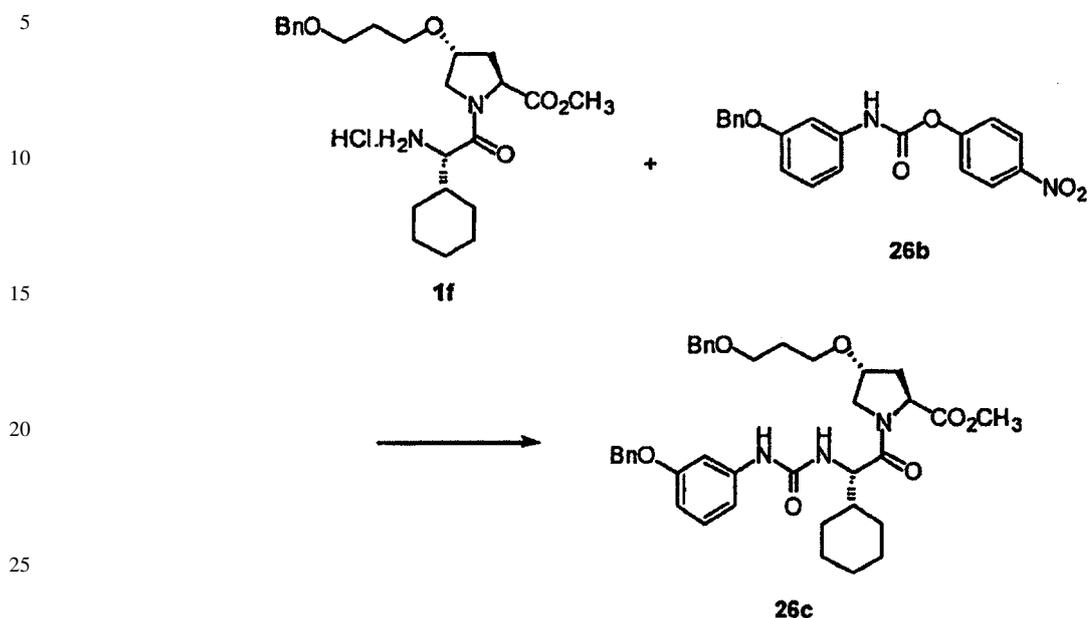
A una solución fría (0°C) de 26a (4,0 g, 20 mmoles) en THF/MeCN (35/5 mL) se le añadió cloroformiato de 4-nitrofenilo (4,86 g, 24 mmoles) y después piridina (1,9 mL, 24 mmoles). La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente a lo largo de 4,5 hrs. La reacción se verificó hasta el consumo de 26a (necesario para añadir algo más de los otros dos reactivos). La reacción se sofocó mediante la adición de agua, las sustancias orgánicas se separaron, se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), y se evaporaron *a vacío* para proporcionar el producto 26b. Esta sustancia fue suficientemente pura para estudios adicionales.

55

60

65

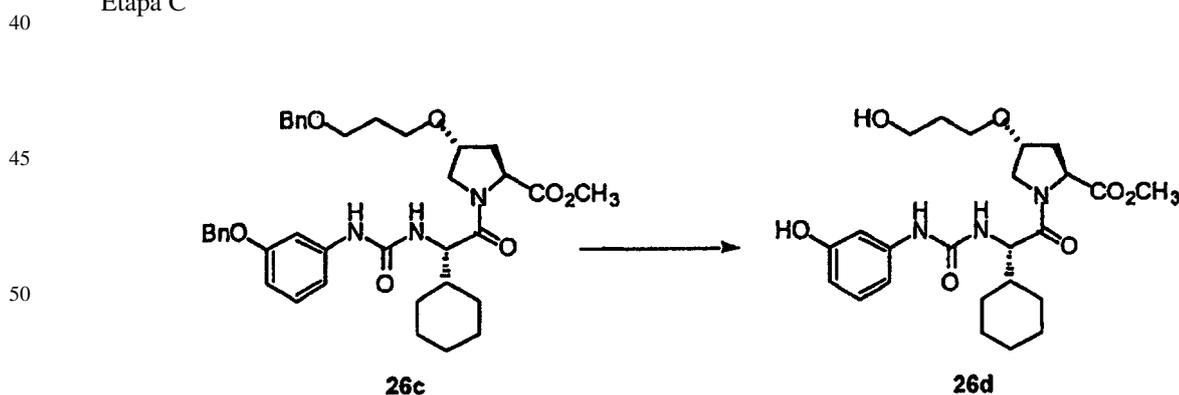
Etapa B



30 Al a solución de 1f (2,3 g, 5,1 mmoles) en diclorometano/DMF (25/5 mL) a 0°C se le añadió 26b (2,24 g, 6,1 mmoles) seguido de trietilamina (0,86 mL, 6,1 mmoles). Se añadieron unos pocos cristales de imidazol y la mezcla de reacción se almacenó a -8°C durante 16 hrs. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, se lavó con bicarbonato de sodio saturado, una solución acuosa al 10% de ácido cítrico, se secó (Na₂SO₄), y se evaporó *a vacio*. La sustancia bruta se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 100/0 a 70/30 para proporcionar 26c (1,2 g, rendimiento 38%). HRMS (FAB) Calcd. para C₃₈H₄₈N₃O₇: 658,3492 (M+H)⁺. Encontrado: 658,3483.

35

Etapa C

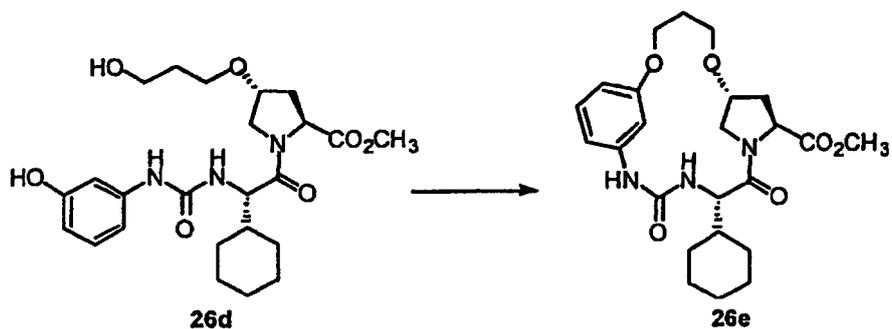


El producto 26d deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. La sustancia bruta se llevó a la siguiente etapa tal cual. HRMS (FAB) Calcd. para C₂₄H₃₆N₃O₇: 478,2553 (M+H)⁺. Encontrado: 478,2547.

60

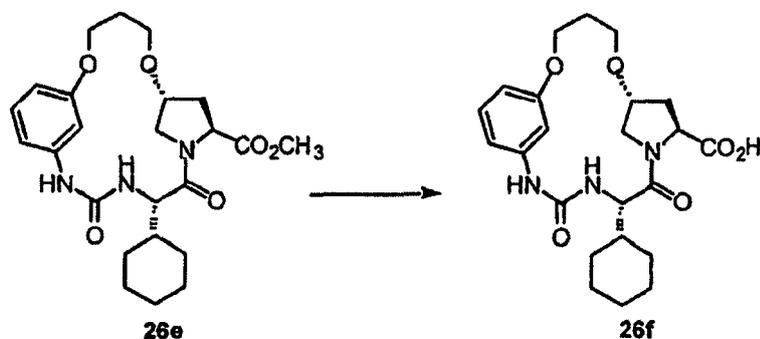
65

Etapa D



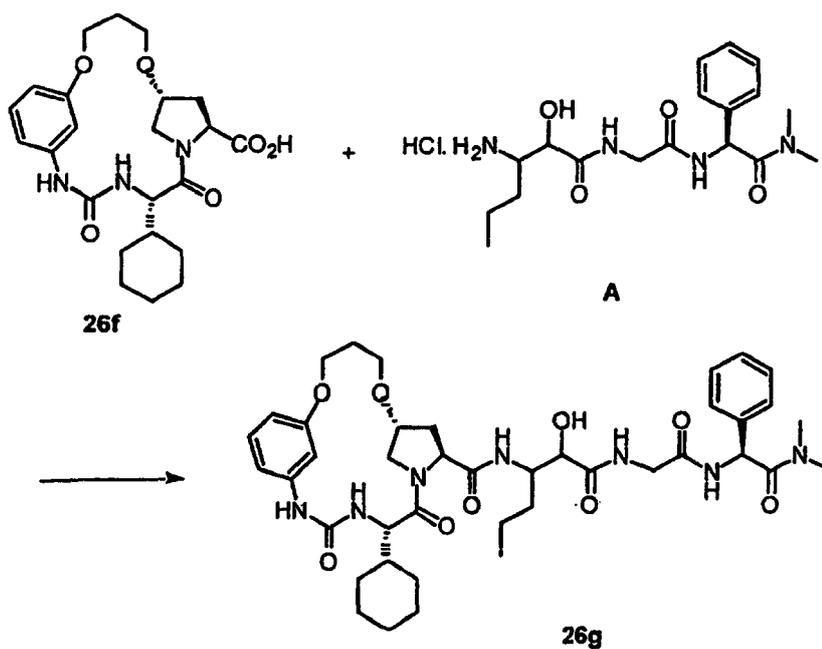
El producto 26e deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. La purificación mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/metanol 99/1 proporcionó 26e junto con óxido de trifetilfosfina. Esta mezcla se recogió para la siguiente etapa.

Etapa E



El producto 26f deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa I. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{23}H_{32}N_3O_6$: 446,2291 (M+H)⁺. Encontrado: 446,2290.

Etapa F



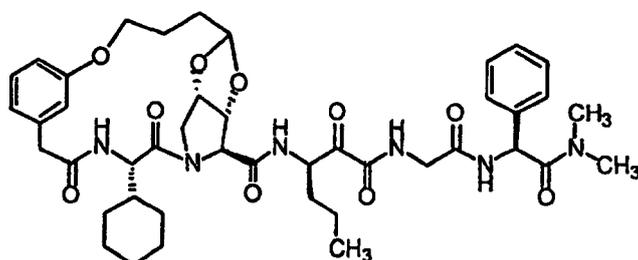
Ejemplo 27

Preparación del Compuesto 27

5

10

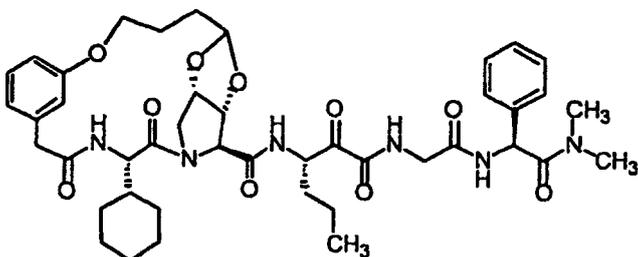
15



27A

20

25

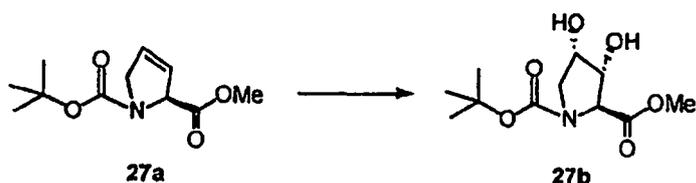


27B

30

Etapa A

35



27a

27b

40

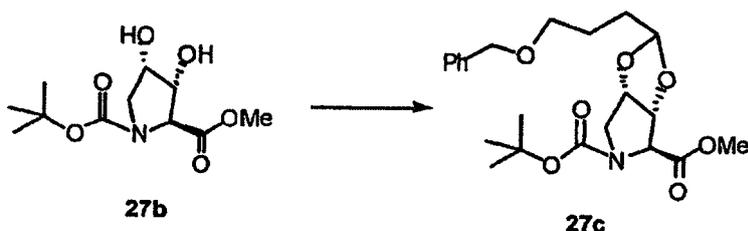
45

A la mezcla de Boc-3,4-dihidroprolina-OMe (27a, 5,30 g, 23,4 mmoles), *N*-óxido de *N*-metilmorfolina (4,75 g, 35,1 mmoles) en acetona (10 mL) y agua (15 mL) a rt. se le añadió una solución de tetróxido de osmio en terc-butanol (2,5% p/p, 3,5 mL, 0,344 mmoles). A esta solución turbia se le añadió THF hasta que la mezcla se volvió casi homogénea. Después de agitar a rt. durante la noche, se añadió una solución saturada de tiosulfato de sodio (30 mL) y 10 min más tarde, siguió la adición de EtOAc (300 mL) y salmuera (80 mL). Después de separar las capas, la solución acuosa se extrajo con EtOAc (2X100 mL). Las soluciones orgánicas se combinaron, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a vacío para producir un líquido oscuro. La cromatografía instantánea (MeOH/ CH_2Cl_2 4 a 8%) proporcionó 27b (4,73 g, 18,1 mmoles, 77%) en forma de un aceite.

50

Etapa B

55



27b

27c

65

A una suspensión del diol 27b (1,6 g, 6,12 mmoles), sulfato de magnesio (4,0 g, 33,2 mmoles) y 3-benciloxipropionaldehído (2,32 g, 13,0 mmoles) en CH_2Cl_2 anhidro (60 mL) a 0°C se le añadió ácido *p*-toluenosulfónico (150 mg, 1,01 mmoles). La mezcla resultante se agitó vigorosamente y se dejó templando a rt. junto con el baño de hielo durante

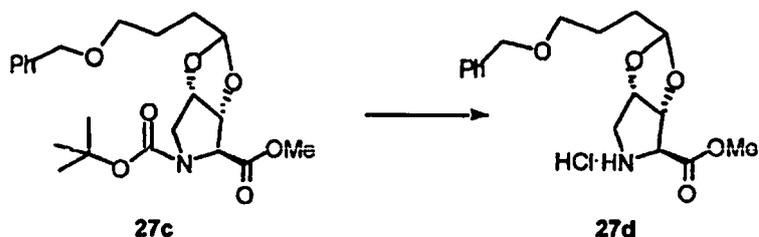
ES 2 317 900 T3

la noche (18 h). Se añadieron una solución saturada de bicarbonato de sodio (60 mL), agua (30 mL) y CH₂Cl₂ (100 mL) y las capas se separaron. La solución acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (2 X 100 mL) y la solución orgánica combinada se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para producir un aceite incoloro. La cromatografía instantánea (EtOAc/CH₂Cl₂ 5 a 15%) proporcionó 27c (2,35 g, 5,57 mmoles, 91%) en forma de un aceite.

5

Etapa C

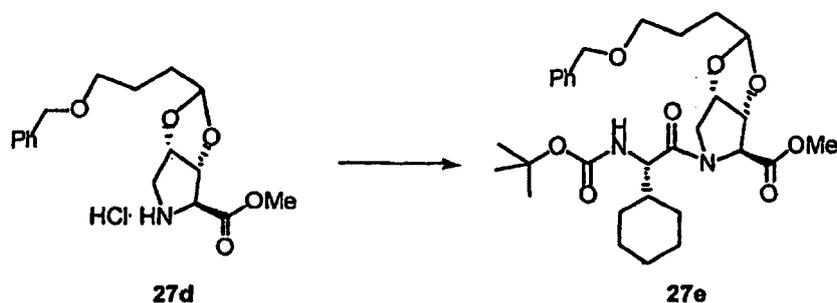
10



25 El compuesto 27d deseado se preparó a partir de 27c de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa C. Éste se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Etapa D

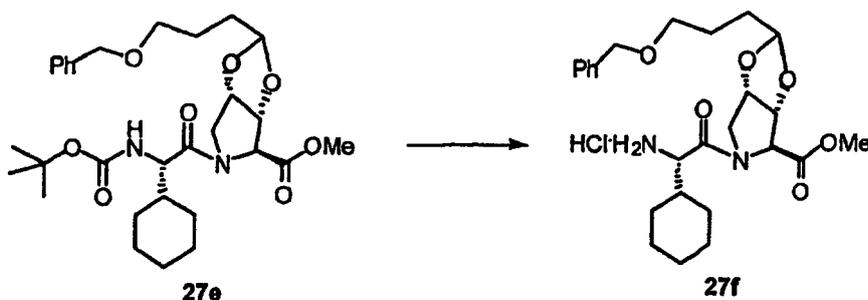
30



45 El compuesto deseado se preparó a partir de 27d de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa D. La cromatografía instantánea (EtOAc/CH₂Cl₂ 8 a 20%) proporcionó 27e.

Etapa E

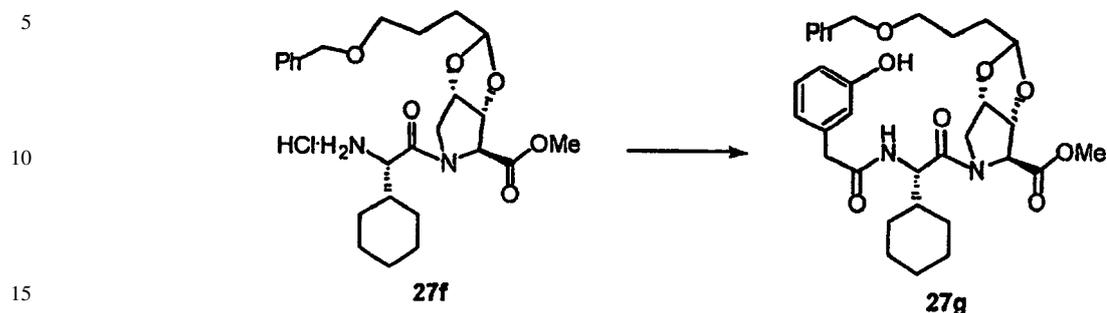
50



65

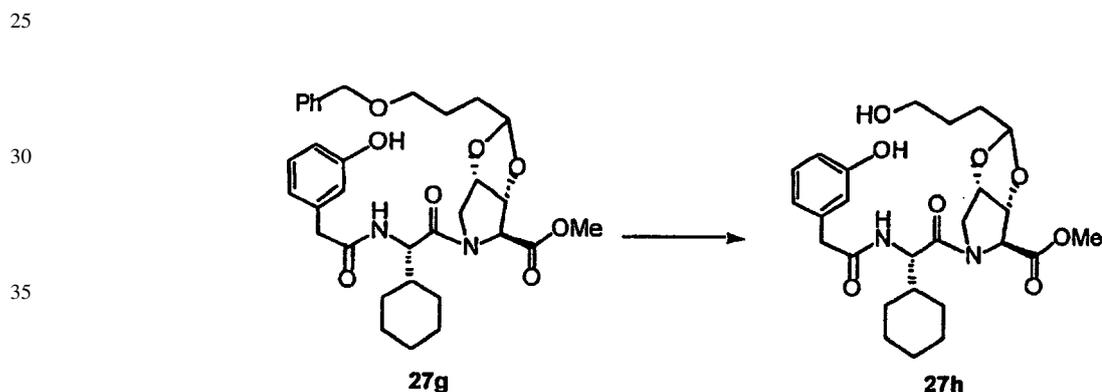
El compuesto 27f deseado se preparó a partir de 27e de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa E. Éste se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Etapa F



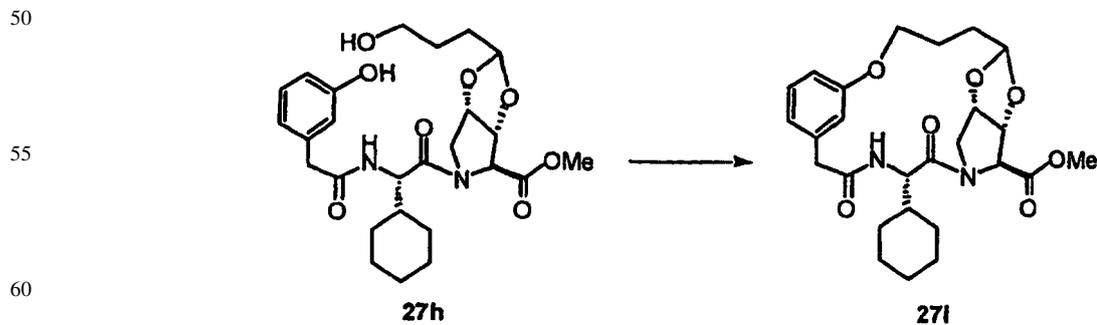
20 El compuesto deseado se preparó a partir de 27f de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa F. La cromatografía instantánea (EtOAc/CH₂Cl₂ 8 a 20%) proporcionó 27g (36%, 4 etapas). HRMS *m/z* 595,3014 [calculado para C₃₃H₄₂N₂O₈, 595,3019].

Etapa G



45 El compuesto deseado se preparó cuantitativamente a partir de 27g de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa G. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 5%) proporcionó 27h en forma de un sólido de color blanco. HRMS *m/z* 595,2553 [calculado para C₂₆H₃₆N₂O₈, 595,2550].

Etapa H



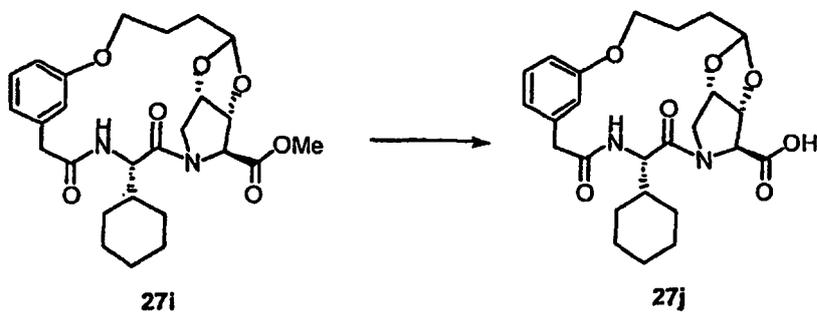
65 El compuesto deseado se preparó a partir de 27h de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa H. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 5%) proporcionó 27i en forma de una mezcla con óxido de trietilfosfina que se hidrolizó.

Etapa I

5

10

15



20

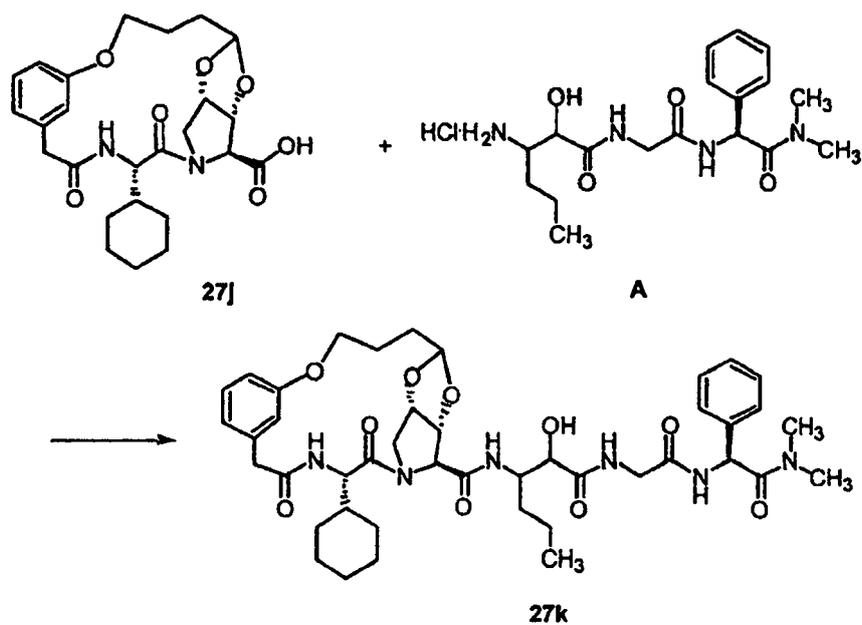
El compuesto deseado se preparó (72%, 2 etapas) a partir de 27i de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa I.

Etapa J

25

30

35



50

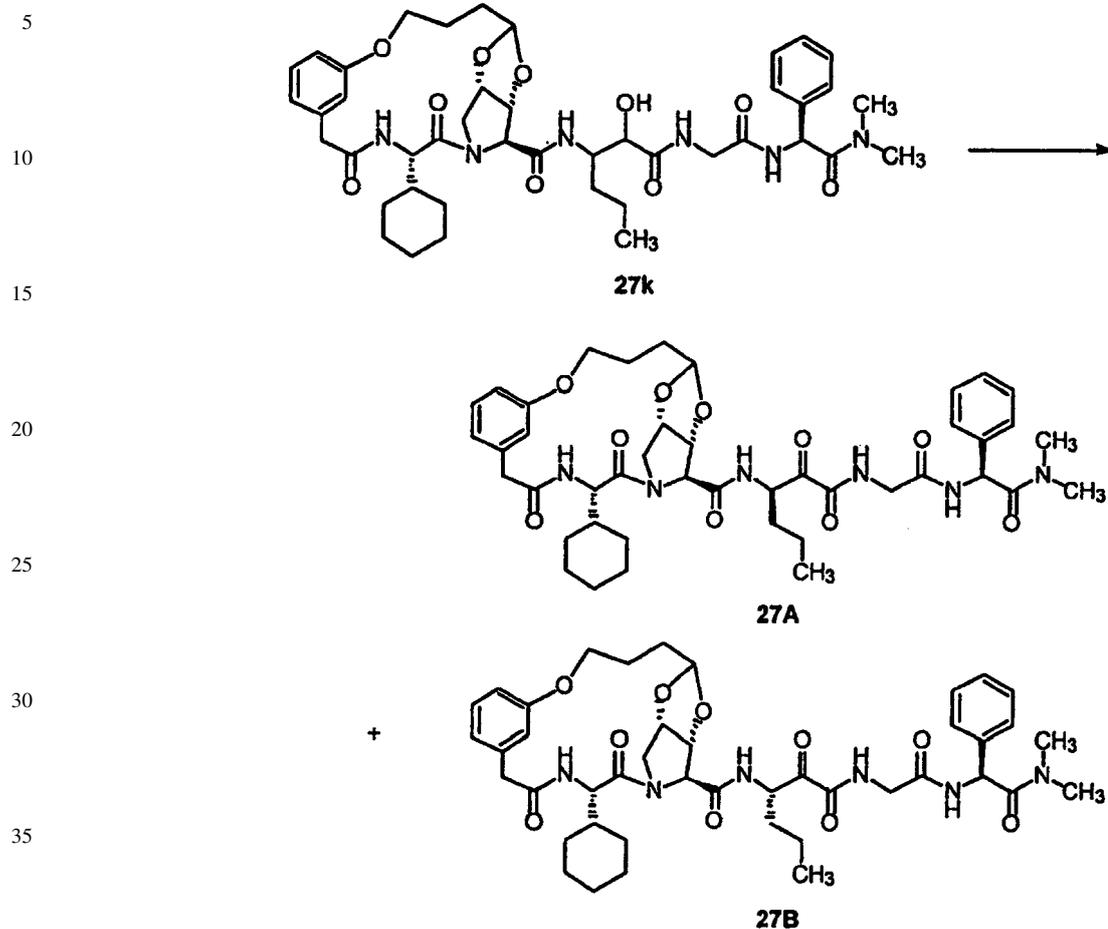
El compuesto deseado se preparó a partir de 27j de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 6%) proporcionó 27k (69%) en forma de una mezcla de diastereómeros.

55

60

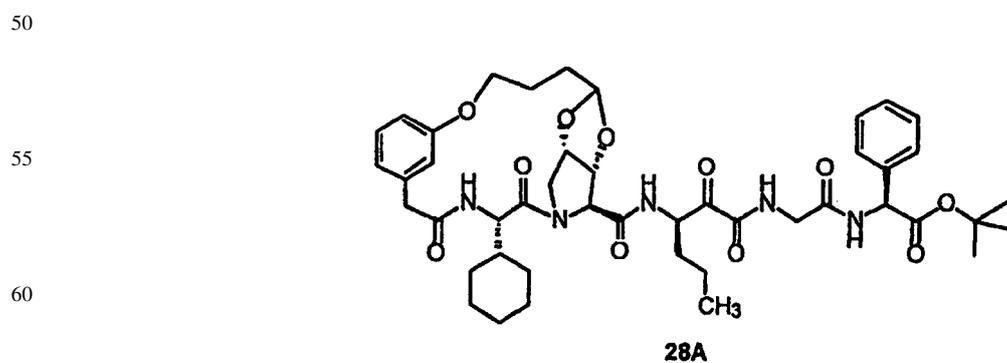
65

Etapa K



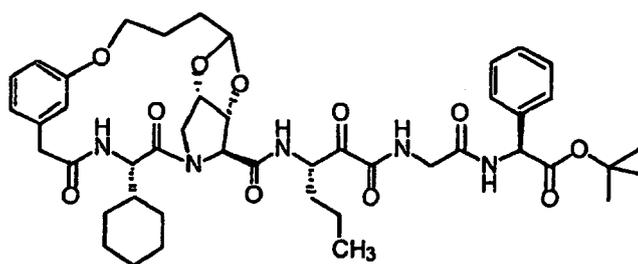
El compuesto deseado se preparó a partir de 27k de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa K. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 27A y 27B puros.

Ejemplo 28

Preparación del Compuesto 28

5

10

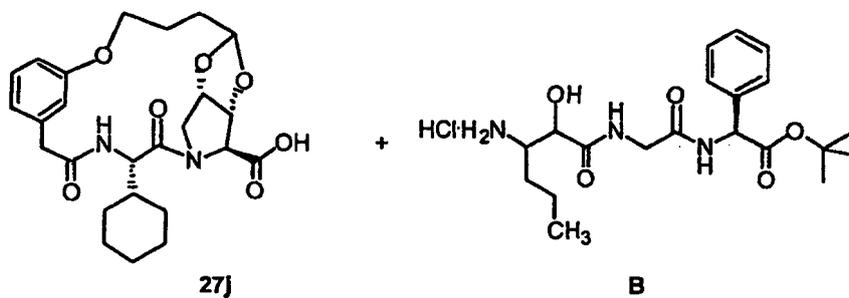
**28B**

15

Etapa A

20

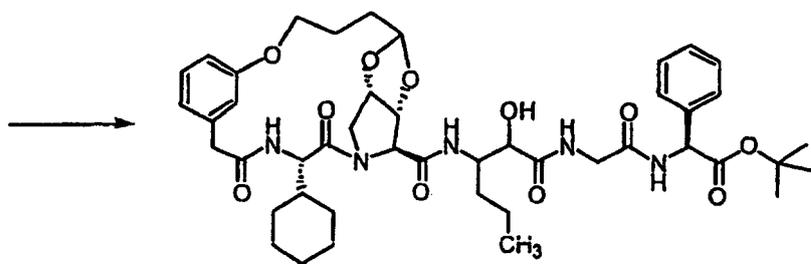
25

**27j****B**

30

35

40

**28a**

50

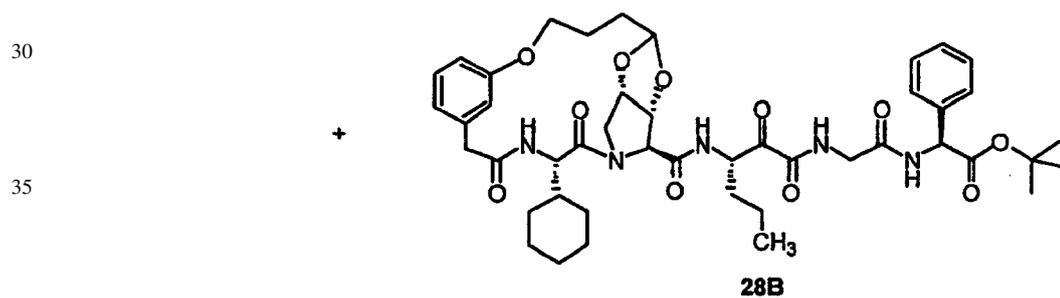
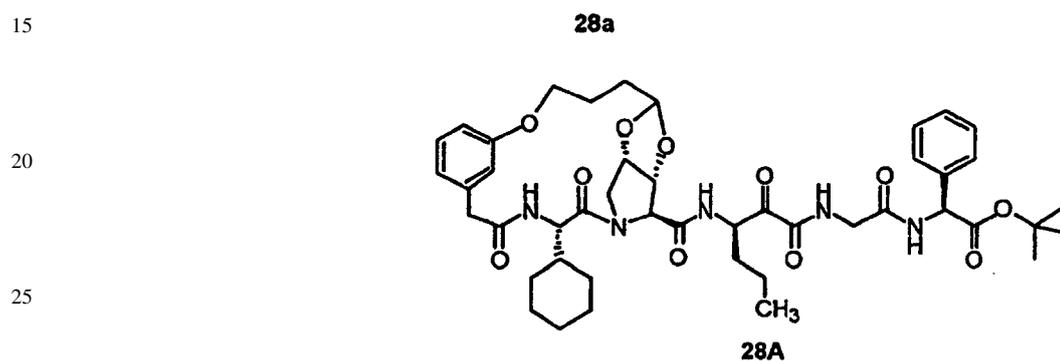
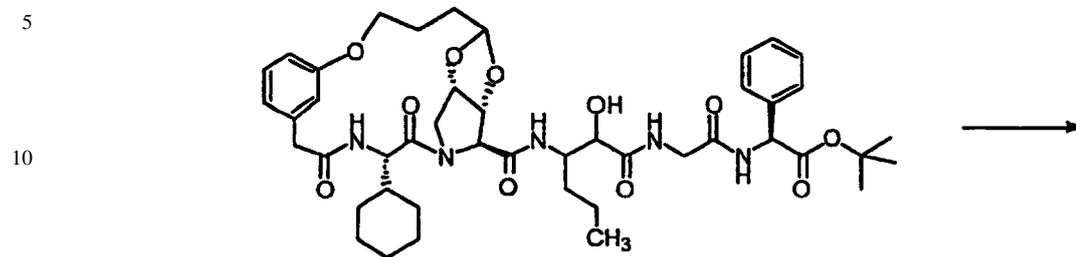
El compuesto deseado se preparó a partir de 27j de acuerdo con el método del Ejemplo 2, Etapa A. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 6%) proporcionó 28a (50%) en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables.

55

60

65

Etapa B

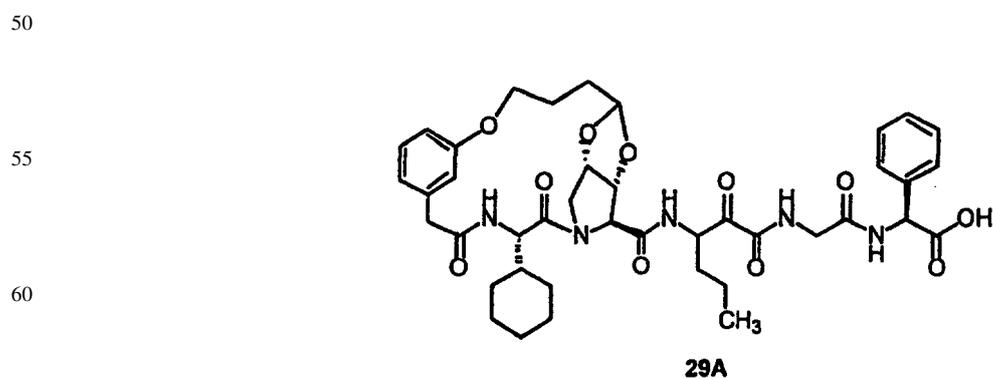


El compuesto deseado se preparó a partir de 28a de acuerdo con el método del Ejemplo 2, Etapa B. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 28A y 28B.

45

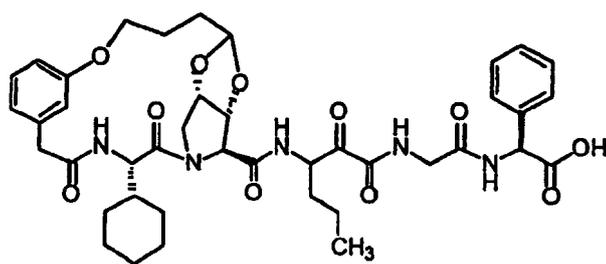
Ejemplo 29

Preparación del Compuesto 29



5

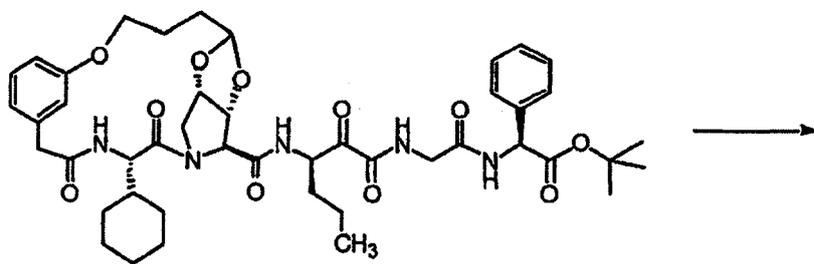
10

**29B**

15

Etapa A

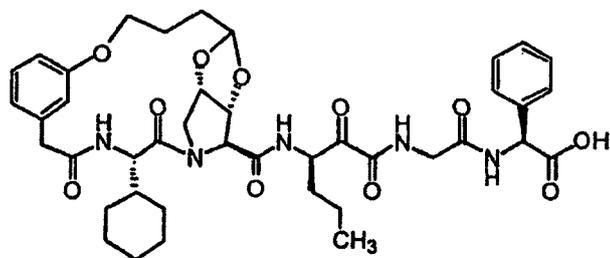
20

**28A**

30

35

40

**29A**

50

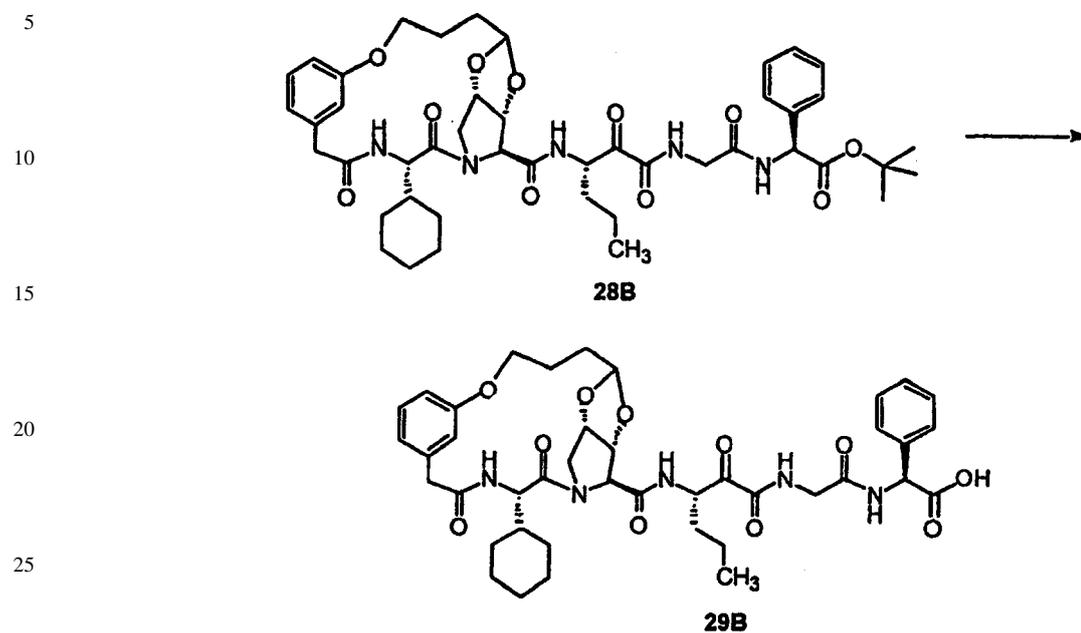
55

60

65

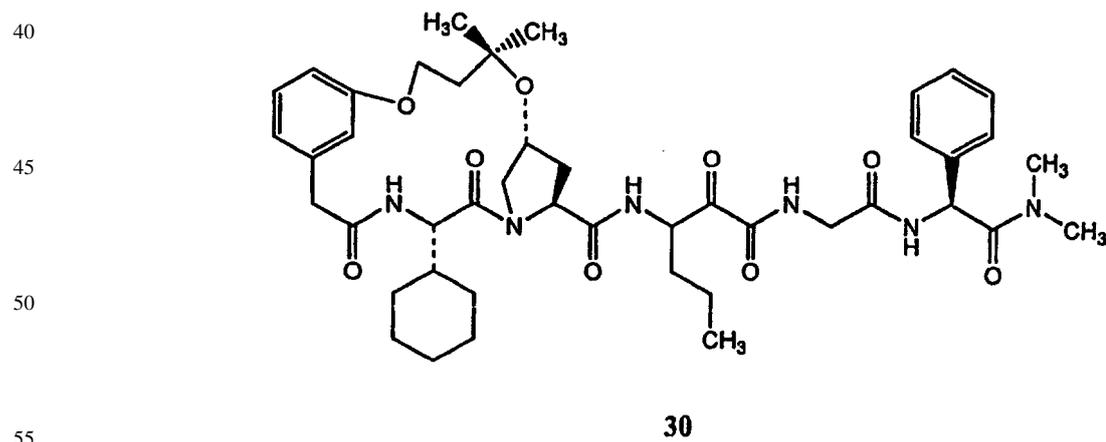
El compuesto deseado 29A se preparó a partir de 28A de acuerdo con el método del Ejemplo 3, Etapa A.

Etapa B



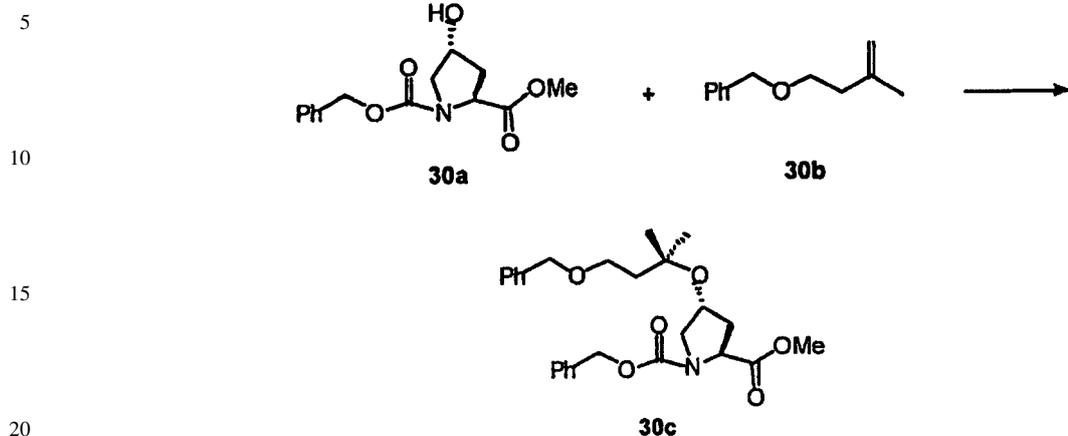
El compuesto deseado 29B se preparó a partir de 28B de acuerdo con el método del Ejemplo 3, Etapa A.

Ejemplo 30

Preparación del Compuesto 30

ES 2 317 900 T3

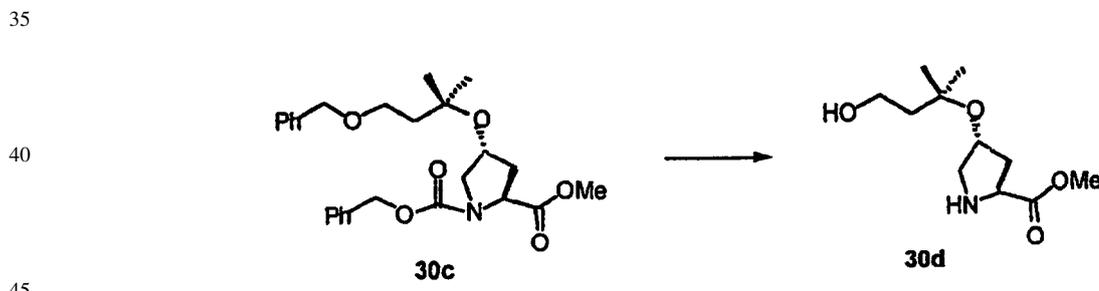
Etapa A



25 A una solución de Cbz-HYP-OMe (30a) (3,0 g, 10,7 mmoles) y 4-benzyloxi-2-metil-1-buteno 30b (5,30 g, 30,0 mmoles) en CH_2Cl_2 anhidro (80 mL) a 0°C se le añadió dietileterato de trifluoroboro (0,25 mL, 1,97 mmoles). La mezcla resultante se agitó a rt. durante la noche (18 h). Se añadieron una solución saturada de bicarbonato de sodio (30 mL), salmuera (50 mL) y EtOAc (300 mL) y las capas se separaron. La solución acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 100 mL) y la solución orgánica combinada se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró a vacío para producir un aceite de color amarillo. La cromatografía instantánea (EtOAc/ CH_2Cl_2 5 a 20%) proporcionó 30c (2,00 g, 4,39 mmoles, 41%) en forma de un aceite.

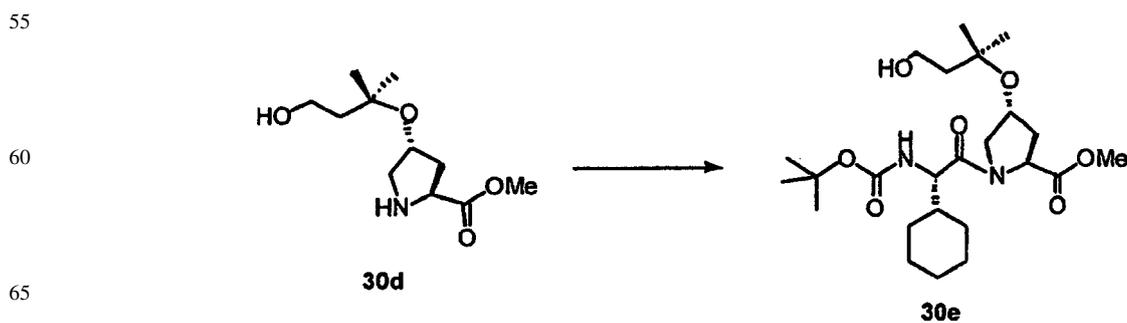
30

Etapa B



50 El compuesto 30d deseado se preparó a partir de 30c cuantitativo de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa G.

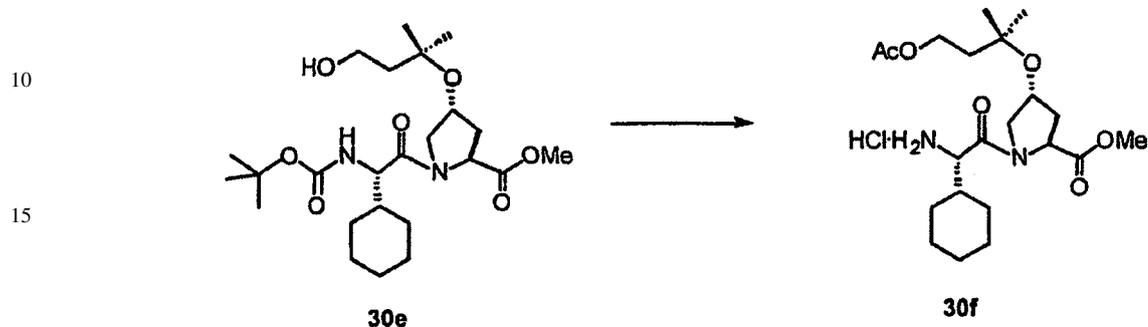
Etapa C



ES 2 317 900 T3

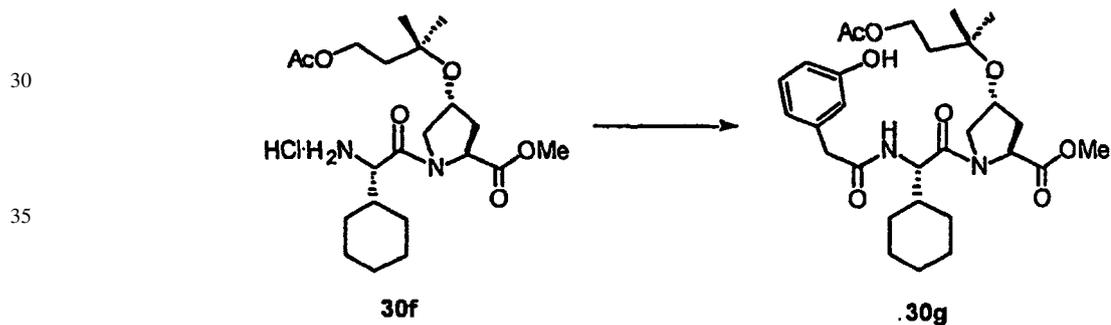
El compuesto deseado 30e se preparó a partir de 30d y Boc-ciclohexilglicina-OH de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa D. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 5%) proporcionó 30e (61%).

5 Etapa D



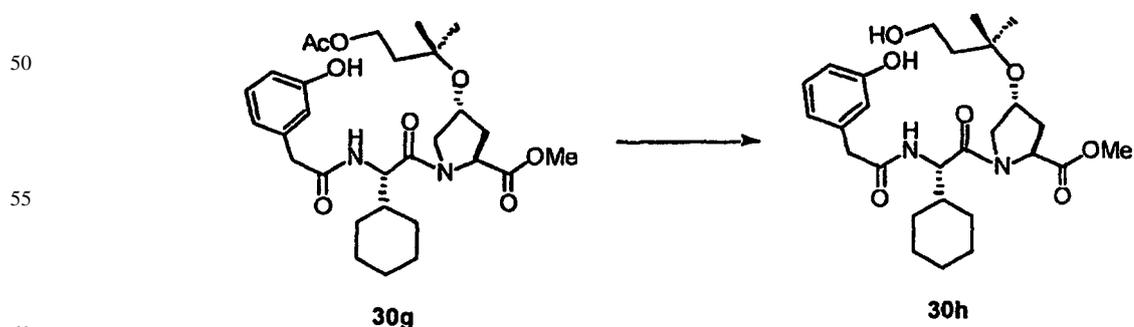
La solución de 30e y HCl 2 N en dioxano y EtOAc (1:1) se agitó a rt. durante 3 h, después de lo cual se concentró a vacío. El producto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

25 Etapa E



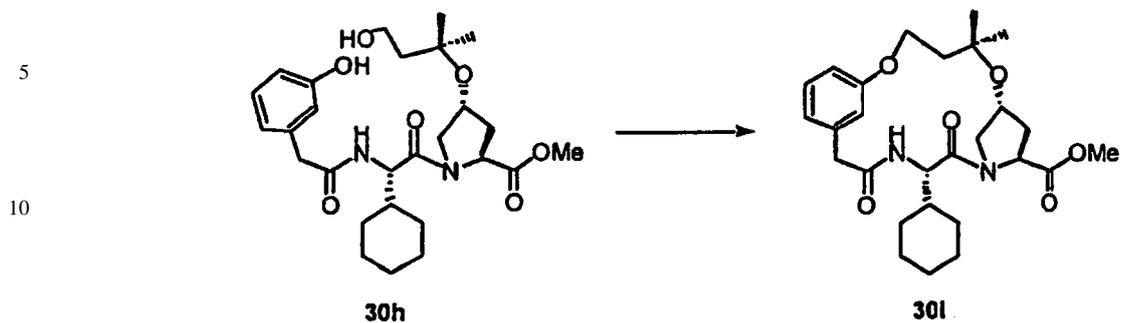
El compuesto deseado 30g se preparó a partir de 30f de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa F. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 30g (48%, 2 etapas).

45 Etapa F



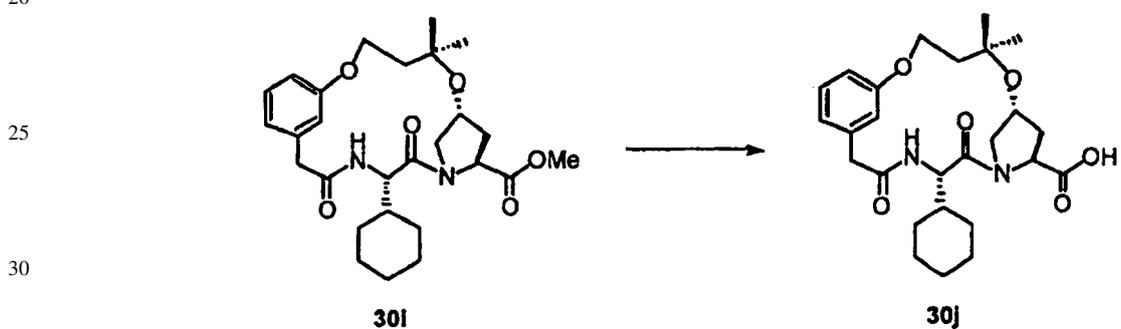
La mezcla de 30g (700 mg, 1,28 mmoles) y carbonato de potasio (530 mg, 3,84 mmoles) en metanol anhidro (80 mL) se agitó vigorosamente a rt. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 3 h, se concentró a vacío antes de añadir EtOAc (200 mL) y agua (100 mL) y las capas se separaron. La solución acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 100 mL). Las soluciones se combinaron, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío. El producto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Etapa G



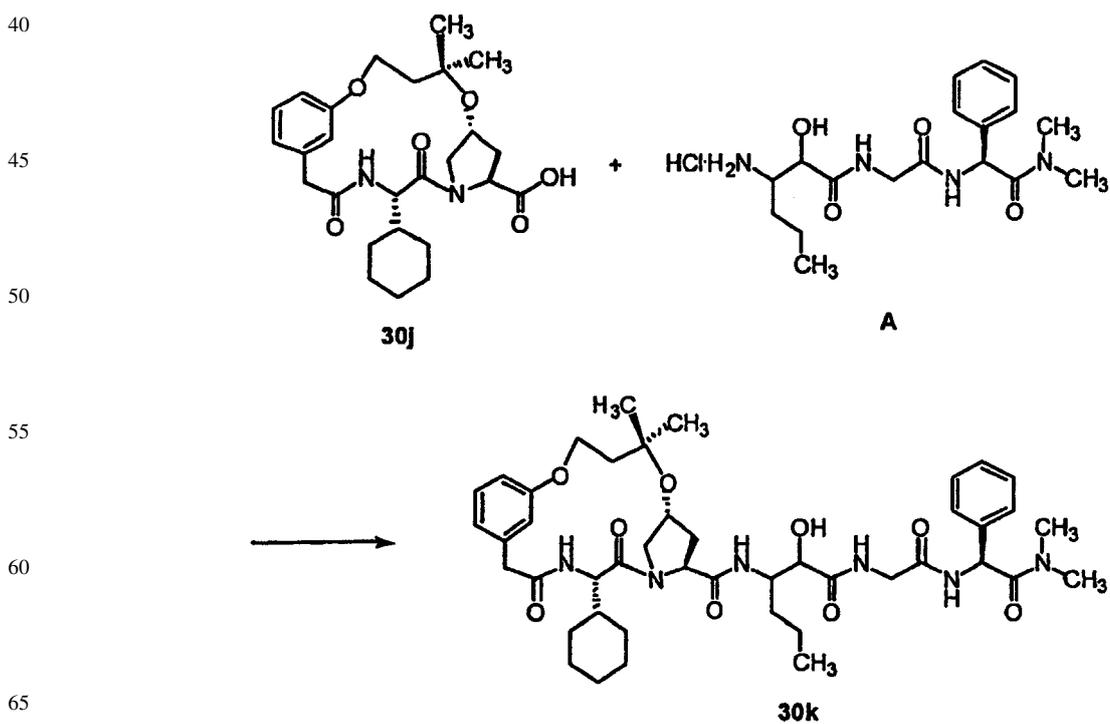
El compuesto deseado 30i se preparó a partir de 30h de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa H.

Etapa H



35 El compuesto deseado 30j se preparó a partir de 30i de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa I (23%, 3 etapas).

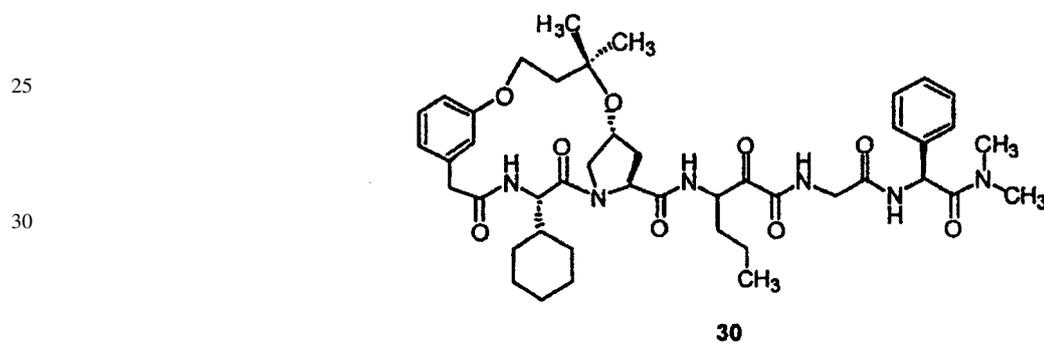
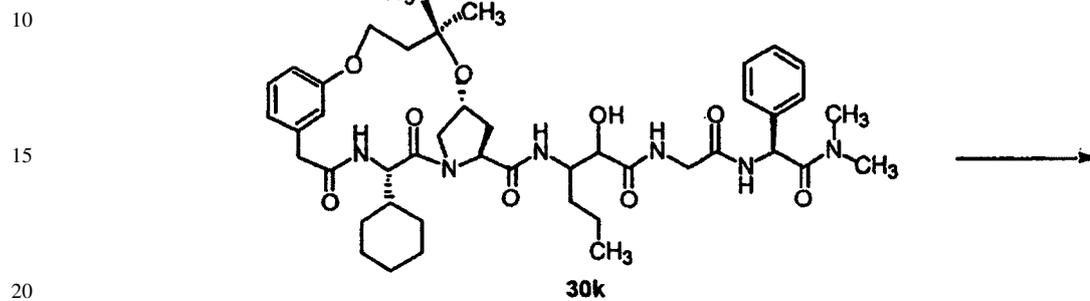
Etapa I



ES 2 317 900 T3

El compuesto deseado se preparó a partir de 30j de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa J. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 6%) proporcionó 30k (58%).

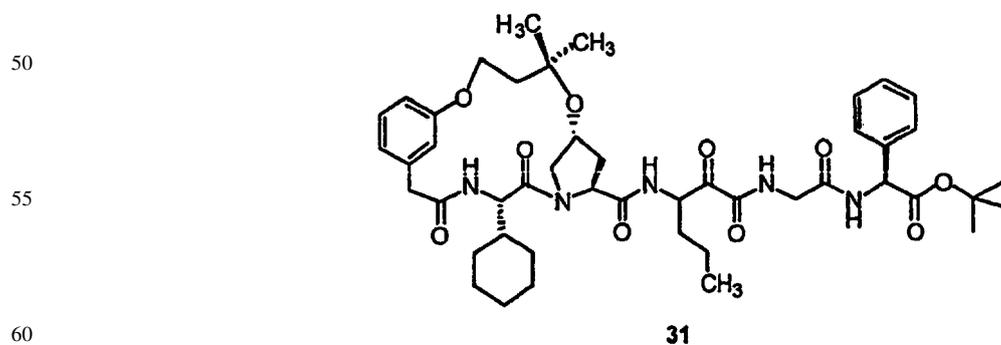
5 Etapa J



40 El compuesto deseado 30 se preparó a partir de 30k de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa K. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 3 a 5%) proporcionó 30 en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables.

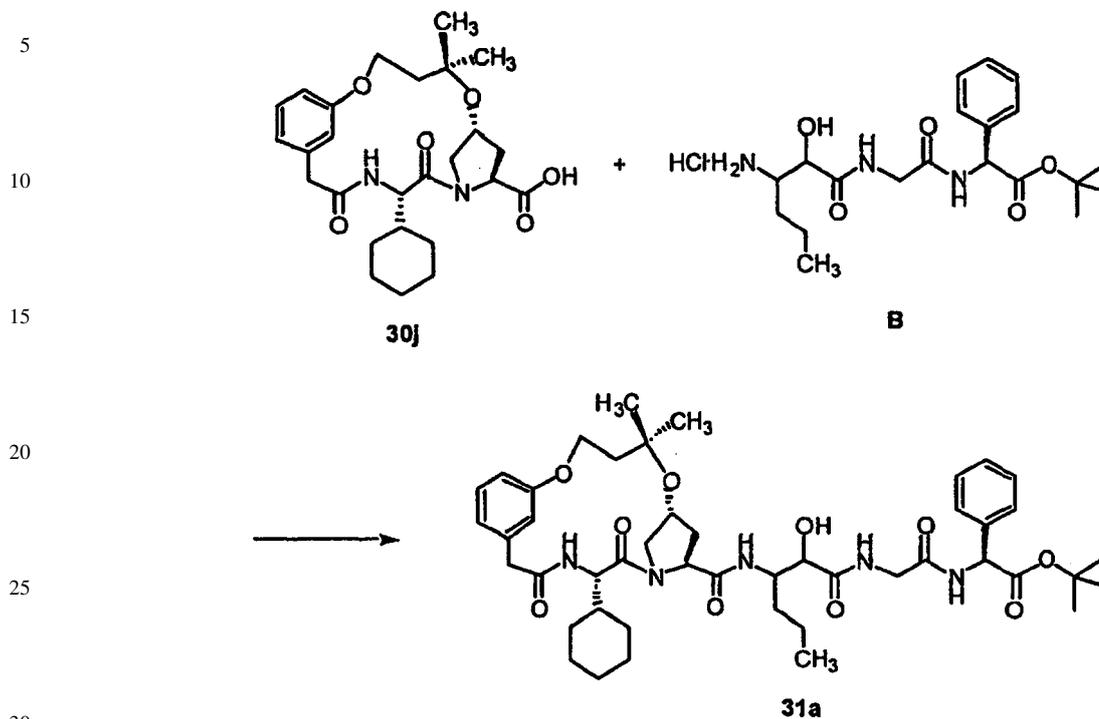
Ejemplo 31

45 *Preparación del Compuesto 31*



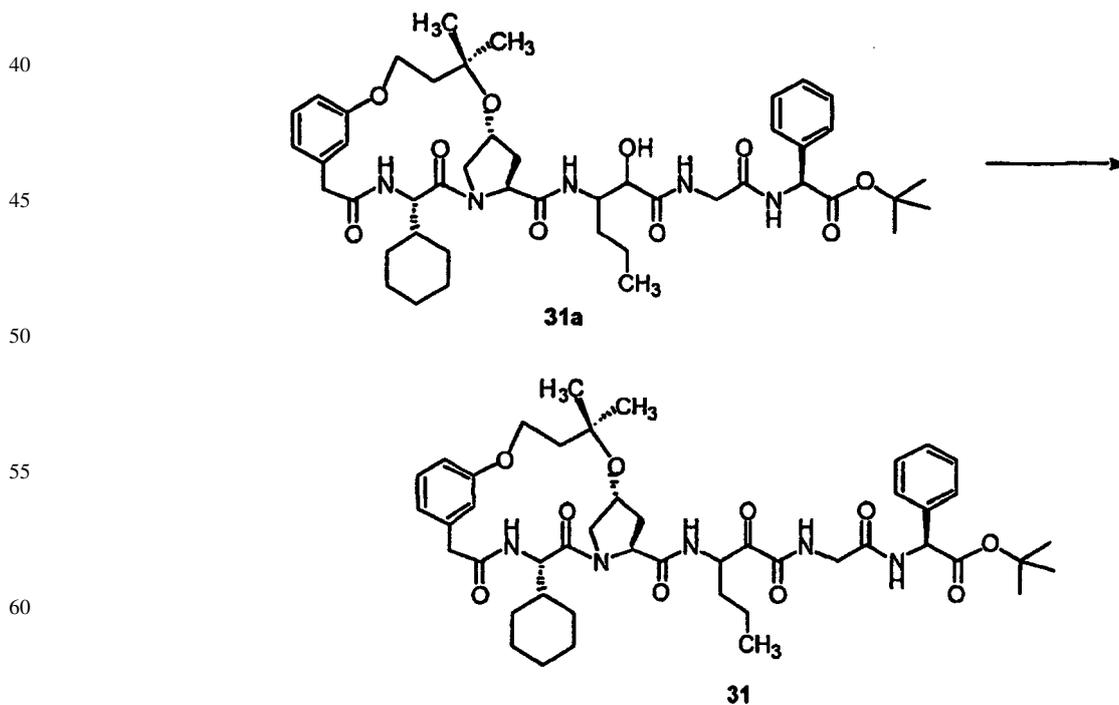
65

Etapa A



El compuesto deseado se preparó a partir de 30j y B de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa J. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 31a (73%).

Etapa B



El compuesto deseado se preparó a partir de 31a de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa K. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 31 en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables.

Ejemplo 32

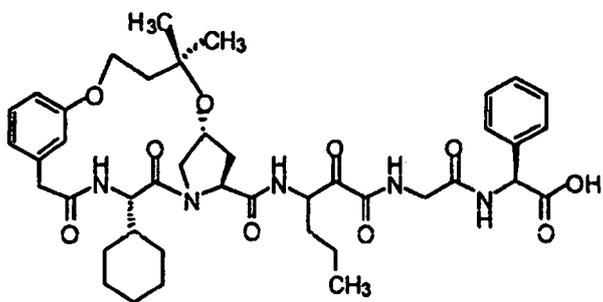
Preparación del Compuesto 32

5

10

15

20

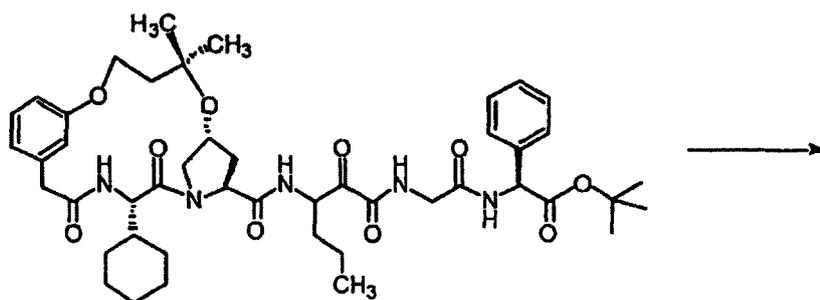
**32**

25

Etapa A

30

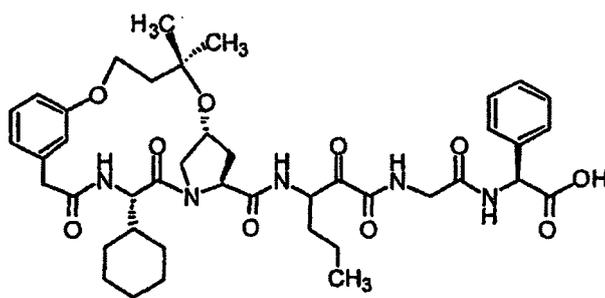
35

**31**

40

45

50

**32**

55

El compuesto deseado 32 se puede preparar a partir de 31 de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 3, Etapa A.

60

65

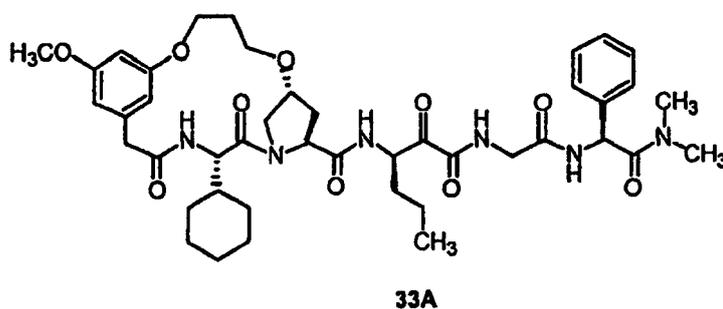
Ejemplo 33

Preparación del Compuesto 33

5

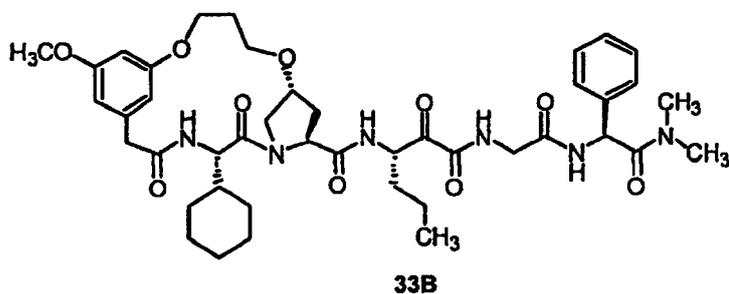
10

15



20

25



30

Etapa A

35

40



45

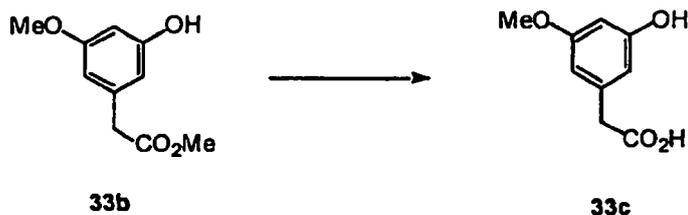
La suspensión de 3,5-dihidroxifenilacetato de metilo (33a) (5,0 g, 27,4 mmoles), yoduro de metilo (4,6 g, 32,9 mmoles), carbonato de potasio (5,69 g, 41,2 mmoles) en DMF (30 mL) se calentó a 55°C y se agitó durante la noche. Después de enfriar a rt., se añadieron una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 mL) y EtOAc (200 mL) y capas se separaron. La solución acuosa se extrajo con EtOAc (2x100 mL). La solución orgánica combinada se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 33b (1,11 g, 29%) en forma de un líquido de color blanco.

50

Etapa B

55

60



65

Una solución acuosa de hidróxido de litio (0,342 g en 10 mL de H₂O) se añadió a una solución del éster metílico 33b en THF (10 mL) y metanol (10 mL) a rt. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 4 hr., las sustancias volátiles se eliminaron a vacío, se añadieron EtOAc (150 mL) y agua (30 mL) y la solución acuosa se

ES 2 317 900 T3

aciduló a pH = 1 y se saturó con cloruro de sodio sólido. Después de la separación de las capas, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 150 mL). Las soluciones orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 33c (1,6 g).

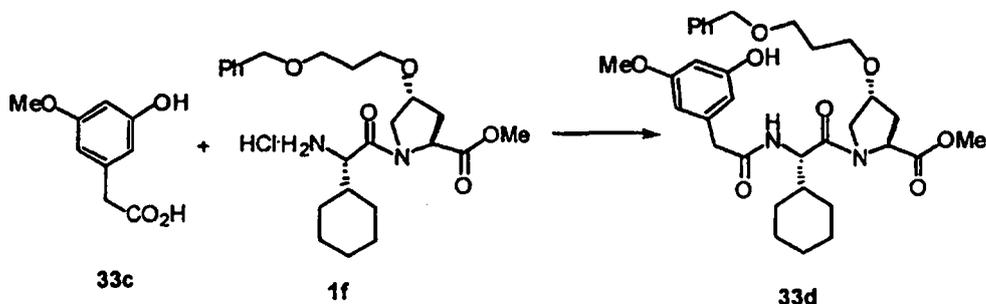
5

Etapa C

10

15

20



El compuesto deseado 33d se preparó a partir de 33c y 1f de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa F. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 33d con un rendimiento de 90%.

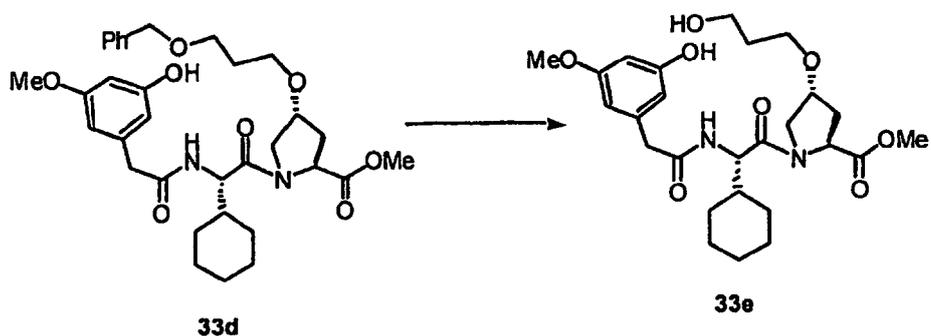
25

Etapa D

30

35

40



El compuesto deseado 33e se preparó a partir de 33d de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa G. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 33e con un rendimiento de 56%.

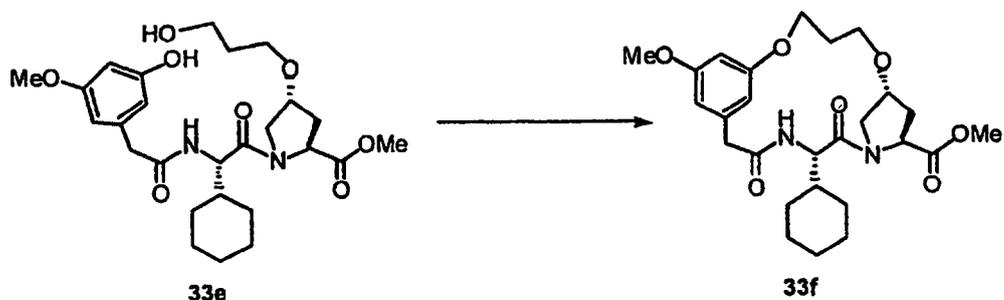
45

Etapa E

50

55

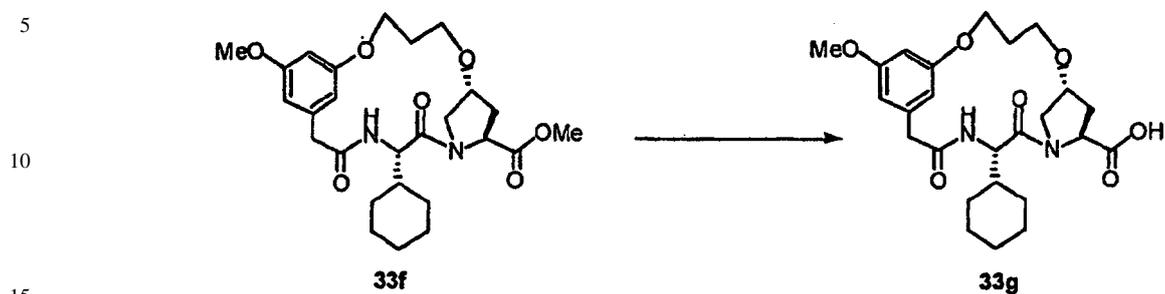
60



El compuesto deseado 33f se preparó a partir de 33e de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa H. La cromatografía instantánea (MeOH/CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 33e en forma de una mezcla con óxido de trifenilfosfina que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

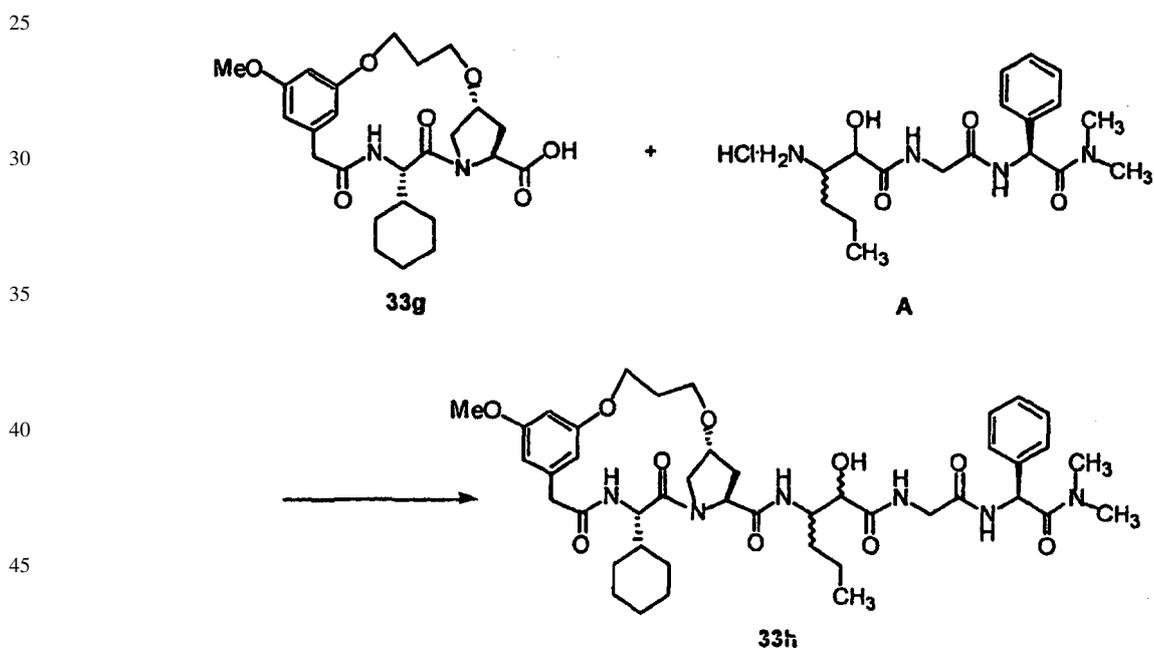
65

Etapa F



20 El compuesto deseado 33g se preparó a partir de 33f con un rendimiento de 45% (2 etapas) de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa I.

Etapa G

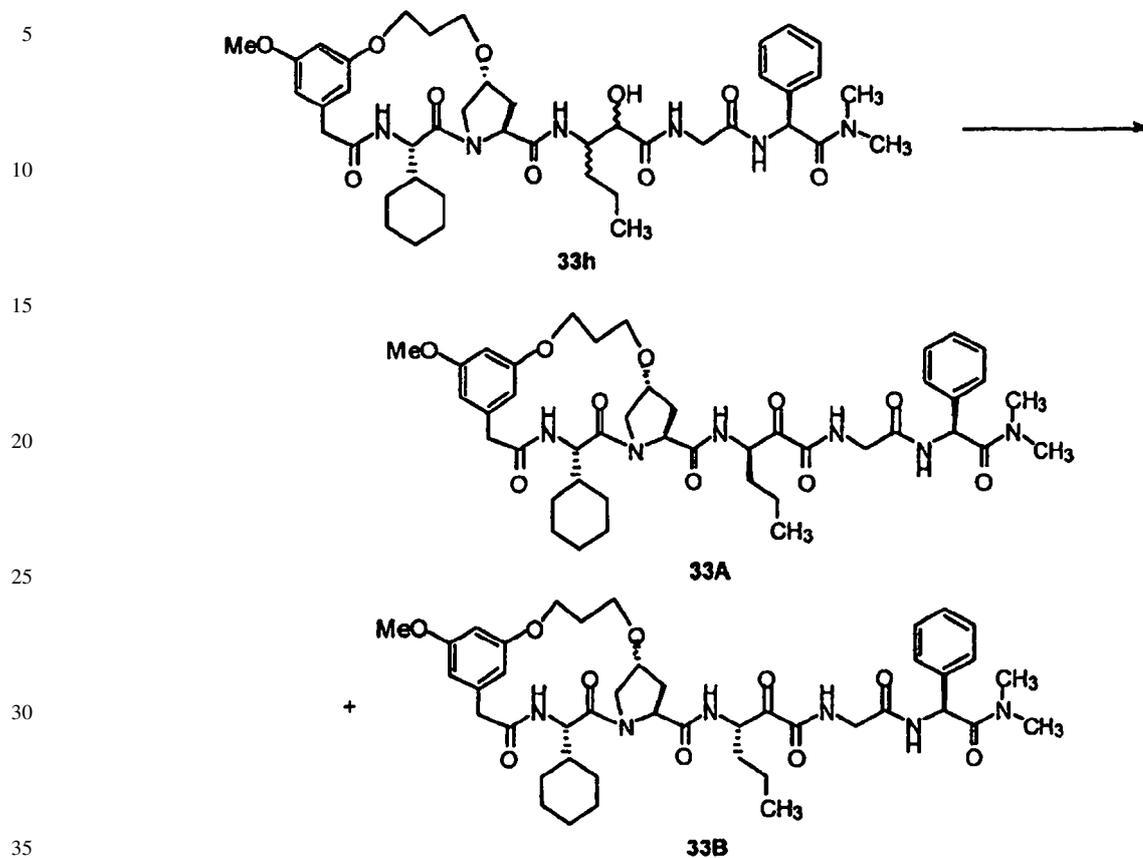


55 El compuesto deseado 33h se prepara a partir de 33g y A de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa J.

60

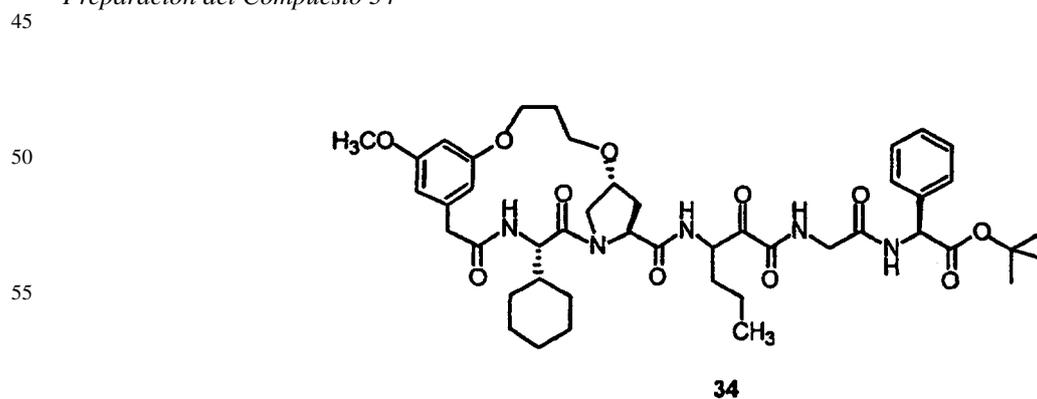
65

Etapa H

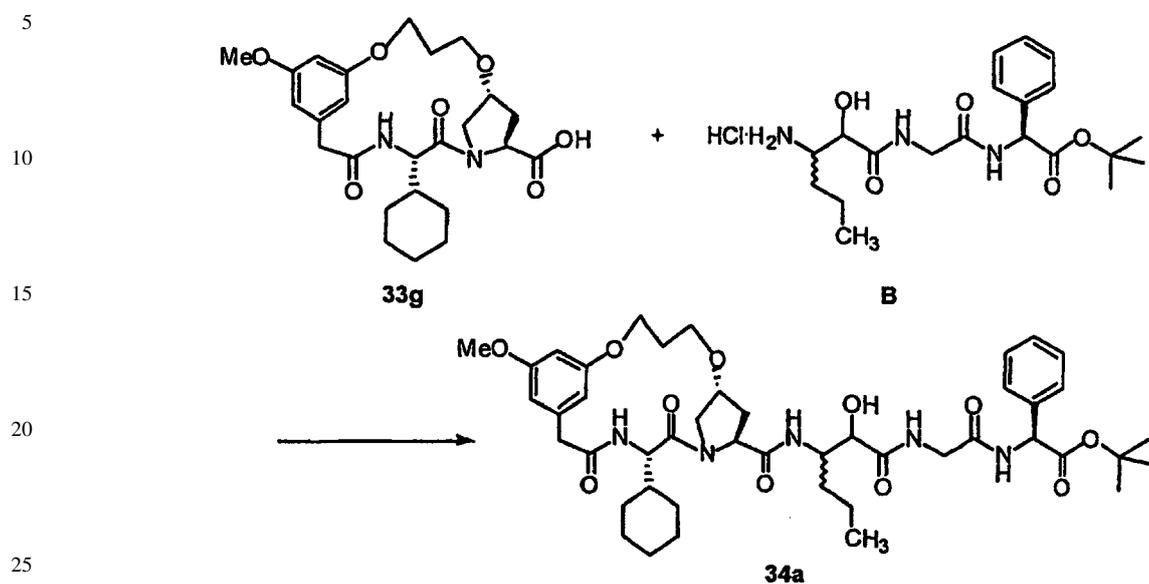


40 Los compuestos deseados se preparan a partir de 33h de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1, Etapa K.

Ejemplo 34

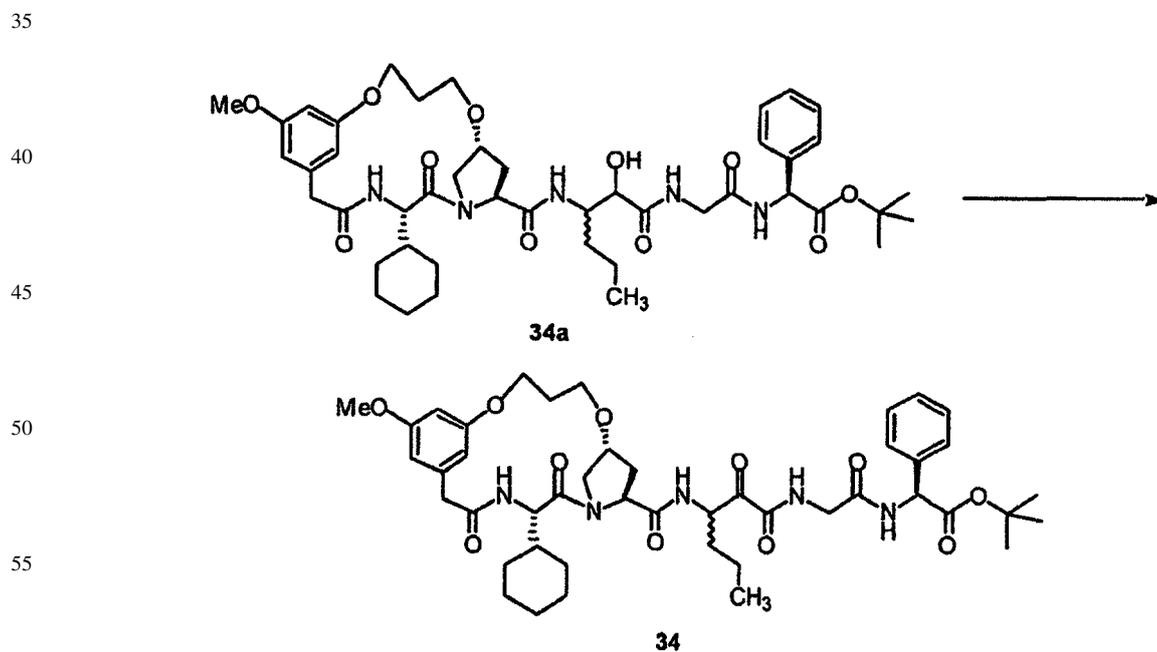
Preparación del Compuesto 34

Etapa A



30 El compuesto deseado 34a se prepara de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J, excepto porque se sustituyó la amina B por la amina A. El producto se obtiene en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables.

Etapa B



65 El compuesto deseado se prepara a partir de 34a de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa K.

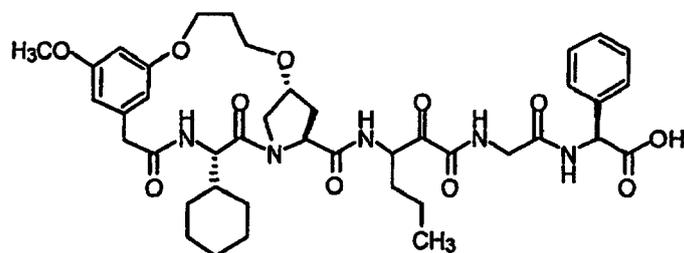
Ejemplo 35

Preparación del Compuesto 35

5

10

15



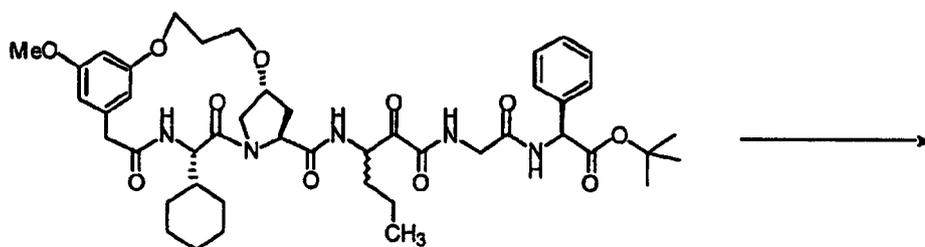
35

20

Etapa A

25

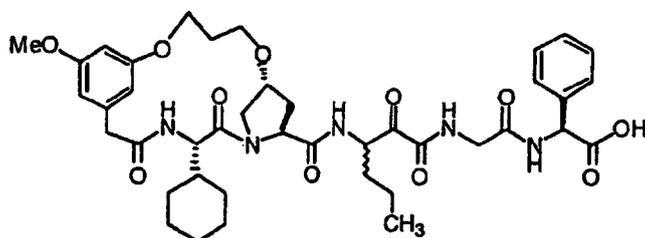
30



34

35

40



35

45

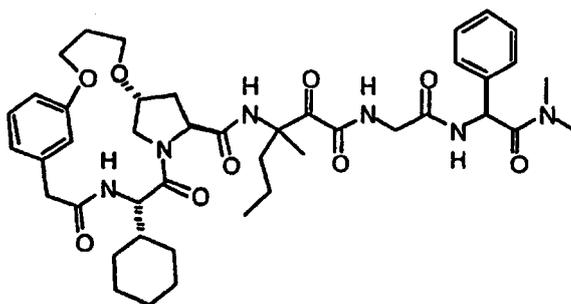
El compuesto deseado 35 se prepara a partir de 34 de acuerdo con el método del Ejemplo 3, Etapa A.

50 Ejemplo 36

Preparación del Compuesto 36

55

60

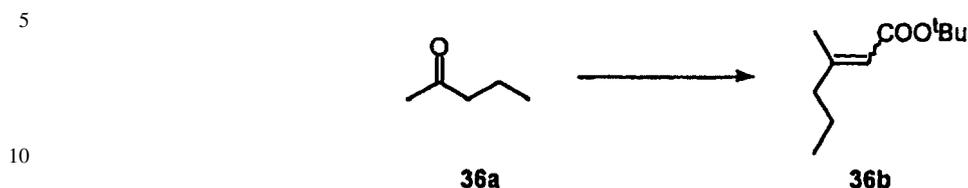


36

65

ES 2 317 900 T3

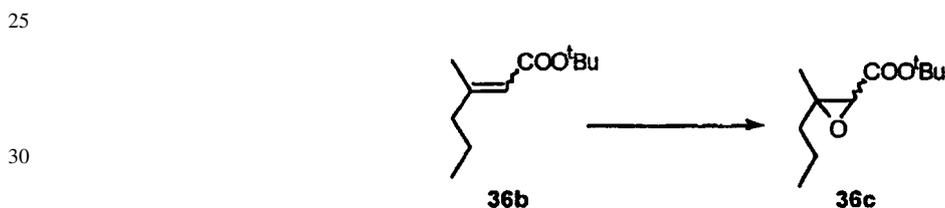
Etapa A



15 Una solución de fosonoacetato de *tert*-butilo (15,1 g, 50,0 mmoles) en THF seco se enfrió a 0°C y se trató con NaH (60%, 2,5 g, 62,5 mmoles, 1,25 equiv.) y se agitó durante 20 min. La mezcla de reacción se trató con 2-pentanona (4,3 g, 50 mmoles) y se agitó a rt. durante 24 h. La mezcla de reacción se diluyó con NaHCO₃ acuoso y se extrajo en éter (3x100 mL). La capa de éter combinada se extrajo con salmuera, se secó (MgSO₄), se concentró a vacío y se destiló para producir 8,2 g (88%) de 36b (razón estereoquímica 2:1).

20

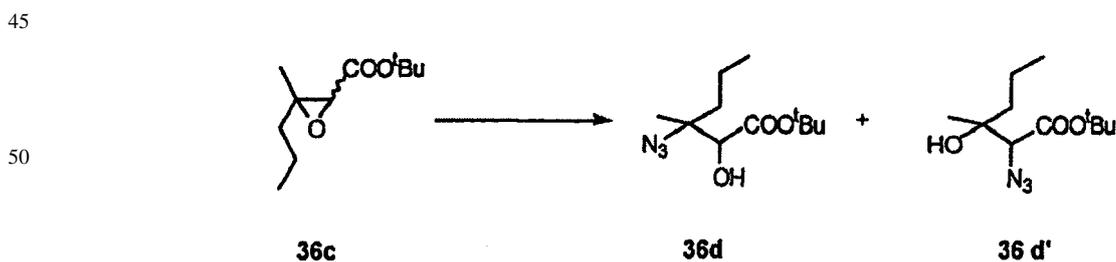
Etapa B



35 Una solución de 36b (5,0 g, 27,1 mmoles) se disolvió en dicloroetano y se trató con 4,4'-tiobis-(2-*tert*-butil-5-metilfenol) (100 mg) y MCPBA (60-80%, 7,76 g, 27,1 mmoles) y se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se diluyó con éter (200 mL). La capa de éter se lavó dos veces con Na₂S₂O₃ acuoso saturado, NaOH acuoso y salmuera (100 ml). La mezcla de reacción se concentró a vacío para producir 4,2 g (77%) de 36c que se utilizó tal cual en la siguiente etapa.

40

Etapa C

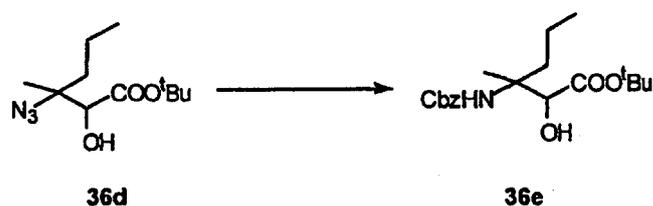


55

60 Una solución del epóxido (4,0 g, 18,4 mmoles) en etanol seco (100 mL) se trató con NaN₃ (12 g, 184 mmoles) y NH₄Cl (9,6 g, 184 mmoles) y se calentó a reflujo durante 36 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y la mezcla de reacción se extrajo con éter (300 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre SiO₂ (EtOAc/Hex 1:19) para producir 1,1 g (28%) de 36d y 731 mg (18%) de 36d' en forma de un líquido incoloro.

65

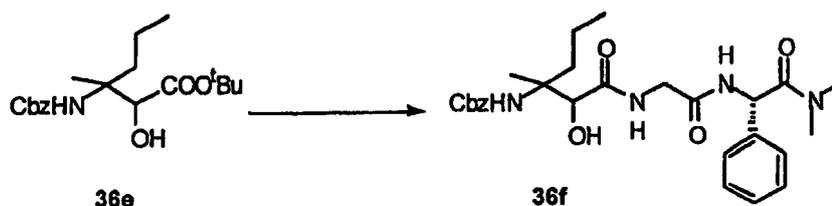
Etapa D



15 Una solución de la azida 36d (2,1 g, 8,7 mmoles) se disolvió en CH₃OH (100 mL) y se trató con Pd/C (50 mg) y se hidrogenó (2,72 atm.) durante 24 h. La mezcla de reacción se filtró a través un tapón de celite y el producto filtrado se concentró a vacío. El residuo se utilizó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

20 Una solución de Cbz-Cl (1,48 g, 8,7 mmoles, 1,23 mL) se añadió gota a gota a una mezcla de amina y Et₃N (878 mg, 1,25 mL) a -78°C en CH₂Cl₂ (30 mL). La mezcla de reacción se templó a rt. y se concentró a vacío. El residuo se cromatografió sobre SiO₂ (EtOAc/Hex 8:2) para 36e (450 mg, 15%) en forma de un sólido incoloro.

Etapa E



35

40 Una solución de 36e (450 mg, 1,29 mmoles) en CH₂Cl₂/TFA (10 mL, 1:1) se agitó a rt. durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío para obtener el ácido (250 mg) que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

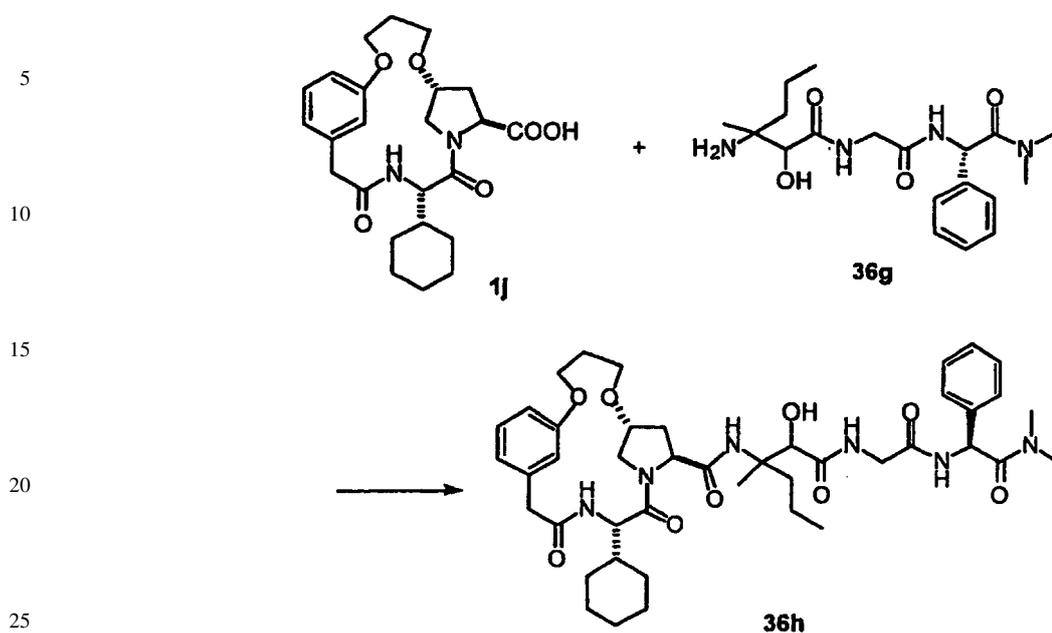
45 El ácido obtenido mediante la hidrólisis de 36e se disolvió en CH₂Cl₂ (10 mL) a -20°C y se trató con H-Glicil-Fenilglicil-N(CH₃)₂ (281 mg, 0,93 mmoles), HOObt (208 mg, 1,27 mmoles, 1,25 equiv.) EDCI (244 mg, 1,27 mmoles) y NMM (343 mg, 3,4 mmoles, 490 μL). La mezcla de reacción se almacenó en el congelador durante 24 h y se diluyó con HCl acuoso (1M, 50 mL). La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3x50 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con HCl acuoso (1 M, 100 mL), NaHCO₃ acuoso (1 M, 100 mL), salmuera (100 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío y se cromatografiaron sobre SiO₂ (acetona/Hexanos 1:3) para producir 36f (330 mg, 75%) en forma de un sólido incoloro.

Etapa F



65 Una solución de 36f se disolvió en CH₃OH (20 mL) y se trató con Pd/C (10% en moles, 20 mg). La mezcla de reacción se hidrogenó a 2,72 atm. durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de Celite y el producto filtrado se concentró a vacío y se usó directamente en la siguiente etapa.

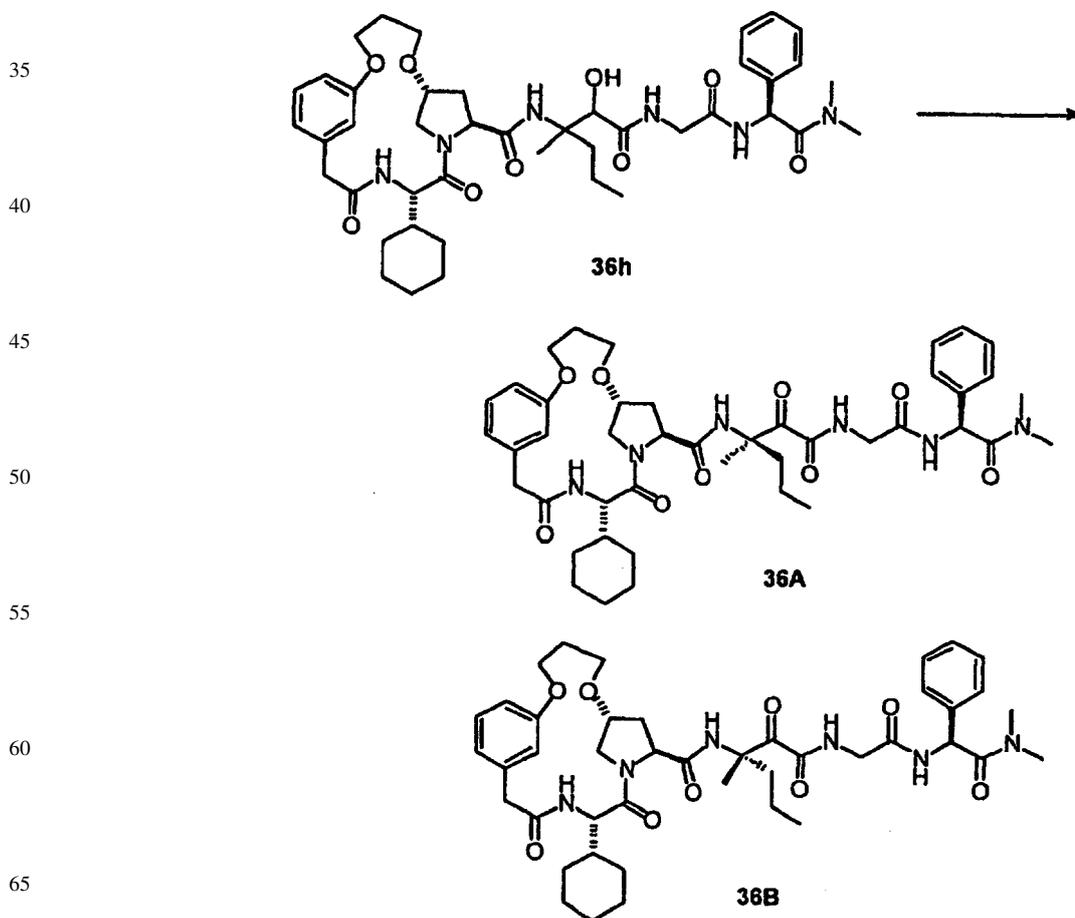
Etapa G



El producto 36h esperado se sintetiza como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia acoplada se utilizará directamente para la siguiente etapa para sintetizar 36A y 36B.

30

Etapa H



ES 2 317 900 T3

Los productos deseados 36A y 36B se obtienen mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K.

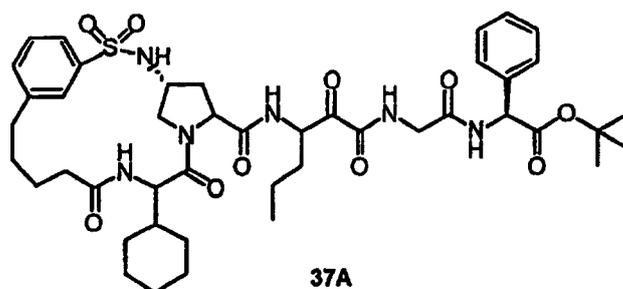
5 Ejemplo 37

Preparación del Compuesto 37

10

15

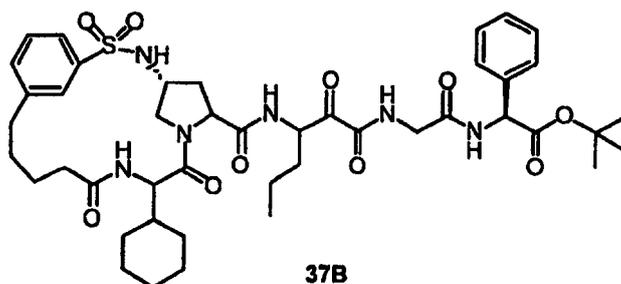
20



25

30

35

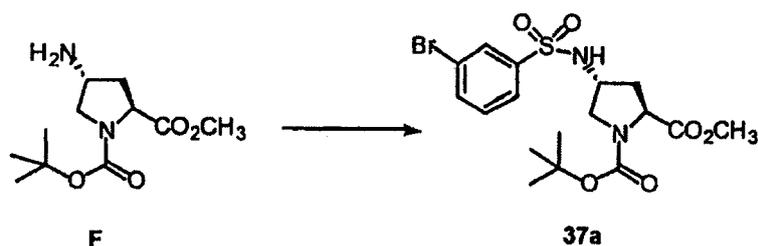


40

Etapa A

45

50



55

60

65

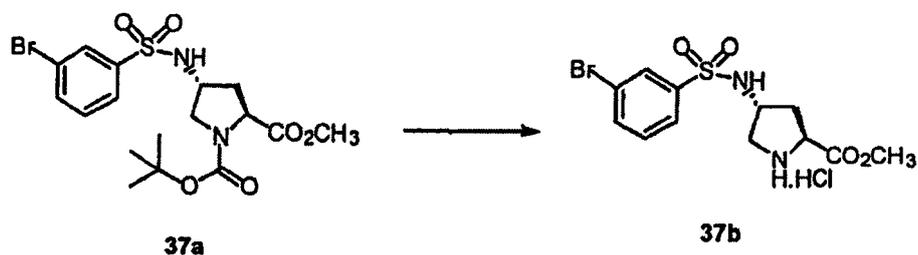
A una solución fría (0°C) de F (2,3 g, 9,43 mmoles) en diclorometano (20 mL) se le añadió trietilamina (3,97 mL, 28,28 mmoles), DMAP (unos pocos cristales) y cloruro de 3-bromobencenosulfonilo (3,61 g, 14,14 mmoles). La mezcla de reacción se dejó estar en el refrigerador (0°-5°C) durante la noche. La mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, y una solución de ácido cítrico al 10%. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 95/5 a 90/10 para proporcionar 2,7 g (rendimiento 62%) de 37a. HRMS (FAB) Calcd. para C₁₇H₂₄N₂O₉SBr: 465,0518 (M+H)⁺. Encontrado: 465,0497.

Etapa B

5

10

15



El producto **37b** deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia bruta se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

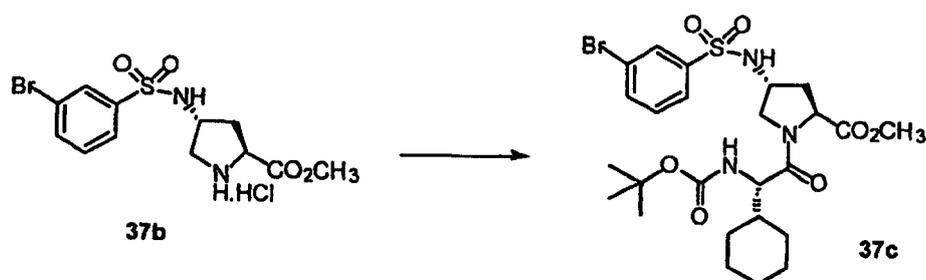
20

Etapa C

25

30

35



El producto **37c** deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D con un rendimiento de 97%. La sustancia tras la elaboración fue suficientemente pura para hacerla proseguir.

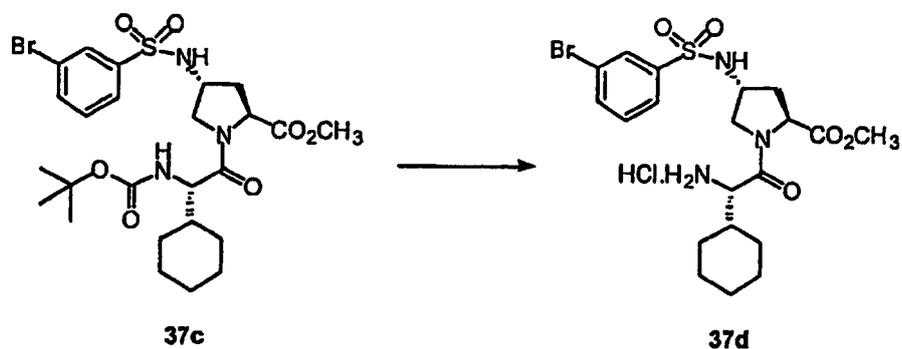
40

Etapa D

45

50

55

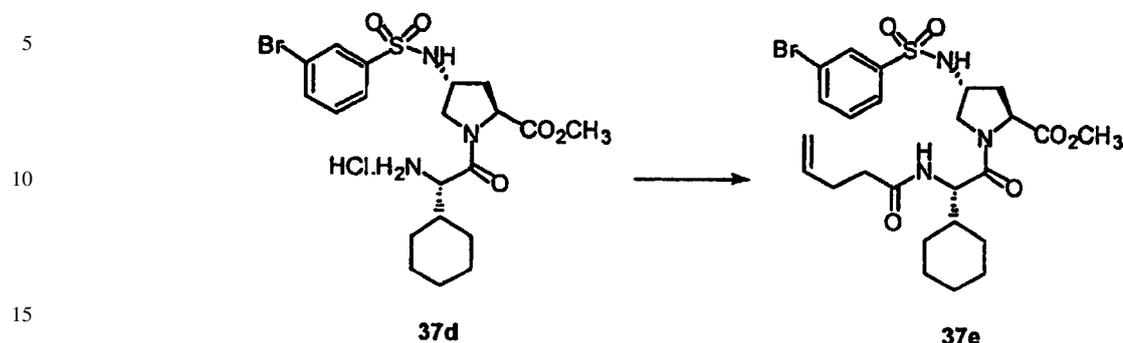


60

El producto **37d** deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia bruta se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

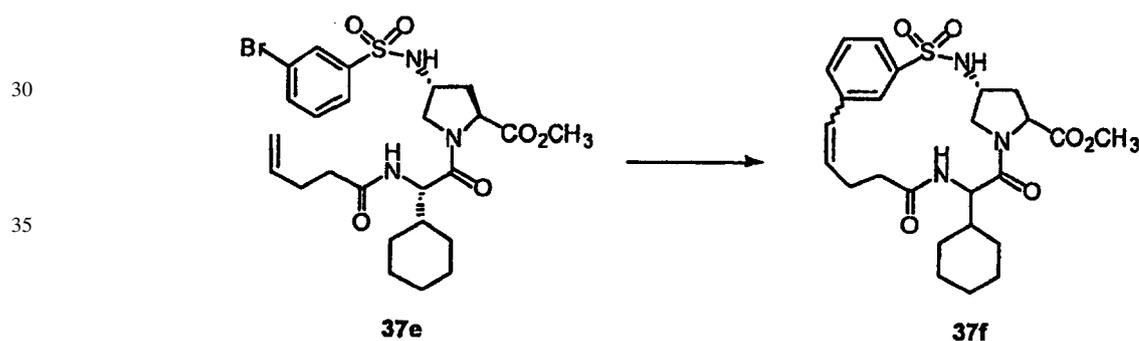
65

Etapa E



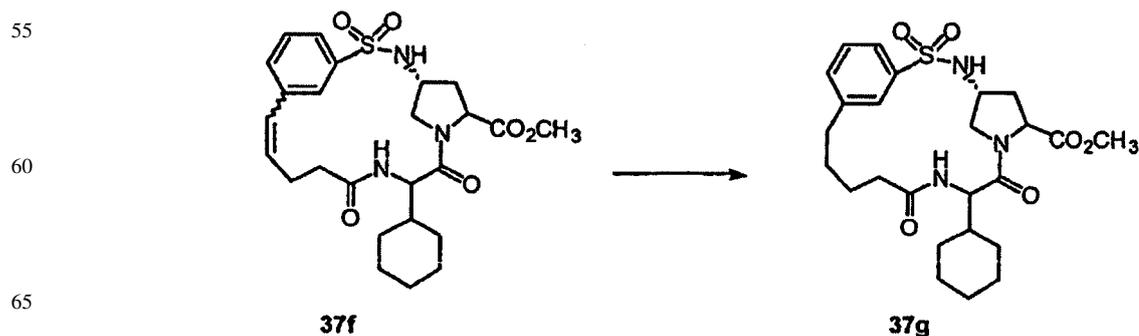
20 El producto 37e deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa F utilizando ácido pentenoico como pareja de acoplamiento. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/EtOAc 90/10 a 80/20 proporcionó un rendimiento de 35% de 37e. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{35}N_3O_6SBr$: 586,1409 (M+H)⁺. Encontrado: 586,1423.

Etapa F



45 A una solución agitada de 37e (660 mg, 1,13 mmoles) en DMF (10 mL) en atmósfera de nitrógeno se le añadieron trietilamina (3,61 mL, 32,77 mmoles), carbonato de potasio (780 mg, 5,65 mmoles), bromuro de tetrabutilamonio (730 mg, 2,26 mmoles), y acetato de paladio (II) (33 mg, 0,15 mmoles), la mezcla se calentó a 100°C durante 2 hrs. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución de ácido fosfórico al 5%. La capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4) y se concentró para proporcionar 280 mg (rendimiento 49%) de 37f en forma de una mezcla de diastereómeros. Esta sustancia fue suficientemente pura para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{34}N_3O_6S$: 504,2168 (M+H)⁺. Encontrado: 504,2155.

Etapa G



ES 2 317 900 T3

El producto 37g se obtuvo mediante el procedimiento de hidrogenación descrito para el Ejemplo 1, Etapa G con un rendimiento de 73%. La sustancia fue suficientemente pura para estudios adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{36}N_3O_6S$: 506,2325 (M+H)⁺. Encontrado: 506,2314.

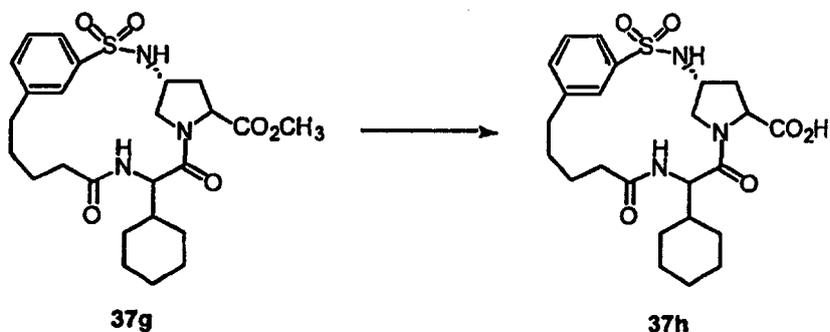
5

Etapa H

10

15

20



25

El producto 37h deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa H con un rendimiento de 84%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{24}H_{34}N_3O_6S$: 492,2168 (M+H)⁺. Encontrado: 492,2175.

30

Etapa I

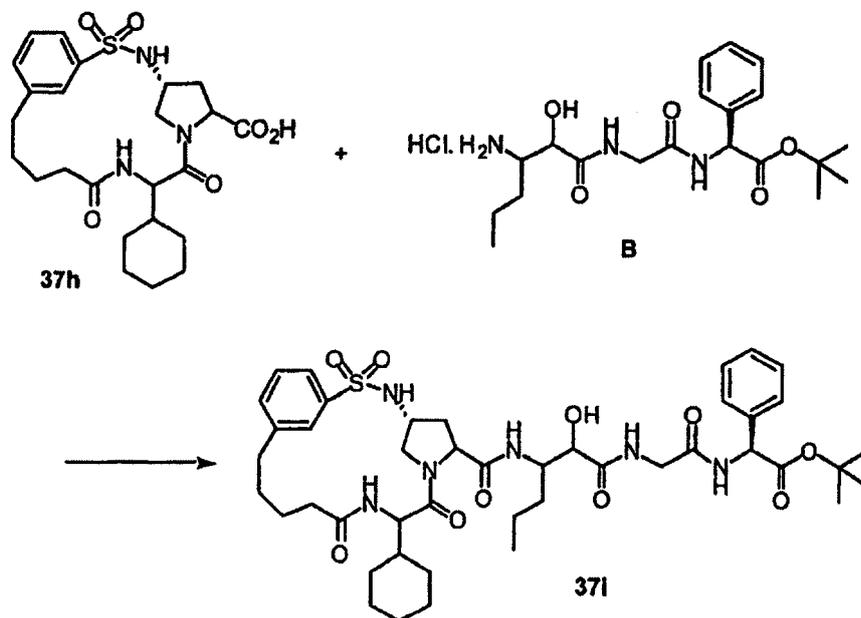
35

40

45

50

55

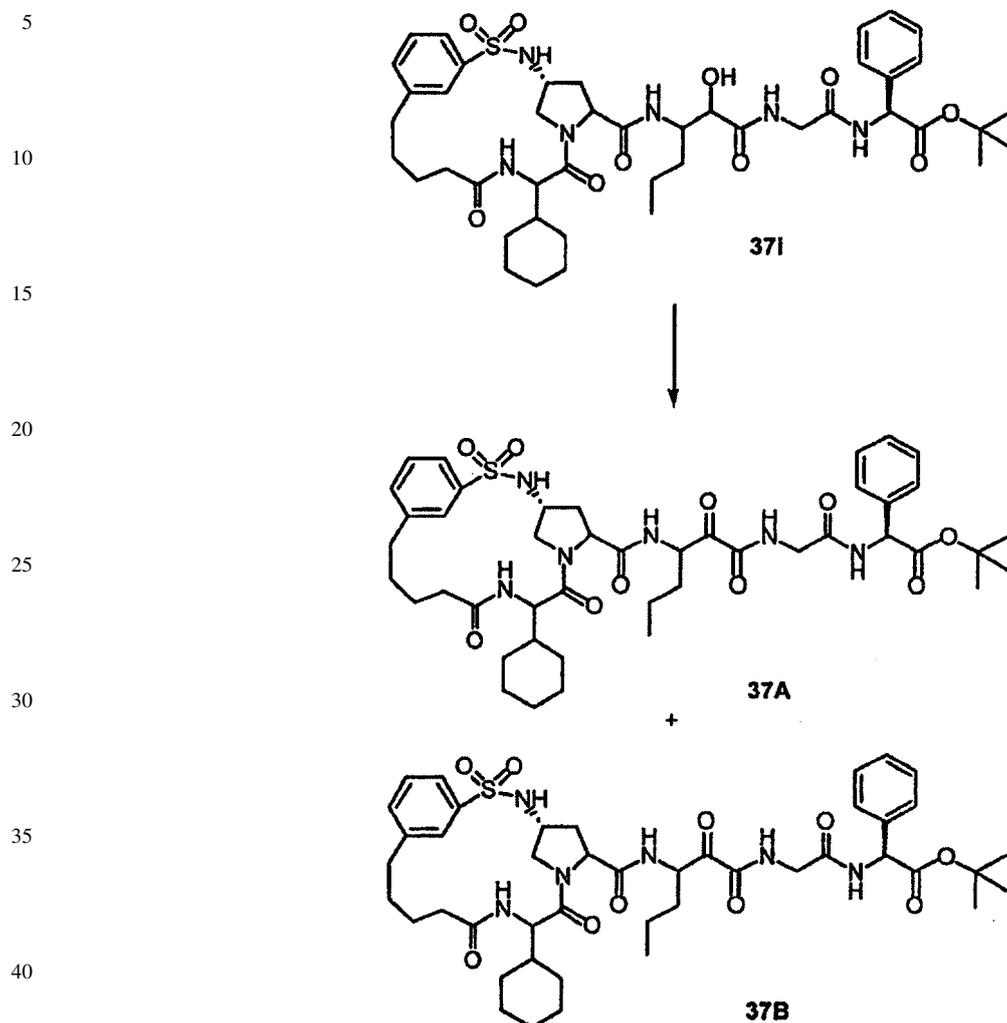


60

El producto 37i esperado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 2, Etapa A con un rendimiento de 90%. La sustancia bruta fue suficientemente pura para estudios adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{44}H_{63}N_6O_{10}S$: 867,4326 (M+H)⁺. Encontrado: 867,4342.

65

Etapa J



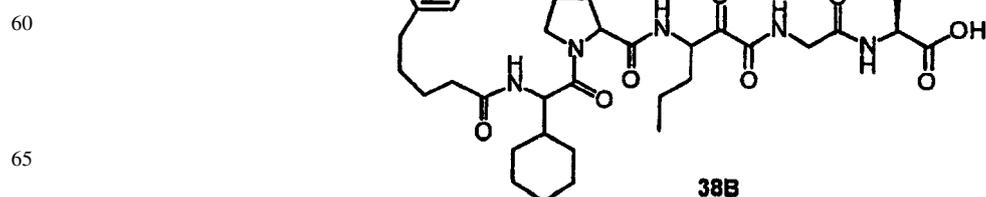
45 Las sustancias 37A y 37B deseadas se sintetizaron mediante el protocolo de oxidación descrito para el Ejemplo 2, Etapa B. La purificación del residuo utilizando diclorometano/MeOH 98/2 a 96/4 proporcionó 37A (61%, menos polar) y 37B (15%, más polar) en forma de una mezcla de diastereómeros. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{44}H_{61}N_6O_{10}S$: 865,4170 (M+H)⁺. Encontrado: 865,4190 (37A), 865,4181 (37B).

50

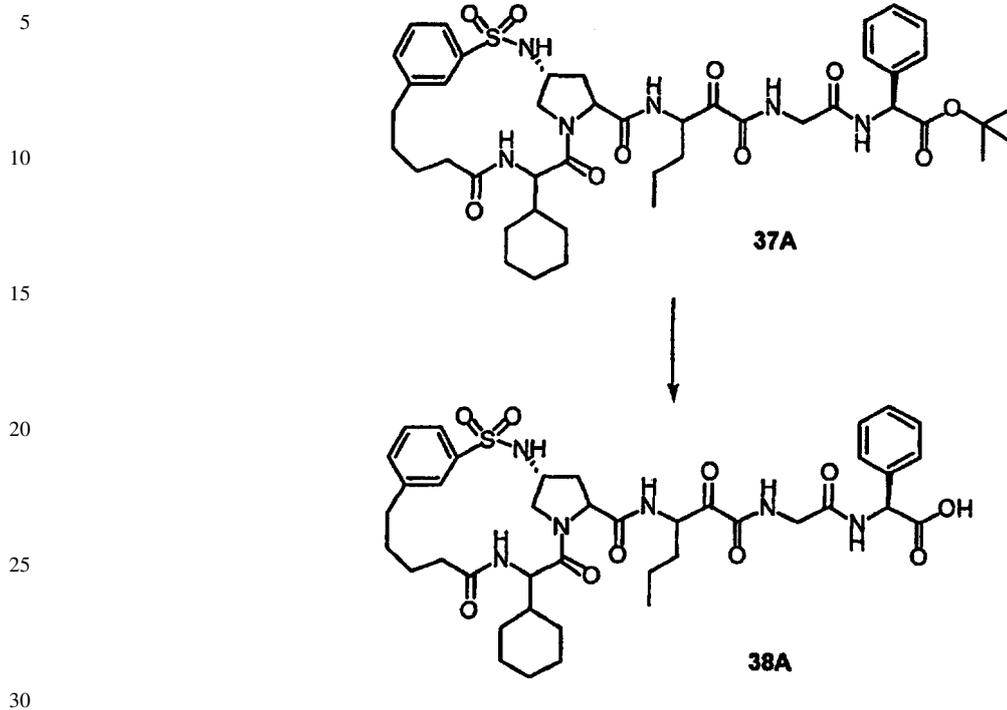
Ejemplo 38

Preparación del Compuesto 38

55

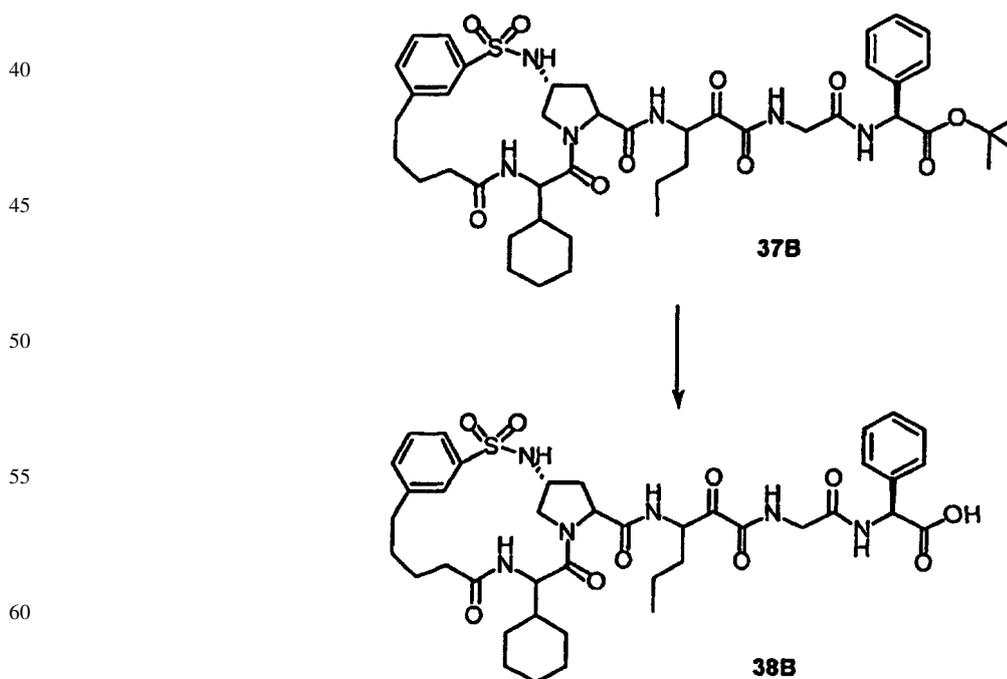


Etapa A



La sustancia 38A deseada se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 3, Etapa A con un rendimiento de 91%.

Etapa B



65 La sustancia 38B deseada se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 3, Etapa A con un rendimiento de 83%.
HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{53}N_6O_{10}S$: 809,3544 (M+H)⁺. Encontrado: 809,3547.

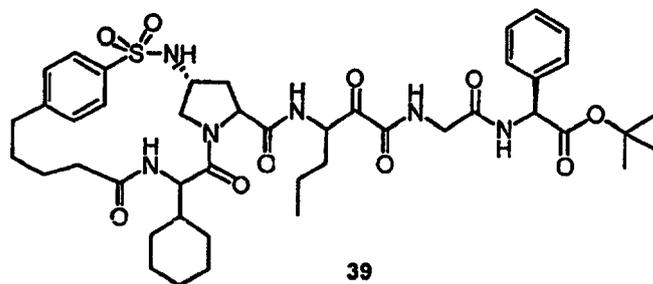
Ejemplo 39

Preparación del Compuesto 39

5

10

15

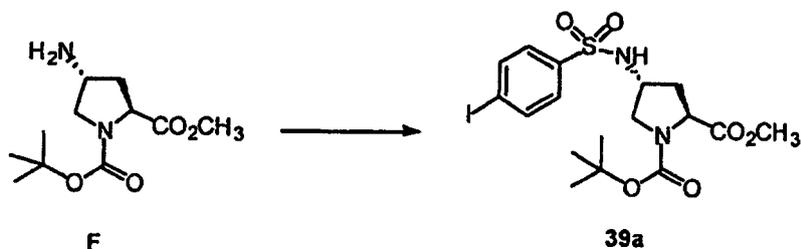


20

Etapa A

25

30



35

40

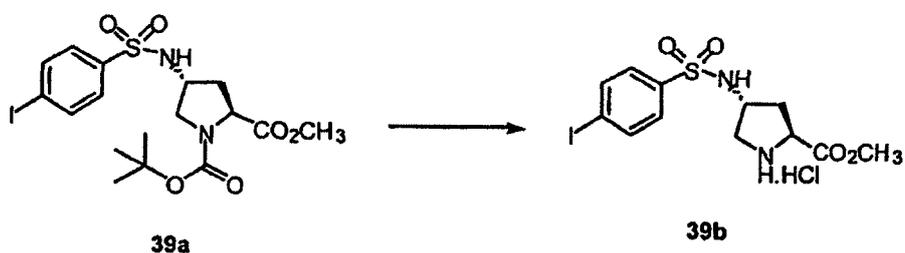
El producto 39a deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 37, Etapa A utilizando pipsilcloruro en lugar de cloruro de 3-bromobencenosulfonilo. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/EtOAc 95/5 a 90/10 proporcionó un rendimiento de 75% de 39a. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{17}H_{24}N_2O_6SI$: 511,0400 (M+H)⁺. Encontrado: 511,0386.

45

Etapa B

50

55



60

65

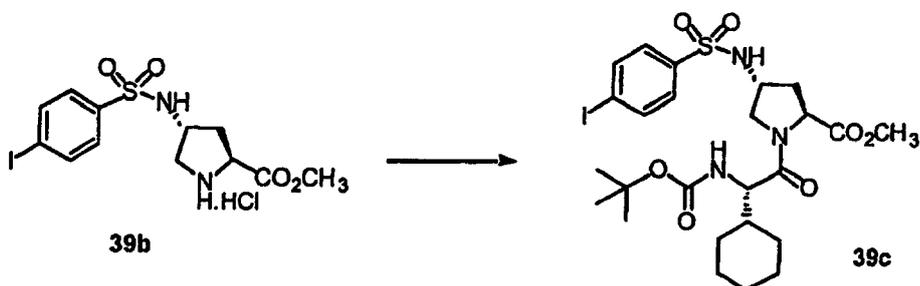
El producto 39b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia bruta se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

Etapa C

5

10

15



20

El producto 39c deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/EtOAc 90/10 a 80/20 proporcionó un rendimiento de 68% de 39c. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{37}N_3O_7SI$: 650,1397 (M+H)⁺. Encontrado: 650,1398.

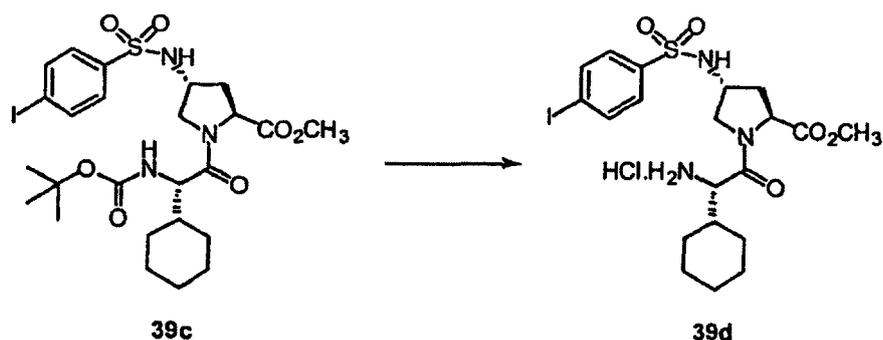
Etapa D

25

30

35

40



45

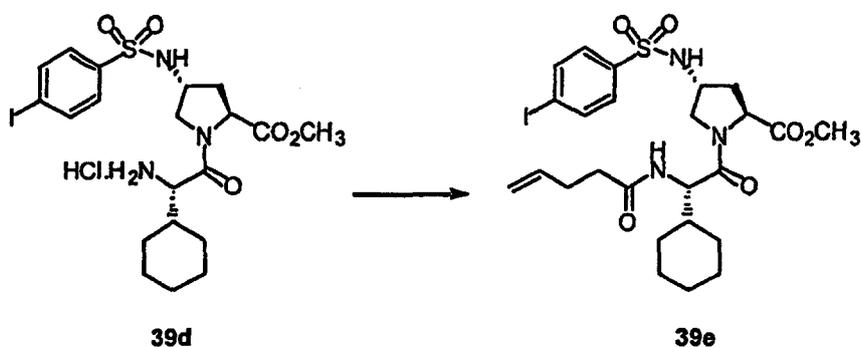
El producto 39d deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia bruta se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

Etapa E

50

55

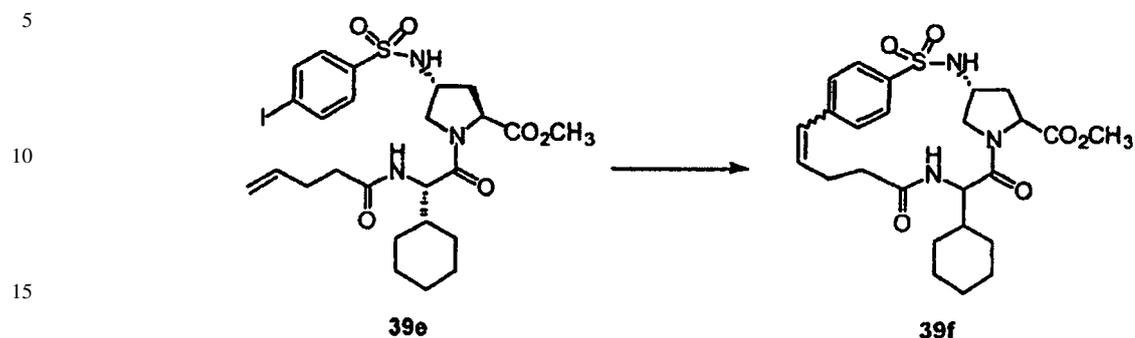
60



65

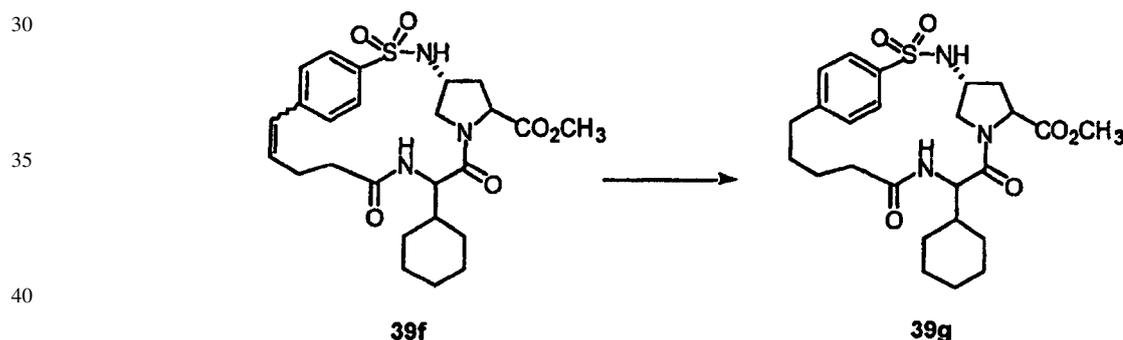
El producto 39e deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa F utilizando ácido pentenoico como pareja de acoplamiento. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/MeOH 98/2 proporcionó un rendimiento de 76% de 39e.

Etapa F



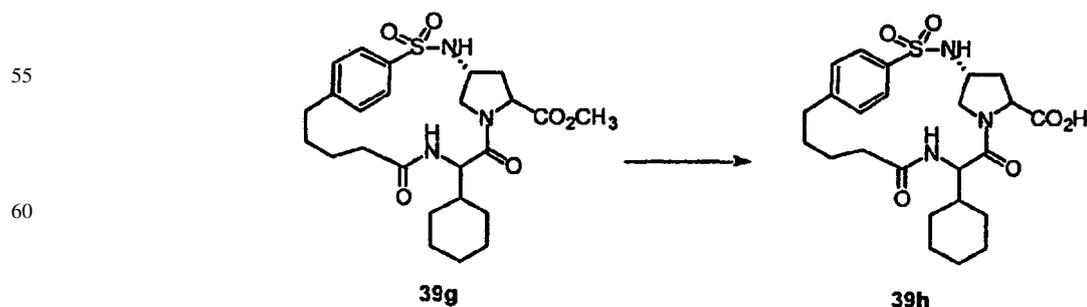
20 El producto 39f deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 37, Etapa F. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/MeOH 98/2 proporcionó un rendimiento de 28% de 39f en forma de una mezcla de diastereómeros. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{34}N_3O_6S$: 504,2168 (M+H)⁺. Encontrado: 504,2160.

Etapa G



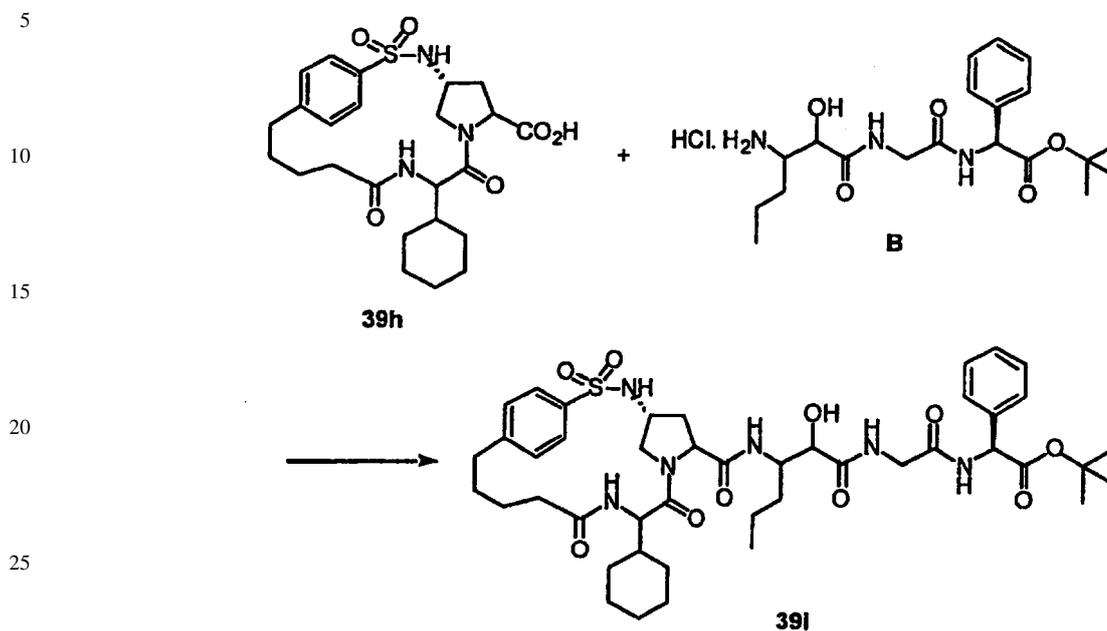
45 El producto 39g deseado se obtuvo mediante el procedimiento de hidrogenación descrito para el Ejemplo 1, Etapa G con un rendimiento de 84%. La sustancia fue suficientemente pura para estudios adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{36}N_3O_6S$: 506,2325 (M+H)⁺. Encontrado: 506,2314.

Etapa H



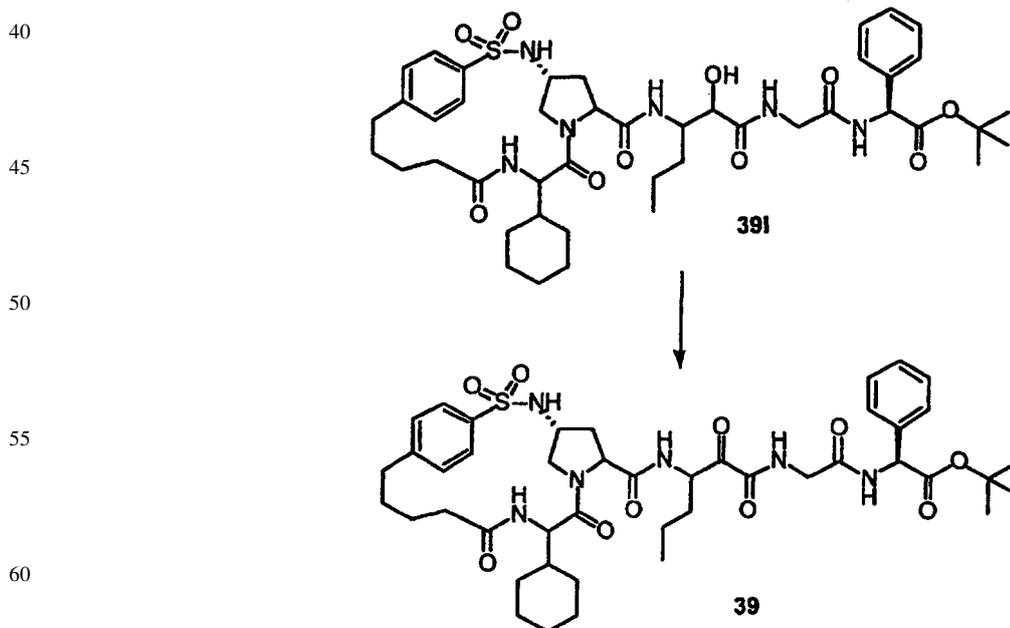
65 El producto 39h deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa H con un rendimiento cuantitativo. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{24}H_{34}N_3O_6S$: 492,2168 (M+H)⁺. Encontrado: 492,2175.

Etapa I



30 El producto 39i esperado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 2, Etapa A con un rendimiento de 36%. La sustancia bruta fue suficientemente pura para estudios adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{44}H_{63}N_6O_{10}S$: 867,4326 (M+H)⁺. Encontrado: 867,4342.

Etapa J



65 La sustancia 39 deseada se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito para el Ejemplo 2, Etapa B. La purificación del residuo utilizando diclorometano/MeOH 98/2 proporcionó 39 con un rendimiento de 24% en forma de una mezcla de diastereómeros. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{44}H_{61}N_6O_{10}S$: 865,4170 (M+H)⁺. Encontrado: 865,4181.

Ejemplo 40

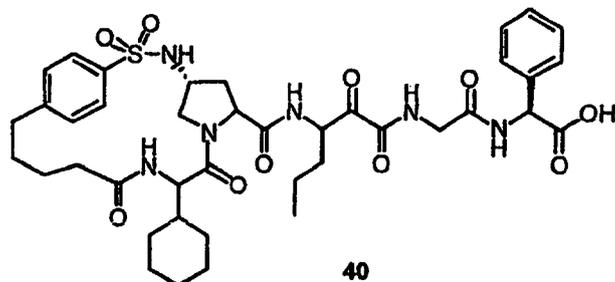
Preparación del Compuesto 40

5

10

15

20



40

Etapa A

25

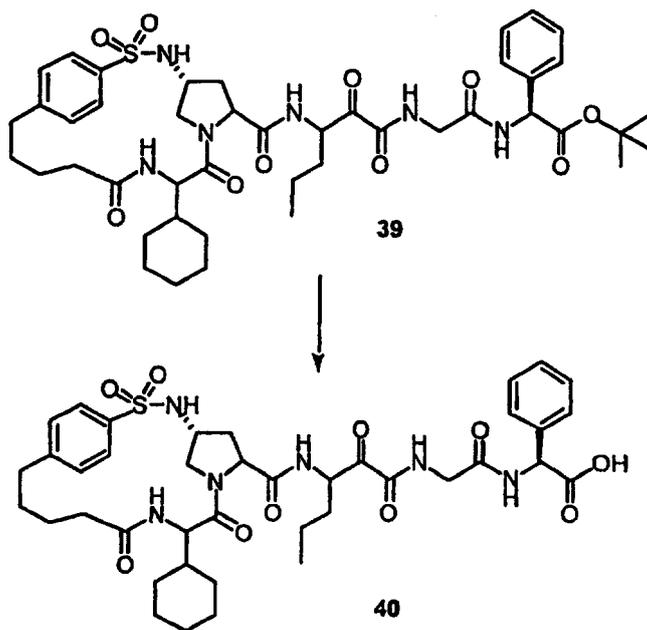
30

35

40

45

50



39

40

55

La sustancia 40 deseada se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 3, Etapa A con un rendimiento de 93% en forma de una mezcla de diastereómeros. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{53}N_6O_{10}S$: 809,3544 (M+H)⁺. Encontrado: 809,3544.

60

65

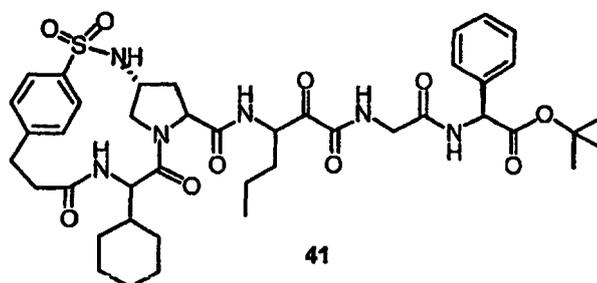
Ejemplo 41

Preparación del Compuesto 41

5

10

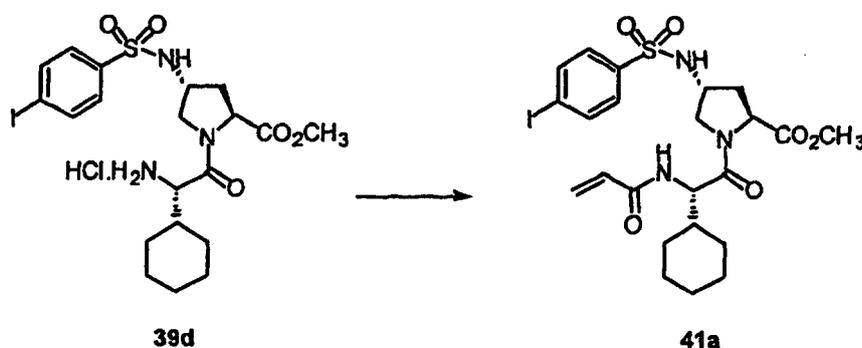
15



20

Etapa A

25



35

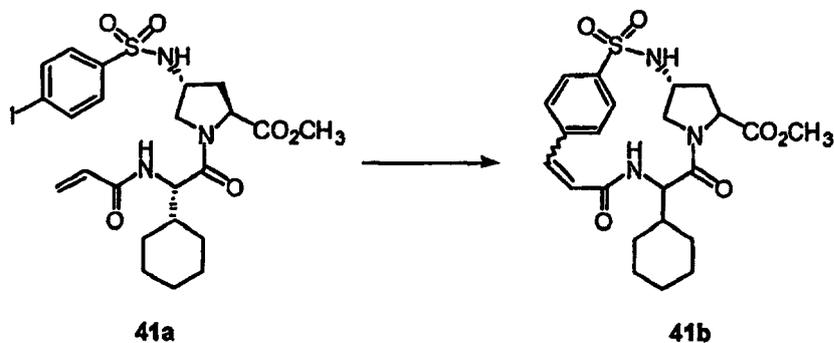
A un embudo de adición de 25 mL se le añadieron benceno (5 mL), DMF (0,32 mL, 4,1 mmoles), y cloruro de tionilo (0,33 mL, 4,5 mmoles). Después de 5 minutos aparecieron dos capas. La capa inferior se separó y se añadió lentamente a una solución enfriada (0-5°C) de ácido acrílico (0,19 mL, 2,8 mmoles) en diclorometano. La mezcla se mantuvo a esta temperatura durante 10 minutos. Después se añadió trietilamina (0,77 mL, 5,5 mmoles) seguido de 39d (1,13 g, 2,1 mmoles). La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente a lo largo de 5 hrs y se sofocó con una solución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se separó, se lavó con una solución al 5% de H₃PO₄ y salmuera. La capa de diclorometano se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La sustancia bruta se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 98/2 para proporcionar 870 mg de 41a (rendimiento 67%). HRMS (FAB) Calcd. para C₂₃H₃₁N₃O₆SI: 604,0978 (M+H)⁺. Encontrado: 604,0964.

45

Etapa B

50

55

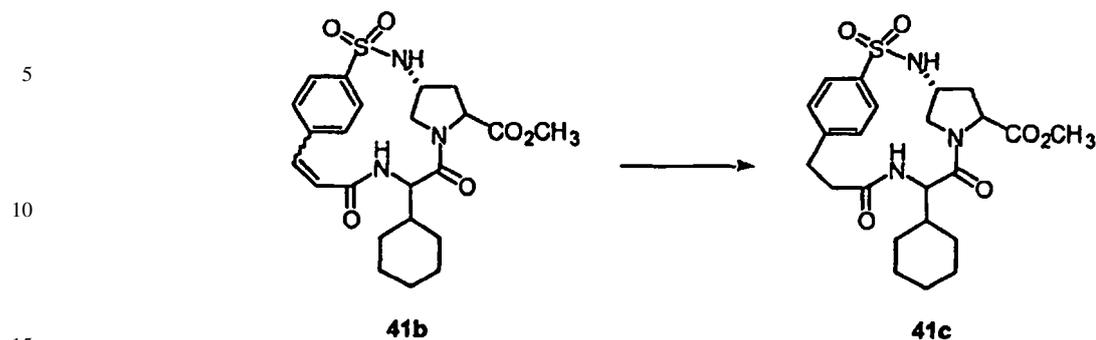


60

65

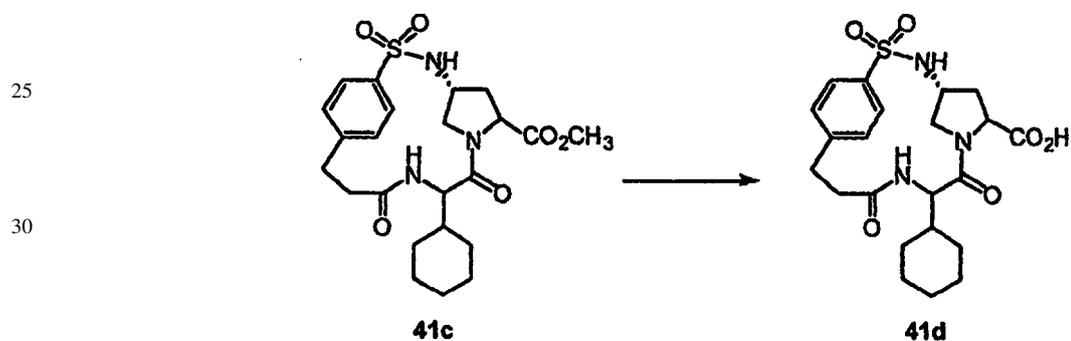
El producto 41b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 37, Etapa F. El residuo se purificó utilizando diclorometano/MeOH 97/3 para proporcionar 41b con un rendimiento de 26%. HRMS (FAB) Calcd. para C₂₃H₃₀N₃O₆S: 476,1855 (M+H)⁺. Encontrado: 476,1858.

Etapa C



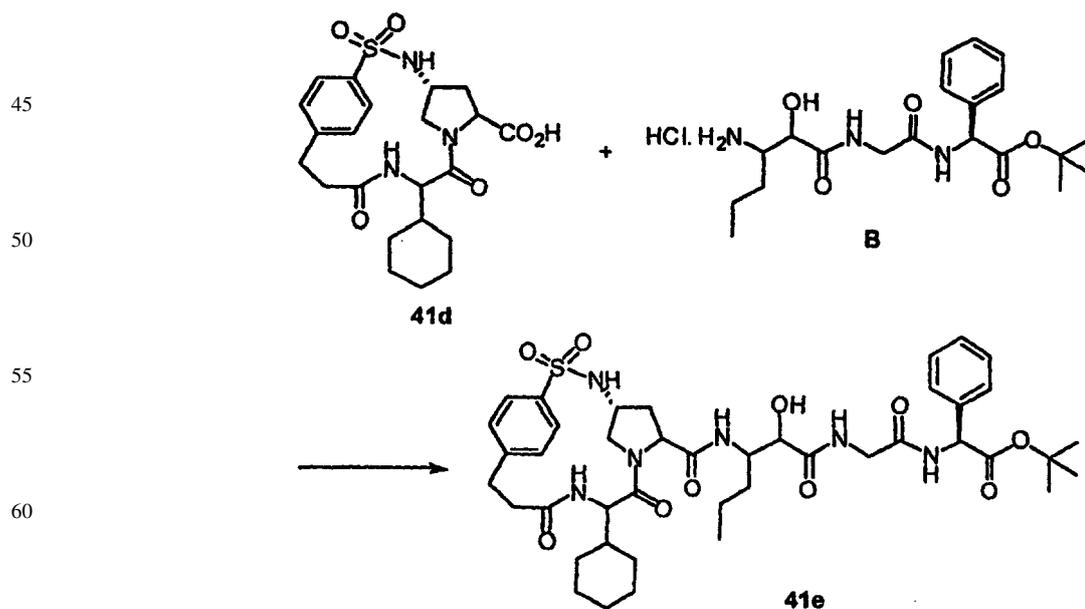
El producto 41c deseado se obtuvo mediante el método de hidrogenación descrito para el Ejemplo 1, Etapa D con un rendimiento de 75%. La sustancia fue suficientemente pura para estudios adicionales.

Etapa D



El producto 41d deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia bruta se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

Etapa E



El producto 41e esperado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 2, Etapa A con un rendimiento de 63%. La sustancia bruta fue suficientemente pura para estudios adicionales.

Etapa F

5

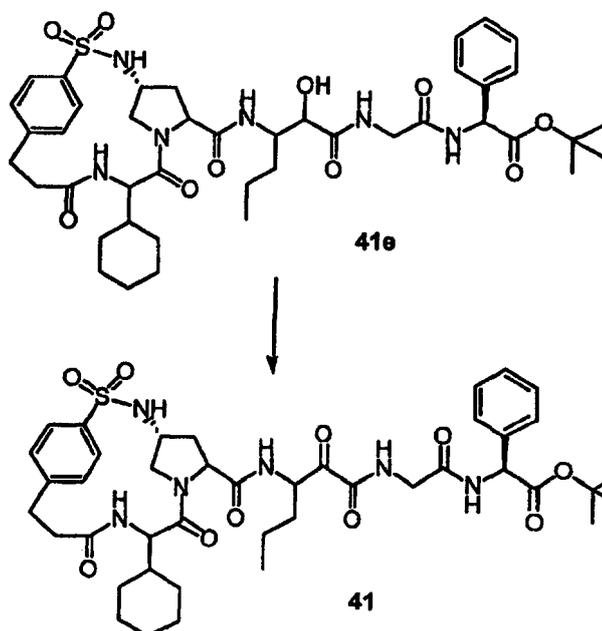
10

15

20

25

30



La sustancia 41 deseada se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito para el Ejemplo 2, Etapa B. La purificación del residuo utilizando diclorometano/MeOH 98/2 a 95/5 proporcionó 41 con un rendimiento de 52% en forma de una mezcla de diastereómeros.

35

Ejemplo 42

Preparación del Compuesto 42

40

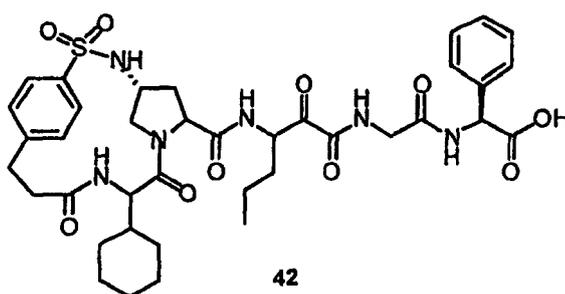
45

50

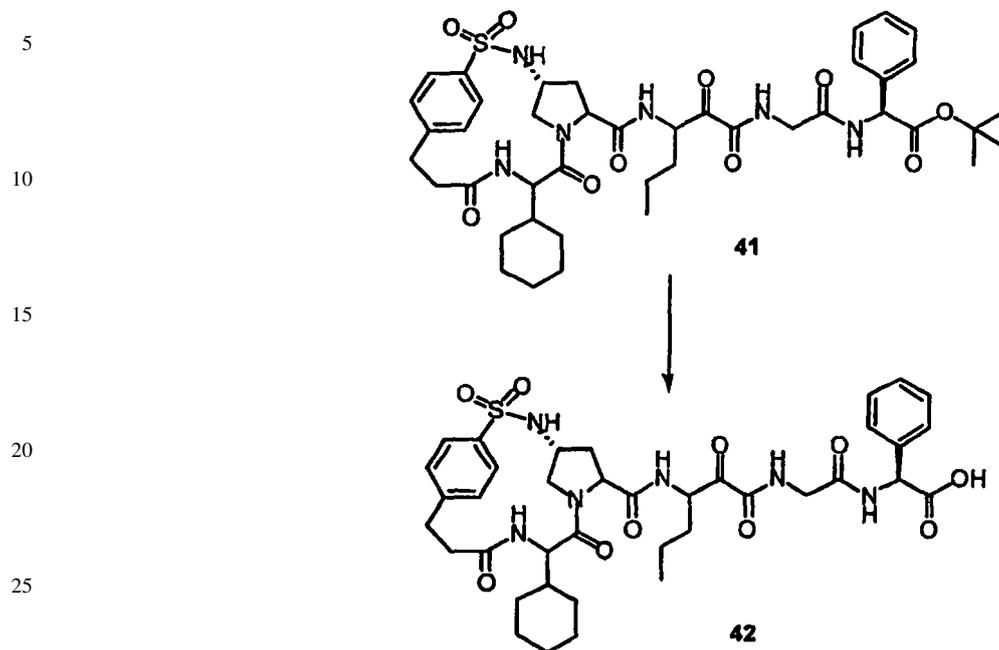
55

60

65

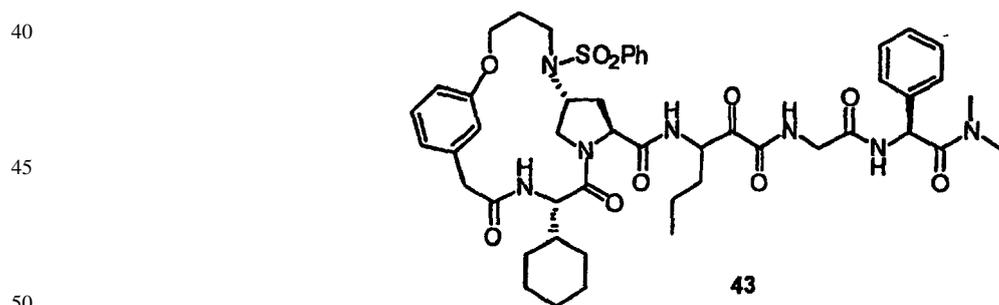


Etapa A

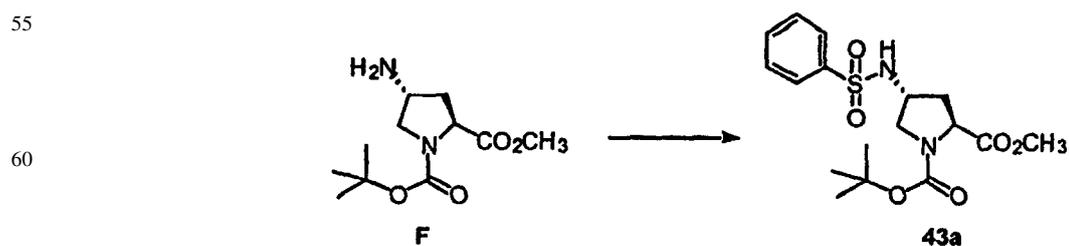


30 La sustancia 42 deseada se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 3, Etapa A con un rendimiento cuantitativo en forma de una mezcla de diastereómeros. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{38}H_{49}N_6O_{10}S$: 781,3231 (M+H)⁺. Encontrado: 781,3233.

Ejemplo 43

Preparación del Compuesto 43

Etapa A



A una solución fría (0°C) de F (5,4 g, 22,1 mmoles) en diclorometano (50 mL) se le añadieron trietilamina (6,8 mL, 48,6 mmoles), DMAP (unos pocos cristales) y cloruro de bencenosulfonilo (3,29 g, 24,1 mmoles). La mezcla de reacción se dejó estar en el refrigerador (0-5°C) durante la noche. La mezcla de reacción se lavó con una solución

ES 2 317 900 T3

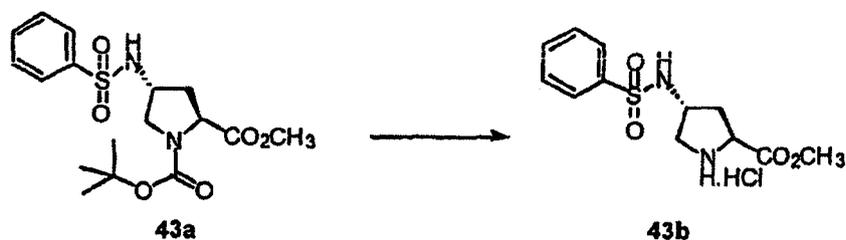
saturada de NaHCO₃, y una solución de ácido cítrico al 10%. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 95/5 para proporcionar 5,0 g (rendimiento 59%) de 43a.

5

Etapa B

10

15



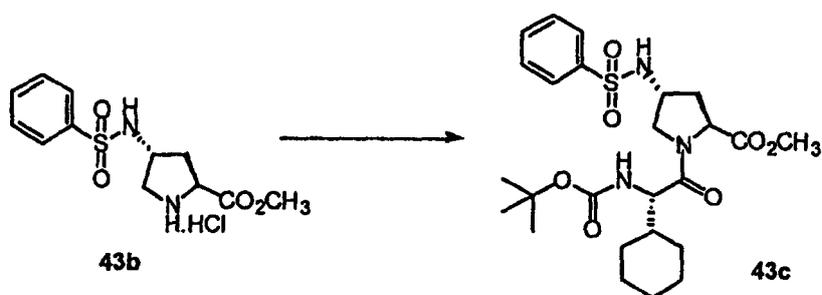
20 El producto 43b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia bruta se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

25

Etapa C

30

35



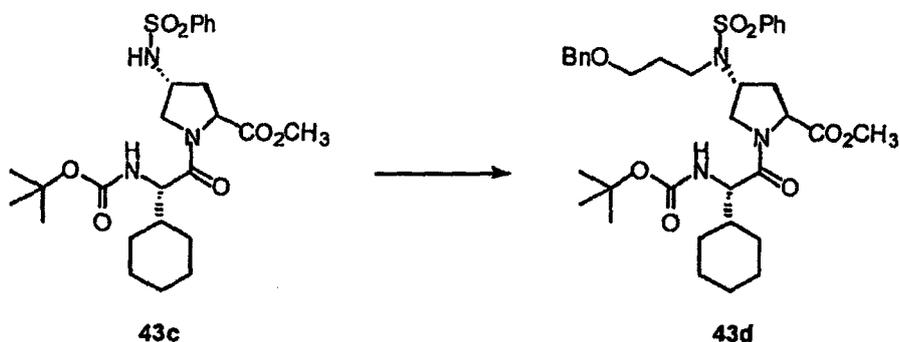
40 El producto 43c deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/MeOH 99/1 proporcionó un rendimiento de 60% de 43c.

45

Etapa D

50

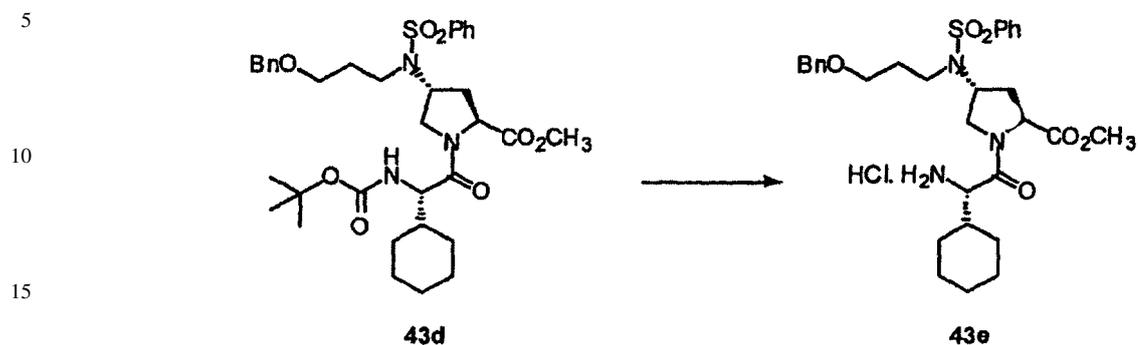
55



60 Se hizo burbujear gas argón en una solución fría (0°C) de 43c (1,72 g, 3,28 mmoles) en diclorometano (40 mL) durante 20-30 min. Se añadió ADDP (2,5 g, 9,84 mmoles) seguido de trifetilfosfina (2,6 g, 9,84 mmoles) y 3-benciloxipropanol (0,57 mL, 3,61 mmoles). La reacción se templó a temperatura ambiente y se dejó estar durante 2 días. La mezcla de reacción se concentró y se añadió Et₂O (50 mL). La sustancia sólida precipitada se separó mediante filtración. Esta operación se repitió dos veces para eliminar la mayoría de los productos secundarios. El producto filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 90/10 a 85/15 para proporcionar 330 mg de 43d. Las sustancias de partida recuperadas, junto con algo de óxido de trifetilfosfina, se sometió a las condiciones anteriormente descritas para proporcionar 420 mg adicionales de 43d. Rendimiento combinado = 34%. HRMS (FAB) Calcd. para C₃₅H₅₀N₃O₈S: 672,3319 (M+H)⁺. Encontrado: 672,3330.

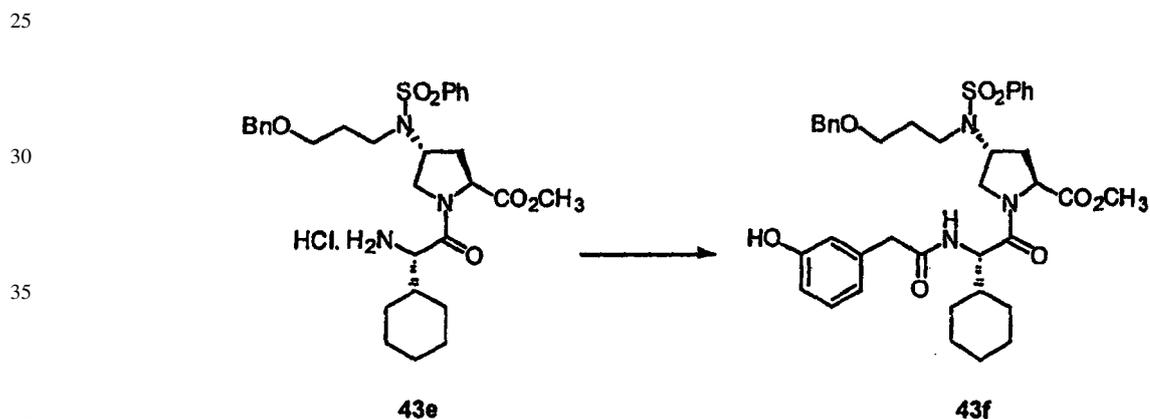
65

Etapa E



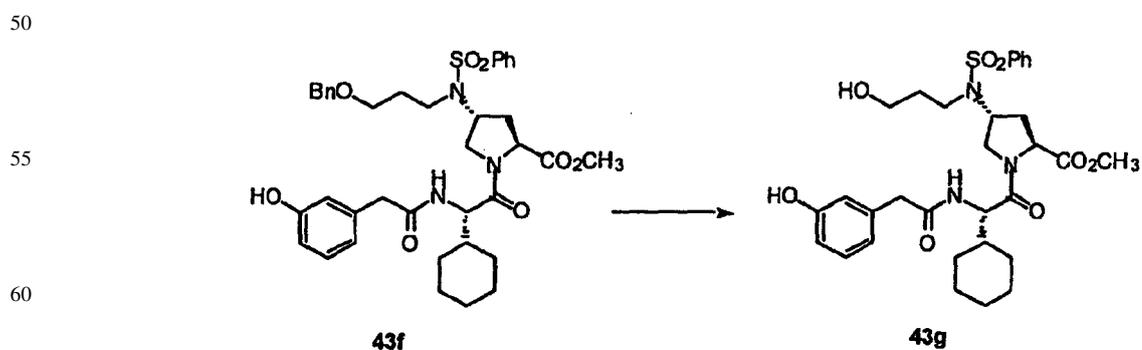
20 El producto 43e deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. El producto bruto se llevó a la siguiente etapa.

Etapa F



45 El compuesto 43f deseado se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, etapa F. La purificación mediante cromatografía instantánea se llevó a cabo con diclorometano/EtOAc 60/40 a 50/50 para proporcionar 43f con un rendimiento cuantitativo. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{38}H_{48}N_3O_8S$: 706,3162 (M+H)⁺. Encontrado: 706,3157.

Etapa G



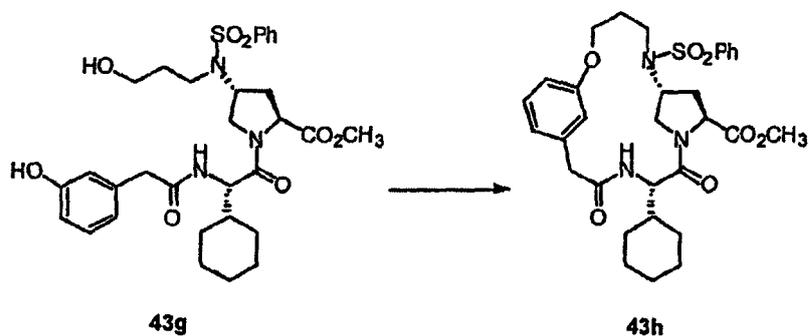
65 El producto 43g deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. La sustancia fue suficientemente pura para estudios adicionales.

Etapa H

5

10

15



20

25

El producto 43h deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. Una vez completada la reacción, el disolvente se evaporó. Se añadió Et₂O (50 mL) y los sólidos se separaron mediante filtración. El producto filtrado se concentró y se añadió Et₂O/EtOAc (50 mL/50 mL). Los sólidos precipitados se separaron mediante filtración y el producto filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 85/15 a 80/20 para proporcionar 43h puro con un rendimiento de 20%. HRMS (FAB) Calcd. para C₃₁H₄₀N₃O₇S: 598,2587 (M+H)⁺. Encontrado: 598,2581.

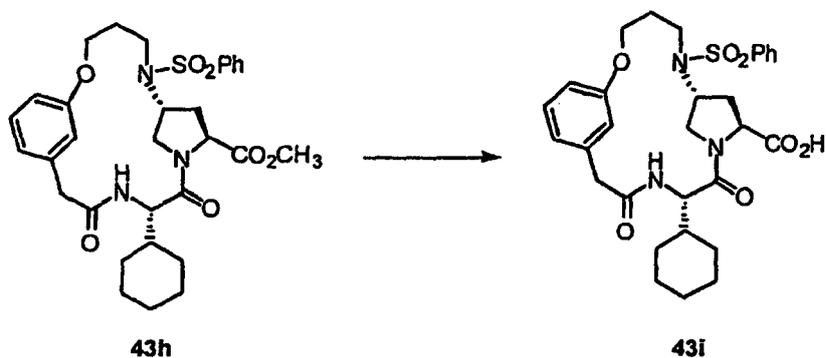
Etapa I

30

35

40

45



50

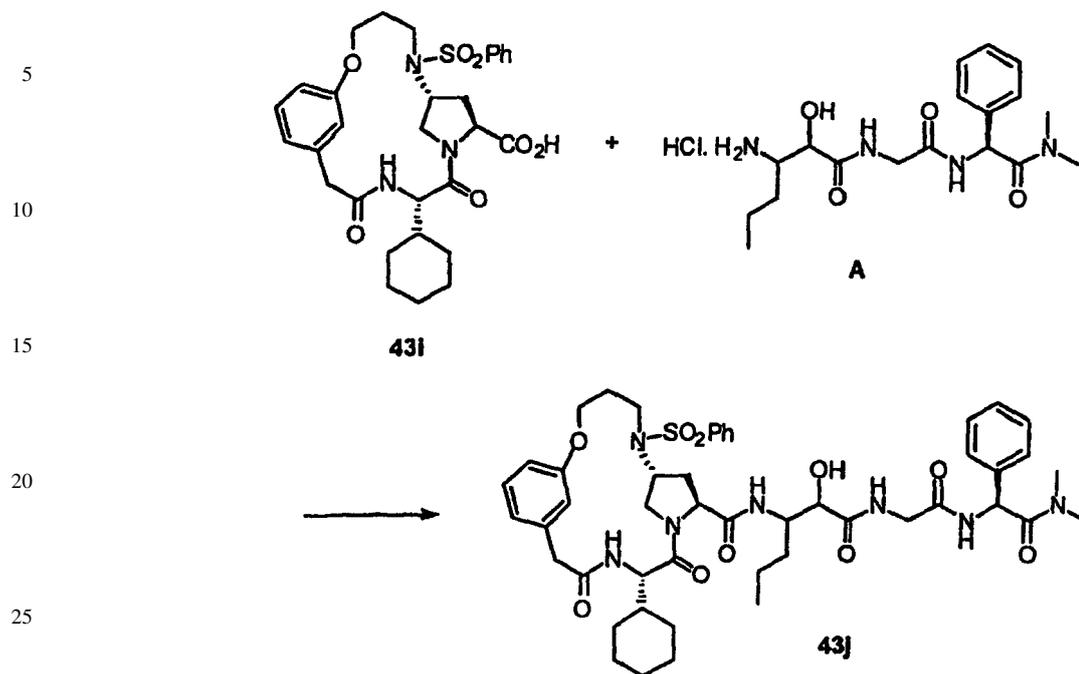
55

60

65

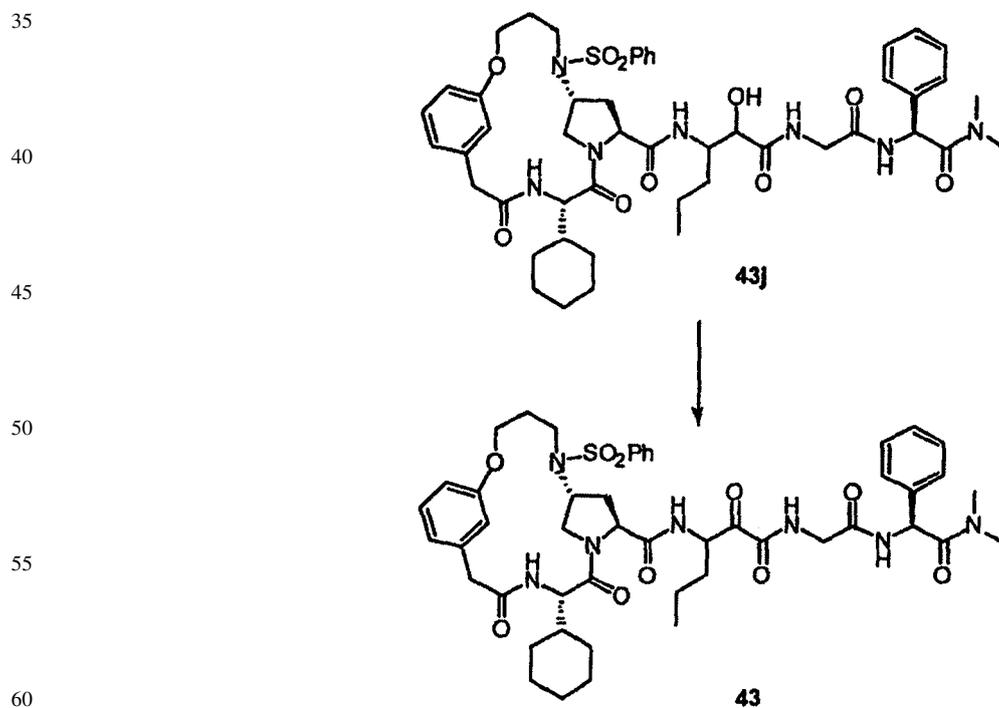
El producto 43i esperado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa I con un rendimiento de 92%.

Etapa J



30 La sustancia 43j deseada se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 1, Etapa J. El producto bruto tuvo la suficiente pureza para hacerla proseguir.

Etapa K



65 El producto 43 esperado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 97/3 proporcionó 43 en forma de una mezcla de diastereómeros. Rendimiento combinado = 60% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{48}H_{62}N_7O_{10}S$: 928,4279 ($M+H$)⁺. Encontrado: 928,4290.

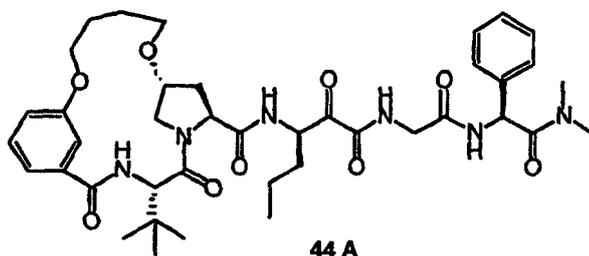
Ejemplo 44

Preparación del Compuesto 44

5

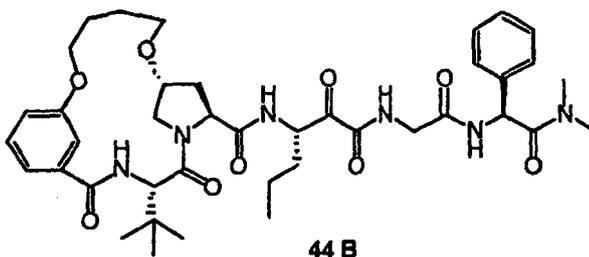
10

15



20

25

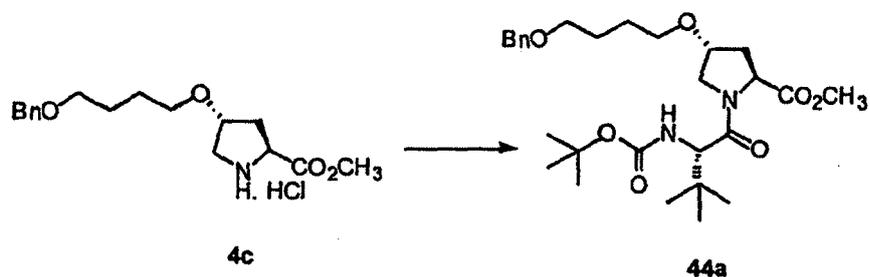


30

Etapa A

35

40



45

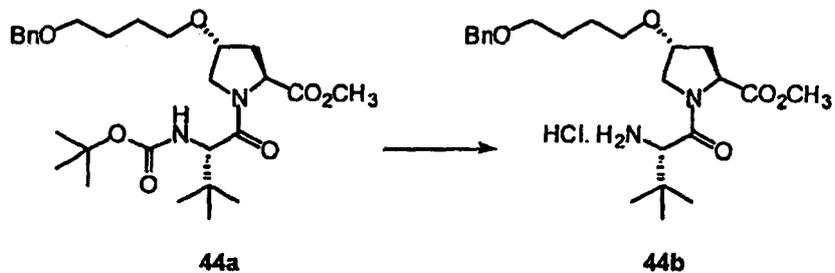
El producto 44a deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D utilizando N-boc-terc-butilglicina como pareja de acoplamiento. La sustancia tras la elaboración fue suficientemente pura para ser llevada a la siguiente etapa.

50

Etapa B

55

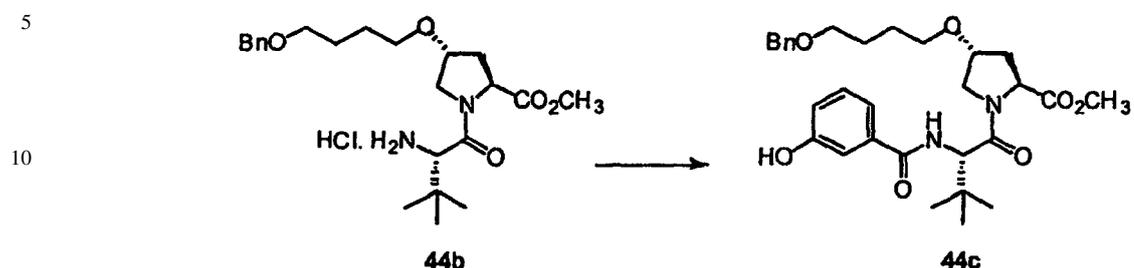
60



65

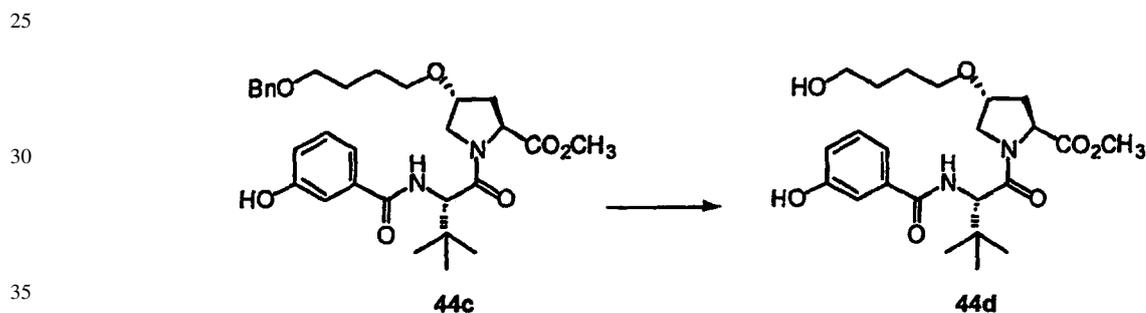
El producto 44b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia bruta se hizo proseguir sin purificación.

Etapa C



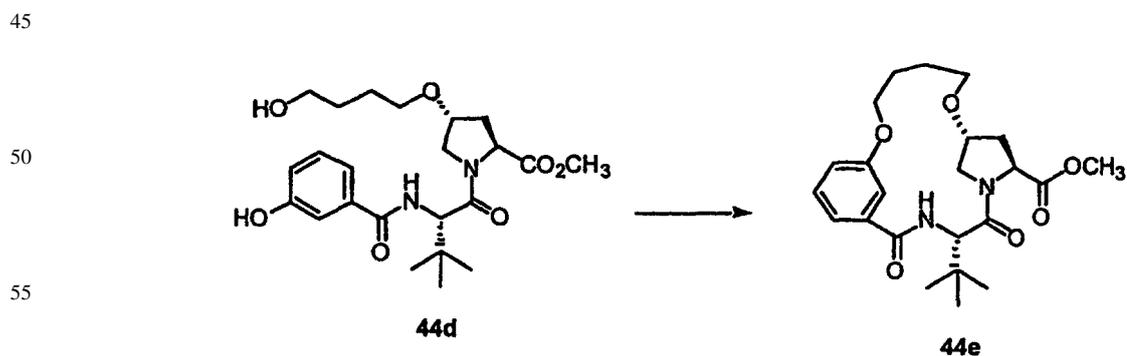
20 El producto deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa F, utilizando ácido 3-hidroxibenzoico. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 85/15 a 65/35 para proporcionar 44c con un rendimiento de 81%.

Etapa D



40 El producto 44d deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. El residuo después de la elaboración fue suficientemente puro para la manipulación adicional.

Etapa E



60 El producto 44e deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. El residuo bruto tras la concentración se recogió en hexanos/EtOAc (1/1) y la materia sólida se separó mediante filtración. Esta operación se realizó de nuevo para eliminar los productos secundarios. La purificación mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/EtOAc 80/20 proporcionó 44e junto con óxido de trifenilfosfina. Esta mezcla se recogió para la siguiente etapa.

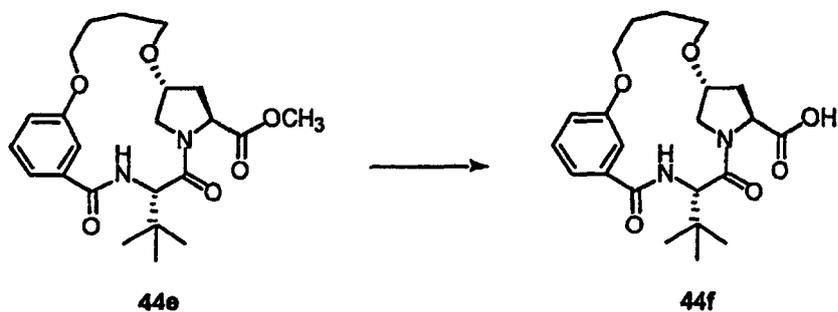
65

Etapa F

5

10

15



20

El producto 44f deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa I. Rendimiento de 44f (para 2 etapas) = 11%.

Etapa G

25

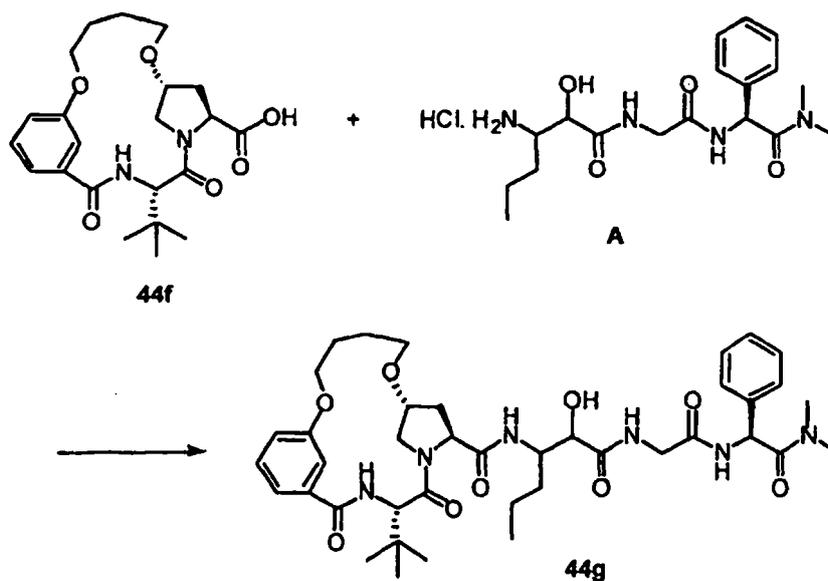
30

35

40

45

50



El producto 44g esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración se hizo proseguir a la siguiente etapa.

55

60

65

Etapa H

5

10

15

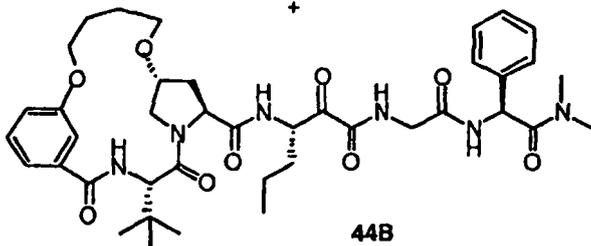
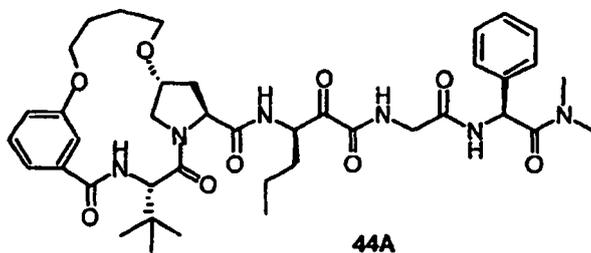
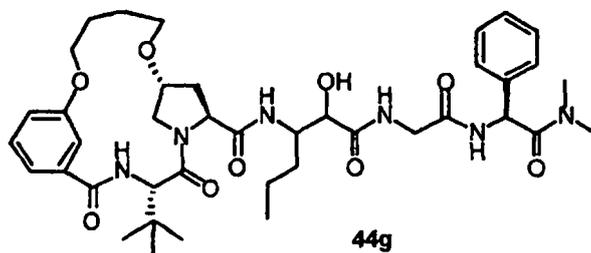
20

25

30

35

40



45

Los productos deseados 44A y 44B se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 97/3 a 96/4 proporcionó una cantidad igual de los isómeros separados 44A y 44B. Rendimiento combinado = 58% (para 2 etapas).

50

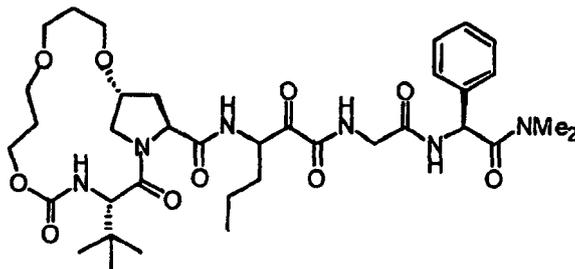
Ejemplo 45

Preparación del Compuesto 45

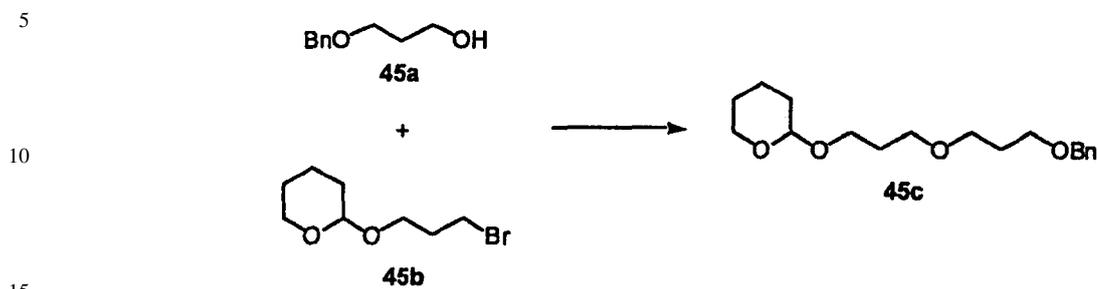
55

60

65

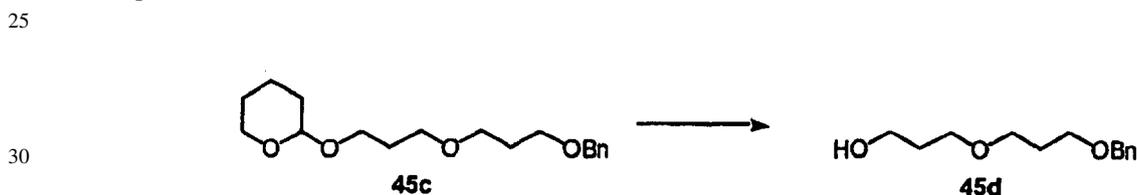


Etapa A



20 La alquilación de 45a con 45b se llevó a cabo utilizando el procedimiento descrito para el Ejemplo 1 Etapa A. El producto bruto se purificó utilizando hexanos/EtOAc/diclorometano 85/0/15 a 85/5/10 para proporcionar 45c con un rendimiento de 37%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{18}H_{29}O_4$: 309,2066 (M+H)⁺. Encontrado: 309,2060.

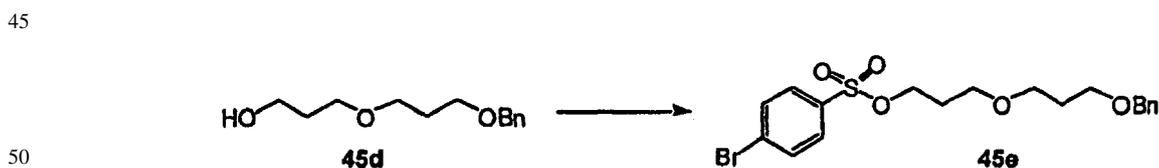
Etapa B



35 A una solución de 45c (4,8 g, 15,5 mmoles) en MeOH (30 mL) se le añadió *p*-toluenosulfonato de piridinio (780 mg, 3,1 mmoles) y se sometió a reflujo durante 3 hrs cuando se consumió toda la sustancia de partida. La mezcla de reacción se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, se secó (Na₂SO₄) y la capa orgánica se concentró para proporcionar 3,2 g de 45d (rendimiento 92%). Esta sustancia fue suficientemente pura para estudios adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{13}H_{21}O_3$: 225,1491 (M+H)⁺. Encontrado: 225,1486.

40

Etapa C

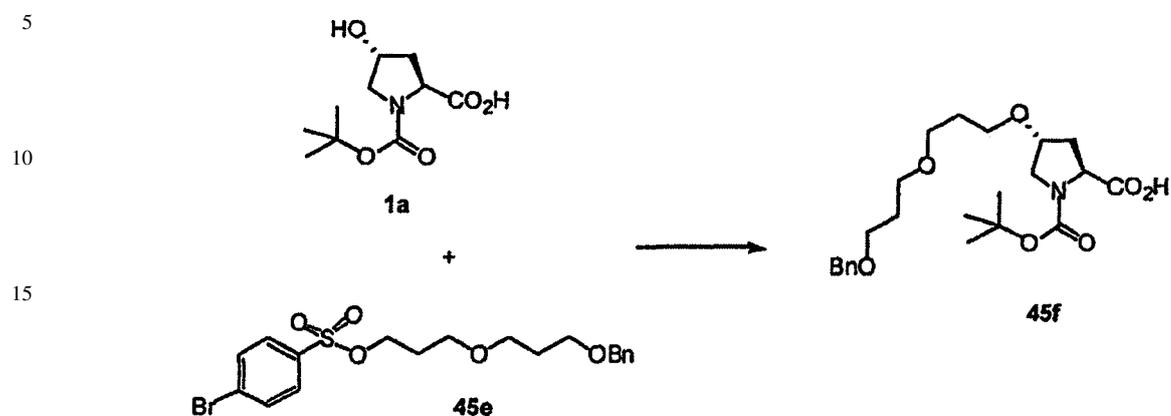


55 El producto 45e deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 10 Etapa A utilizando 45d como sustancia de partida. El producto bruto se purificó utilizando hexanos/EtOAc 90/10 para proporcionar 45e con un rendimiento de 70%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{19}H_{24}O_5SBr$: 443,0528 (M+H)⁺. Encontrado: 443,0552.

60

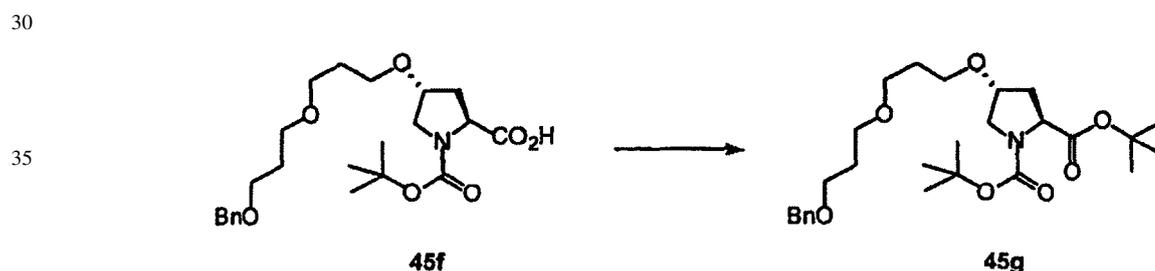
65

Etapa D



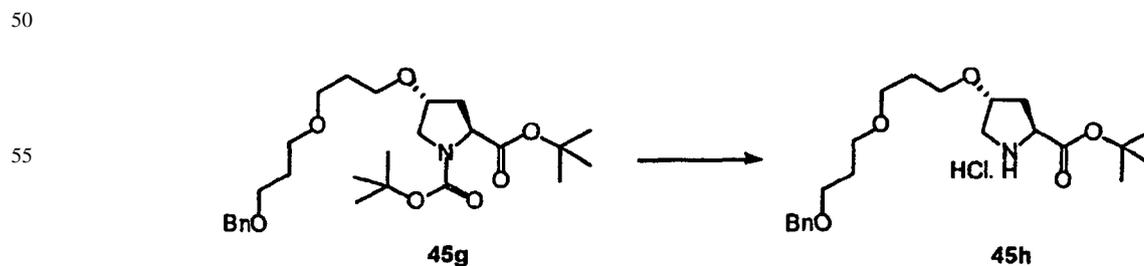
25 El producto 45f deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1 Etapa A utilizando 45e como sustancia de partida. El producto bruto se hizo proseguir adicionalmente sin purificación.

Etapa E



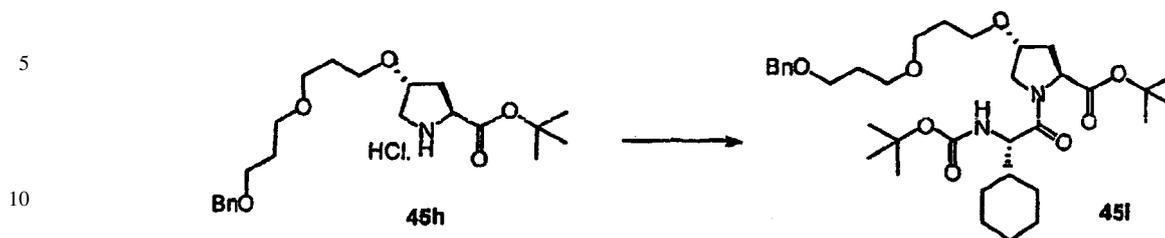
45 El producto 45g deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 18 Etapa B utilizando 45f como sustancia de partida. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 90/10 para proporcionar 45g con un rendimiento de 61% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{27}H_{44}NO_7$: 494,3118 (M+H)⁺. Encontrado: 494,3107.

Etapa F



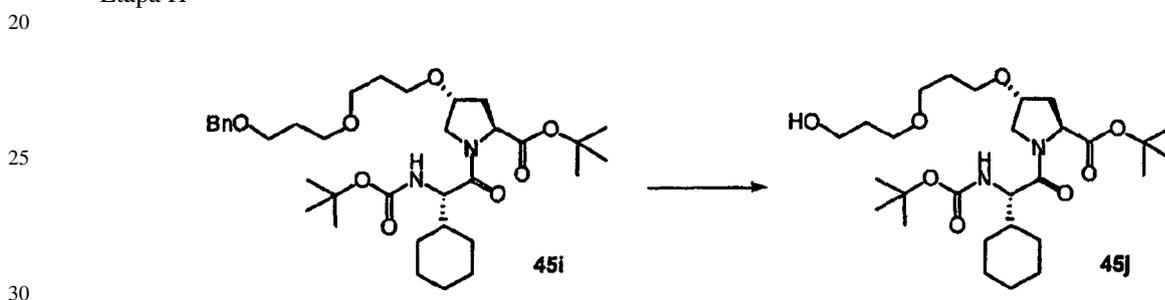
65 El compuesto 45h deseado se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1 Etapa C. La sustancia se hizo proseguir.

Etapa G



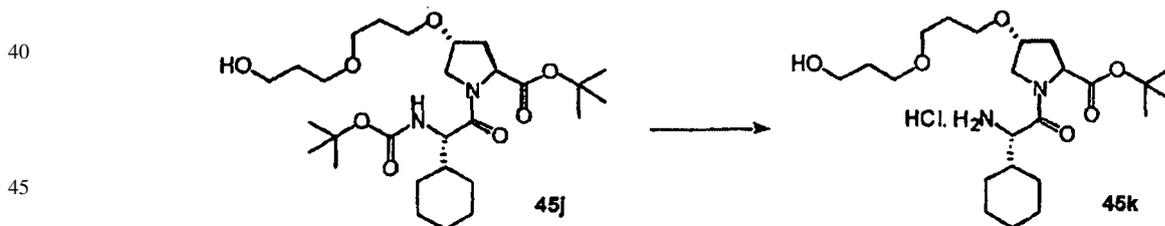
15 El producto 45i deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1 Etapa D. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 90/10 a 85/15 para proporcionar 45i con un rendimiento de 41%.

Etapa H



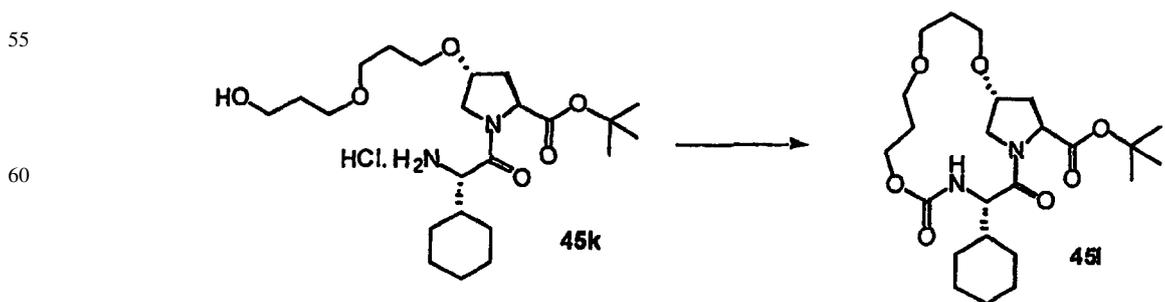
35 El producto 45j deseado se obtiene mediante el protocolo de hidrogenación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa G.

Etapa I



50 El producto 45k deseado se obtiene mediante el procedimiento descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa C.

Etapa J



A una solución fría (0°C) de 45k en diclorometano se le añade trietilamina seguido de carbonildiimidazol. Se espera el calentamiento lento a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar el producto 45l requerido. Este producto se puede purificar utilizando cromatografía en columna instantánea convencional para proporcionar 45l puro.

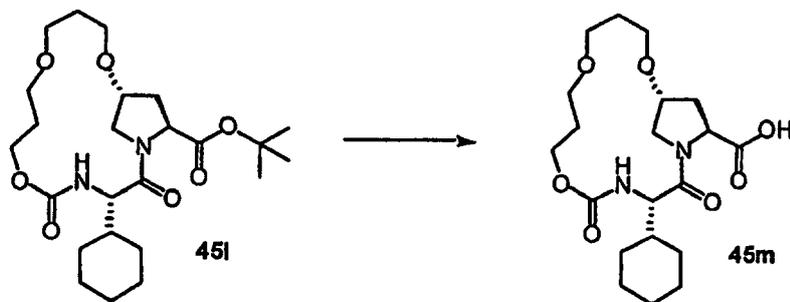
5

Etapa K

10

15

20



25

El producto 45m deseado se obtiene mediante el procedimiento descrito previamente para el Ejemplo 3 Etapa A.

Etapa L

30

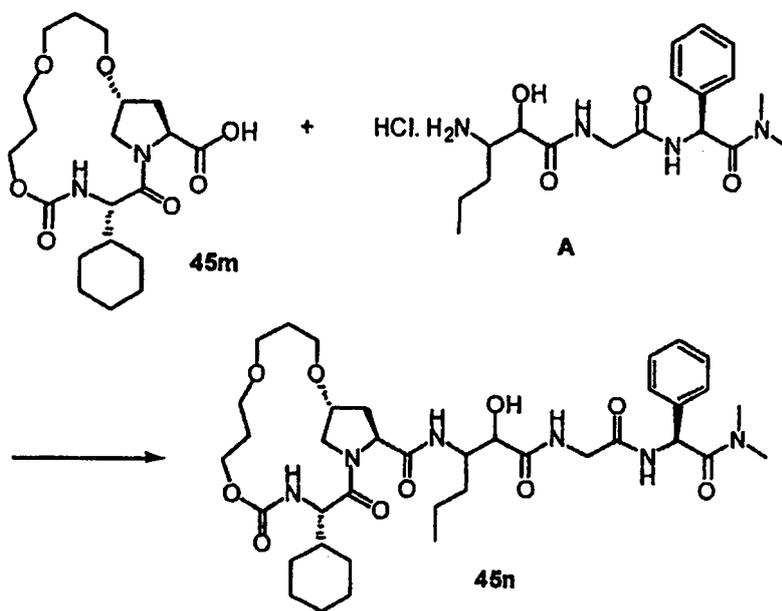
35

40

45

50

55

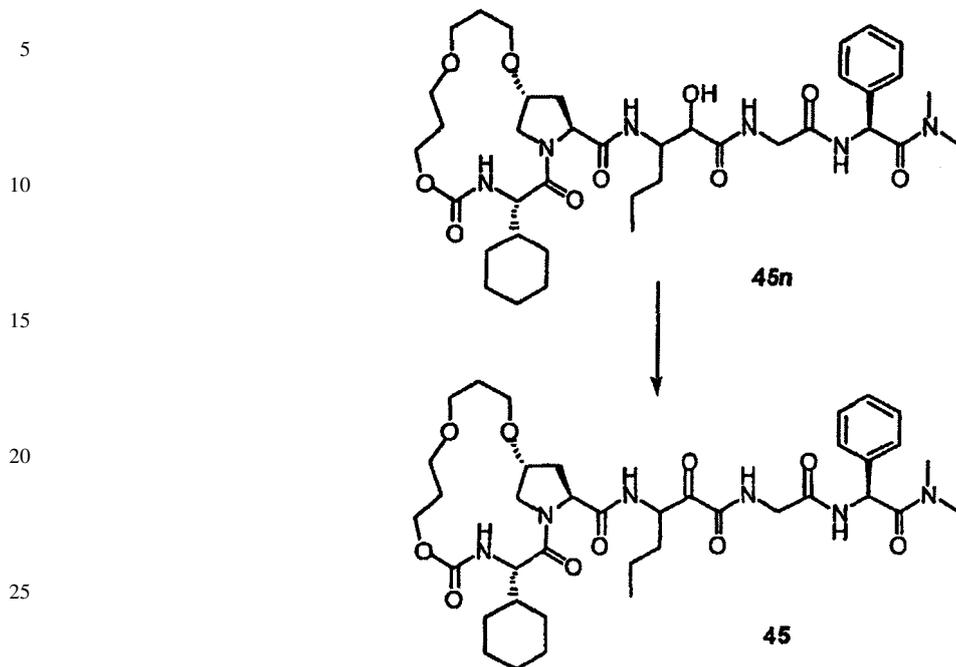


60

El producto 45n esperado se sintetiza como se ha descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa J.

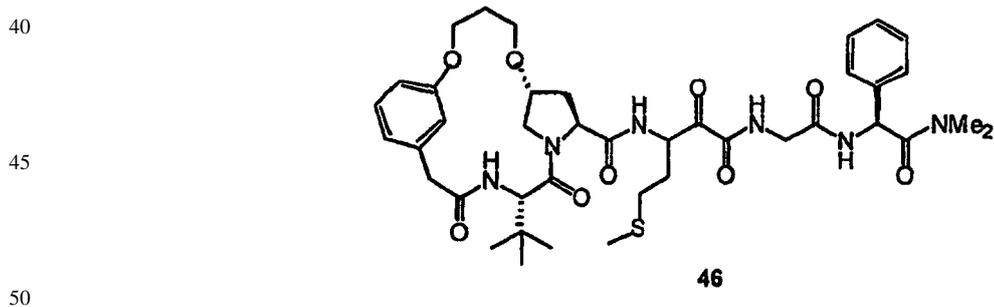
65

Etapa M

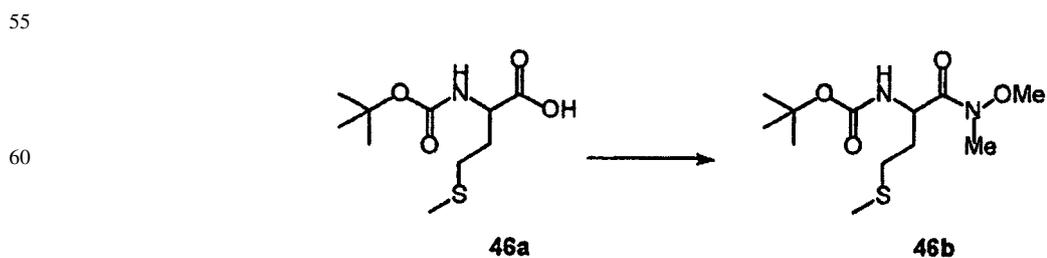


30 El producto 45 deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea proporcionará 45 puro.

Ejemplo 46

Preparación del Compuesto 46

Etapa A

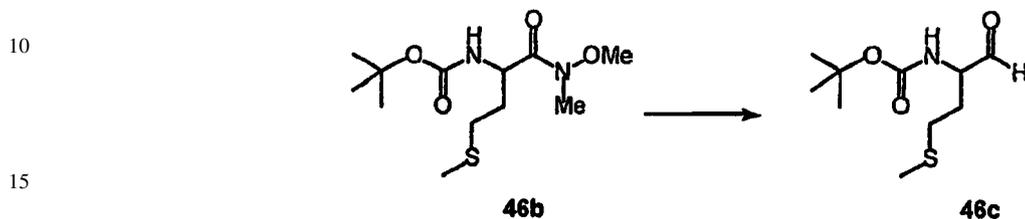


A una solución de 46a (10,0 g, 42,9 mmoles) en diclorometano (100 mL) se le añadió BOP (22,75 g, 51,5 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después se añadió hidrocloreto de N,O-dimetilhidroxilamina

ES 2 317 900 T3

(4,18 g, 42,9 mmoles) seguido de trietilamina (18,1 mL, 128,7 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y después se lavó con HCl 3N, una solución saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La sustancia bruta, 46b, se utilizó en la siguiente etapa sin purificación.

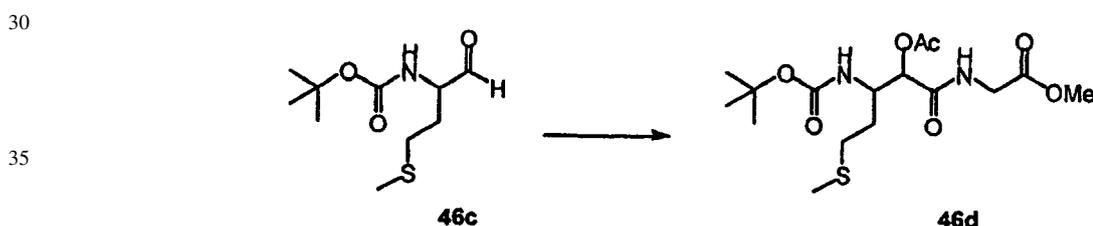
5 Etapa B



20 A una solución fría (0°C) solución de 46b en THF (60 mL) se le añadió una solución de LAH (1 M en THF, 50 mL, 50 mmoles) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se mantuvo a esta temperatura durante 30 min. La mezcla de reacción se sofocó (adición lenta) con una solución acuosa de hidrogenofosfato de potasio al 10% (30 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc dos veces. La capa orgánica combinada se lavó con HCl 3N, una solución saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa de EtOAc se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando EtOAc/diclorometano 10/90 a 30/70 para proporcionar 4,2 g de 46c (rendimiento 45% - para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para C₁₀H₂₀NO₃S: 234,1164 (M+H)⁺. Encontrado: 234,1168.

25

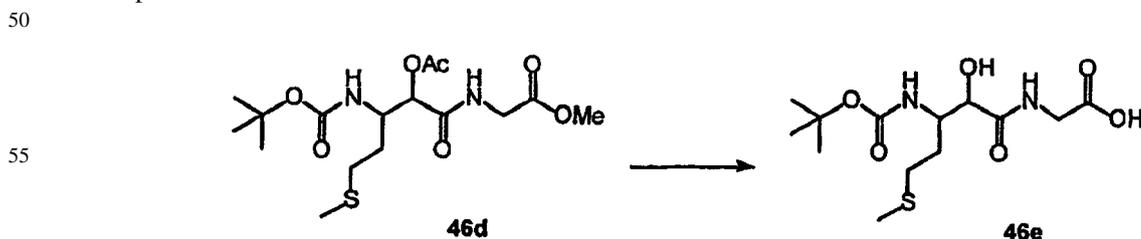
Etapa C



40 A una solución fría (-15°C) de 46c (4,2 g, 19,4 mmoles) en diclorometano se le añadió ácido acético (2,14 mL, 38,8 mmoles) seguido de isocianoacetato de metilo (1,76 mL, 19,4 mmoles). La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente y se dejó estar durante 16 hrs. La reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, salmuera y agua. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando EtOAc/diclorometano 30/70 proporcionó 46d puro (6,5 g) en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 92%. HRMS (FAB) Calcd. para C₁₆H₂₉N₂O₇S: 393,1695 (M+H)⁺. Encontrado: 393,1692.

45

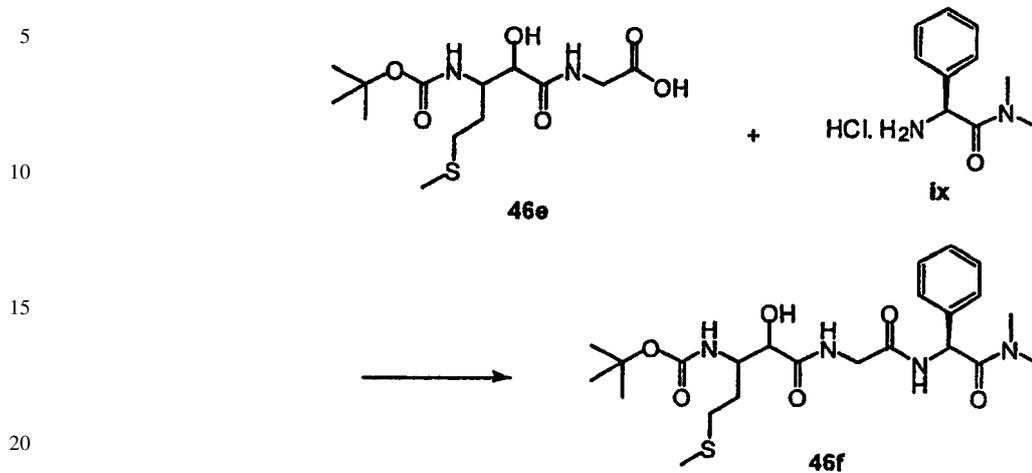
Etapa D



60 A una solución de 46d (6,5 g, 16,6 mmoles) en MeOH (30 mL) se le añadió una solución de hidróxido de litio (1,19 g, 50 mmoles) en agua (30 mL). Después de 45 minutos la mezcla de reacción se concentró. Se añadió una solución acuosa de ácido cítrico hasta pH ácido (3) y el producto se extrajo en EtOAc. La concentración de la capa orgánica produjo el ácido 46e (5,6 g, rendimiento 90%). HRMS (FAB) Calcd. para C₁₃H₂₅N₂O₆S: 337,1433 (M+H)⁺. Encontrado: 337,1430.

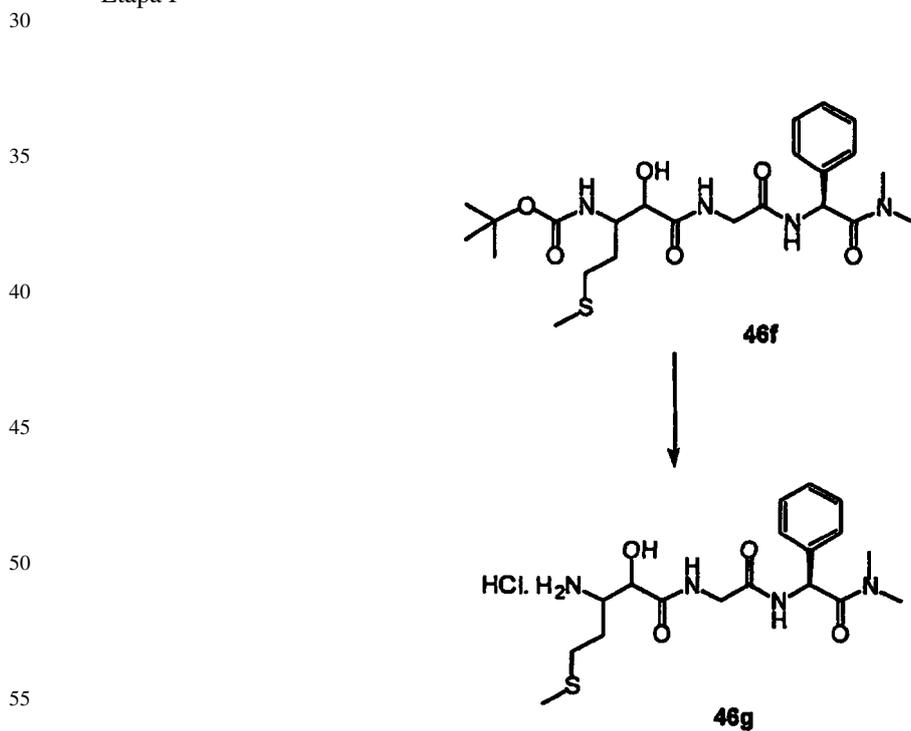
65

Etapa E



25 El producto 46f deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Intermedio A, Etapa 3. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando EtOAc/NH₃ en MeOH/diclorometano 20/0/80 a 50/5/45 proporcionó 3,0 g de 46f (51%). HRMS (FAB) Calcd. para C₂₃H₃₇N₄O₆S: 497,2434 (M+H)⁺. Encontrado: 497,2439.

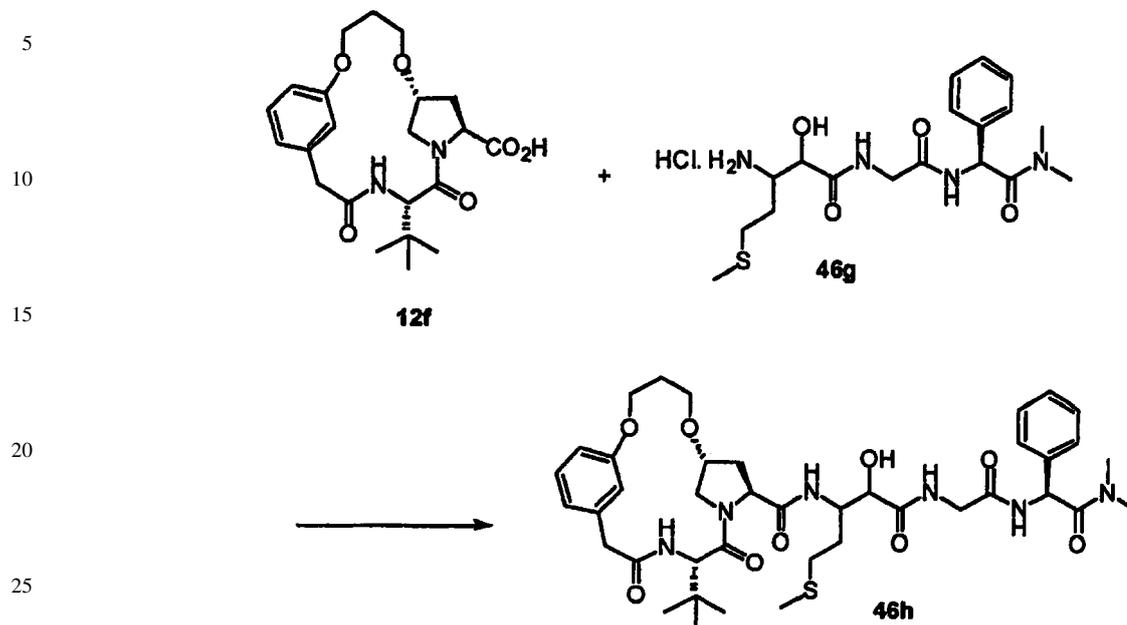
Etapa F



60 El compuesto deseado 46g se preparó mediante el protocolo descrito para el Intermedio A, Etapa 4. La sustancia se hizo proseguir para estudios adicionales.

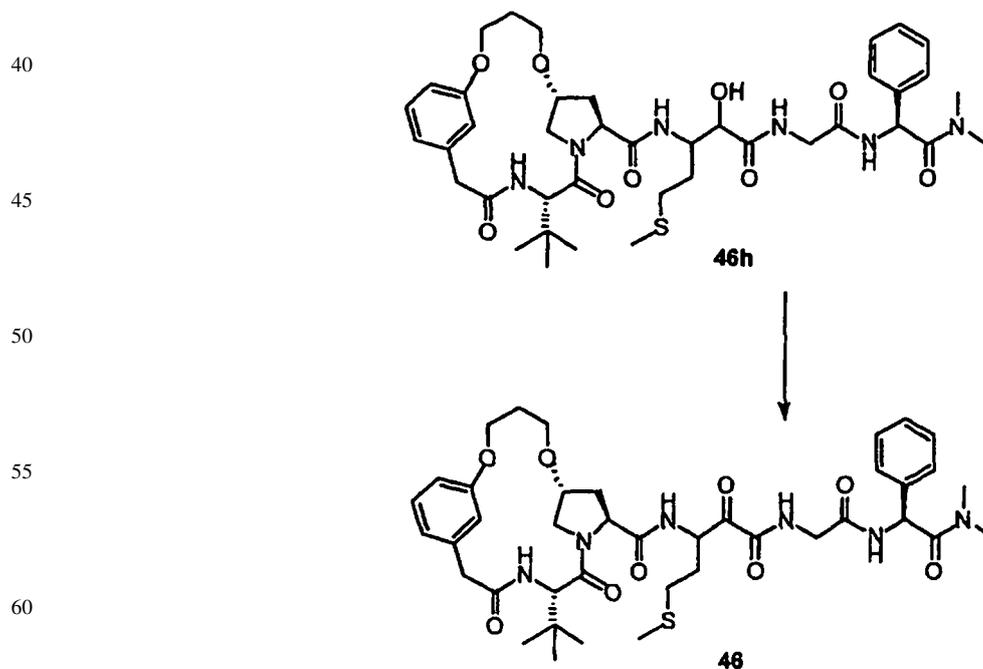
65

Etapa G



30 El producto 46h deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia bruta fue suficientemente pura para manipulaciones adicionales. HRMS (FAB) Calcd. para C₄₀H₅₇N₆O₉S: 797,3908 (M+H)⁺. Encontrado: 797,3896.

Etapa H



65 El producto 46 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 10, Etapa J. La reacción tardó 4 días en completarse. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna instantánea (dos veces) y la TLC preparativa utilizando diclorometano/MeOH 98/2 proporcionó 46 en forma de

ES 2 317 900 T3

una mezcla de diastereómeros con un rendimiento de 12% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{55}N_6O_9S$: 795,3751 (M+H)⁺. Encontrado: 795,3761.

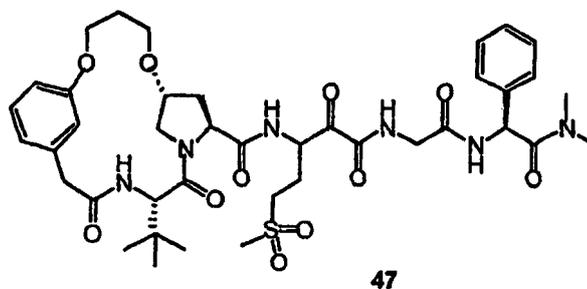
5 Ejemplo 47

Preparación del Compuesto 47

10

15

20

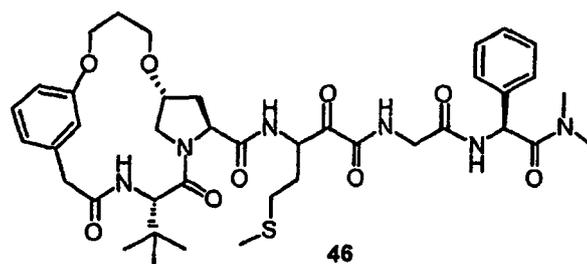


25

Etapa A

30

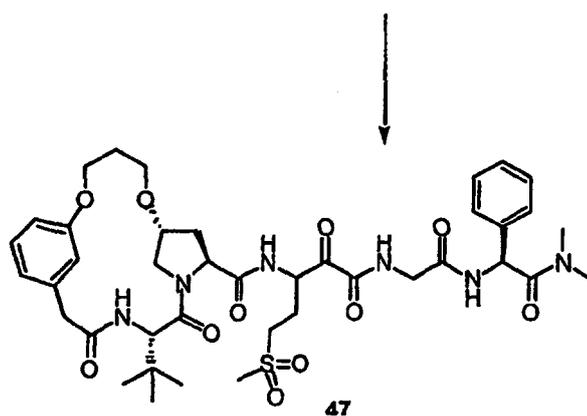
35



40

45

50



55

El producto 47 deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 11 Etapa A.

60

65

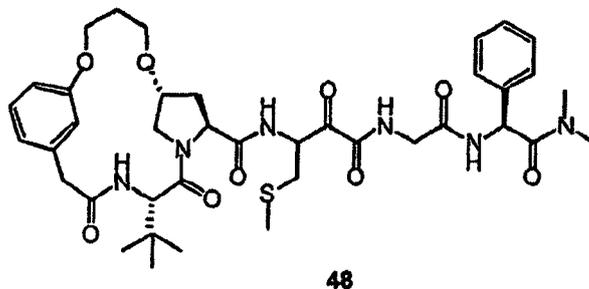
Ejemplo 48

Preparación del Compuesto 48

5

10

15

**48**

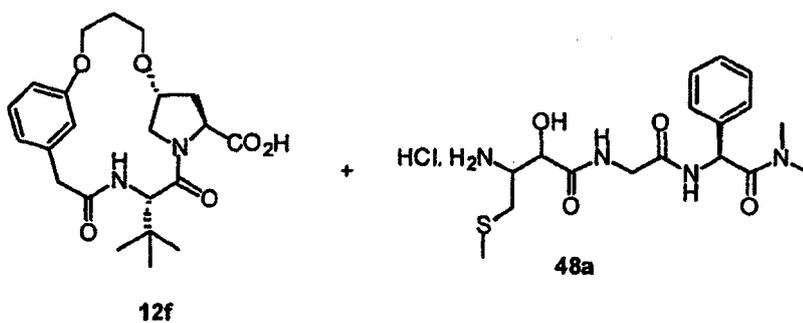
20

Etapa A

25

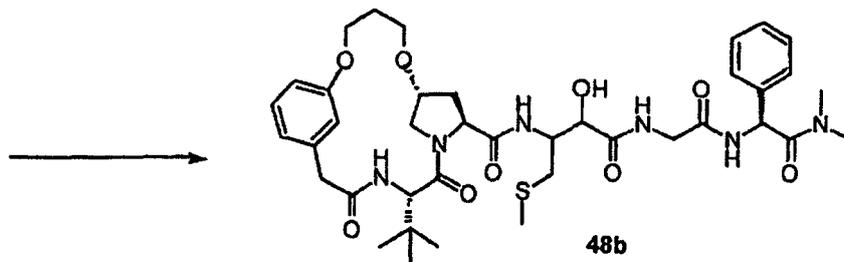
30

35

**48a**

40

45

**48b**

50

El producto 48b deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1 Etapa J. La sustancia bruta fue suficientemente pura para manipulaciones adicionales. (Obsérvese: El precursor 48a se obtuvo a partir de *N*boc-*S*-metilcisteína asequible comercialmente mediante procedimientos similares descritos para 46g).

55

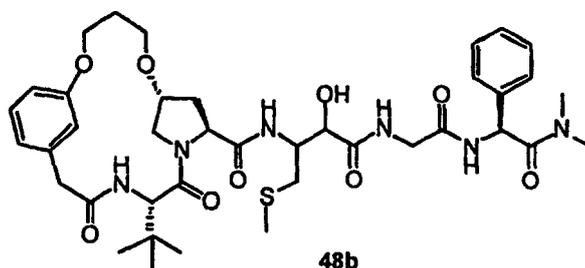
60

65

Etapa B

5

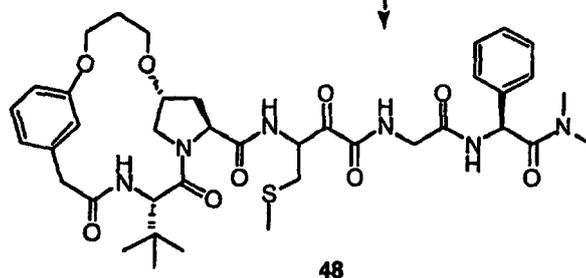
10



15

20

25



30

El producto 48 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 10 Etapa J. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 98/2 proporcionó 48 en forma de una mezcla de diastereómeros con un rendimiento de 21% (para 2 etapas).

35

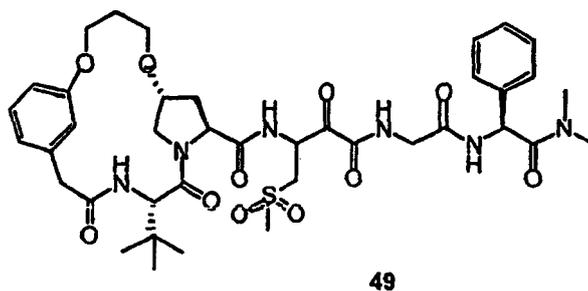
Ejemplo 49

40

Preparación del Compuesto 49

45

50



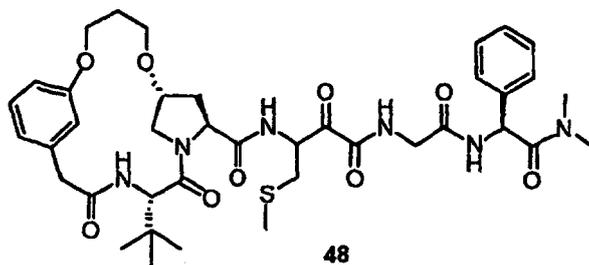
55

60

65

Etapa A

5

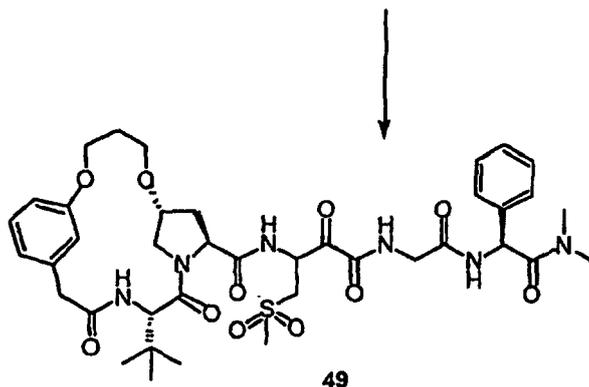


10

15

20

25



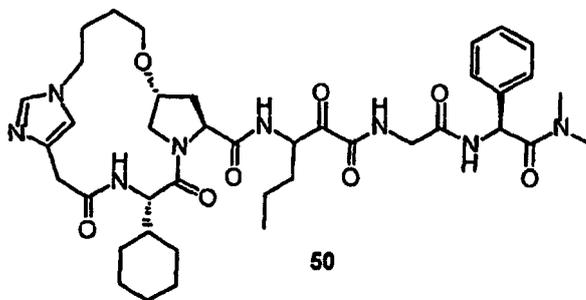
30 El producto 49 deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 11 Etapa A.

Ejemplo 50

35

Preparación del Compuesto 50

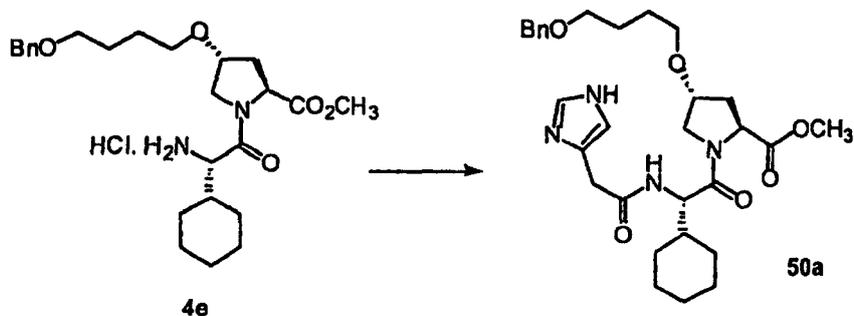
40



45

Etapa A

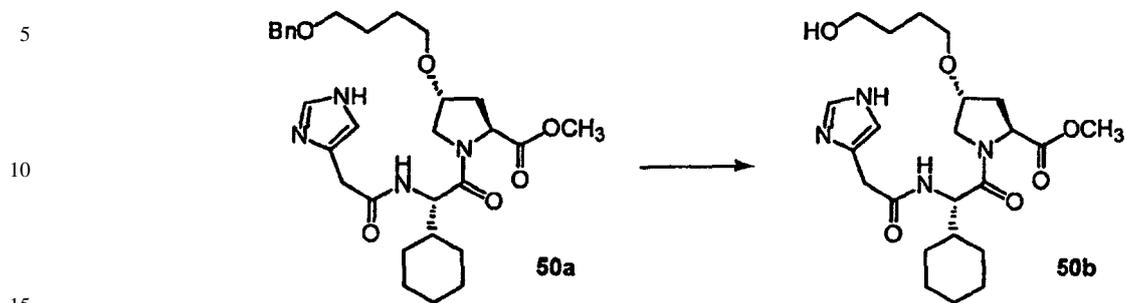
55



60

65 El producto 50a deseado se obtiene mediante el método descrito para el Ejemplo 1 Etapa F, utilizando ácido imidazol-4-acético como pareja de acoplamiento.

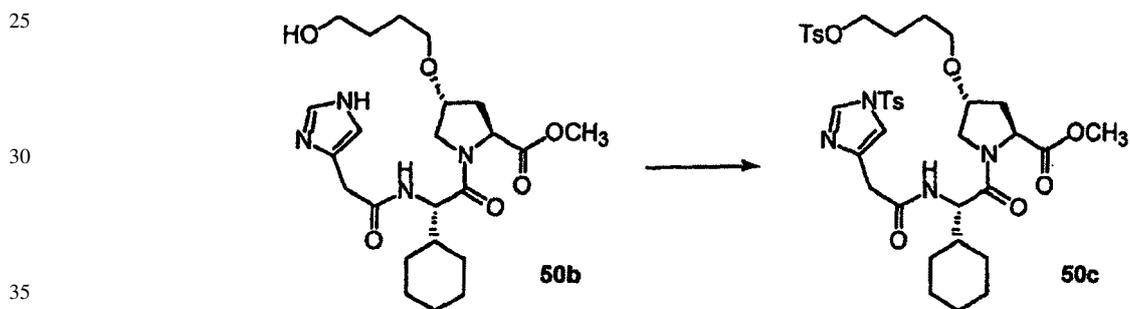
Etapa B



El producto 50b deseado se obtiene mediante el método descrito para el Ejemplo 1 Etapa G.

20

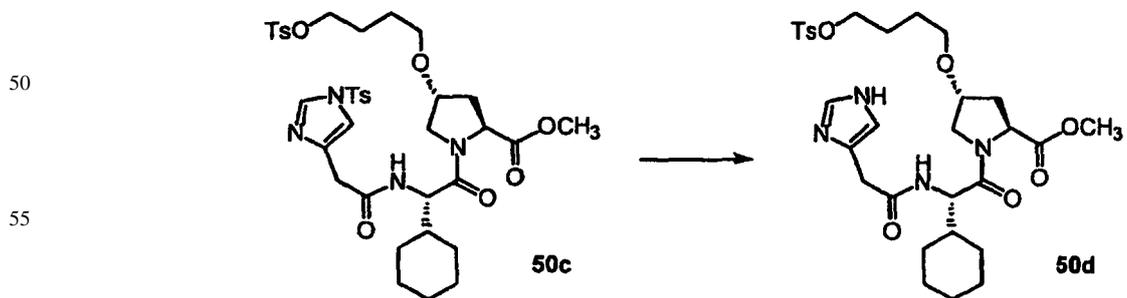
Etapa C



40 El producto 50c deseado se obtiene mediante el método descrito para el Ejemplo 10 Etapa A utilizando cloruro de p-toluenosulfonilo como sustancia de partida.

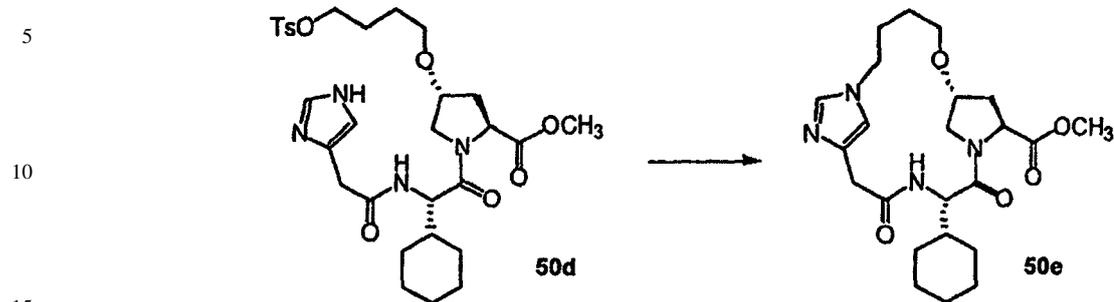
Etapa D

45



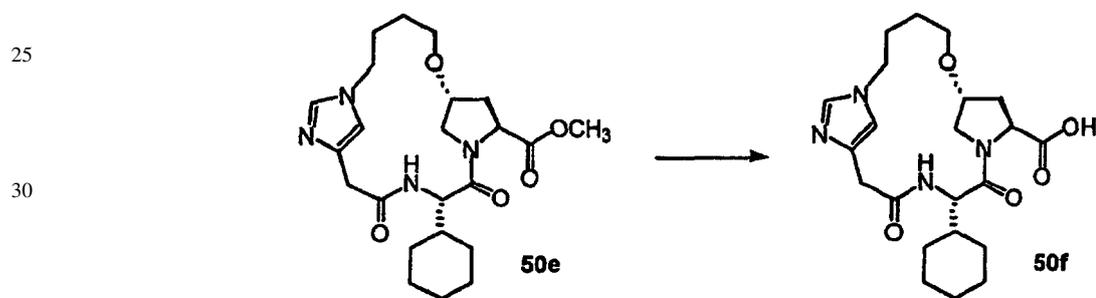
65 El producto 50d deseado se obtiene tratando 50c con HOBT en THF a temperatura ambiente a lo largo de varias horas.

Etapa E



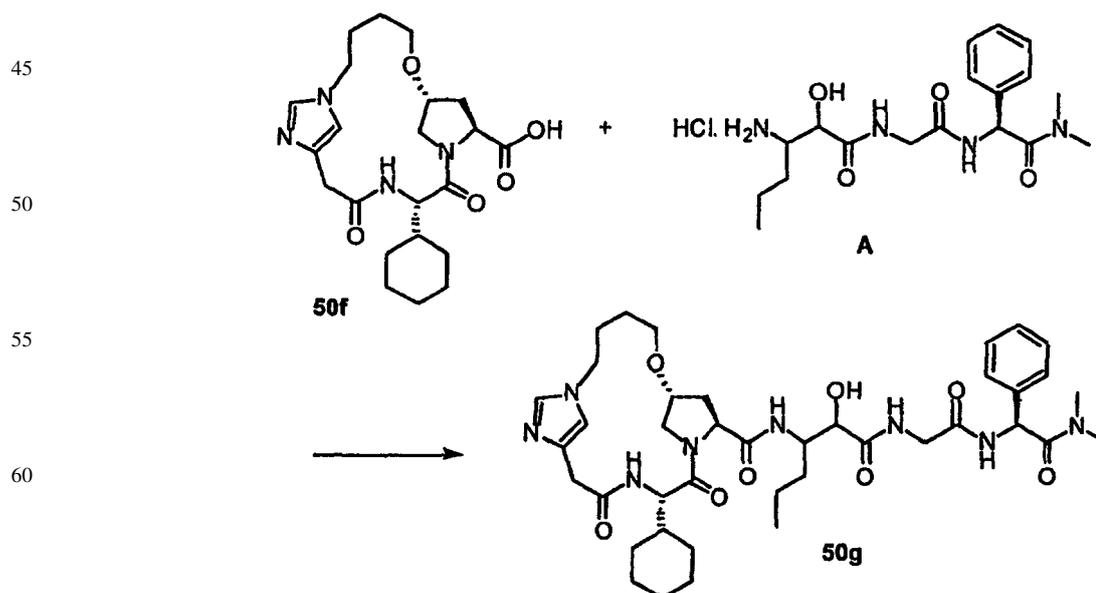
El producto 50e esperado se sintetiza calentando 50d con carbonato de sodio, y yoduro de sodio en acetona a 50°C a lo largo de varias horas. El producto se puede purificar mediante cromatografía instantánea convencional.

Etapa F



El producto deseado 50f se obtiene mediante el protocolo de hidrólisis descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa I.

Etapa G



El producto 50g esperado se sintetiza como se ha descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa J.

Etapa M

5

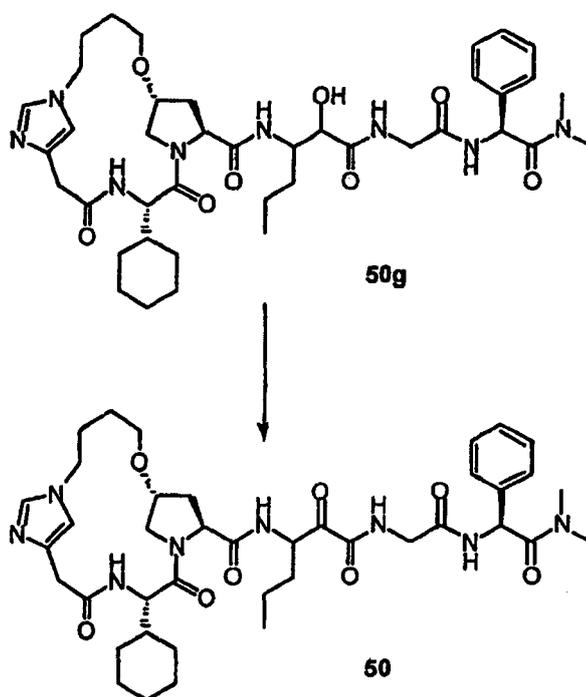
10

15

20

25

30



35 El producto 50 deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea proporcionará 50 puro.

Ejemplo 51

40 *Preparación del Compuesto 51*

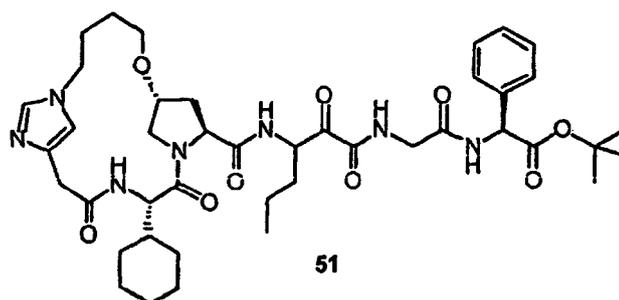
45

50

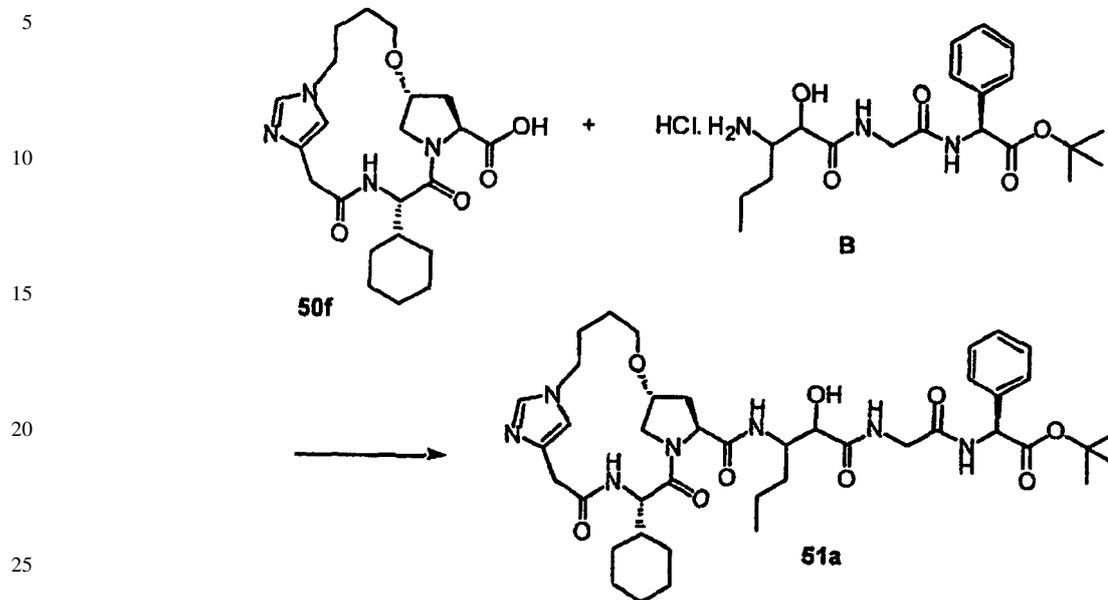
55

60

65

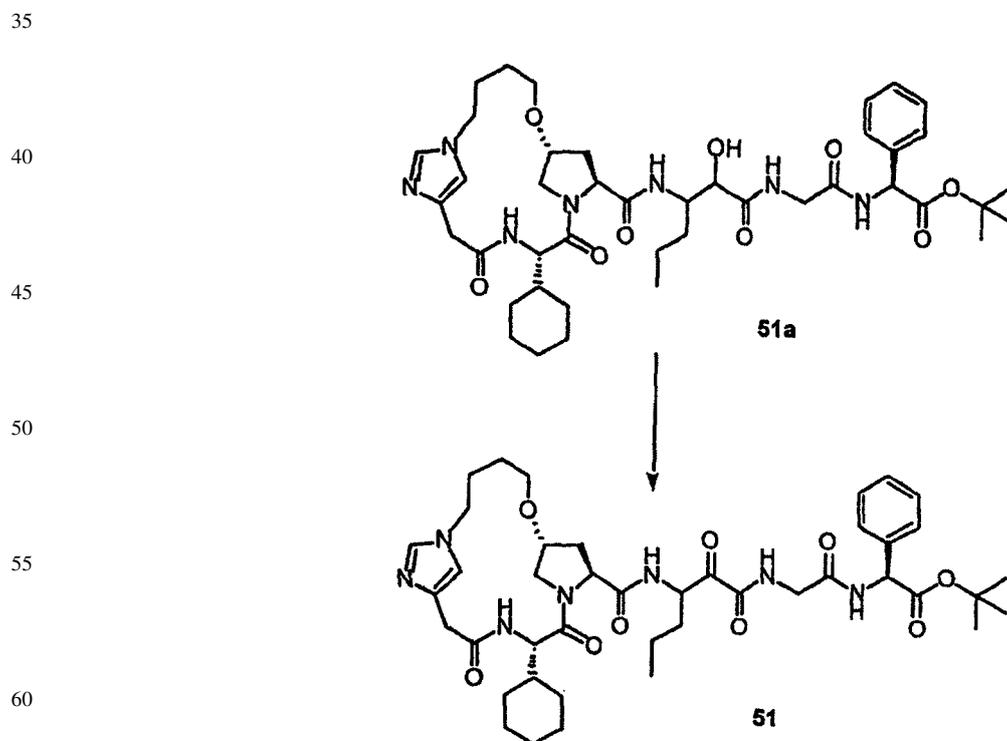


Etapa A



30 El producto 51a esperado se sintetiza como se ha descrito antes para el Ejemplo 2 Etapa A.

Etapa B



65 El producto 51 deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 2 Etapa B. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea proporcionará 51 puro.

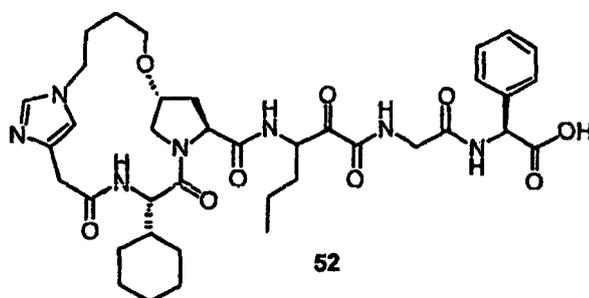
Ejemplo 52

Preparación del Compuesto 52

5

10

15



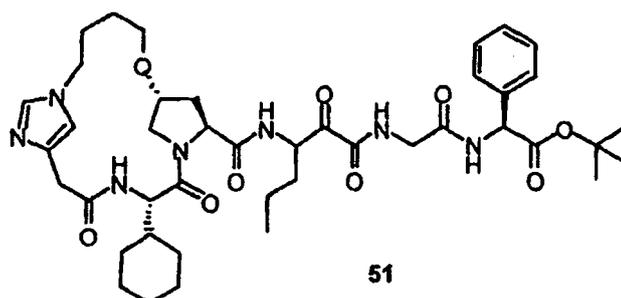
20

25

Etapa A

30

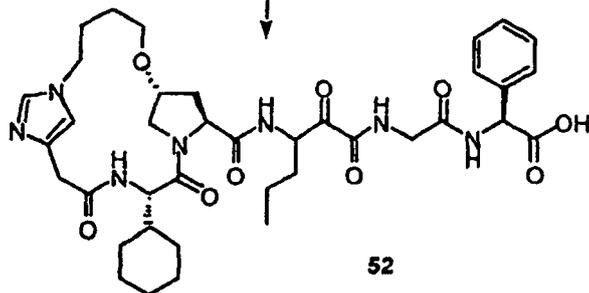
35



40

45

50



55

El producto 52 deseado se obtiene mediante el procedimiento descrito previamente para el Ejemplo 3, Etapa A.

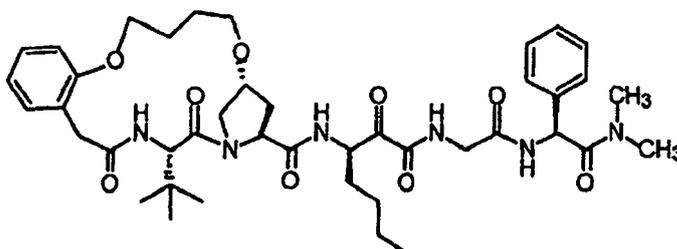
60

65

Ejemplo 53

Preparación de los Compuestos de Formulas 53A y 53B

5

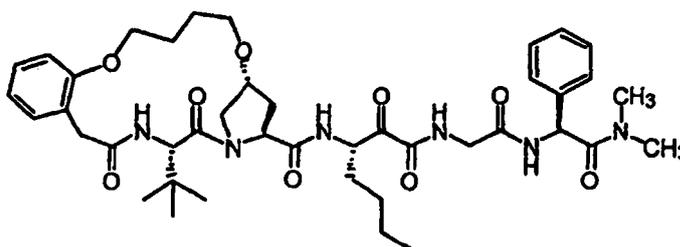


53A

10

15

20



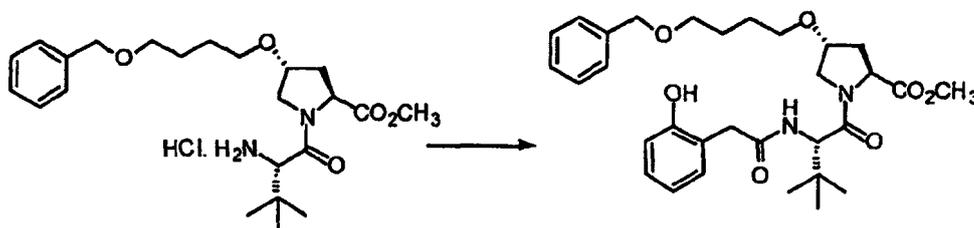
53B

25

30

Etapa A

35



44b

53a

40

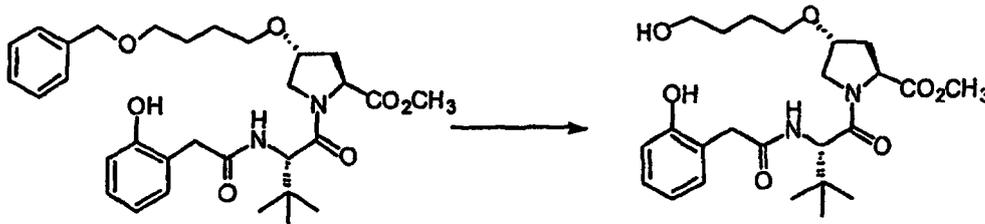
45

El producto 53a deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa F. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/acetato de etilo 80/20 a 60/40 para proporcionar 53a.

50

Etapa B

55



53a

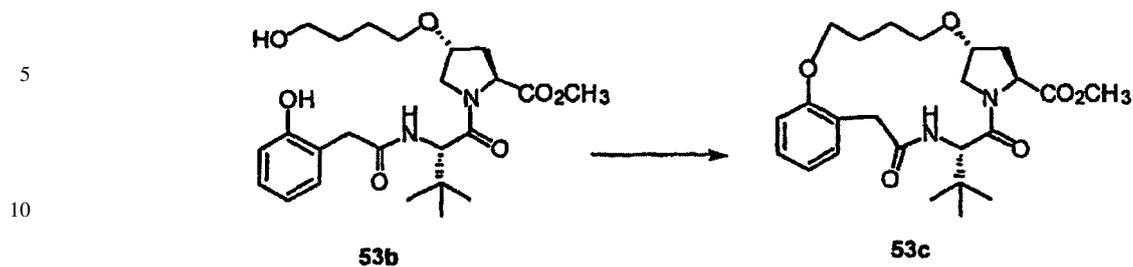
53b

60

65

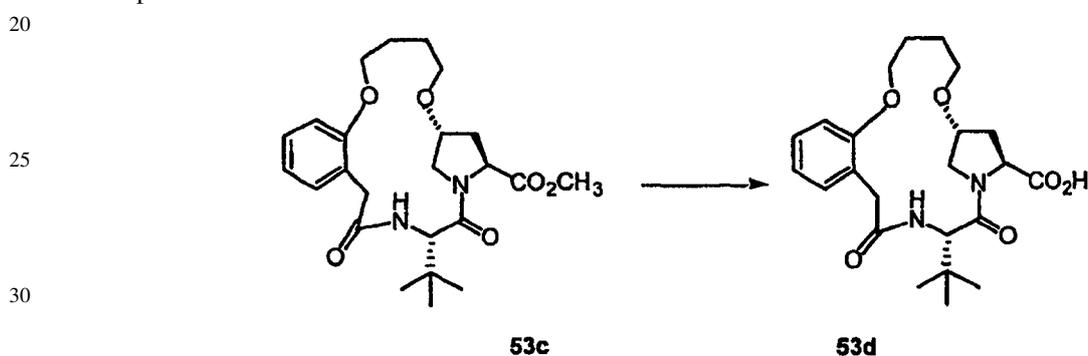
El producto 53b deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa G. La sustancia bruta se llevó a la siguiente etapa tal cual.

Etapa C



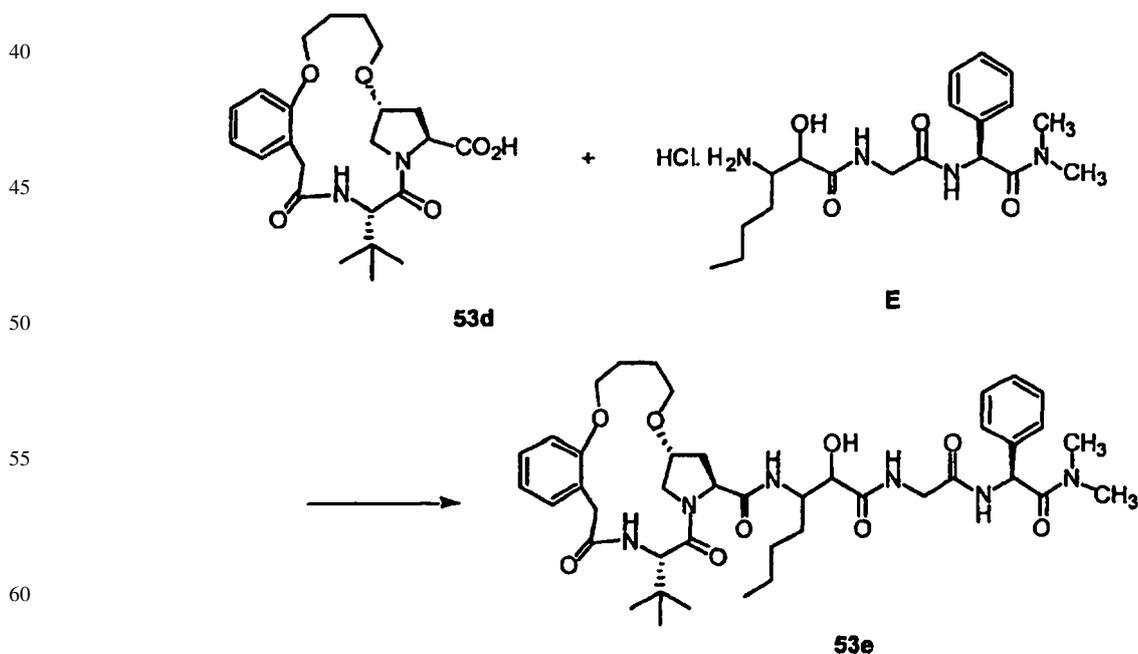
15 El producto 53c deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa H. La purificación mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/metanol 99/1 proporcionó 53c junto con óxido de trifenilfosfina. Esta mezcla se recogió para la siguiente etapa.

Etapa D



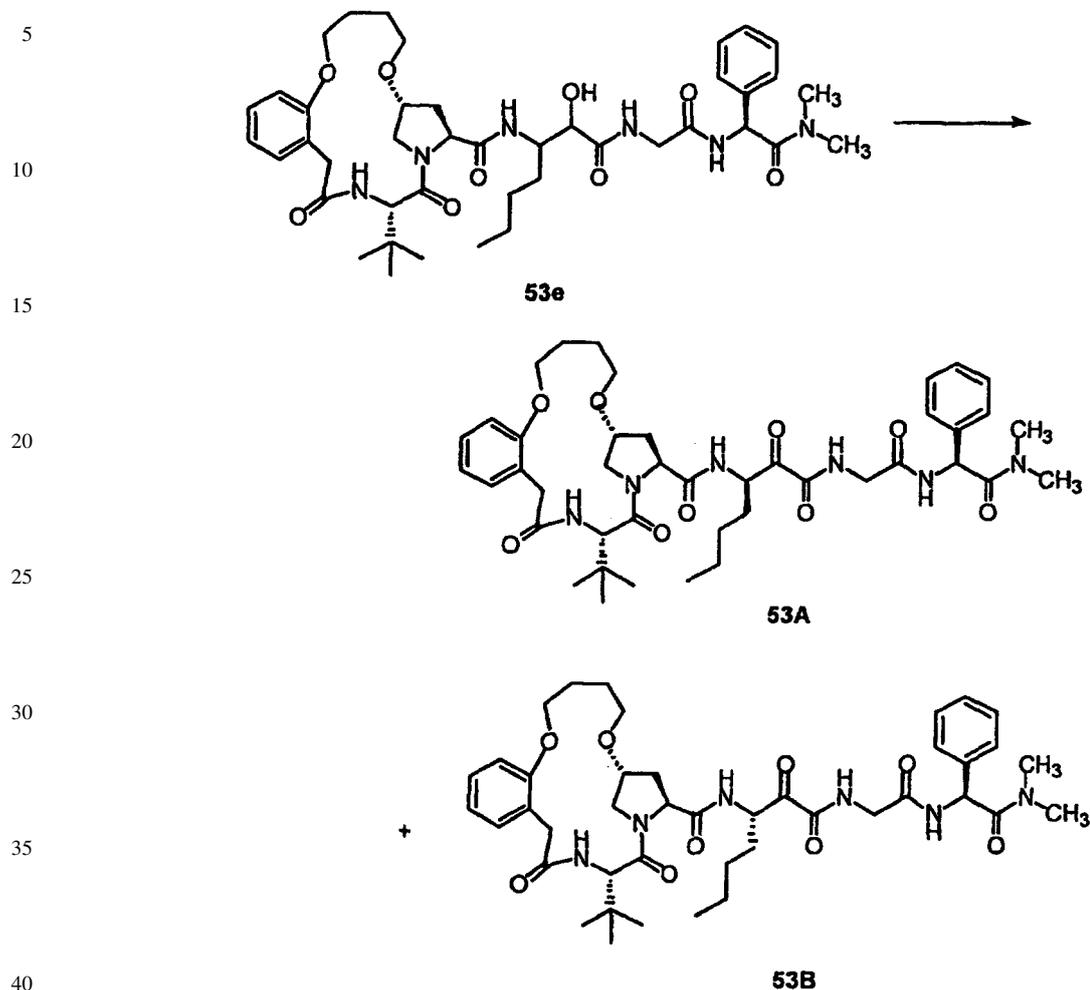
35 El producto deseado se obtuvo mediante el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa I.

Etapa E



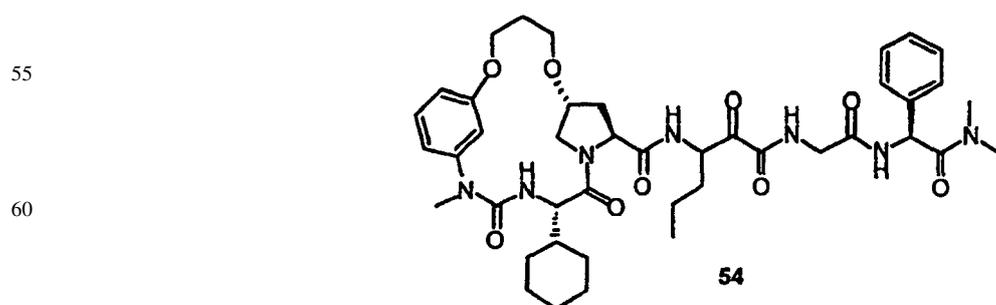
65 El producto 53e esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa.

Etapa F



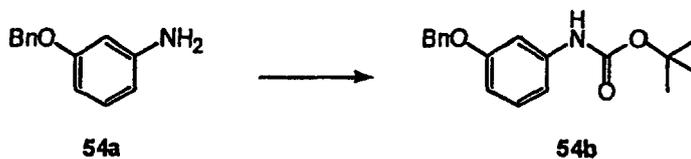
Los productos deseados 53A y 53B se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/metanol 100/0 a 99/1 proporcionó los isómeros separados 53A y 53B, y algo de mezcla.

Ejemplo 54

Preparación del Compuesto 54

Etapa A

5



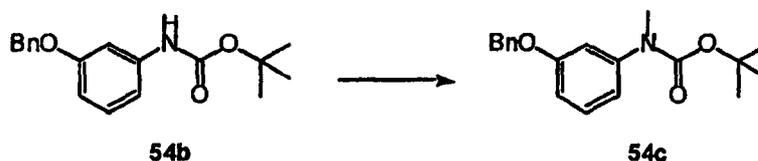
10

El 54a asequible comercialmente se convirtió en el producto 54b deseado utilizando el procedimiento descrito para el Intermedio A Etapa 3 con un rendimiento cuantitativo.

15

Etapa B

20



25

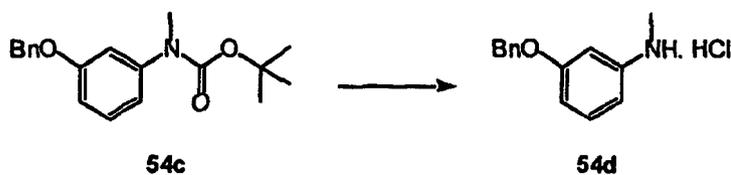
A una solución fría (0°C) de 54b (8 g, 26,8 mmoles) en DMF (100 mL) se le añadió hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite, 1,3 g, 32,16 mmoles). Después de 10 minutos se añadió yodometano (2,8 mL, 42,8 mmoles) y la reacción se templó a temperatura ambiente a lo largo de 2 hrs. La mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄) y se concentró para proporcionar 54c que fue suficientemente puro para estudios adicionales.

30

35

Etapa C

40



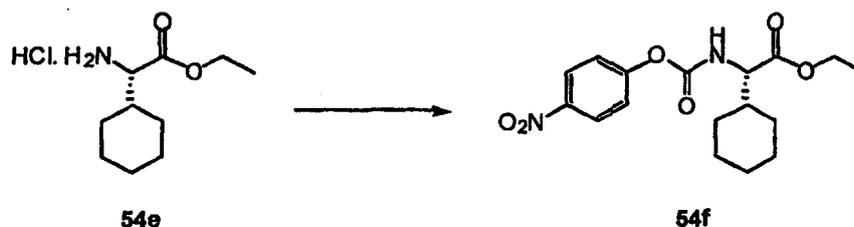
45

El producto 54d deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1 Etapa C. El producto bruto se utilizó sin purificación adicional.

50

Etapa D

55

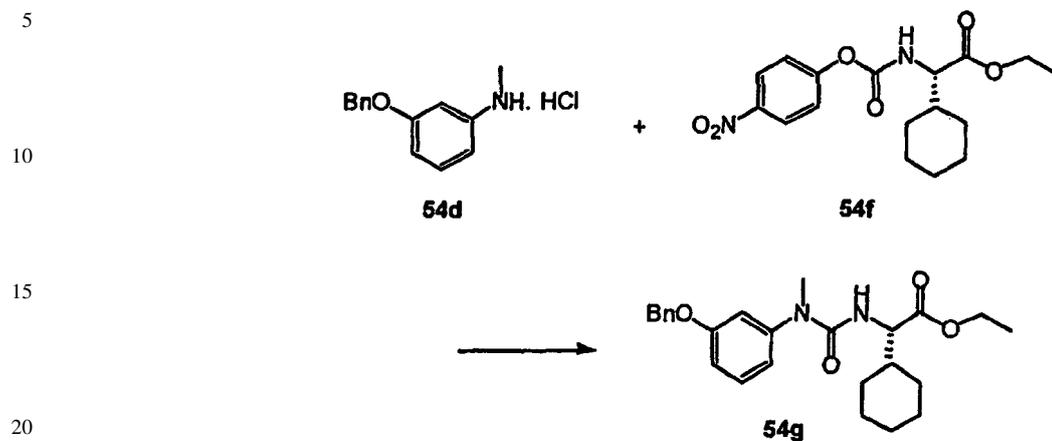


60

65

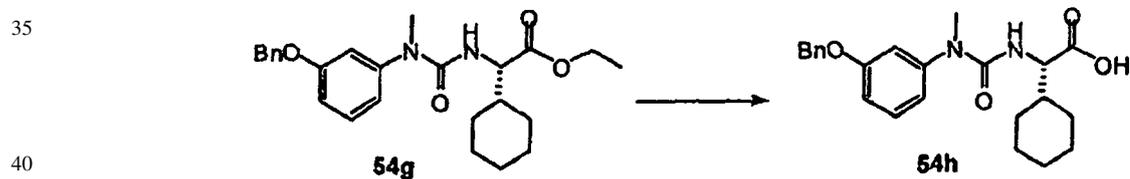
El producto 54f deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 26 Etapa A utilizando 54e como sustancia de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/hexanos 80/20 a 100/0 para proporcionar 54f.

Etapa E



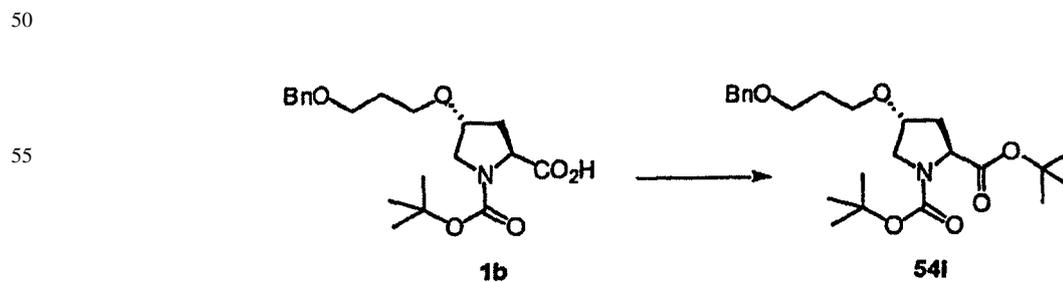
25 El producto 54g deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 26 Etapa B utilizando 54d y 54f como sustancias de partida. La reacción se llevó a cabo en cloroformo a 50°C. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando hexanos/EtOAc 85/15 para proporcionar 54g con un rendimiento de 56%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{33}N_2O_4$: 425,2440 (M+H)⁺. Encontrado: 425,2424.

30 Etapa F



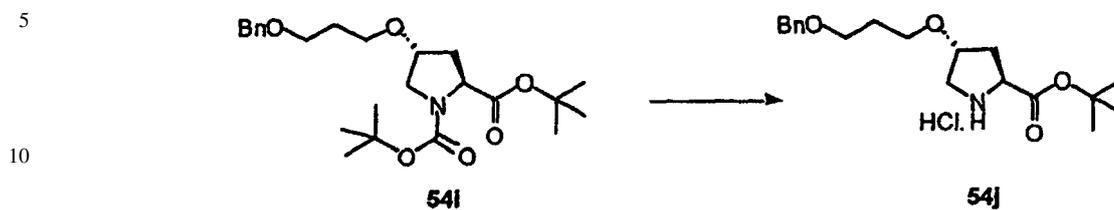
45 El compuesto deseado 54h se obtuvo mediante el procedimiento descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa I utilizando EtOH como disolvente.

Etapa G



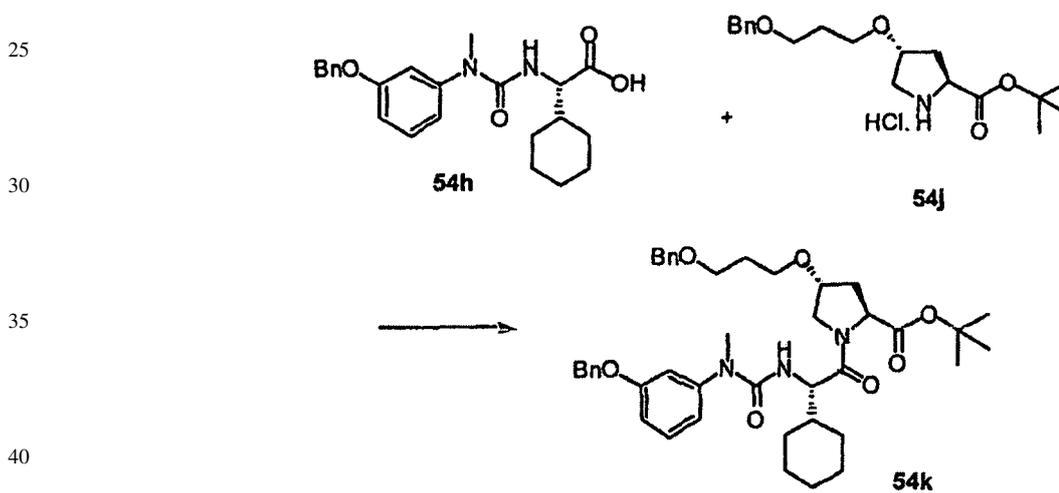
65 El compuesto deseado 54i se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 18 Etapa B.

Etapa H



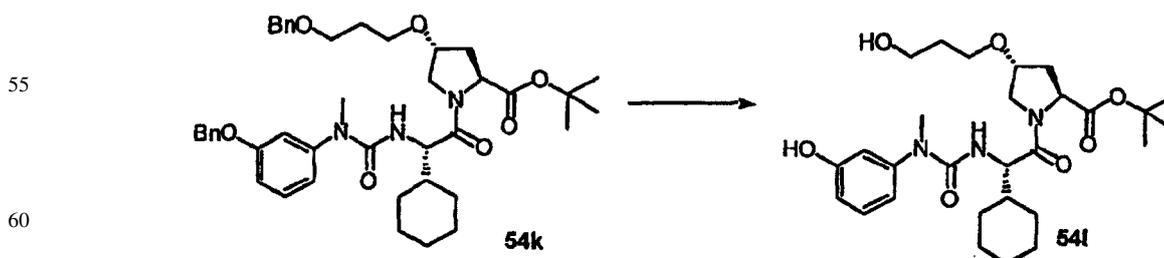
15 El producto 54j deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1 Etapa C. La sustancia bruta se utilizó sin purificación.

20 Etapa I



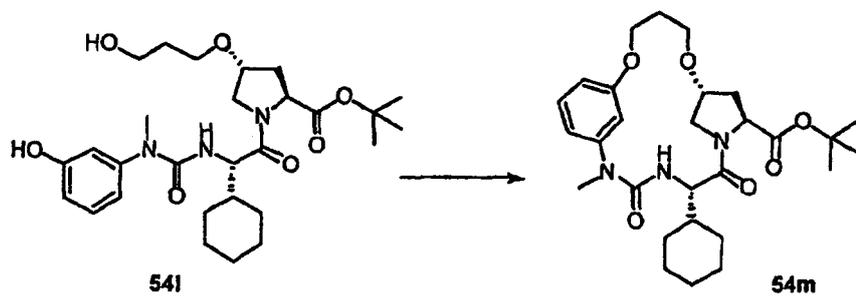
45 El producto 54k deseado se obtuvo mediante el protocolo de acoplamiento descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa D.

50 Etapa J



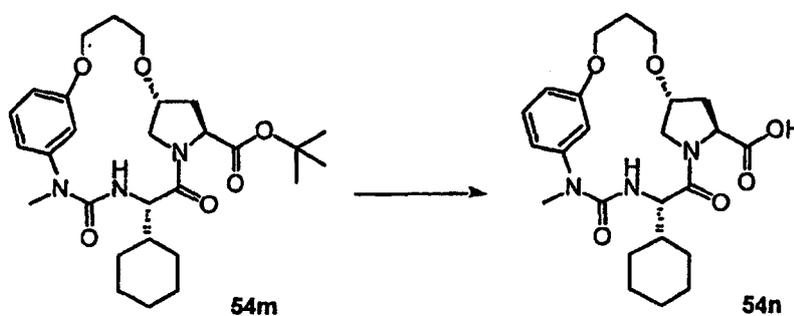
65 El producto 54l deseado se obtiene mediante el procedimiento de hidrogenación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa G.

Etapa K



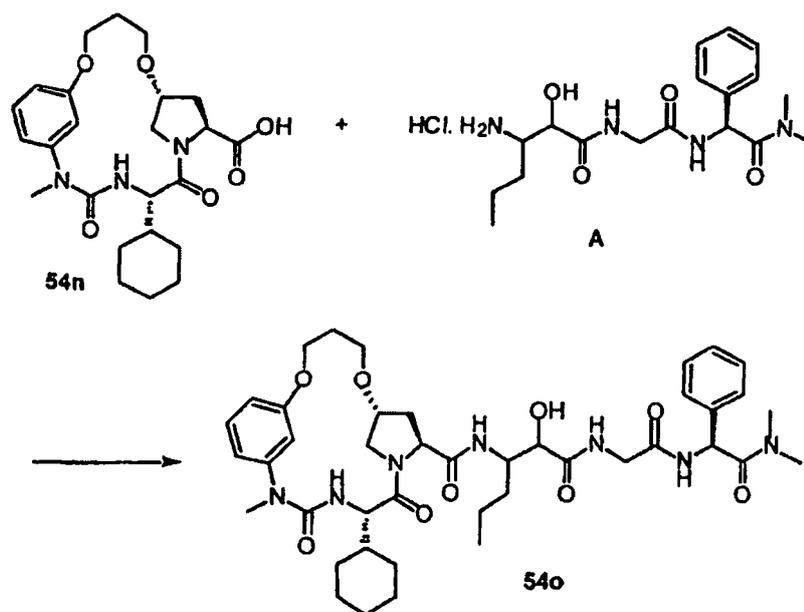
El producto 54m deseado se obtiene mediante el protocolo de ciclación descrito para el Ejemplo 1 Etapa H.

Etapa L



El producto 54n deseado se obtiene mediante el procedimiento descrito previamente para el Ejemplo 3 Etapa A.

Etapa M



El producto 54o esperado se sintetiza como se ha descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa J.

Etapa N

5

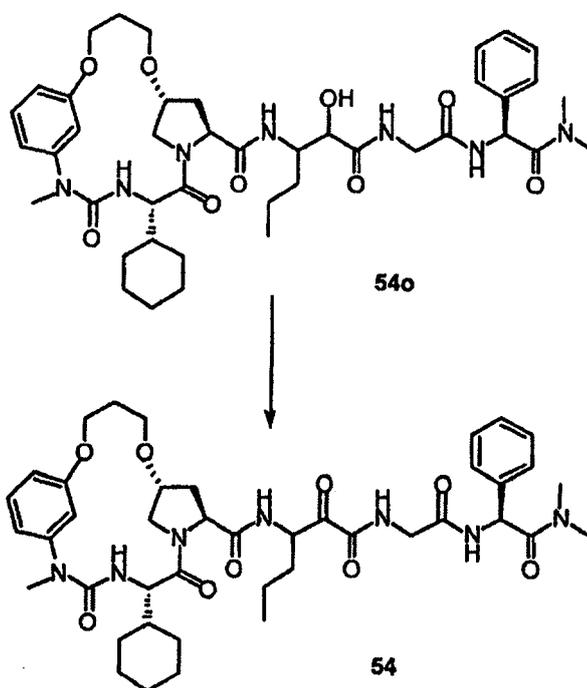
10

15

20

25

30



35

El producto 54 deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea proporcionará 54 puro.

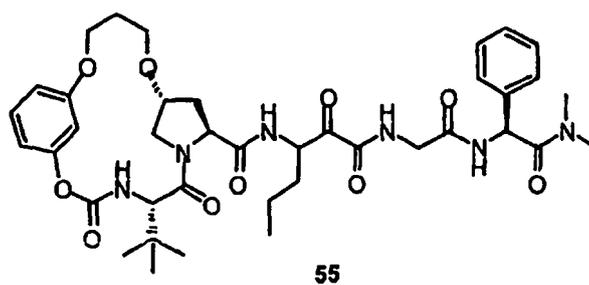
Ejemplo 55

40

Preparación del Compuesto 55

45

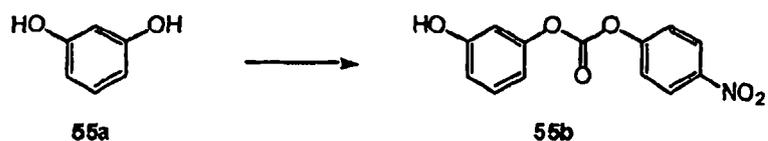
50



55

Etapa A

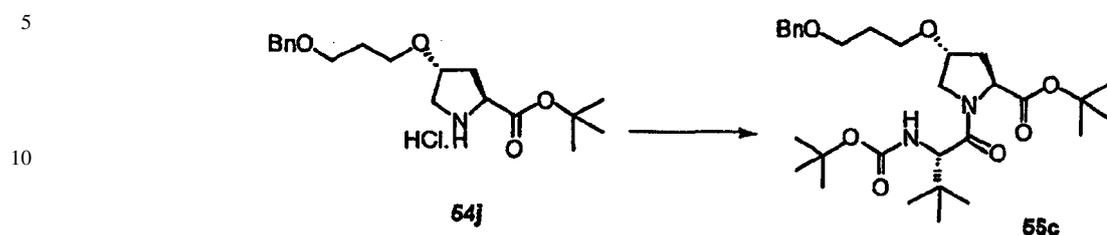
60



65

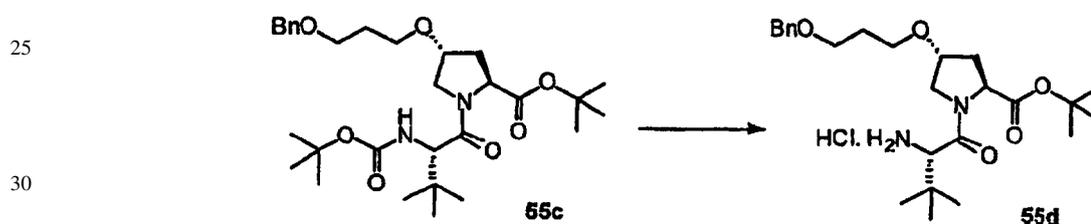
El 55a asequible comercialmente se convirtió en el producto 55b deseado utilizando el procedimiento descrito para el Ejemplo 26 Etapa A con un rendimiento de 41%.

Etapa B



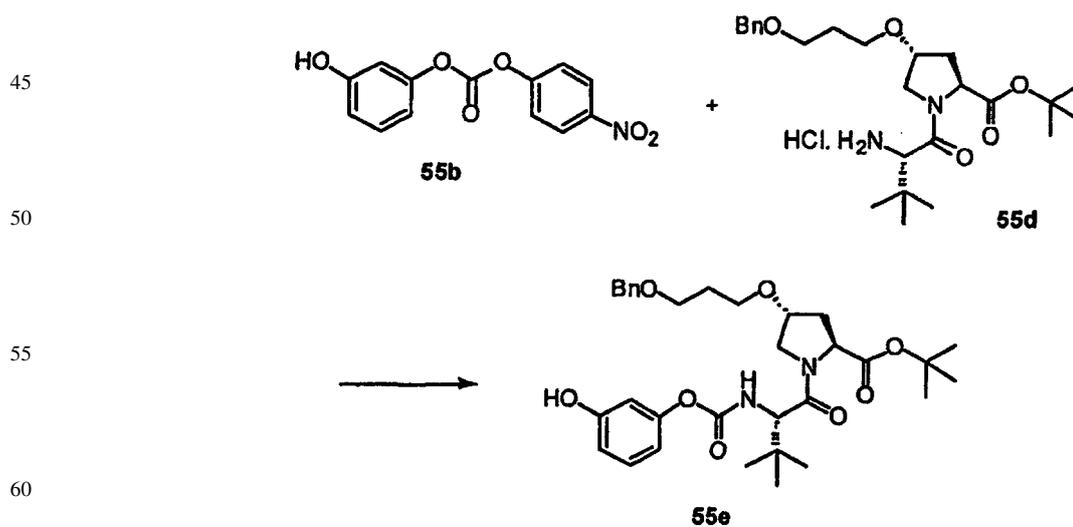
15 El producto 55c deseado se obtuvo mediante el protocolo de acoplamiento descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa D utilizando N-boc-t-butilglicina como pareja de acoplamiento. La purificación utilizando diclorometano/EtOAc 95/5 proporcionó 55c con un rendimiento de 57%.

Etapa C



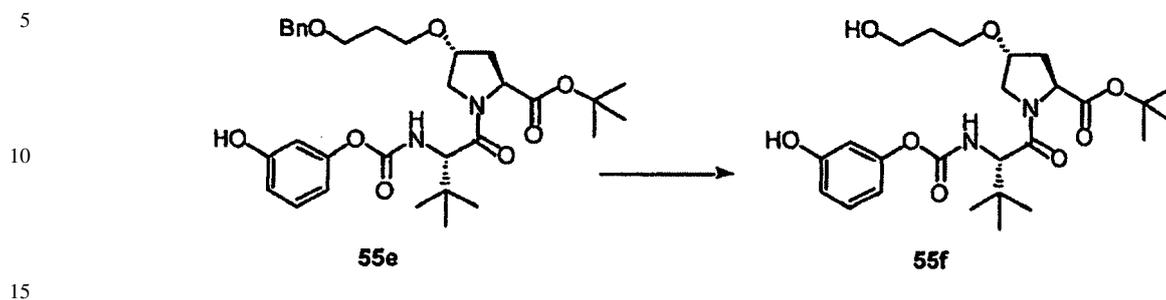
35 El producto 55d deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa C. La sustancia bruta se hizo proseguir adicionalmente.

Etapa D



65 El producto 55e deseado se obtuvo mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 26 Etapa B. La purificación utilizando diclorometano/EtOAc 80/20 proporcionó 55e con un rendimiento de 20%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{32}H_{45}N_2O_8$: 585,3176 (M+H)⁺. Encontrado: 585,3177.

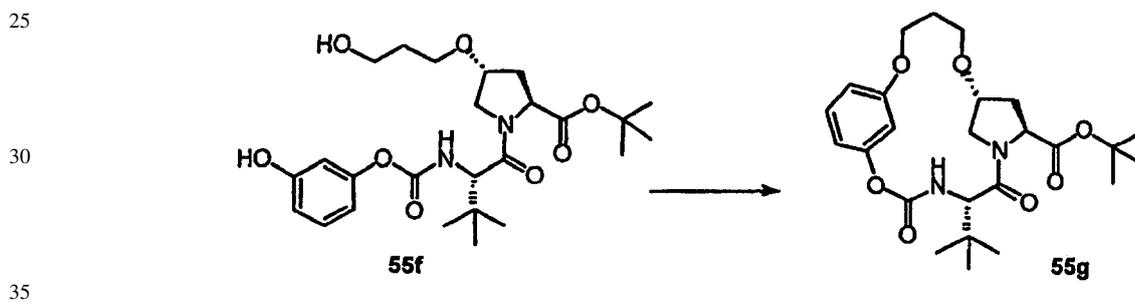
Etapa E



El producto 55f deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa G. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{25}H_{39}N_2O_8$: 495,2706 (M+H)⁺. Encontrado: 495,2704.

20

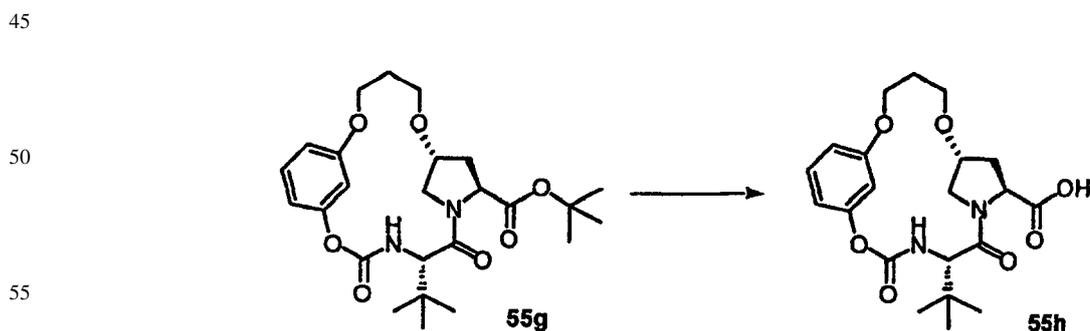
Etapa F



El producto 55g esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa H. La purificación mediante cromatografía instantánea utilizando diclorometano/EtOAc 85/15 proporcionó 55g con un rendimiento de 10%.

40

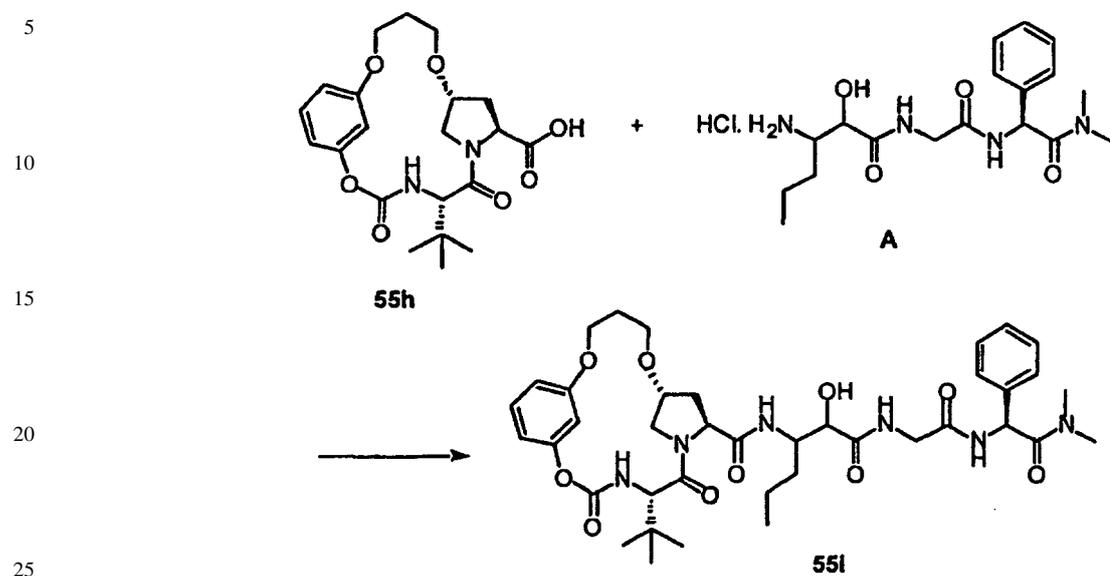
Etapa G



El producto 55h deseado se obtuvo mediante el método descrito previamente para el Ejemplo 3 Etapa A. La sustancia bruta se hizo proseguir adicionalmente sin purificación.

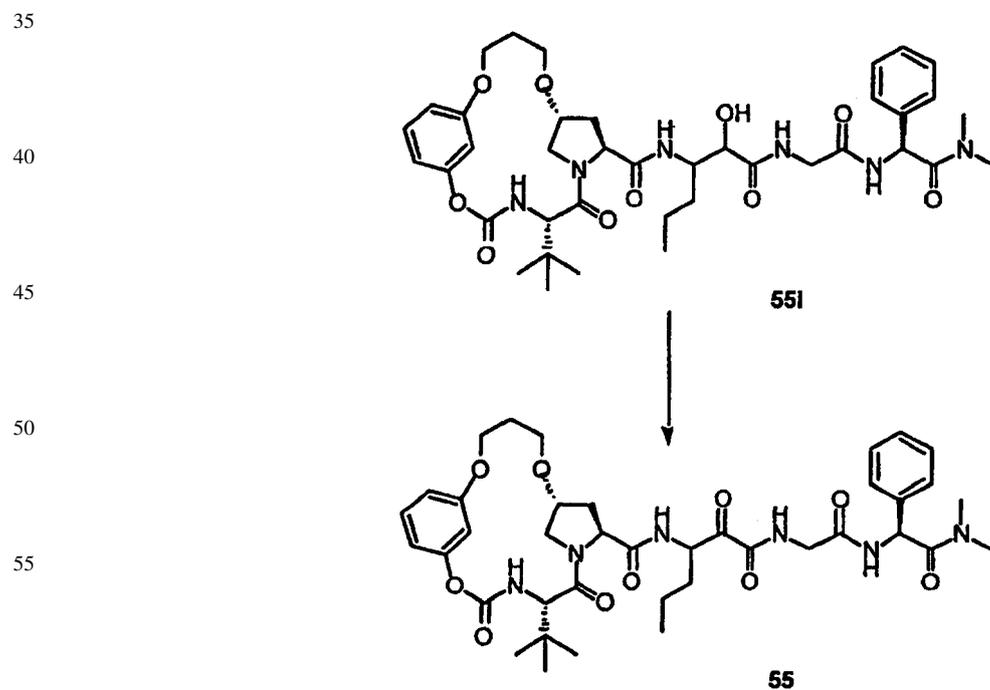
65

Etapa H



30 El producto 55i esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1 Etapa J. La sustancia bruta se hizo proseguir adicionalmente sin purificación.

Etapa I



65 El producto 55 deseado se obtuvo mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1 Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 98/2 proporcionó 55.

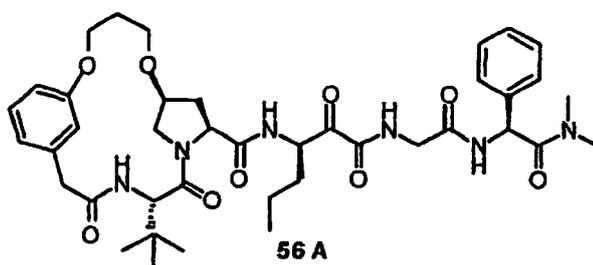
Ejemplo 56

Preparación del Compuesto 56

5

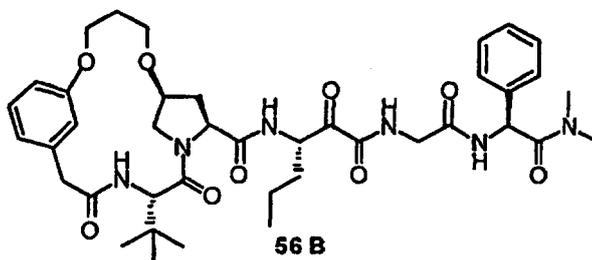
10

15



20

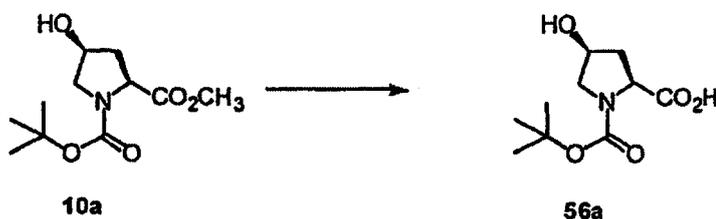
25



30

Etapa A

35



40

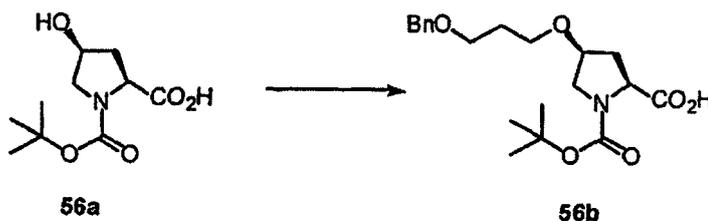
45

A una solución del éster metílico 10a asequible comercialmente (5,0 g, 20,4 mmoles) en MeOH (20 mL) se le añadió una solución de LiOH (730 mg, 30,6 mmoles) en agua (20 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 hrs. La TLC indicó el consumo de la sustancia de partida. La mezcla de reacción se concentró y se aciduló con una solución de ácido cítrico al 10%. Se añadió NaCl sólido y la capa acuosa se extrajo con EtOAc varias veces. La capa de EtOAc combinada se secó (Na_2SO_4) y se concentró para proporcionar 56a con un rendimiento cuantitativo. HRMS (FAB) Calcd. para $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_1\text{O}_5$: 232,1185 (M+H)⁺. Encontrado: 232,1189.

50

Etapa B

55

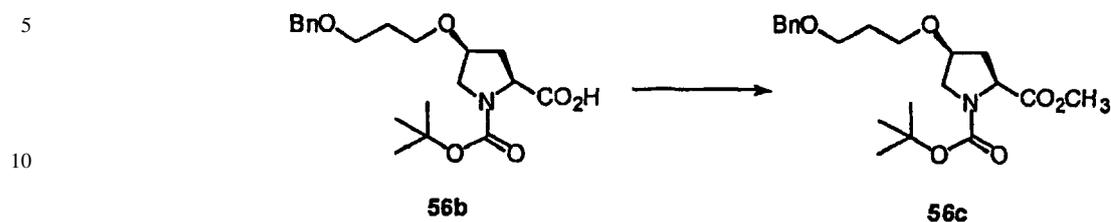


60

65

El producto 56b deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa A. La sustancia bruta se convirtió en el éster metílico sin purificación.

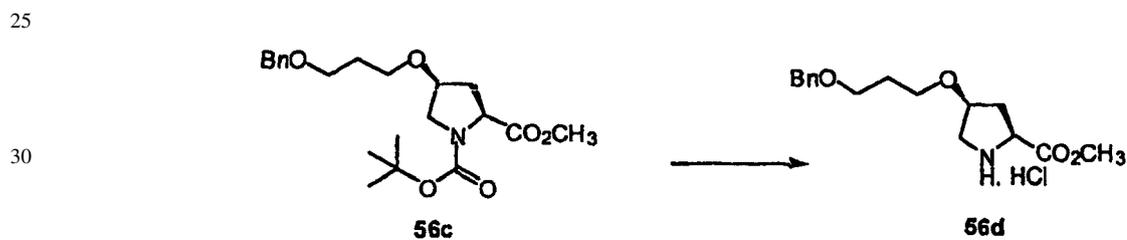
Etapa C



15 El producto 56c deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa B. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando hexanos/EtOAc 80/20 a 50/50 y después diclorometano/EtOAc 70/30 a 40/60 proporcionó 13% de 56c. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{21}H_{31}NO_6$: 394,2230 (M+H)⁺. Encontrado: 394,2224.

20

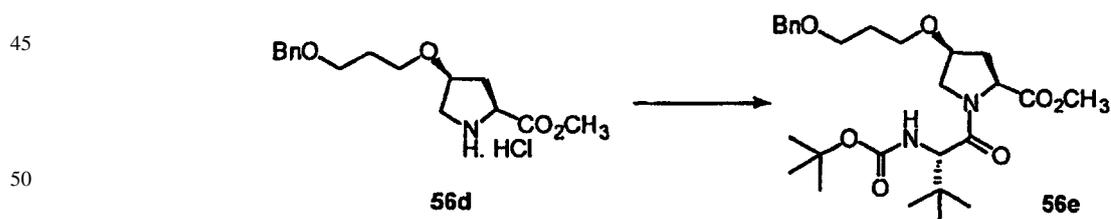
Etapa D



35 El producto 56d deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa C. La sustancia bruta se utilizó sin purificación.

40

Etapa E

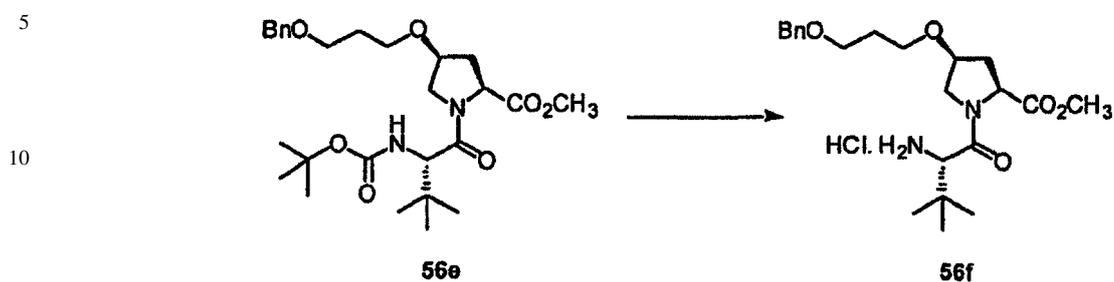


55 El producto 56e deseado se obtuvo mediante el método descrito para el Ejemplo 1, Etapa D, utilizando N-boc-terc-butilglicina como pareja de acoplamiento. La purificación del residuo mediante cromatografía en columna utilizando diclorometano/EtOAc 90/10 proporcionó 86% de 56e. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{27}H_{43}N_2O_7$: 507,3070 (M+H)⁺. Encontrado: 507,3072.

60

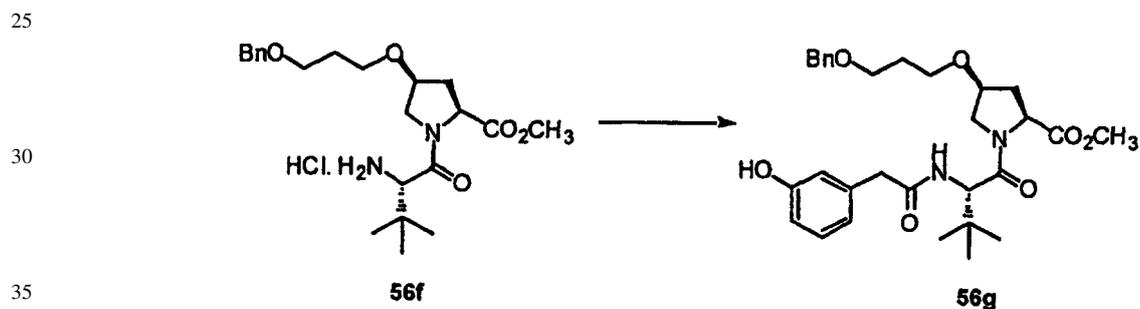
65

Etapa F



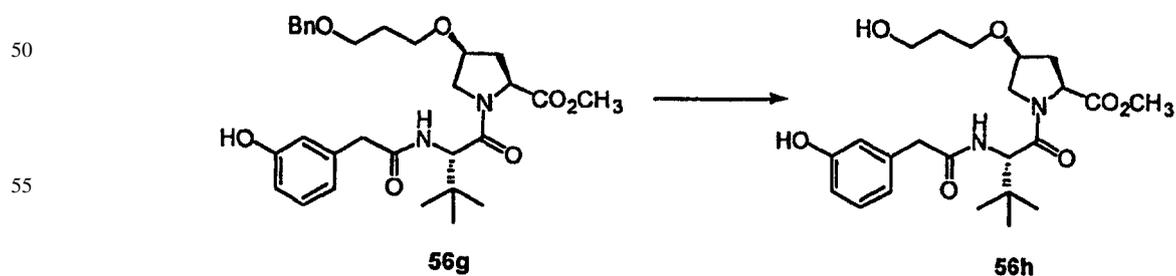
20 El compuesto deseado 56f se preparó mediante el protocolo descrito para el Ejemplo 1, Etapa E. La sustancia se hizo proseguir tal cual.

Etapa G



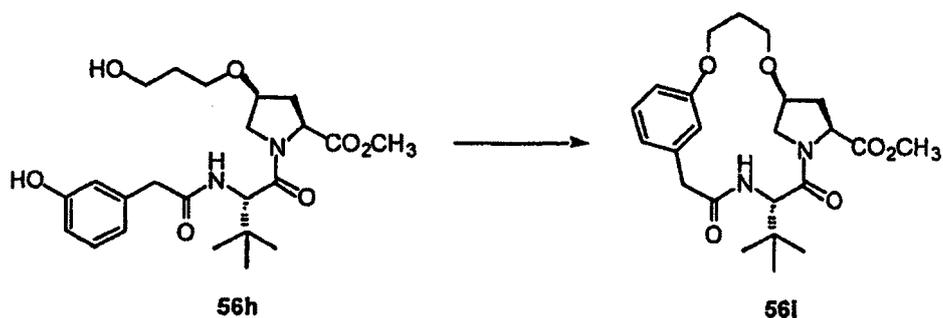
40 El producto 56g deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa F. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 98/2 para producir 56g en 78% en forma de una espuma de color blanco. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{30}H_{41}N_2O_7$: 541,2914 (M+H)⁺. Encontrado: 541,2916.

Etapa H



65 El producto 56h deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. El producto obtenido después de separar mediante filtración el catalizador fue suficientemente puro para las subsiguientes manipulaciones. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{23}H_{35}N_2O_7$: 451,2444 (M+H)⁺. Encontrado: 451,2449.

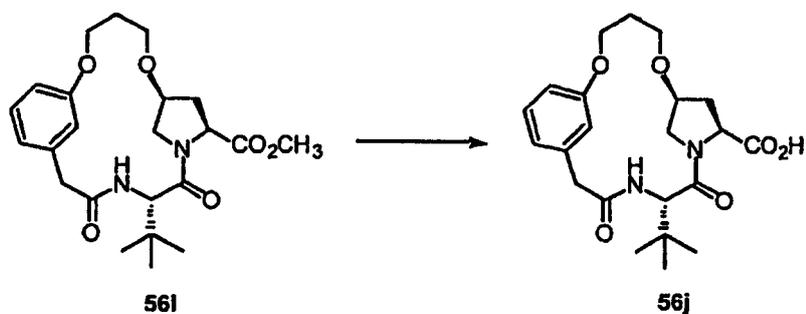
Etapa I



20

El producto 56i deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. La purificación del residuo bruto utilizando hexanos/acetona 75/25 proporcionó una mezcla del producto 56i junto con óxido de trifenilfosfina. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{23}H_{33}N_2O_6$: 433,2339 (M+H)⁺. Encontrado: 433,2343.

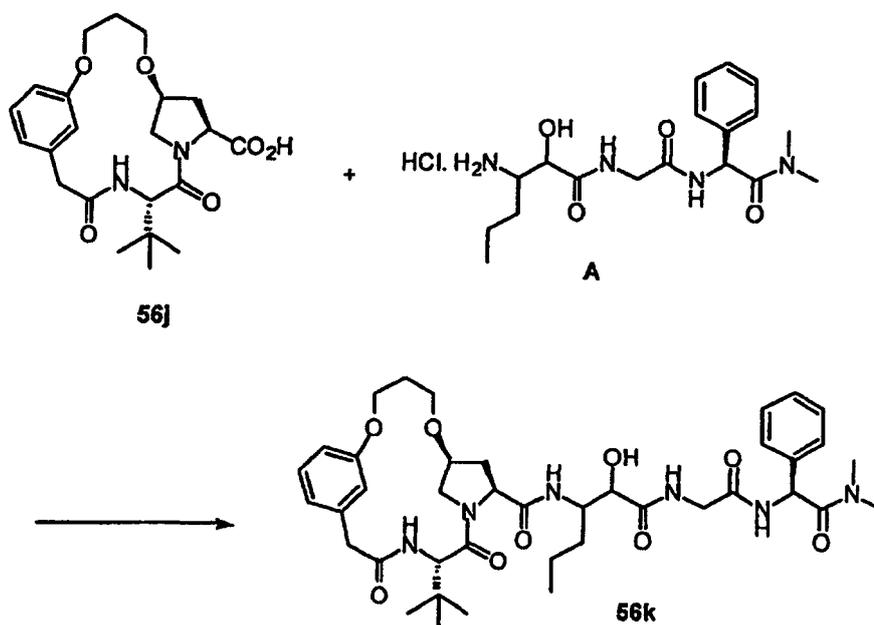
Etapa J



40

El producto 56j esperado se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 1, Etapa I. Rendimiento para dos etapas = 16%. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{22}H_{31}N_2O_6$: 419,2182 (M+H)⁺. Encontrado: 419,2176.

Etapa K



ES 2 317 900 T3

El producto 56k esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia tras la elaboración tuvo la suficiente pureza para ser llevada a la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{57}N_6O_9$: 765,4187 (M+H)⁺. Encontrado: 765,4198.

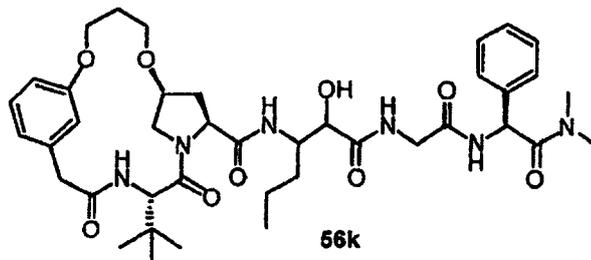
5

Etapa L

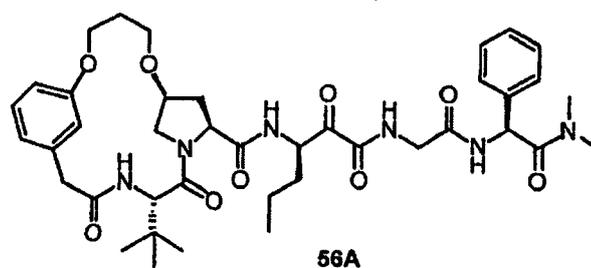
10

15

20



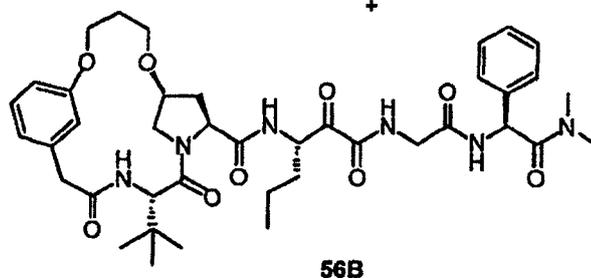
25



35

+

40



45

50

Los productos deseados 56A y 56B se obtuvieron mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K. La purificación mediante cromatografía en columna instantánea utilizando diclorometano/MeOH 98/2 a 96/4 proporcionó los isómeros separados 56A y 56B, y algo de mezcla. Rendimiento combinado = 35% (para 2 etapas). HRMS (FAB) Calcd. para $C_{40}H_{55}N_6O_9$: 763,4031 (M+H)⁺. Encontrado: 763,4025 (56A), 763,4040 (56B).

55

60

65

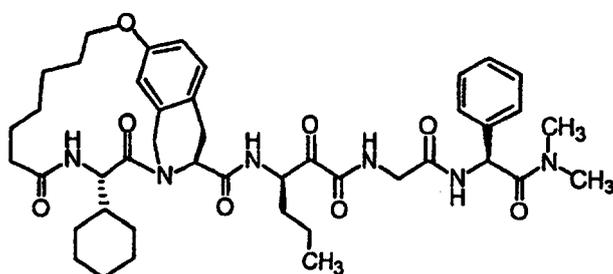
Ejemplo 57

Preparación de los Compuestos de Formulas 57A y 57B

5

10

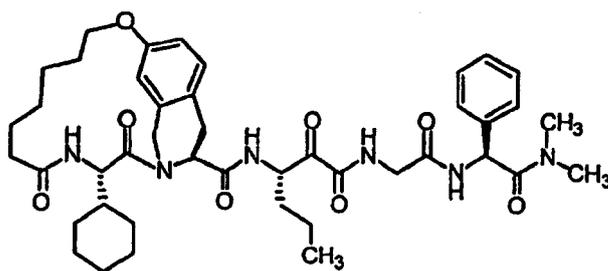
15



57A

20

25



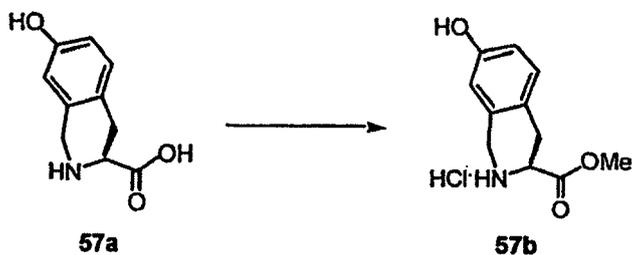
57B

30

Etapa A

35

40



57a

57b

45

50

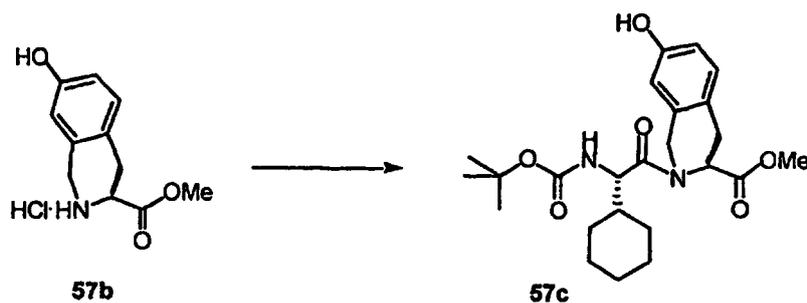
A la solución del dihidrato comercial de los aminoácidos ácido (3S)-7-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolino-3-carboxílico 57a (5,0 g, 21,8 mmoles) en metanol (180 mL) se le añadió ácido clorhídrico concentrado (5,0 mL, 60 mmoles). La solución transparente resultante se calentó después a reflujo en un baño de aceite durante 18h. Los disolventes se eliminaron a vacío para producir el éster metílico 57b en forma de un sólido de color blanco, que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Etapa B

55

60

65



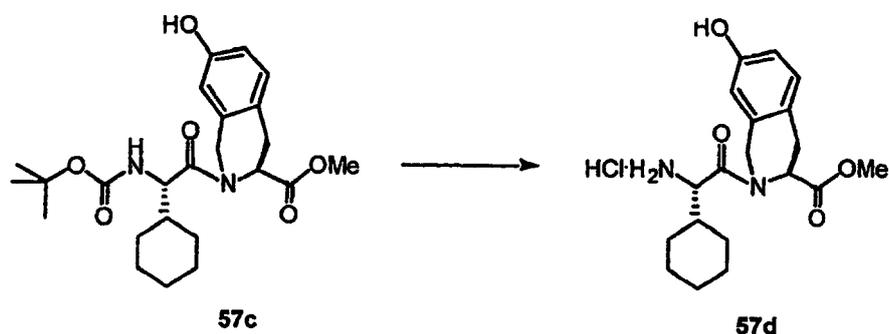
57b

57c

ES 2 317 900 T3

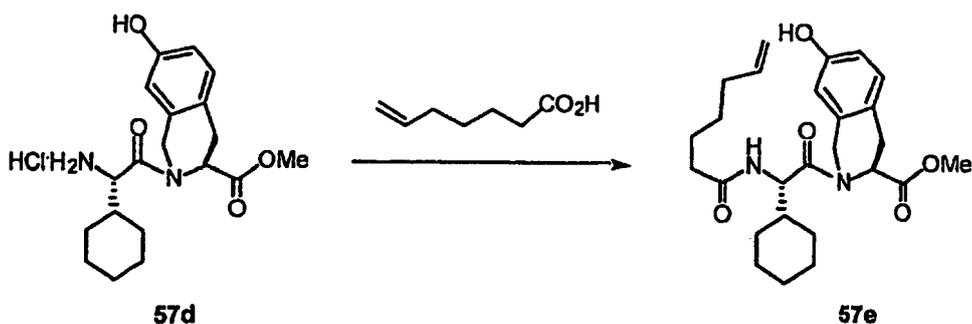
A una solución del hidrocloreuro de amina 57b, *N*-Boc-ciclohexilglicina (5,95 g, 21,8 mmoles), HOObt (3,73 g, 22,9 mmoles) y EDCI (5,00 g, 26,1 mmoles) en DMF anhidra (200 mL) y CH₂Cl₂ (200 mL) a -20°C se le añadió NMM (7,20 mL, 65,5 mmoles). Después de agitar a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante la noche (18 h), después de lo cual se añadieron EtOAc (600 mL), salmuera (150 mL) y H₃PO₄ al 5% (150 mL). La solución orgánica separada se lavó con H₃PO₄ al 5% (200 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 200 mL), agua (200 mL), y salmuera (200 mL), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar 57c (10,3 g, cuant. 2 etapas) en forma de un sólido de color blanco. RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9,32 (s, 1 H), 8,35- 8,32 (m, 1 H), 6,99 (d, *J*=8,3 Hz, 1 H), 6,65-6,54 (m, 1 H), 4,92 (d, *J*=15,5 Hz, 1 H), 4,50 (d, *J*=15,5 Hz, 1 H), 4,43-4,36 (m, 1 H), 4,29-4,19 (m, 1 H), 3,53 (s, 3 H), 3,02-2,81 (m, 2 H), 1,98-1,62 (m, 8 H), 1,42-1,11 (m, 14 H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 171,6, 171,2, 162,3, 156,0, 133,7, 128,8, 125,3, 114,1, 112,6, 78,0, 54,8, 52,4, 51,9, 45,0, 29,5, 28,1, 28,0, 25,9, 25,6, 25,5; HRMS *m/z* 447,2492 [calculado para C₂₄H₃₄N₂O₆, 447,2495].

Etapa C



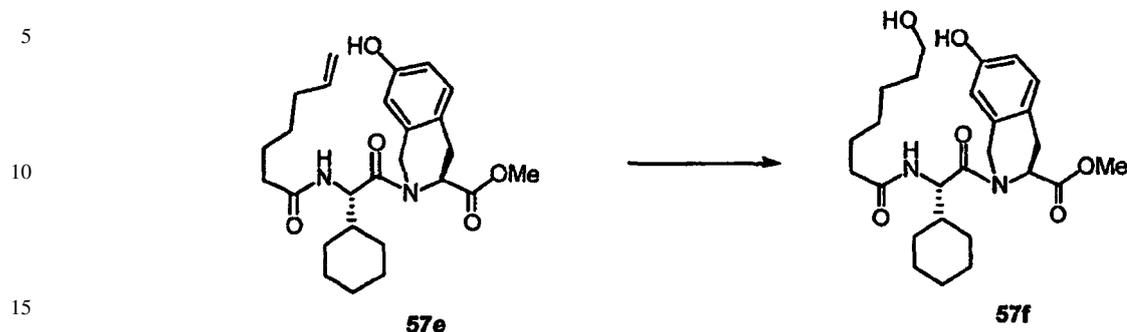
El éster Boc-aminomético 57c (7,20 g, 16,1 mmoles) se disolvió en HCl 4 N (100 mL, 400 mmoles) y la solución resultante se agitó a rt. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de 4 h, la solución se concentró a vacío y el residuo estuvo a vacío durante la noche para producir 57d en forma de un sólido de color blanco que se utilizó en la siguiente reacción de acoplamiento sin purificación adicional.

Etapa D



A una solución del hidrocloreuro de amina 57d (de la Etapa D), ácido 6-heptenoico (2,90 g, 22,6 mmoles), HOObt (3,70 g, 22,7 mmoles) y EDCI (4,80 g, 25,0 mmoles) en DMF anhidra (250 mL) y CH₂Cl₂ (150 mL) a -20°C se le añadió NMM (7,50 mL, 68,2 mmoles). Después de agitar a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante 2 días. Después se agitó al aire y se dejó templando a rt. en 1h. Se añadieron EtOAc (500 mL), salmuera (100 mL) y H₃PO₄ al 5% (100 mL). La solución orgánica separada se lavó con H₃PO₄ al 5% (100 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 150 mL), agua (150 mL), y salmuera (150 mL), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea (EtOAc-CH₂Cl₂ 5 a 30%) proporcionó 57e (2,30 g, 5,04 mmoles, 31% (2 etapas)) en forma de un sólido de color blanco. RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9,32 (s, 1 H), 8,06-8,01 (m, 1 H), 7,00-6,6,96 (m, 1 H), 6,63-6,54 (m, 2 H), 5,78-5,70 (m, 1 H), 5,04-4,89 (m, 4 H), 4,73-4,69 (m, 1 H), 4,53 (d, *J*=15,5 Hz, 1 H), 3,54 (s, 3 H), 3,01-2,91 (m, 2 H), 2,15-1,93 (m, 4 H), 1,76-0,97 (m, 15 H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,0, 171,5, 171,1, 156,0, 138,6, 134,0, 128,7, 122,5, 114,6, 114,1, 112,5, 52,9, 52,2, 51,9, 45,0, 34,5, 32,8, 32,7, 29,4, 28,7, 28,1, 27,7, 25,9, 25,5, 25,5, 24,8; HRMS *m/z* 457,1 [calculado para C₂₆H₃₆N₂O₅, 456,6].

Etapa E

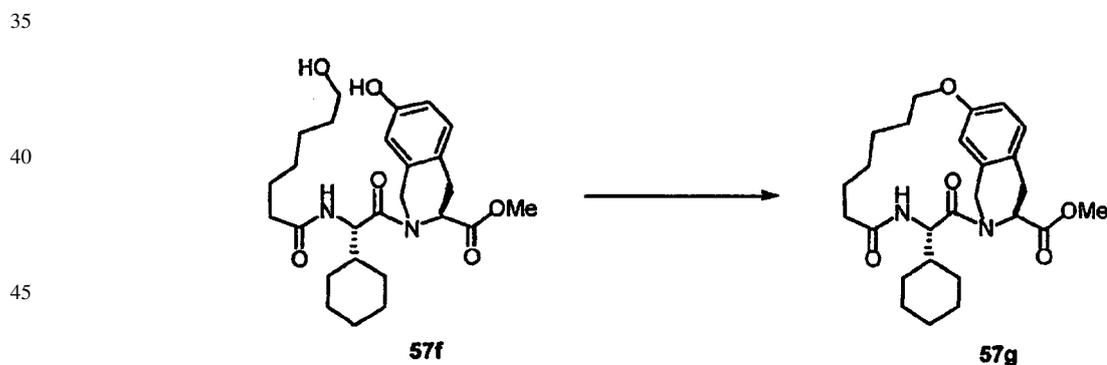


20 A la solución de 57e (2,20 g, 4,82 mmoles) en THF anhidro (100 mL) en nitrógeno a 0°C se le añadió una solución de borano-THF (20 mL, 1,0 M, 20 mmoles) cuidadosamente. La solución resultante se agitó a 0°C en hidrógeno durante 1 h 40 min. Después se añadieron etanol (10 mL) y tampón de pH 7 (15 mL), seguido de una solución de H₂O₂ al 30% (15 mL). Después de agitar a 0°C durante 20 min, ésta se templó a rt. y se agitó durante 2 h. Se añadieron EtOAc (400 mL) y salmuera (200 mL) y las capas se separaron. La solución acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 150 mL). La solución orgánica combinada se secó con sulfato de magnesio, se filtró, se concentró a vacío. La

25 cromatografía instantánea (MeOH-CH₂Cl₂ 3 a 5%) proporcionó 57f (2,18 g, 4,47 mmoles, 93%) en forma de un sólido de color blanco. RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9,32 (s, 1H), 8,04-8,00 (m, 1H), 6,99-6,96 (m, 1H), 6,63-6,51 (m, 2 H), 5,05-5,00 (m, 1H), 4,73-4,21 (m, 3H), 4,51 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 3,54 (s, 3 H), 3,03-2,90 (m, 2H), 2,15-2,00 (m, 2H), 1,75-1,56 (m, 6 H), 1,49-0,97 (m, 13H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,2, 171,6, 171,2, 156,0, 134,1, 128,7, 122,6, 114,2, 112,5, 60,7, 52,9, 52,3, 51,9, 45,1, 34,8, 32,4, 29,5, 28,7, 28,53, 28,47, 28,10, 25,9, 25,6, 25,5, 25,4, 25,2; HRMS *m/z* 475,2812 [calculado para C₂₆H₃₈N₂O₆, 475,2808].

30

Etapa F

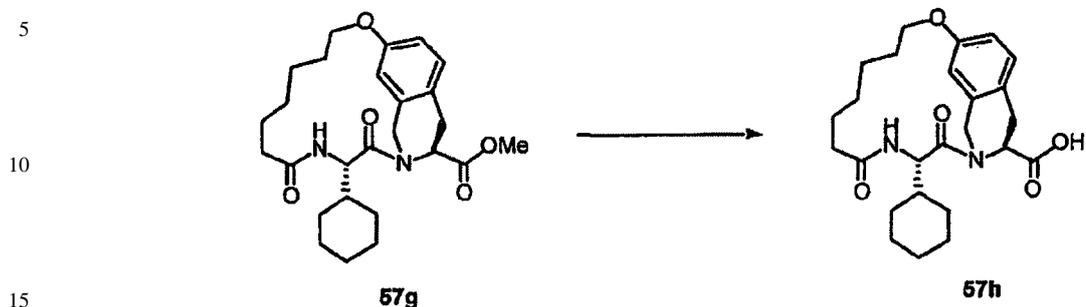


50 Una solución del alcohol fenólico 57f (2,08 g, 4,38 mmoles) y ADDP (3,00 g, 11,9 mmoles) en CH₂Cl₂ anhidro se hizo burbujear con Argón a través de un burbujeador de vidrio fritado durante 20 min. A esta solución a 0°C se le añadió trifetilfosfina (3,45 g, 13,2 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 20 min, la solución se templó a rt. y se agitó durante la noche (18 h) en nitrógeno. La TLC indicó la presencia de una cantidad sustancial de la sustancia de partida. Se añadieron un segundo lote de ADDP (3,00 g, 11,9 mmoles) y trifetilfosfina (3,45 g, 13,2 mmoles), y la mezcla se agitó en nitrógeno durante 2 días y 16 h. La TLC mostró el consumo completo de la sustancia de partida. Después de la eliminación del disolvente a vacío, el residuo se purificó parcialmente mediante cromatografía instantánea (MeOH de 1 a 2% en CH₂Cl₂) para proporcionar una mezcla del macrociclo 57g y óxido de trifetilfosfina. El macrocíclico 57g se hidrolizó al ácido correspondiente sin purificación adicional. RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8,00 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,82-6,76 (m, 2H), 5,14 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 4,79-4,74 (m, 1H), 4,39 (dd, J = 11,5, 6,4 Hz, 1H), 4,25 (d, J = 14,7 Hz, 1H), 4,22-4,18 (m, 1H), 4,08-4,02 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,18 (dd, J = 15,1, 6,4 Hz, 1H), 2,85 (dd, J = 14,7, 11,5 Hz, 1H), 2,07-2,04 (m, 2H), 1,81-1,40 (m, 10H), 1,32-0,85 (m, 9H); RMN C¹³ (100 MHz, d₆-DMSO) δ 171,9, 171,5, 170,2, 157,1, 137,0, 131,5, 126,4, 115,9, 112,6, 66,5, 54,4, 52,2, 51,9, 46,8, 44,9, 44,4, 33,6, 29,4, 29,1, 28,0, 27,3, 27,0, 26,0, 25,3, 25,2, 24,3, 24,2, 23,9; HRMS *m/z* 457,2707 [calculado para C₂₆H₃₆N₂O₅, 457,2702].

60

65

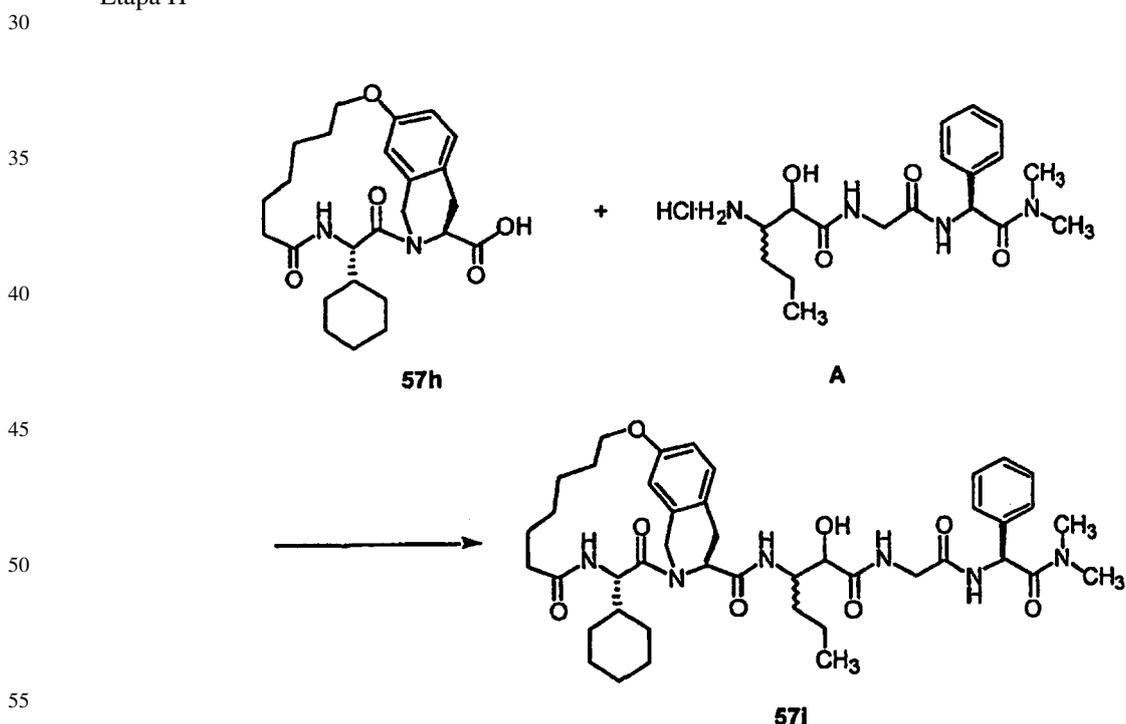
Etapa G



20 Una solución acuosa de hidróxido de litio (0,21 g, 30 mL H₂O, 8,75 mmoles) se añadió a una solución a 0°C del éster metílico 57g (de la etapa 1 F) en THF (30 mL) y metanol (30 mL). La mezcla se agitó en un baño de hielo y se templó a rt. junto con él durante 4 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Después de eliminar las sustancias volátiles a vacío a vacío, se añadieron EtOAc (100 mL) y agua (30 mL) y se separaron las dos capas. La solución acuosa se extrajo de nuevo con CH₂Cl₂ (100 mL), después de lo cual se aciduló a pH = 1. Después se añadió EtOAc (150 mL) y la solución acuosa se saturó con cloruro de sodio sólido. Después de separación de las capas, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 100 mL). Las soluciones orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 57h (1,23 g, 2,78 mmoles, 63% (2 etapas)) en forma de un sólido de color blanco.

25

Etapa H

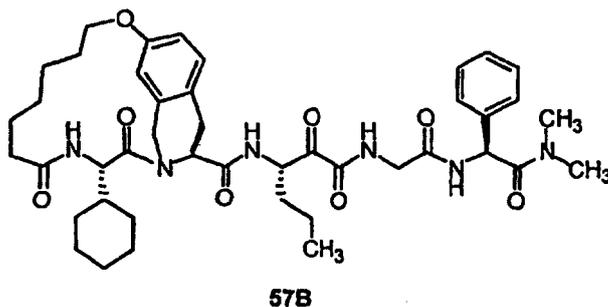
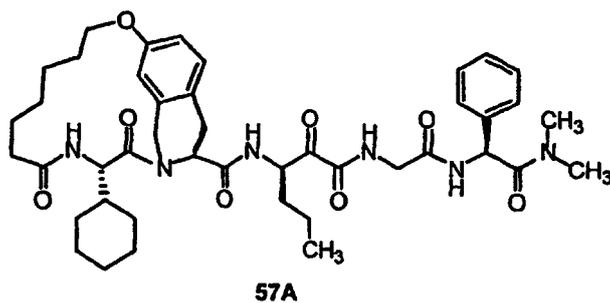
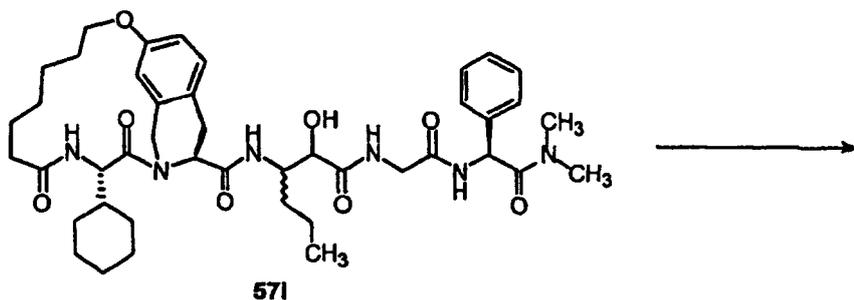


60 A una solución de ácido 57h (0,390 g, 0,881 mmoles), amina A (0,360 g, 0,898 mmoles), HOObt (160 mg, 0,981 mmoles) y EDCI (210 mg, 1,10 mmoles) en DMF anhidra (50 mL) y CH₂Cl₂ (30 mL) a -20°C se le añadió NMM (0,40 mL, 3,64 mmoles). Después de agitar a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un congelador durante 66 h. Después se añadieron EtOAc (200 mL), salmuera (50 mL) y H₃PO₄ al 5% (50 mL). La solución orgánica separada se lavó, sucesivamente, con H₃PO₄ al 5% (80 mL), una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (2 X 80 mL), agua (80 mL), y salmuera (80 mL), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea (MeOH-CH₂Cl₂ 2 a 5%) proporcionó 57i en forma de una mezcla de cuatro diastereómeros (0,340 g, 0,431 mmoles, 49%) en forma de un sólido de color blanco. RMN H¹ (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8,56-8,46 (m, 1H), 7,96-7,82 (m, 2H), 7,40-7,25 (m, 6H), 7,15-6,99 (m, 2 H), 6,81-6,74 (m, 2H), 6,05-

65

5,71 (m, 2H), 5,11-5,02 (m, 1H), 4,85-4,68 (m, 1 H), 4,40-3,70 (m, 8H), 3,14-3,02 (m, 1H), 2,95-2,73 (m, 7H), 2,06-2,05 (m, 2 H), 1,81-1,39 (m, 10 H), 1,30-1,05 (m, 11 H), 0,89-0,75 (m, 5H); RMN C^{13} (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,24, 172,21, 171,87, 171,81, 171,78, 171,7, 170,8, 170,77, 170,74, 170,5, 170,4, 170,0, 169,97, 169,24, 169,22, 169,1, 169,0, 168,0, 167,9, 167,82, 167,78, 157,2, 156,9, 137,61, 137,57, 137,54, 137,47, 137,43, 137,38, 133,2, 132,2, 128,9, 128,44, 128,41, 128,37, 128,0, 127,96, 127,6, 127,4, 127,3, 127,19, 127,16, 115,7, 115,6, 115,5, 112,8, 112,77, 112,7, 112,6, 73,6, 73,39, 73,37, 72,4, 71,7, 66,9, 66,7, 55,8, 55,6, 55,09, 55,07, 53,02, 52,95, 52,9, 52,6, 51,0, 50,96, 50,91, 50,86, 50,76, 45,6, 45,5, 45,44, 45,36, 41,7, 41,6, 41,5, 41,4, 36,6, 36,55, 36,49, 35,3, 33,7, 33,6, 33,5, 33,0, 32,4, 30,7, 30,3, 30,1, 30,0, 29,8, 29,48, 29,45, 29,41, 28,3, 28,2, 28,1, 27,3, 27,2, 27,13, 27,09, 27,0, 26,9, 26,85, 26,82, 26,1, 25,4, 25,2, 24,1, 24,08, 24,03, 24,0, 23,9, 23,8, 18,8, 18,7, 18,6, 18,4, 13,9, 13,8, 13,7; HRMS m/z 789,4560 [calculado para $C_{43}H_{60}N_6O_8$, 789,4551, error = 1 ppm].

Etapa I



55 A la mezcla de hidroxiamida 57i (0,320 g, 0,406 mmoles) y reactivo Dess-Martin (0,400 g, 0,943 mmoles) a 0°C se le añadió CH_2Cl_2 anhidro (80 mL). La suspensión resultante de color blanco se agitó vigorosamente a 0°C y se templó a rt. junto con el baño de hielo durante 4 h. Se añadieron soluciones acuosas saturadas de bicarbonato de sodio y bisulfito de sodio (30 mL de cada una) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 10 min después de separar las capas. La solución acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 X 80 mL). La solución orgánica combinada se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío.

60 La cromatografía instantánea ($\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2 a 5%) proporcionó dos estereoisómeros 57A (109 mg, 0,139 mmoles) y 57B (102 mg, 0,130 mmoles, rendimiento combinado 66%) en forma de sólidos de color blanco.

65

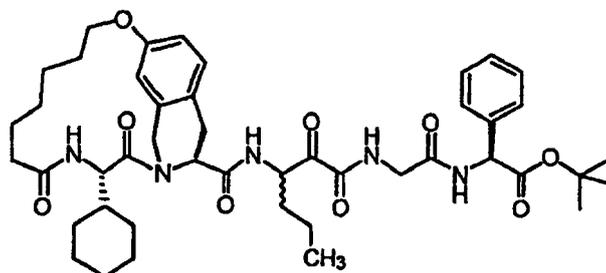
Ejemplo 58

Preparación del Compuesto de Fórmula 58

5

10

15

**58**

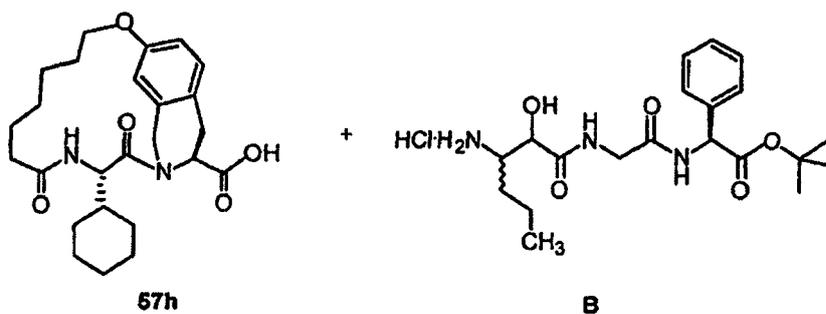
20

Etapa A

25

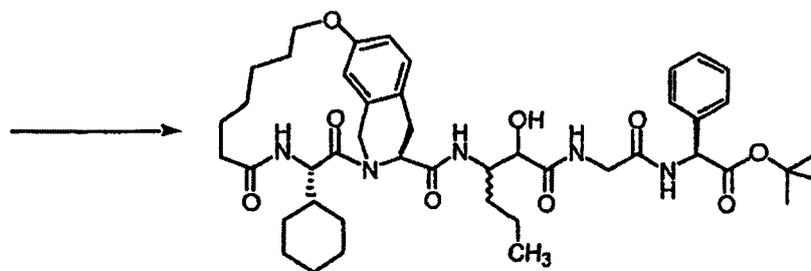
30

35

**57h****B**

40

45

**58a**

50

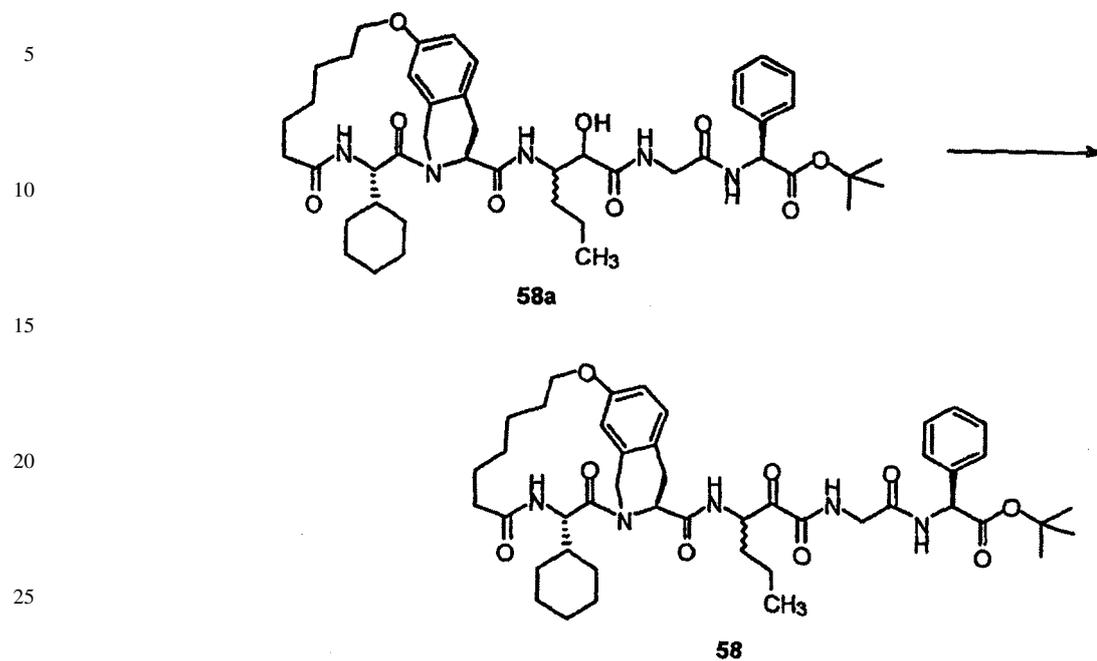
El compuesto deseado 58a se preparó de acuerdo con el método del Ejemplo 1, Etapa J, excepto porque se sustituyó el hidrocloreto de amina B por A. La hidroxiamida 58a se obtuvo en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 53%.

55

60

65

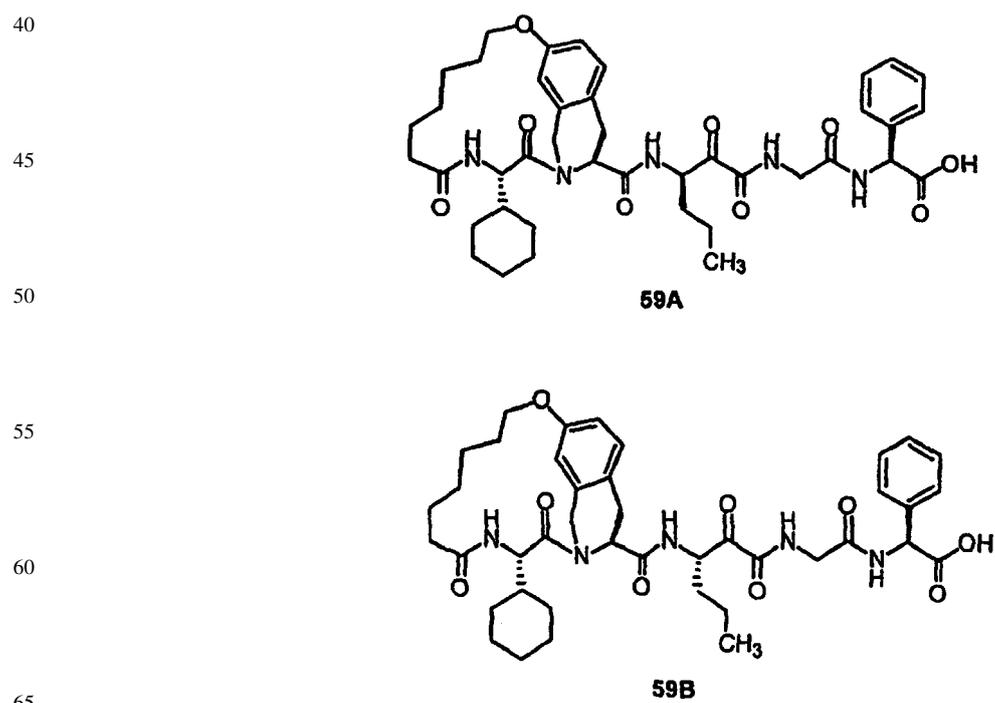
Etapa B



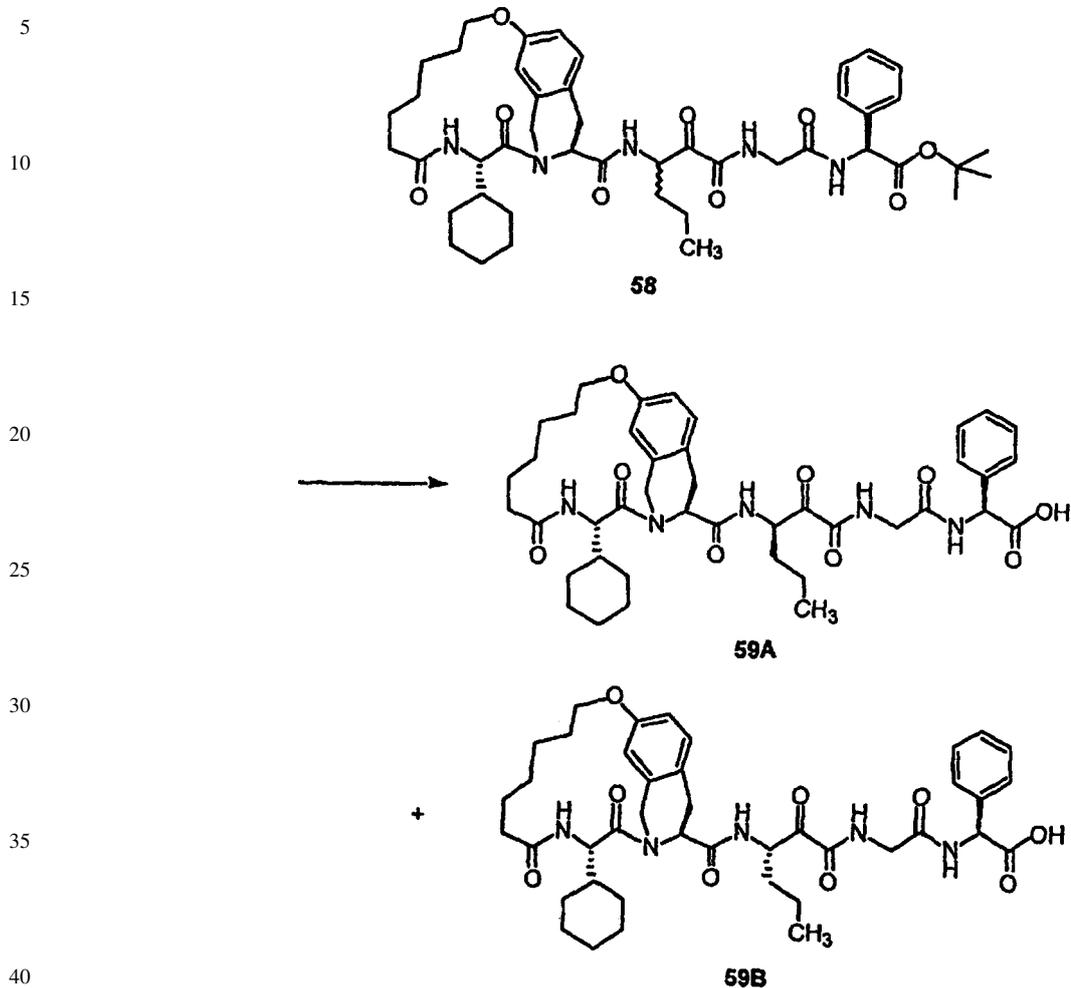
30 El compuesto deseado 58 se preparó a partir de la hidroxiamida 58a de acuerdo con el método del Ejemplo 2, Etapa B. Éste se obtuvo en forma de una mezcla de diastereómeros inseparables en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 88%.

35 Ejemplo 59

Preparación de los Compuestos de Formulas 59A y 59B



Etapa A



Una solución del éster *tert*-Butílico 58 (18 mg, 0,022 mmoles) en ácido trifluoroacético (2 mL) y CH_2Cl_2 (2 mL) se agitó a rt. durante 3 h. Después de eliminar las sustancias volátiles a vacío, el residuo se disolvió en $\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ al 50% (3 mL), y se concentró hasta sequedad a vacío para proporcionar un sólido de color blanquecino. La cromatografía instantánea (MeOH 8-15%, AcOH en CH_2Cl_2 0,3-0,5%) proporcionó dos estereoisómeros 59A (6,5 mg, 0,0086 mmoles) y 59B (6,1 mg, 0,008 mmoles, rendimiento combinado 75%) en forma de sólidos de color blanco. Datos analíticos para 59A: RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,75-8,72 (m, 1 H), 8,60-8,57 (m, 1 H), 8,10-8,08 (m, 1 H), 7,91-7,88 (m, 1 H), 7,38-7,27 (m, 5 H), 7,12 (d, $J = 8,14$ Hz, 1H), 6,81-6,73 (m, 2H), 5,24-5,22 (m, 1H), 5,06-5,01 (m, 1H), 4,77-4,73 (m, 1H), 4,39 - 4,17 (m, 3 H), 4,07-4,01 (m, 1H), 3,92-3,79 (m, 3H), 3,15-3,05 (m, 1H), 2,78-2,72 (m, 1H), 2,08-2,05 (m, 1H), 1,78-1,45 (m, 13H), 1,41-1,22 (m, 4 H), 1,18-1,03 (m, 4 H), 0,93-0,81 (m, 5 H); RMN ^{13}C (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 196,6, 171,8, 171,5, 171,9, 170,3, 167,2, 161,0, 157,1, 137,4, 128,4, 128,1, 127,7, 127,5, 127,4, 126,9, 115,6, 112,6, 66,8, 56,6, 55,1, 53,4, 52,7, 52,6, 45,4, 41,6, 33,5, 31,7, 30,0, 29,6, 28,2, 27,2, 27,1, 26,1, 25,42, 25,36, 24,0, 23,8, 18,7, 13,5; HRMS m/z 760,3915 [calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$, 760,3922]. Datos analíticos para 59B: RMN ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,76-8,73 (m, 1H), 8,55 (dd, $J = 6,9, 3,2$ Hz, 1H), 8,24 (d, $J = 7,11$ Hz, 1H), 7,93-7,88 (m, 1H), 7,37-7,25 (m, 1H), 7,15-7,11 (m, 1H), 6,82-6,74 (m, 2H), 5,23-5,20 (m, 1H), 5,09-5,01 (m, 1H), 4,75-4,71 (m, 1H), 4,38-4,29 (m, 1H), 4,24-4,17 (m, 2 H), 4,07-4,02 (m, 1H), 3,92-3,78 (m, 2H), 3,13-3,08 (m, 1H), 2,78-2,70 (m, 1 H), 2,08-2,05 (m, 2H), 1,75-1,13 (m, 21H), 0,89-0,85 (m, 5H); RMN ^{13}C (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 196,7, 171,6, 171,2, 169,9, 167,1, 160,8, 157,0, 137,5, 128,3, 128,2, 128,0, 127,97, 127,9, 127,4, 127,3, 127,1, 115,7, 115,6, 112,7, 112,6, 66,7, 56,8, 54,8, 53,3, 45,5, 41,6, 33,6, 31,8, 29,5, 28,1, 27,3, 27,0, 26,1, 25,4, 24,2, 23,9, 18,6, 13,5; HRMS m/z 760,3915 [calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$, 760,3922].

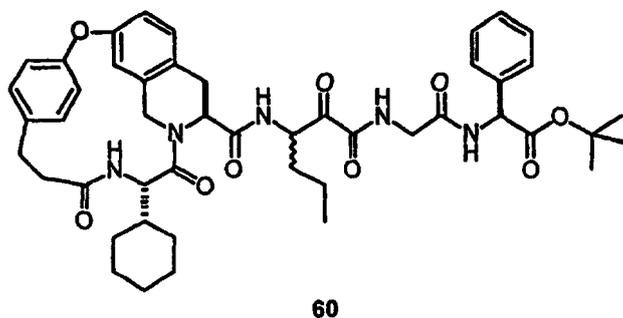
Ejemplo 60

Preparación del Compuesto 60

5

10

15



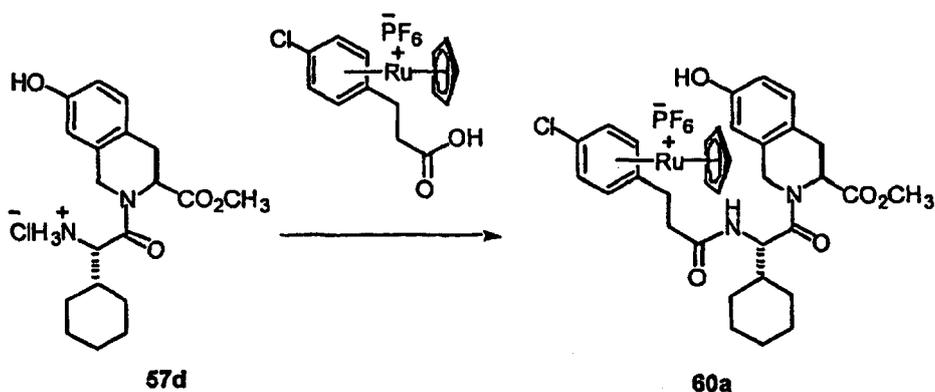
20

Etapa A

25

30

35



40

45

Una solución de $[\text{CpRu}(\eta^6\text{-ácido 4-clorofenilpropiónico})\text{PF}_6$ (4,14 g, 8,36 mmoles) en DMF seca (20 mL) se trató con HOBt (1,69 g, 12,54 mmoles, 1,5 equiv.) y base de Hünig (6,47 g, 9,20 mL, 50,16 mmoles, 6,0 equiv.) La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se trató con EDCI (2,39 g, 12,54 mmoles, 1,5 equiv.) La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 min y se añadió la sal de Tic-amonio 57d (2,90 g, 7,6 mmoles, 1,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 12h y la DMF se separó mediante destilación a vacío. El residuo se diluyó con HCl acuoso (1M, 100 mL) y se extrajo en CH_2Cl_2 (3x100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO_3 acuoso (1x100 mL), salmuera (100 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron, se concentraron a vacío para producir un sólido de color pardo 60a (5,2 g, 83%) que se utilizó para la ciclación. MS: (Electropulverización): 647 $[(\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{PF}_6)^+$, 100]. HRMS calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{Ru}$ $[(\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{PF}_6)^+$ 647,1256; Encontrado: 647,1241.

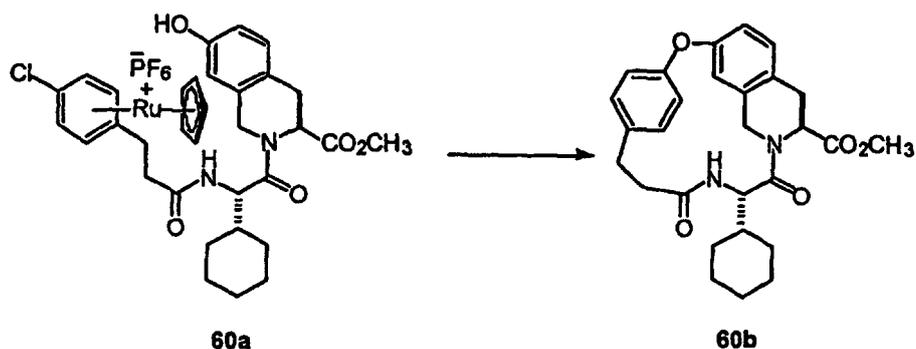
50

Etapa B

55

60

65

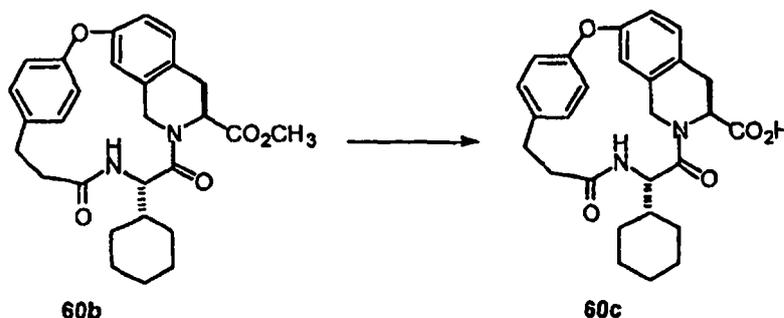


ES 2 317 900 T3

Una solución de complejo de Rutenio 60a (5,0 g, 6,01 mmoles) en DMF seca (300 mL) se desgasificó con N₂ seco a rt. y se añadió Cs₂CO₃ (10,0 g, 30 mmoles, 5,0 equiv.) y se agitó a rt. durante 24 h. La DMF disolvente se separó mediante destilación y el residuo se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x100 mL) y propionitrilo (3x100 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron, con salmuera (100 mL), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, se concentraron a vacío y se secaron a vacío durante la noche para producir un sólido de color pardo (5,1 g). Éste se utilizó para la eliminación fotolítica de Ru sin purificación adicional. MS: (Electropulverización): 643 [(M-PF₆)⁺, 100].

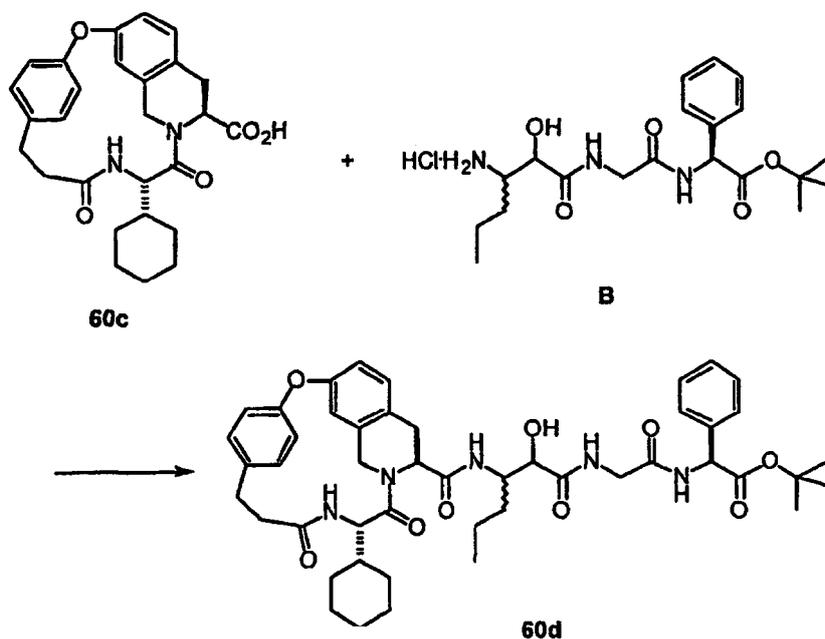
El compuesto ciclado de la etapa previa se disolvió en CH₃CN (50 mL) y se filtró en un tubo de cuarzo. La solución se desgasificó y fotolizó en un aparato Raynot ($\lambda=350$ nm) durante 48 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (SiO₂, EtOAc/Hexanos 3:2) para producir un sólido de color tostado 60b (289 mg, 20%). R_f: 0,73 (acetona/hexanos 3:7) RMN H¹ (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,18 (d, 2 H, J=8,1 Hz), 7,20-7,09 (m, 2 H), 6,92 (d, 2 H, J=7,8 Hz), 6,86 (dd, 1 H, J=2,1, 7,2 Hz), 6,76 (s, 1H), 5,41 (d, 1 H, J=17,4 Hz), 4,23-4,18 (m, 2 H), 4,00 (s ancho, 1H), 3,68 (s, 3 H), 3,41 (dd, 1H J=12, 3,9 Hz), 3,01-2,86 (m, 1H), 1,9-1,62 (m, 4H), 1,52 (d ancho, 1H, J=9,3 Hz), 1,36-1,07 (m, 5H); RMN C¹³ (CDCl₃, 100 MHz, δ) 173,2, 167,2, 163,8, 156,5, 155,1, 135,8, 132,7, 130,2, 129,6, 126,2, 119,1, 117,5, 115,8, 60,2, 55,5, 51,6, 44,2, 42,0, 35,7, 30,2, 29,3, 26,5, 26,2, 25,8, 25,7 MS: (Electropulverización): 477 [(M+1)⁺, 100], 315 (20); HRMS calculado para C₂₈H₃₃N₂O₅ (M+1)⁺: 477,2389; Encontrado 477,2375; CHN Calcd. para C₂₈H₃₂N₂O₅ 0,5H₂O: C 69,26% H 6,85% N 5,77%; Encontrado: C 69,62% H 6,59% N 5,77%.

Etapa C



Una solución del éster metílico 60b (235 mg, 0,5 mmoles) de Tic-macrociclo en dioxano(10,0 mL), H₂O (10,0 mL), CH₃OH (50,0 mL) se trató con LiOH·H₂O (41 mg, 1,0 mmoles, 2,0 equiv.) y se agitó a rt. durante 3 h. La mezcla de reacción se aciduló y (HCl 4M en Dioxano). La mezcla de reacción se concentró a vacío y el agua restante se congeló y liofilizó para obtener un sólido incoloro 60c utilizado para el acoplamiento.

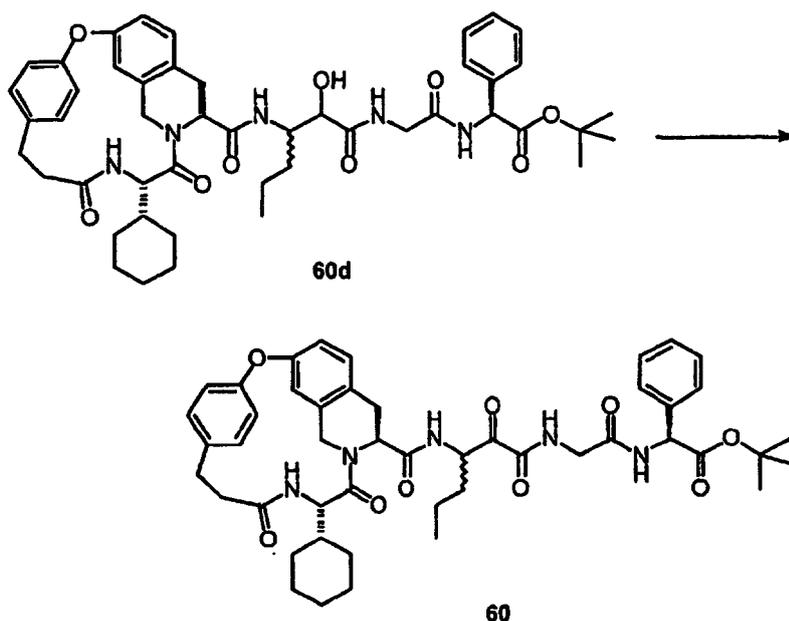
Etapa D



ES 2 317 900 T3

Una solución del ácido hidrolizado 60c (0,5 mmoles) en DMF seca (5,0 mL) y CH₂Cl₂ (5,0 mL) se trató con HOOBt (132 mg, 0,75 mmoles, 1,5 equiv.), y se enfrió a 0°C y se añadió base de Hünig (258 mg, 2,0 mmoles, 4,0 equiv., 369 μL). A esta mezcla se le añadieron EDCI (143 mg, 0,75 mmoles, 1,5 equiv.) y el hidrocloreuro de amina B (214 mg, 0,5 mmoles, 1,0 equiv.) sucesivamente. La mezcla de reacción se almacenó en el congelador durante 48 h y se concentró a vacío para eliminar el DMF y CH₂Cl₂. El residuo se diluyó con HCl acuoso (2M, 50 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x30 mL). La capa orgánica combinada se extrajo con HCl acuoso (1 M, 2x50 mL), NaOH acuoso (2 M 2x30 mL), salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a vacío. El residuo 60d (172 mg) se oxidó sin purificación adicional; MS: (Electropulverización): 838 [(M+1)⁺, 50], 490 (100); HRMS calculado para C₄₇H₆₀N₅O₉ (M+1)⁺: 838,4391; Encontrado: 838,4398.

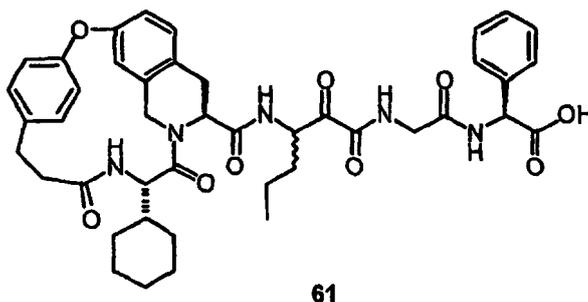
Etapa E



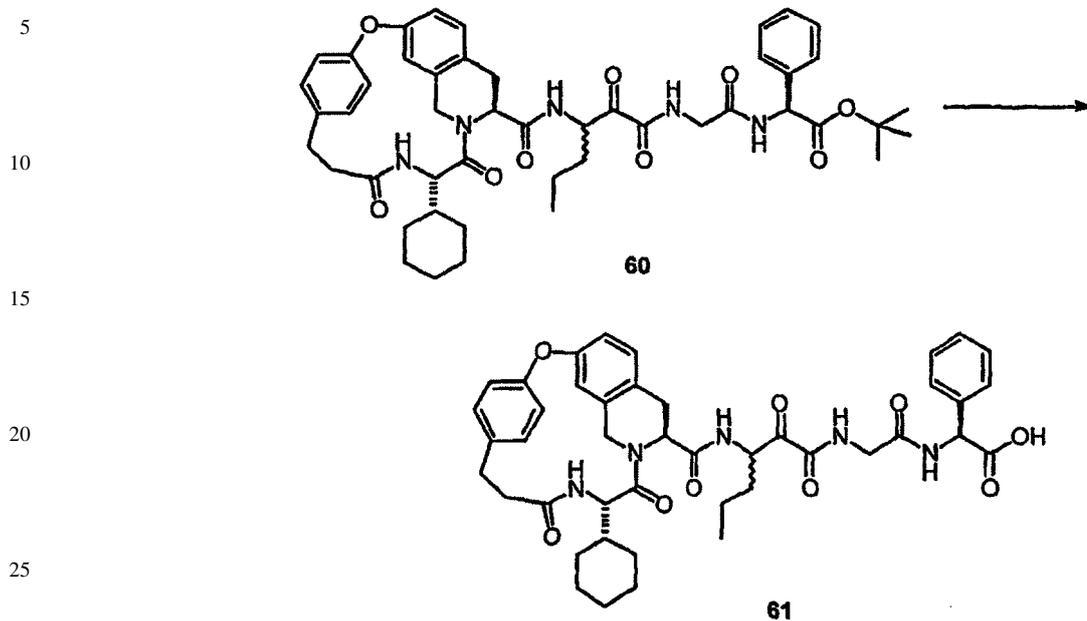
Una solución del alcohol 60d (171 mg, 0,20 mmoles) en CH₂Cl₂ (6,0 mL) se trató con reactivo Dess-Martin (175 mg, 0,41 mmoles, 2,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 4 h y se diluyó con NaHCO₃ acuoso y Na₂S₂O₃ acuoso. La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 20 min y la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3x30 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con Na₂CO₃ acuoso, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, se concentraron a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (SiO₂, CH₃OH (2M NH₃)/CH₂Cl₂ 1:20) para producir la cetoamida 60 (56 mg, 32%) en forma de un sólido incoloro. R_f: 0,35 (CH₃OH (2M NH₃)/CH₂Cl₂ 1:18) MS: (Electropulverización, *m/z* intensidad relativa): 836 [(M+1)⁺, 90], 490 (100). HRMS calculado para C₄₇H₅₈N₅O₉ (M+1)⁺ 836,4235; Encontrado: 836,4269.

Ejemplo 61

Preparación del Compuesto 61



Etapa A

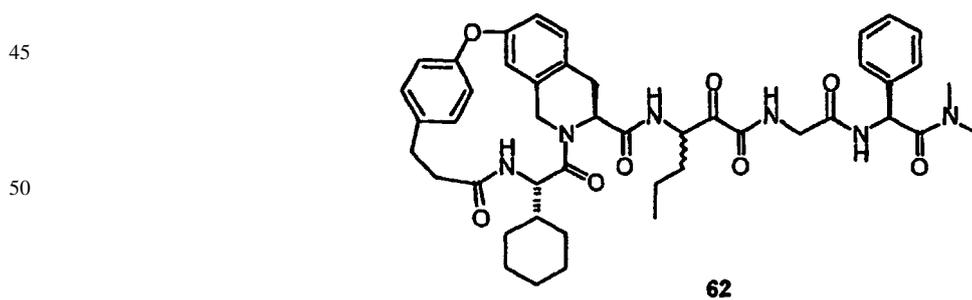


30 Una solución del éster *tert*-butílico 60 (50 mg, 0,059 mmoles) en CH_2Cl_2 seco (10,0 mL) se trató con TFA (10,0 mL) y se agitó a rt. durante 4 h. La desaparición del éster respecto de la línea base estuvo seguida de TLC ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 1:19). La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se disolvió repetidamente en heptanos/ CH_2Cl_2 y se concentró a vacío varias veces para producir un sólido incoloro fino 61 (51 mg) que se secó a vacío.; MS (FAB) 780 [(M+1)⁺, 85], 516 (20), 417 (20), 403 (100), 321 (20), 248 (40), 236 (40); HRMS calculado para $\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_9$ (M+1)⁺: 780,3609; encontrado 780,3618.

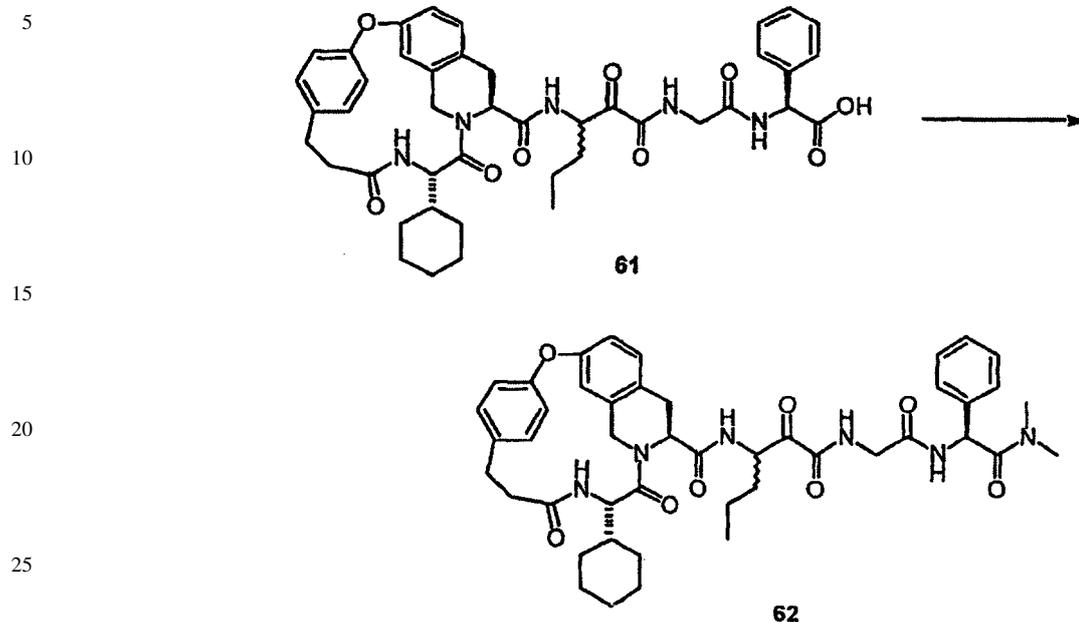
35

Ejemplo 62

40 *Preparación del Compuesto 62*



Etapa A

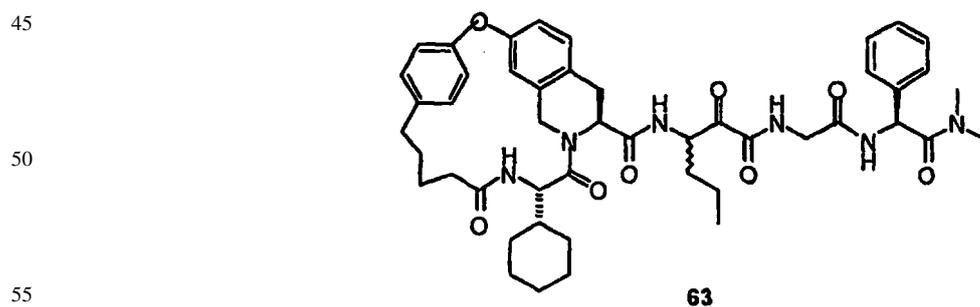


30 Una solución del ácido 61 (30 mg, 0,038 mmoles), hidrocloreto de dimetilamina (6,2 mg, 0,076 mmoles, 2,0 equiv.) en CH_2Cl_2 (1,0 mL) se trató con base de Hünig (9,1 mg, 0,076 mmoles, 2,0 equiv., 15 μL), PyBrOP (35 mg, 0,076 mmoles, 2,0 equiv.) y se agitó a rt. durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía (SiO_2 , acetona/Hexanos 1:1) para producir la dimetilamida 62 (14 mg, 46%) en forma de un sólido incoloro; R_f (0,31 acetona/Hexanos 1:1). MS (FAB) 807 $[(M+1)^+$, 100], 805 (60), 794 (60), 747 (40), 629 (40), 589 (62).

35

Ejemplo 63

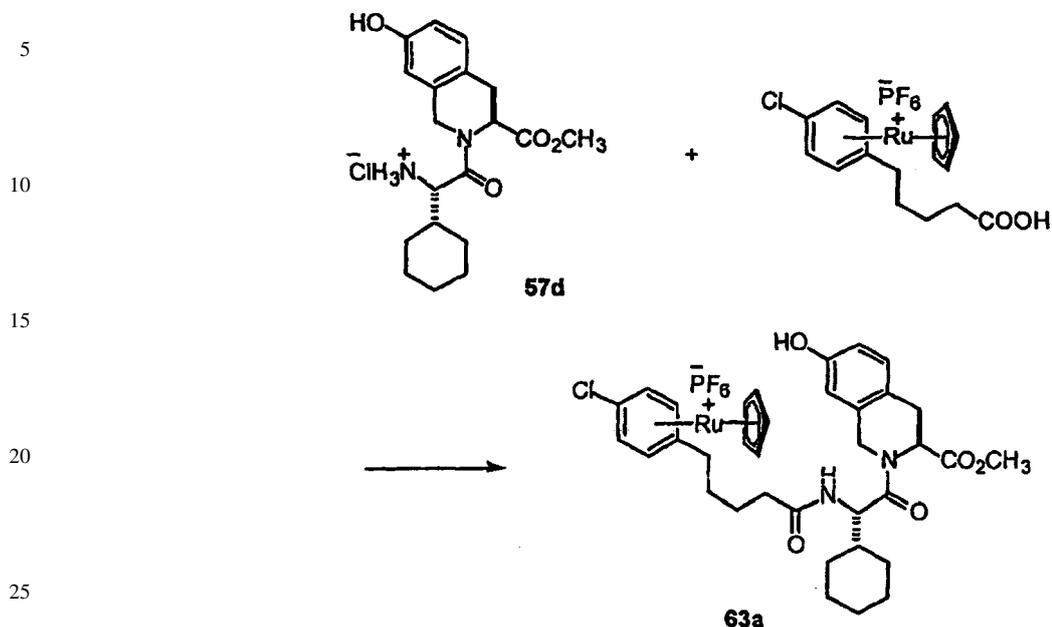
40 *Preparación del Compuesto 63*



60

65

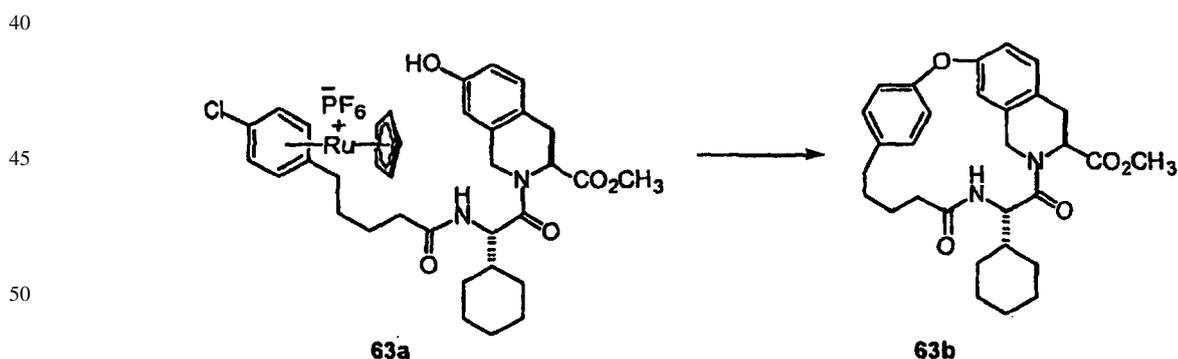
Etapa A



30 Una solución de [CpRu(η^6 -ácido 4-clorofenilpentanoico)]PF₆ (2,2 g, 4,0 mmoles) en DMF seca (10 mL) se trató con HOBt (810 mg 5,99 mmoles, 1,5 equiv.) y base de Hünig (2,58 g, 3,6 mL, 19,9 mmoles, 5,0 equiv.) La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se trató con EDCI (1,14 g, 6,0 mmoles, 1,5 equiv.) La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 min. y se añadió la sal de Tic-amonio 57d (1,60 g, 4,0 mmoles, 1,0 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 12 y la DMF se separó mediante destilación a vacío. El residuo se diluyó con HCl acuoso (1M, 100 mL) y se extrajo en CH₂Cl₂ (3x100 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaHCO₃ acuoso (1x40 mL), salmuera (100 mL), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, se concentraron a vacío para producir un sólido de color pardo 63a (2,41 g, 75%) que se utilizó para la ciclación.

35

Etapa B

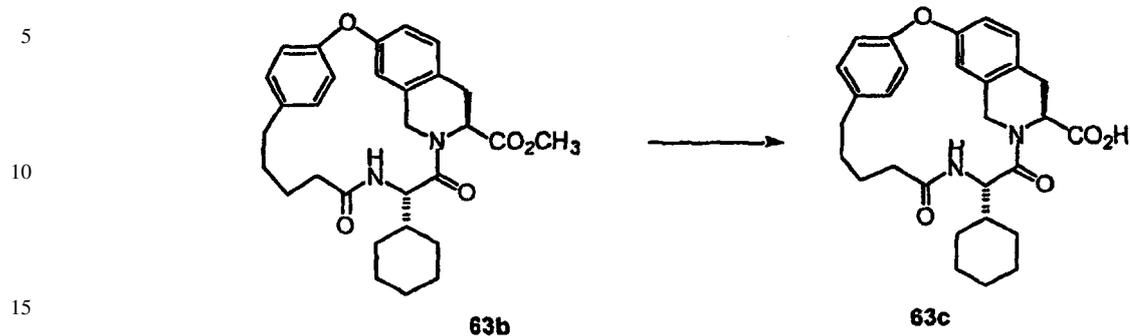


55 Una solución de complejo de Rutenio 63a (2,40 g, 2,8 mmoles) en DMF seca (250 mL) se desgasificó con N₂ seco a rt. y se añadió Cs₂CO₃ (4,6 g, 14,0 mmoles, 5,0 equiv.) y se agitó a rt. durante 14 h. La DMF disolvente se separó mediante destilación y el residuo se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x100 mL). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron, con HCl acuoso (1M, 100 mL), NaHCO₃ (100 mL), salmuera (100 mL), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, se concentraron a vacío y se secaron a vacío durante la noche para producir un sólido de color pardo (1,9 g, 79%). Éste se utilizó para la eliminación fotolítica de Ru sin purificación adicional. MS: (Electropulverización): 671 [(M-PF₆)⁺, 40].

60

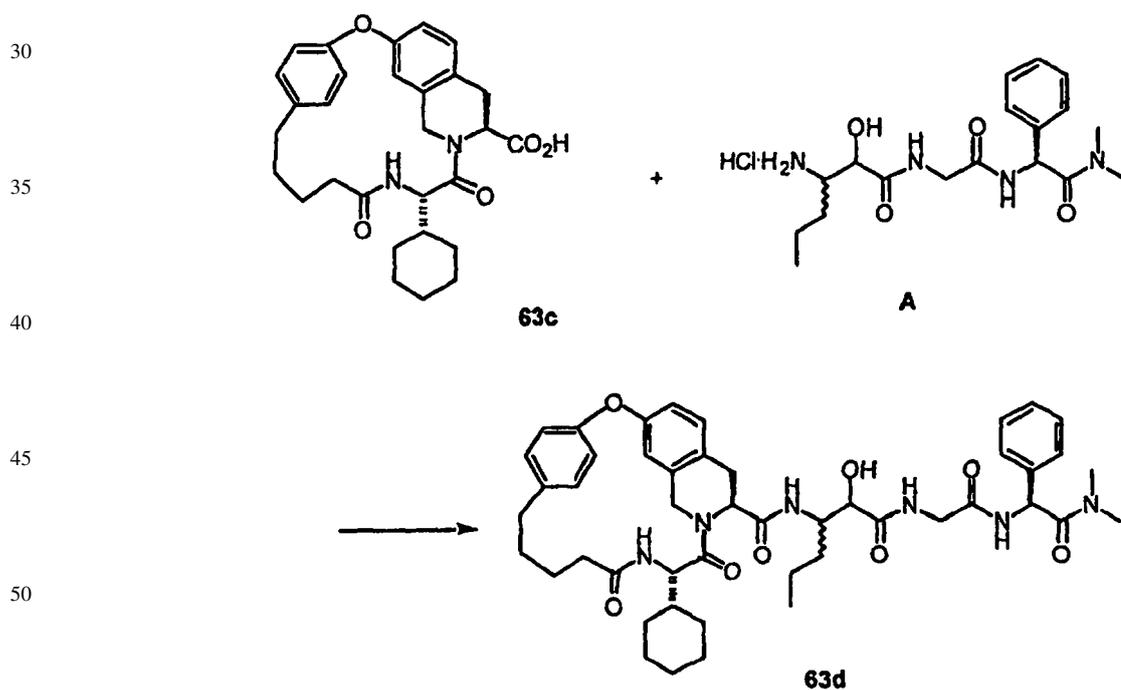
65 El compuesto ciclado de la etapa previa se disolvió en CH₃CN (60 mL) y se filtró en un tubo de cuarzo. La solución se desgasificó y fotolizó en un aparato Raynot ($\lambda=350$ nm) durante 48 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (SiO₂, acetona/Hexanos 3:7) para producir un sólido de color tostado 63b (140 mg, 13%); R_f: 0,73 (acetona/hexanos 3:7); MS: (FAB): 505 [(M+1)⁺, 80], 232 (40); HRMS calculado para C₃₀H₃₇N₂O₅ (M+1)⁺: 505,2702; Encontrado: 505,2698.

Etapa C



20 Una solución del éster metílico 63b (235 mg, 0,5 mmoles) de Tic-macrociclo en dioxano(10,0 mL), H₂O (10,0 mL), CH₃OH (50,0 mL) se trató con LiOH H₂O (41 mg, 1,0 mmoles, 2,0 equiv.) y se agitó a rt. durante 3 h. La mezcla de reacción se aciduló y (HCl 4M en Dioxano). La mezcla de reacción se concentró a vacío y el agua restante se congeló y liofilizó para obtener un sólido incoloro 63c utilizado para el acoplamiento.

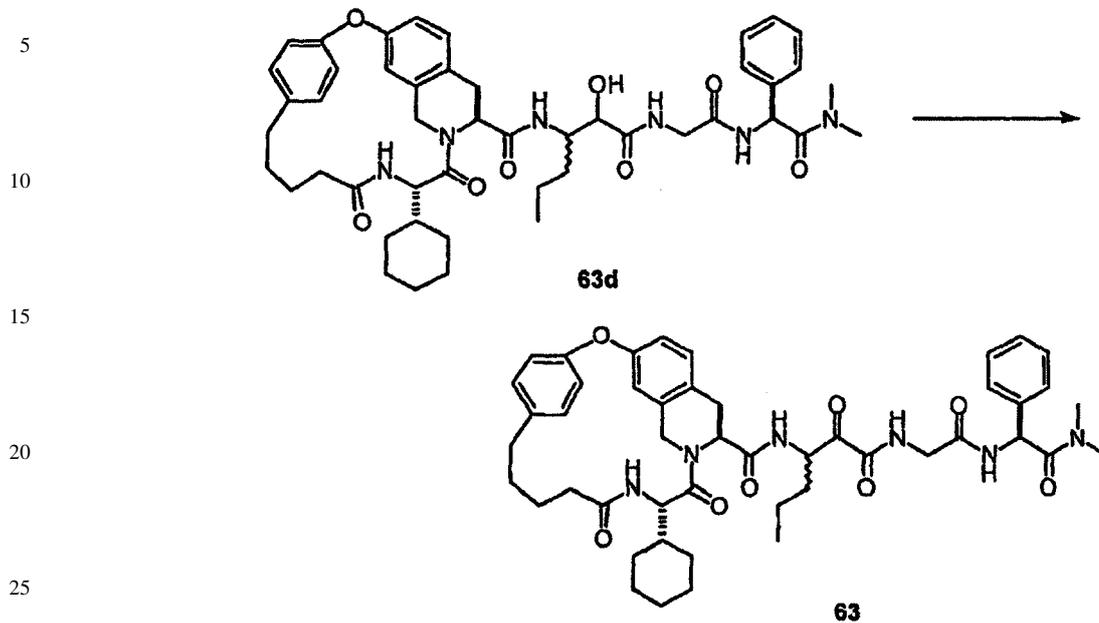
Etapa D



60 Una solución del ácido hidrolizado 63c (100 mg, 0,21 mmoles) en DMF seca (4,0 mL) y CH₂Cl₂ (2,0 mL) se enfrió a 0°C y se trató con HOOBt (53 mg, 0,32 mmoles, 1,5 equiv.), base de Hünig (122 mg, 0,95 mmoles, 4,5 equiv., 175 μ L), EDCI (61,0 mg, 0,32 mmoles, 1,5 equiv.) y se agitó durante 0,5 h y se trató con la el hidrocloreuro de amina A (100 mg, 0,25 mmoles, 1 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 16 h y se concentró a vacío para eliminar la DMF y el CH₂Cl₂. El residuo se diluyó con HCl acuoso (2M, 50 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x50 mL). La capa orgánica combinada se extrajo con HCl acuoso (1M, 100 mL), NaOH acuoso (2M, 100), salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se concentró a vacío. El residuo 63d (72 mg) se oxidó sin purificación adicional.

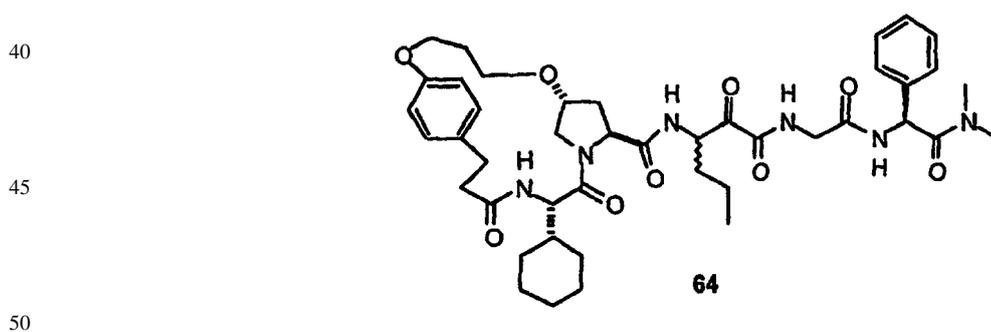
65

Etapa E

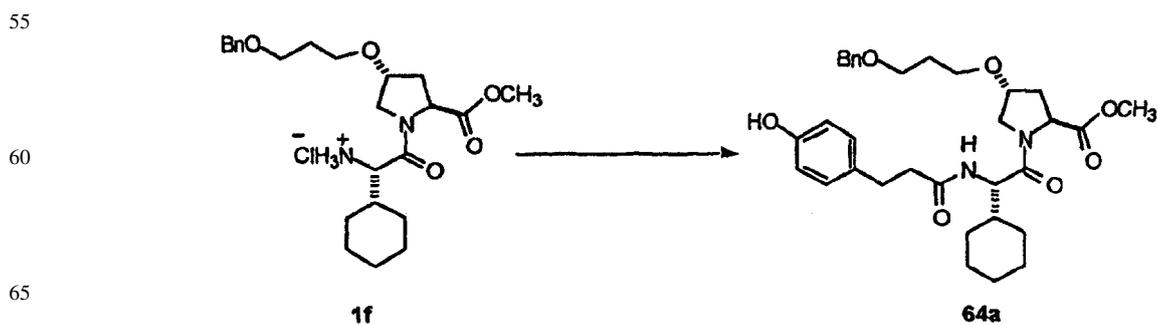


30 Una solución del alcohol 63d (72 mg, 0,86 μ moles) en CH_2Cl_2 (5,0 mL) se trató con reactivo Dess-Martin (125 mg, 0,28 mmoles, 3,2 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a rt. durante 3 h y se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (SiO_2 , $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:19) para producir la cetoamida 63 (11 mg, 15%) de un sólido incoloro; MS (FAB): 835 ($[\text{M}+1]^+$, 90), 490 (100).

Ejemplo 64

Preparación del Compuesto 64

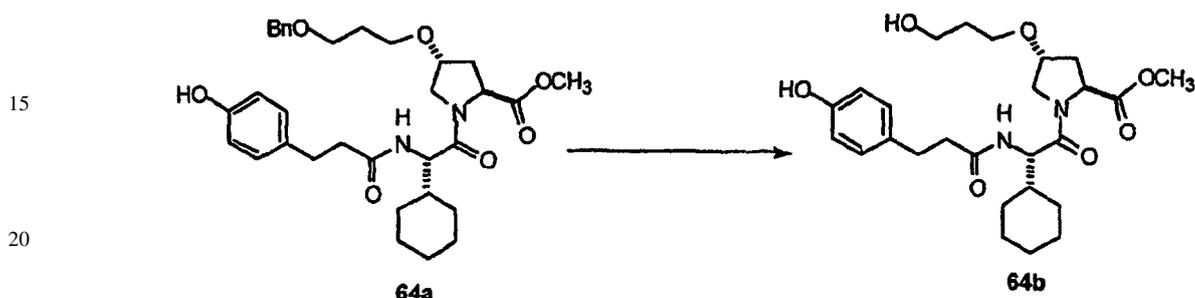
Etapa A



ES 2 317 900 T3

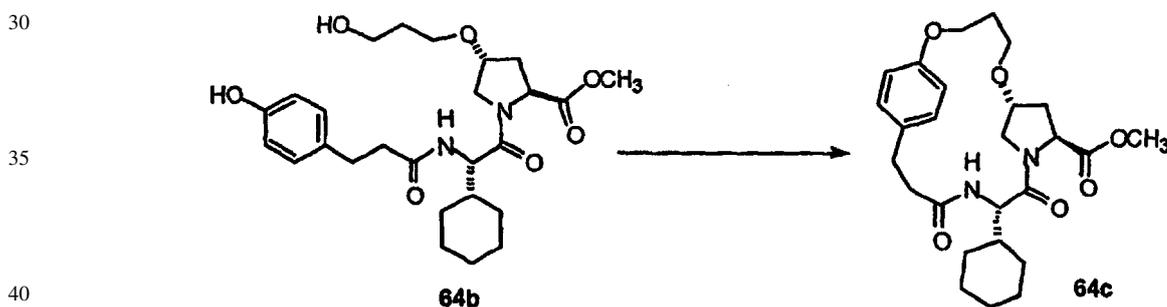
El producto 64a deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa F. La sustancia se purificó mediante cromatografía en columna instantánea utilizando EtOAc/Hex (7:3) para producir 64a en 80%; RMN ^1H (CDCl_3 , δ): 7,35-7,29 (m, 5H), 7,02 (d, 2 H, $J=8,4$ Hz), 6,72 (d, 2H, $J=6,9$ Hz) 6,01 (d, 1H), 4,60 (t, 1H), 4,52 (s, 1H), 3,8-3,61 (m, 2H), 3,72 (s, 3 H), 3,54-3,51 (m, 4H), 2,83 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 2,39 (t, 2H, $J=8,1$ Hz) 2,41-2,20 (m, 1H), 2,05-1,83 (m, 1H), 1,85-1,58 (m, 8H), 1,26-1,24 (m, 5H); RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ): 172,2, 171,9, 171,0, 154,4, 138,3, 132,2, 129,4, 128,4, 127,7, 127,6, 115,4, 73,0, 66,9, 66,2, 57,9, 54,9, 52,5, 52,3, 41,0, 38,5, 34,7, 30,8, 30,0, 29,4, 27,9, 26,1, 26,0, 25,9.

10 Etapa B



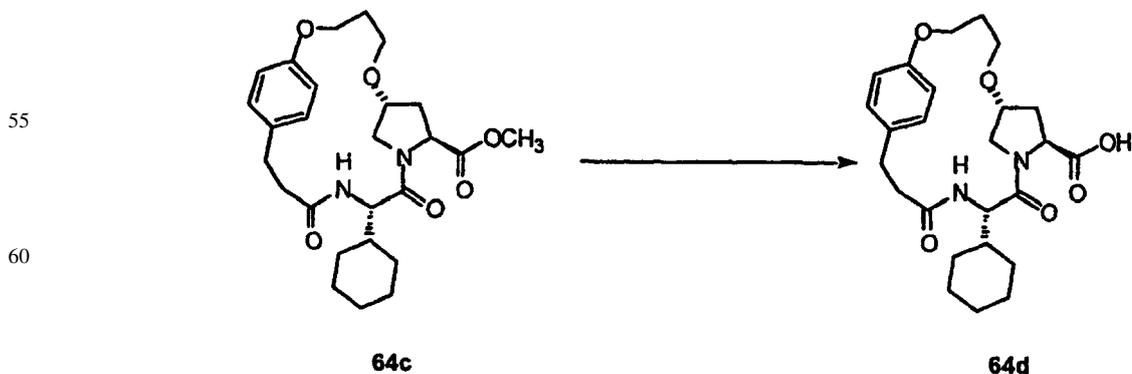
25 El producto 64b deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa G. El producto obtenido después de separar mediante filtración el catalizador fue suficientemente puro para la siguiente etapa.

30 Etapa C



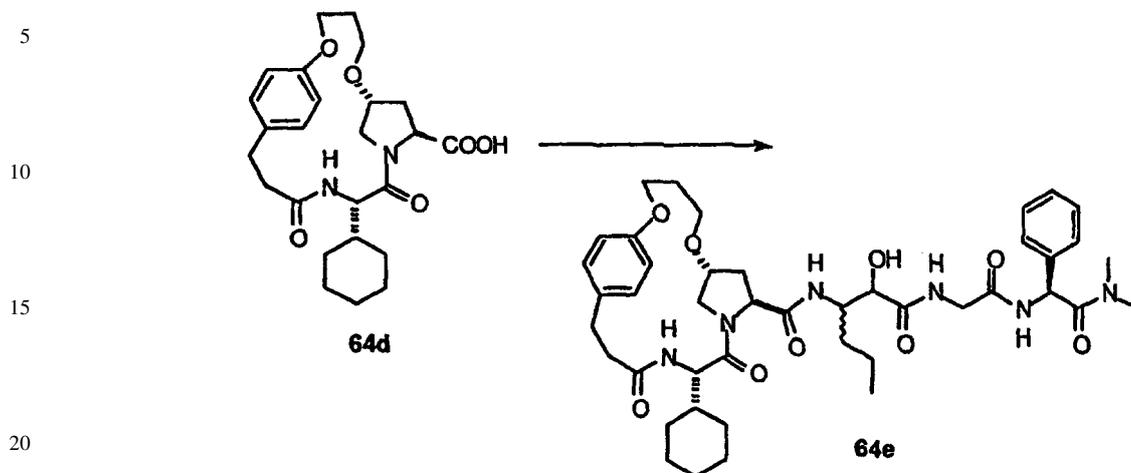
45 El producto 64c deseado se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, Etapa H. La mezcla de reacción bruta se purificó mediante cromatografía sobre gel de SiO_2 (acetona/Hexanos 3:7) para producir 64c (64 mg, 16%) en forma de un sólido incoloro; RMN ^{13}C (CDCl_3) 172,1, 171,1, 171,0, 157,7, 131,0 129,9, 114,3, 78,1, 64,7, 63,3, 58,7, 55,3, 52,2, 52,0, 42,1, 37,9, 36,1, 30,8, 30,7, 29,7, 28,7, 28,5, 26,2, 26,0; MS (FAB) 473 ($\text{M}+1$) $^+$, (100), 327 (20).

50 Etapa D



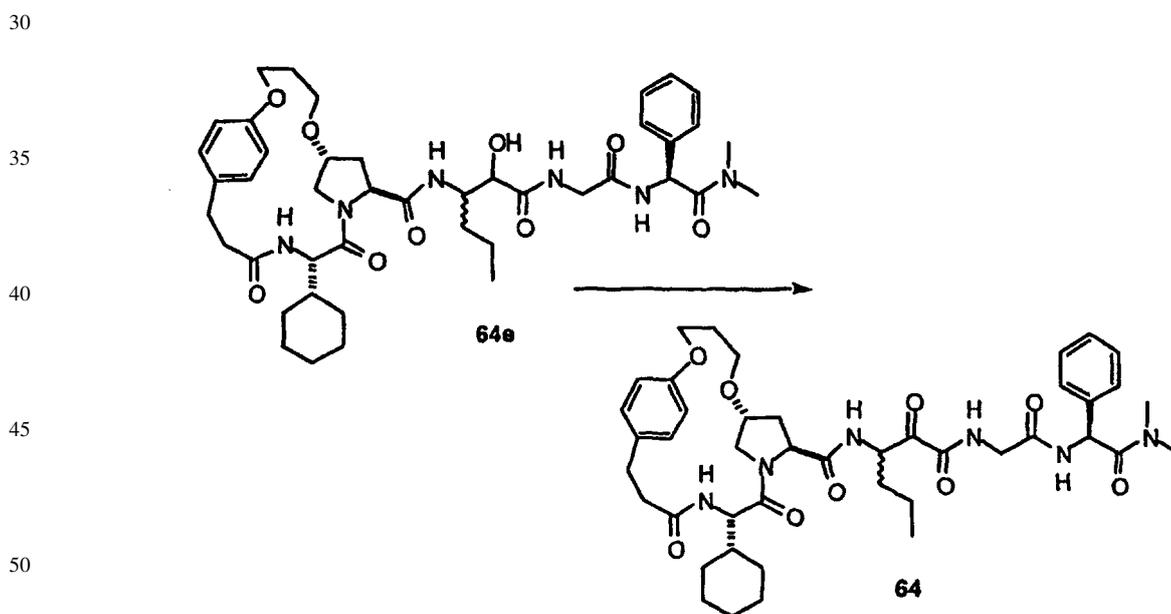
El ácido se sintetizó como se ha descrito para el Ejemplo 1, Etapa I con un rendimiento cuantitativo. La mezcla bruta tras la evaporación se utilizó directamente para la siguiente etapa.

Etapa E



25 El producto 64e esperado se sintetizó como se ha descrito antes para el Ejemplo 1, Etapa J. La sustancia acoplada se utilizó directamente para la siguiente etapa para sintetizar 64.

Etapa F



55 El producto deseado se obtiene mediante el protocolo de oxidación descrito previamente para el Ejemplo 1, Etapa K.

60

65

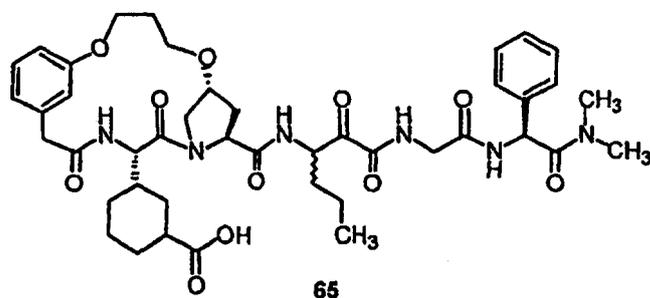
Ejemplo 65

Preparación del Compuesto 65

5

10

15



20

La síntesis del Ejemplo 65 fue idéntica a la síntesis del Ejemplo 14 excepto que la síntesis se inició con ácido 3-vinilbenzoico. La reducción de radical fenilo fue similar a la del Ejemplo 14, Etapa C. No obstante, se obtuvo una mezcla de diastereómeros.

25

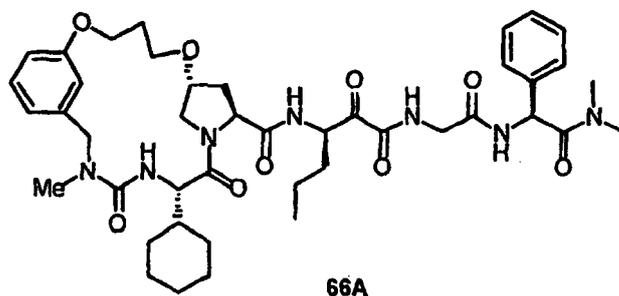
Ejemplo 66

Preparación de los Compuestos de Formulas 66A y 66B

30

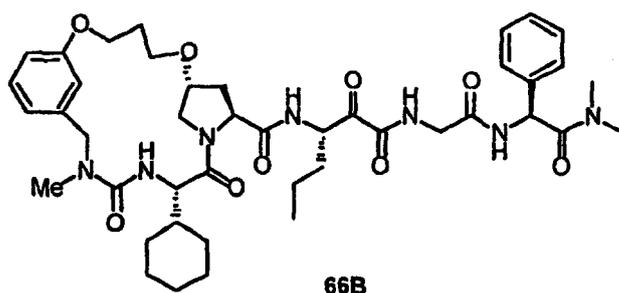
35

40



45

50



55

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 66 seguidas de las descritas para el Ejemplo 54 utilizando sustancias de partida adecuadas con modificaciones apropiadas. Los isómeros 66A y 66B se separaron después de la oxidación utilizando cromatografía en columna. Datos de LCMS: 818,2 (M+H)⁺ (para 66A y 66B).

60

65

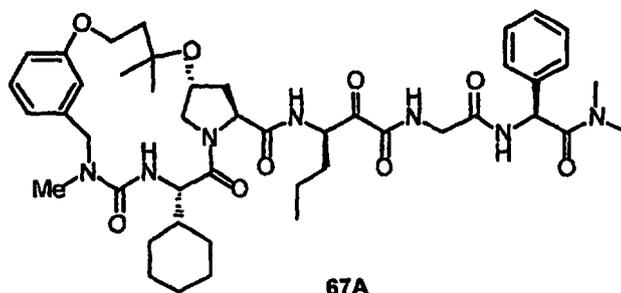
Ejemplo 67

Preparación de los Compuestos de Formulas 67A y 67B

5

10

15

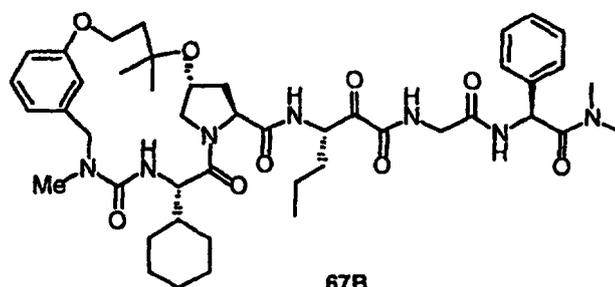


67A

20

25

30



67B

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 67 seguidas de las descritas para el Ejemplo 54 utilizando sustancias de
 35 partida adecuadas con modificaciones apropiadas. Los isómeros 67A y 67B se separaron después de la oxidación uti-
 lizando cromatografía en columna. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{45}H_{64}N_7O_9$: 846,4766 (M+H)⁺. Encontrado: 846,4782
 (para 67A) y 846,4774 (para 67B).

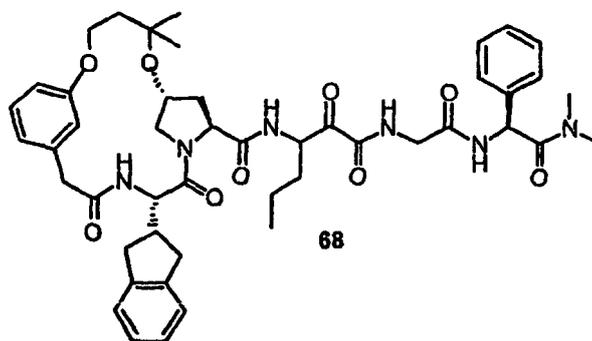
40 Ejemplo 68

Preparación del Compuesto de Fórmula 68

45

50

55



68

60

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 68 seguidas de las descritas para el Ejemplo 30 utilizando sustancias de
 65 partida adecuadas y modificaciones apropiadas. Después de la oxidación el producto 68 deseado se obtuvo en forma
 de una mezcla de isómeros utilizando cromatografía en columna. HRMS (FAB) Calcd. para $C_{47}H_{59}N_6O_9$: 851,4344
 (M+H)⁺. Encontrado: 851,4149.

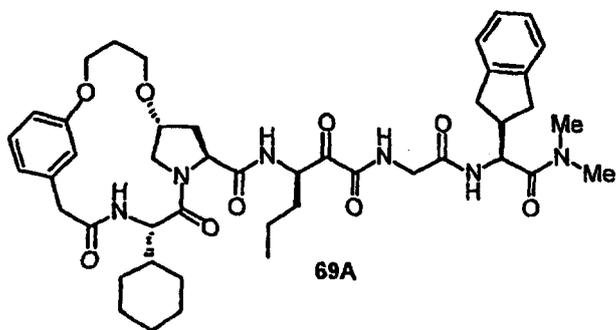
Ejemplo 69

Preparación de los Compuestos de Fórmula 69A y 69B

5

10

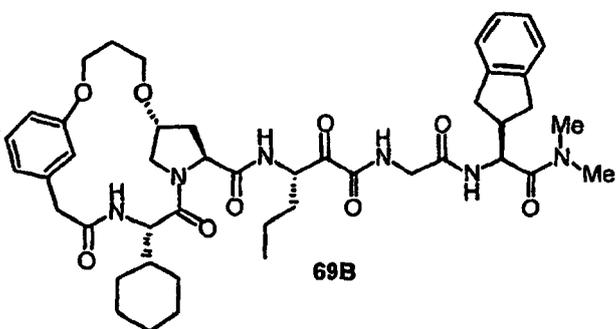
15



20

25

30



35

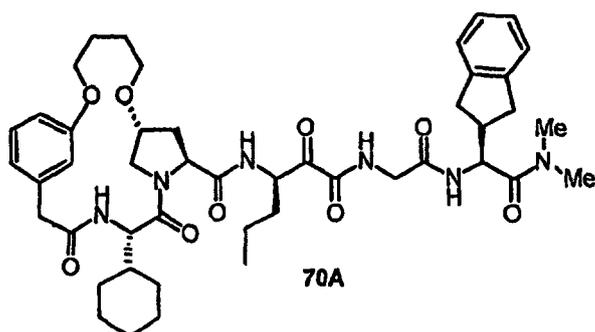
Las secuencias sintéticas para Ejemplo 69 seguidas de las descritas para el Ejemplo 1 utilizando sustancias de partida adecuadas y modificaciones apropiadas. Después de la oxidación los isómeros 69A y 69B se separaron utilizando cromatografía en columna. Datos de LCMS: 829,2 (M+H)⁺ (para 69A y 69B).

Ejemplo 70

40 *Preparación de los Compuestos de Fórmula 70A y 70B*

45

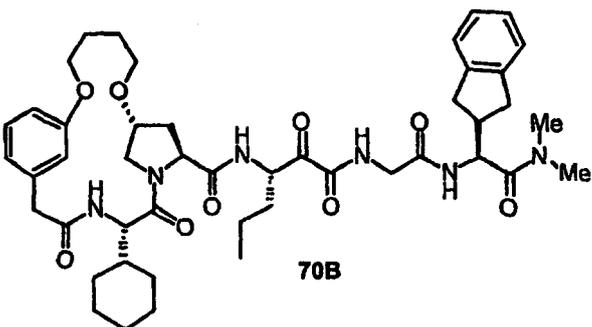
50



55

60

65



ES 2 317 900 T3

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 70 seguidas de las descritas para el Ejemplo 4 utilizando sustancias de partida adecuadas y modificaciones apropiadas. Después de la oxidación los isómeros 70A y 70B se separaron utilizando cromatografía en columna. Datos de LCMS: 843,2 (M+H)⁺ (para 70A y 70B).

5

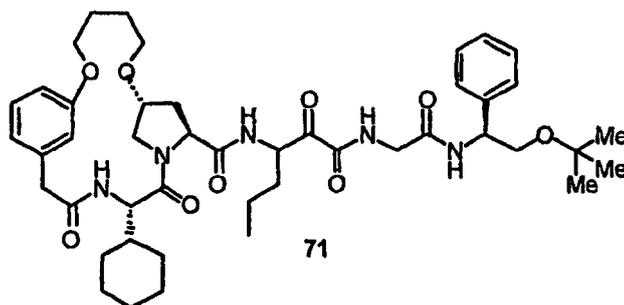
Ejemplo 71

Preparación del Compuesto de Fórmula 71

10

15

20



25

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 71 seguidas de las descritas para el Ejemplo 5 utilizando sustancias de partida adecuadas y modificaciones apropiadas. Después de la oxidación el producto 71 deseado se obtuvo en forma de una mezcla de isómeros utilizando cromatografía en columna. Datos de LCMS: 818,2 (M+H)⁺.

30

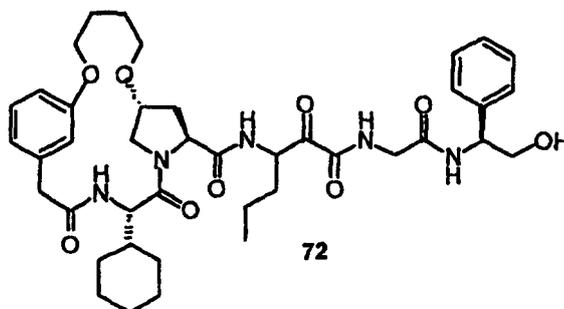
Ejemplo 72

Preparación del Compuesto de Fórmula 72

35

40

45



50

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 72 seguidas de las descritas para el Ejemplo 6 utilizando sustancias de partida adecuadas y modificaciones apropiadas. Después de la oxidación el producto 72 deseado se obtuvo en forma de una mezcla de isómeros utilizando cromatografía en columna. Datos de LCMS: 762,2 (M+H)⁺.

55

60

65

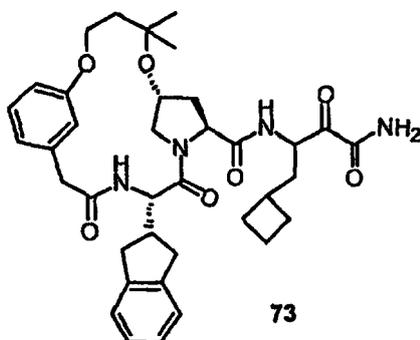
Ejemplo 73

Preparación del Compuesto de Fórmula 73

5

10

15



20

Las secuencias sintéticas para Ejemplo 73 seguidas de las descritas para el Ejemplo 10 utilizando sustancias de partida adecuadas y modificaciones apropiadas. Después de la oxidación el producto 73 deseado se obtuvo en forma de una mezcla de isómeros utilizando cromatografía en columna. Datos de LCMS: 659,2 (M+H)⁺.

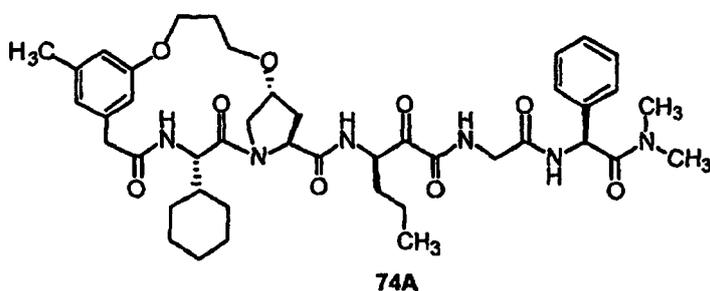
25

Ejemplo 74

Preparación de los compuestos 74A y 74B

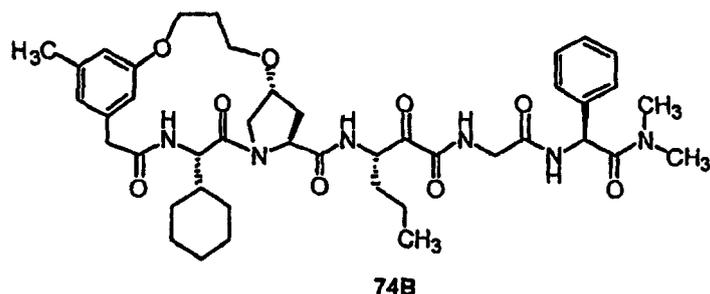
30

35



40

45



50

55

Los compuestos deseados 74A y 74B se prepararon mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 1A y 1B en el Ejemplo 1, excepto que se utilizó ácido 5-metil-3-hidroxifenilacético para sustituir el ácido 3-hidroxifenilacético en la Etapa F. LRMS (M+H)⁺ m/z 803,1 [calculado para C₄₃H₅₈N₆O₉, 802,4].

60

65

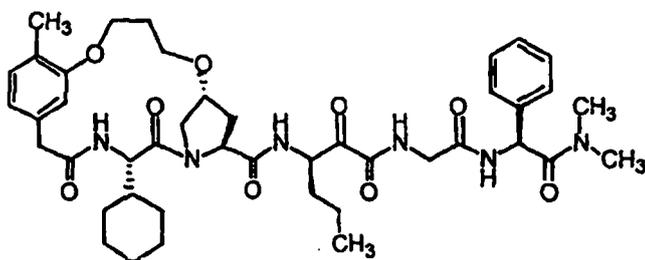
Ejemplo 75

Preparación de los compuestos 75A y 75B

5

10

15

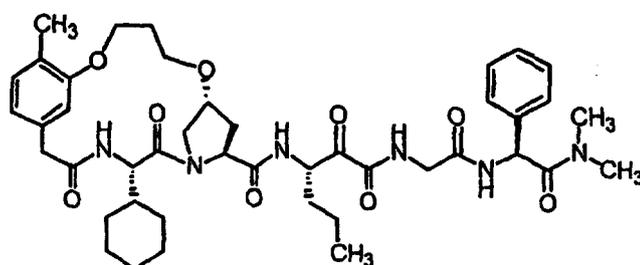


75A

20

25

30



75B

35

Los compuestos 75A y 75B deseados se prepararon mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 1A y 1B en el Ejemplo 1, excepto que se utilizó ácido 4-metil-3-hidroxifenilacético para sustituir el ácido 3-hidroxifenilacético en la Etapa F. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 803,1 [calculado para C₄₃H₅₈N₆O₉, 802,4].

40

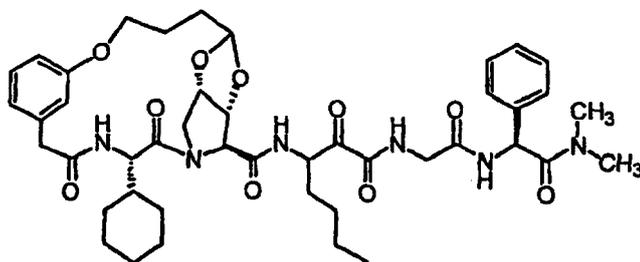
Ejemplo 76

Preparación del compuesto 76

45

50

55



76

60

El compuesto deseado 76 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 27A y 27B en el Ejemplo 27, excepto que se utilizó la amina E para sustituir la amina A en la Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 831,1 [calculado para C₄₄H₅₈N₆O₁₀, 830,4].

65

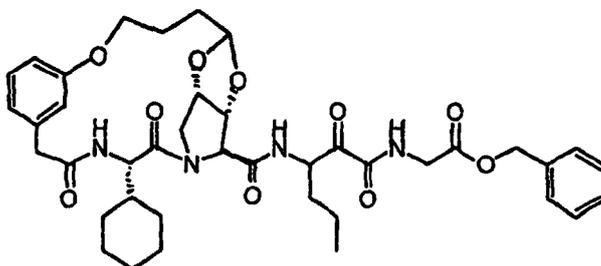
Ejemplo 77

Preparación del compuesto 77

5

10

15

**77**

20 El compuesto deseado 77 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 27A y 27B en el Ejemplo 27, excepto que se utilizó una amina intermedia diferente para sustituir la amina A en la Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 761,1 [calculado para C₄₁H₅₂N₄O₁₀, 760,4].

Ejemplo 78

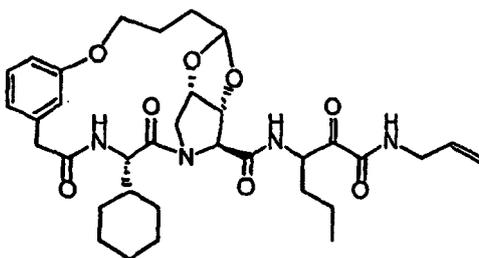
Preparación del compuesto 78

25

30

35

40

**78**

45 El compuesto deseado 78 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 27A y 27B en el Ejemplo 27, excepto que se utilizó una amina intermedia diferente para sustituir la amina A en la Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653,1 [calculado para C₃₅H₄₈N₄O₈, 652,4].

Ejemplo 79

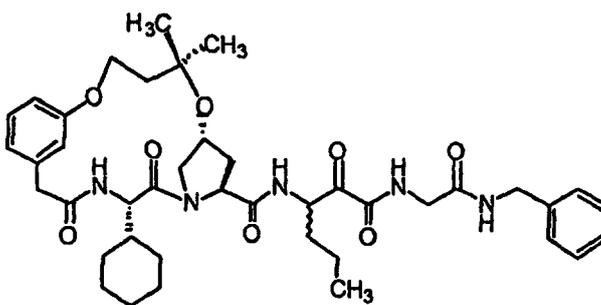
Preparación del compuesto 79

50

55

60

65

**79**

ES 2 317 900 T3

El compuesto deseado 79 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina intermedia diferente para sustituir la amina A en la Etapa I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 746,1 [calculado para C₄₁H₅₅N₅O₈, 745,4].

5

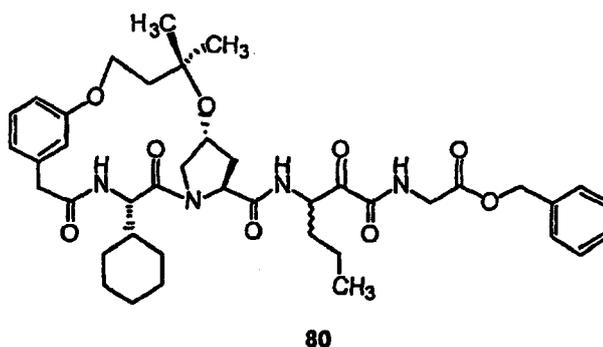
Ejemplo 80

Preparación del compuesto 80

10

15

20



25

El compuesto deseado 80 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina D para sustituir la amina A en la Etapa I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 746,1 [calculado para C₄₁H₅₅N₅O₈, 745,4].

30

Ejemplo 81

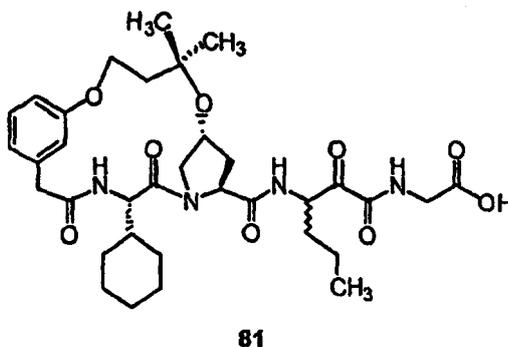
Preparación del compuesto 81

35

40

45

50



El compuesto deseado 81 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del intermedio A, Etapa 5, LRMS (M+H)⁺ *m/z* 657,1 [calculado para C₃₄H₄₈N₄O₉, 656,3].

55

60

65

ES 2 317 900 T3

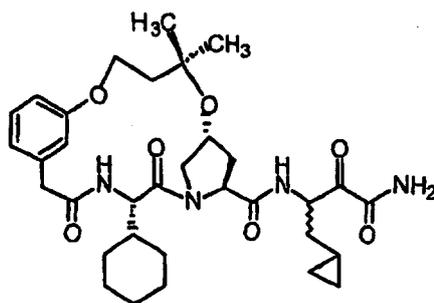
El compuesto deseado 87 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I, y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 611,1 [calculado para C₃₃H₄₆N₄O₇, 610,3].

5

Ejemplo 88

Preparación del compuesto 88

10



15

20

25

88

El compuesto deseado 88 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I, y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 611,1 [calculado para C₃₃H₄₆N₄O₇, 610,3].

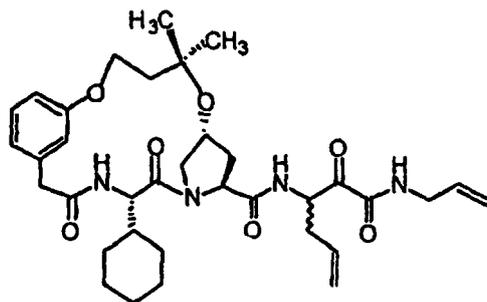
30

35

Ejemplo 89

Preparación del compuesto 89

40



45

50

89

55

El compuesto deseado 88 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 637,1 [calculado para C₃₅H₄₈N₄O₇, 636,4].

60

65

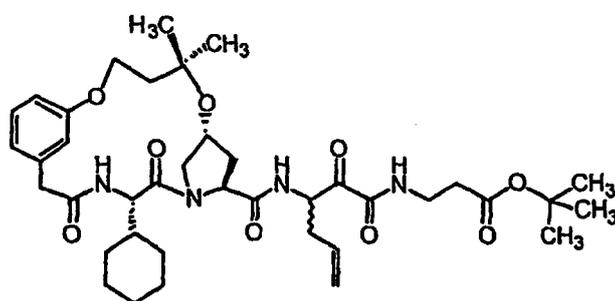
Ejemplo 90

Preparación del compuesto 90

5

10

15

**90**

20

El compuesto deseado 90 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 725,1 [calculado para C₃₉H₅₆N₄O₉, 724,4].

25

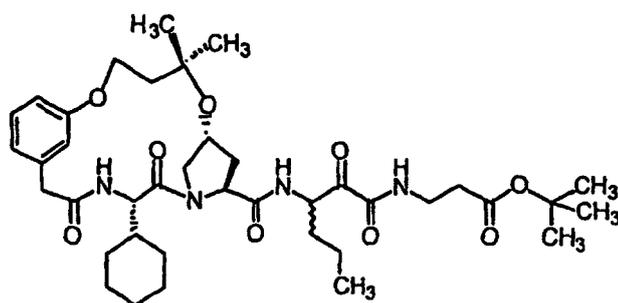
Ejemplo 91

Preparación del compuesto 91

30

35

40

**91**

45

El compuesto deseado 91 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 en el Ejemplo 30, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 727,1 [calculado para C₃₉H₅₈N₄O₉, 726,4].

50

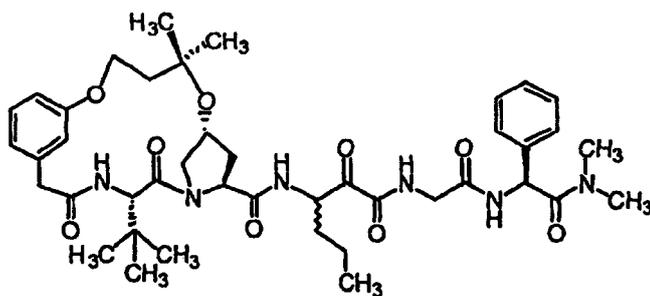
Ejemplo 92

Preparación del compuesto 92

55

60

65

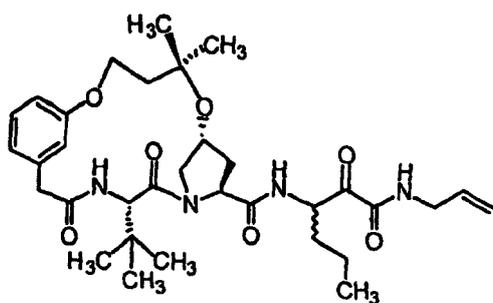
**92**

ES 2 317 900 T3

El compuesto deseado 92 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 Ejemplo 30, excepto que se utilizó Boc-*tert*-butilglicina para sustituir la Boc-ciclohexilglicina en la Etapa C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 791,1 [calculado para C₄₂H₅₈N₆O₉, 790,4].

5 Ejemplo 93

Preparación del compuesto 93

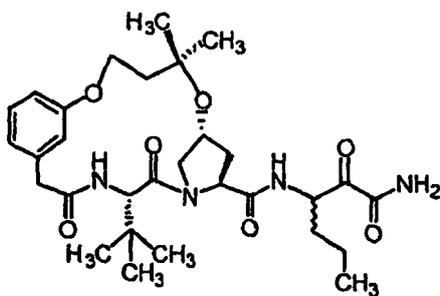


93

El compuesto deseado 93 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 92 en el Ejemplo 92, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613,1 [calculado para C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

Ejemplo 94

Preparación del compuesto 94



94

El compuesto deseado 94 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 92 en el Ejemplo 92, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A, y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 573,1 [calculado para C₃₀H₄₄N₄O₇, 572,3].

Ejemplo 95

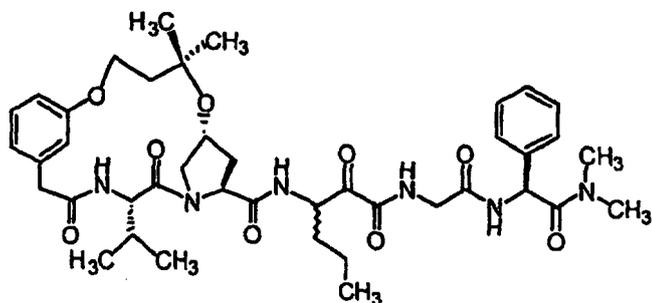
Preparación del compuesto 95

5

10

15

20

**95**

25

El compuesto deseado 95 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 Ejemplo 30, excepto que se utilizó Boc-valina para sustituir la Boc-ciclohexilglicina en la Etapa C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 777,1 [calculado para C₄₁H₅₆N₆O₉, 776,4].

30

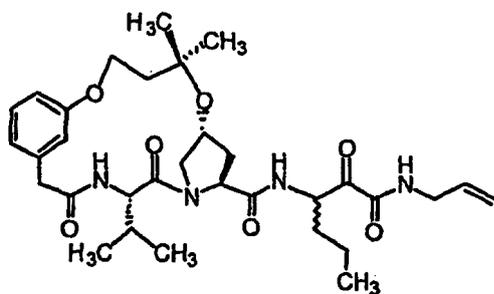
Ejemplo 96

Preparación del compuesto 96

35

40

45

**96**

50

El compuesto deseado 96 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 95 en el Ejemplo 95, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 599,1 [calculado para C₃₂H₄₆N₄O₇, 598,3].

55

60

65

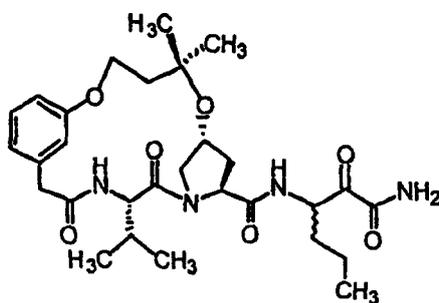
Ejemplo 97

Preparación del compuesto 97

5

10

15

**97**

20

El compuesto deseado 97 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 95 en el Ejemplo 95, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A, y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 559,1 [calculado para C₂₉H₄₂N₄O₇, 558,3].

25

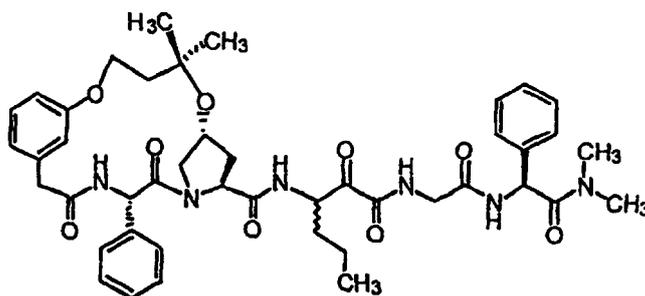
Ejemplo 98

Preparación del compuesto 98

30

35

40

**98**

45

El compuesto deseado 98 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 Ejemplo 30, excepto que se utilizó Boc-fenilglicina para sustituir la Boc-ciclohexilglicina en la Etapa C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 811,1 [calculado para C₄₄H₅₄N₆O₉, 810,4].

50

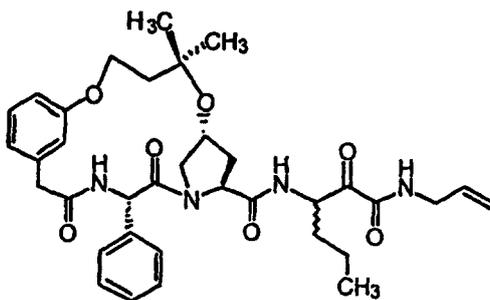
Ejemplo 99

Preparación del compuesto 99

55

60

65

**99**

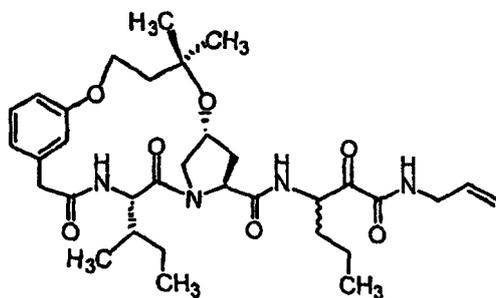
Ejemplo 102

Preparación del compuesto 102

5

10

15

**102**

20

El compuesto deseado 102 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 101 en el Ejemplo 101, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613,1 [calculado para C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

25

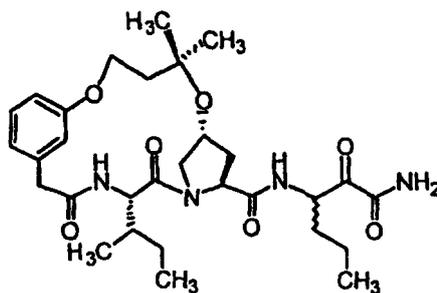
Ejemplo 103

Preparación del compuesto 103

30

35

40

**103**

45

El compuesto deseado 103 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 101 en el Ejemplo 101. Excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A, y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 573,1 [calculado para C₃₀H₄₄N₄O₇, 572,3].

50

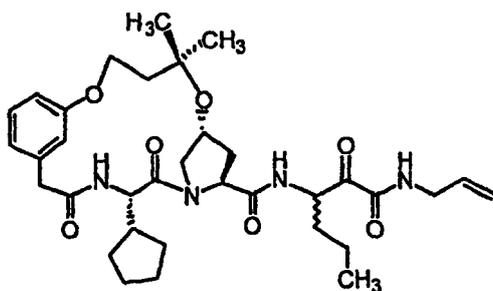
Ejemplo 104

Preparación del compuesto 104

55

60

65

**104**

El compuesto deseado 104 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 30 Ejemplo 30, excepto que se utilizó Boc-ciclopentilglicina para sustituir Boc-ciclohexilglicina en la Etapa C.

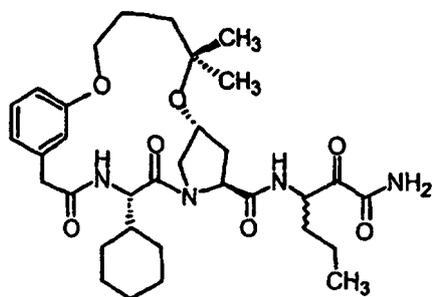
Ejemplo 107

Preparación del compuesto 107

5

10

15

**107**

20

25

El compuesto deseado 107 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 106 en el Ejemplo 106, excepto que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I, y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613,1 [calculado para C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

Ejemplo 108

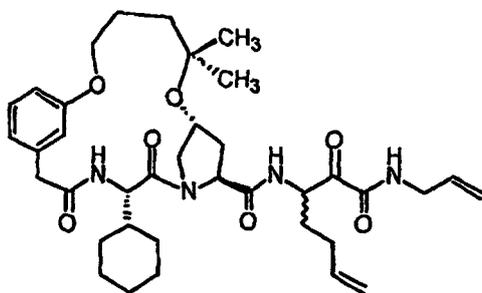
30

Preparación del compuesto 108

35

40

45

**108**

50

El compuesto deseado 108 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 106 en el Ejemplo 106, con la excepción de que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 885,1 [calculado para C₃₇H₅₂N₄O₇, 664,4].

55

60

65

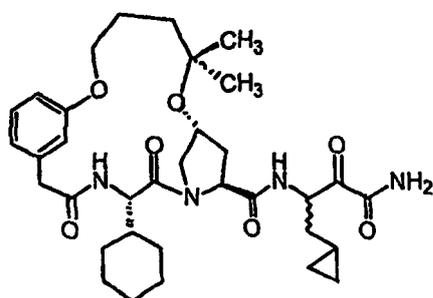
Ejemplo 109

Preparación del compuesto 109

5

10

15

**109**

20

El compuesto deseado 109 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación del compuesto 106 en el Ejemplo 106, con la excepción de que se utilizó una amina apropiada para sustituir la amina A en la Etapa I. y que la oxidación se realizó de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 10, Etapa J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 625,1 [calculado para C₃₄H₄₈N₄O₇, 624,4].

25

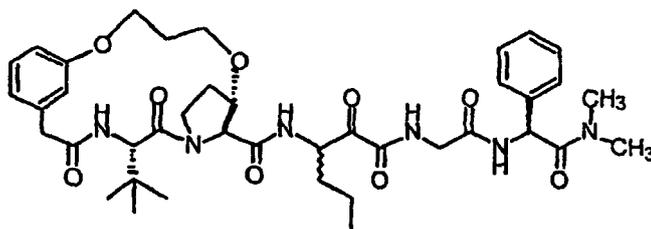
Ejemplo 110

Preparación del compuesto 110

30

35

40

**110**

45

El compuesto deseado 110 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 1A y 1B, Ejemplo 1, excepto que se utilizó Boc-3-hidroxi-prolina para sustituir la prolina 1a en la Etapa A. y que se utilizó Boc-*tert*-butilglicina para sustituir la Boc-ciclohexilglicina en Etapa D. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 763,1 [calculado para C₄₀H₅₄N₆O₉, 762,4].

50

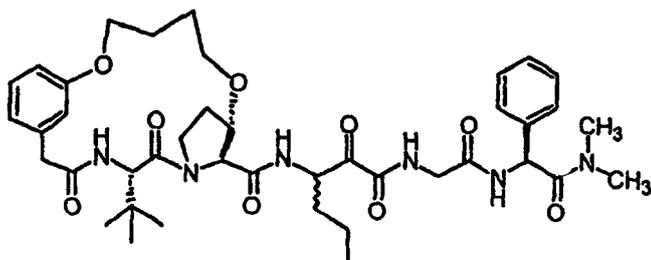
Ejemplo 111

Preparación del compuesto 111

55

60

65

**111**

El compuesto deseado 111 se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en la preparación de los compuestos 4A y 4B en el Ejemplo 4, excepto que se utilizó Boc-3-hidroxi-prolina se utilizó para sustituir la prolina 1a en la Etapa A, y que se utilizó Boc-*terc*-butilglicina para sustituir la Boc-ciclohexilglicina en la Etapa D. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 777,1 [calculado para C₄₁H₅₆N₆O₉, 776,4].

5

Análisis de la Actividad Inhibidora de la Proteasa de HCV

Análisis Espectrofotométrico: Los análisis espectrofotométricos para la serina proteasa de HCV se realizaron sobre los compuestos de la invención siguiendo el procedimiento descrito por R. Zhang *et al*, Analytical Biochemistry, 270 (1999) 268-275, cuya descripción se incorpora en la presente memoria como referencia. El análisis basado en la proteólisis de sustratos de ésteres cromogénicos es adecuado para la verificación continua de la actividad de la proteasa NS3 de HCV. Los sustratos se obtuvieron del lado P de la secuencia de empalme de NS5A-NS5B (Ac-DTEDVVX(Nva), donde X = A o P) cuyos grupos carboxilo C-terminales fueron esterificados con uno de cuatro alcoholes cromofóricos diferentes (3- o 4-nitrofenol, 7-hidroxi-4-metil-cumarina, o 4-fenilazofenol). Más abajo se presentan la síntesis, la caracterización y la aplicación de estos sustratos de ésteres espectrofotométricos novedosos para el escrutinio de alto rendimiento y la evaluación cinética detallada de los inhibidores de proteasa NS3 de HCV.

15

Materiales y Métodos

20

Materiales: Los reactivos químicos para los tampones relacionados con el análisis se obtuvieron de Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri). Los reactivos para la síntesis peptídica fueron de Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, California), Applied Biosystems (Foster City, California) y Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts). Los péptidos se sintetizaron manualmente o en un sintetizador ABI modelo 431A automático (de Applied Biosystems). El espectrómetro UVNIS modelo LAMBDA 12 fue de Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut) y las placas de UV de 96 pocillos se obtuvieron de Coming (Coming, New York). El bloque de precalentamiento fue de USA Scientific (Ocala, Florida) y las placas de 96 pocillos para el agitador vortex fueron de Labline Instruments (Melrose Park, Illinois). El lector de placas de microtítulo Spectramax Plus con monocromador se obtuvo de Molecular Devices (Sunnyvale, California).

25

Preparación de la Enzima: La proteasa NS3/NS4A de HCV heterodimérica recombinante (cepa 1a) se preparó utilizando los procedimientos publicados previamente (D. L. Sali *et al*, Biochemistry, 37 (1998) 3392-3401). Las concentraciones de proteína se determinaron mediante el método del colorante Biorad utilizando patrones de proteasa de HCV recombinantes cuantificados previamente mediante análisis de aminoácidos. Antes del inicio del análisis, el tampón de almacenamiento de la enzima (fosfato sodio 50 mM pH 8,0, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, lauril maltósido al 0,05% y DTT 10 mM) se cambió por el tampón de análisis (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, lauril maltósido al 0,05%, EDTA 5 μ M y DTT 5 μ M) utilizando una columna precargada Biorad Bio-Spin P-6.

30

Síntesis y Purificación del Sustrato: La síntesis de los sustratos se realizó como informan R. Zhang *et al*, (*ídem*) y se inició anclando Fmoc-Nva-OH a resina de cloruro de 2-clorotritilo utilizando un protocolo normalizado (K. Barlos *et al*, Int. J. Pept. Protein Res., 37 (1991), 513-520). Los péptidos se ensamblaron con posterioridad, utilizando química de Fmoc, manualmente o en un sintetizador de péptidos ABI modelo 431 automático. Los fragmentos peptídicos N-acetilados y completamente protegidos se escindieron de la resina con ácido acético (HOAc) al 10% y trifluoroetanol (TFE) al 10% en diclorometano (DCM) durante 30 min, o con ácido trifluoroacético (TFA) al 2% en DCM durante 10 min. El producto filtrado y el lavado con DCM combinados se evaporaron azeotrópicamente (o se extrajeron repetidamente con una solución acuosa de Na₂CO₃) para eliminar el ácido utilizado en la escisión. La fase de DCM se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó.

35

Los sustratos de ésteres se ensamblaron utilizando procedimientos de acoplamiento ácido-alcohol normalizados (K. Holmber *et al*, Acta Chem. Scand., B33 (1979) 410-412). Los fragmentos peptídicos se disolvieron en piridina anhidra (30-60 mg/ml) a lo que se añadieron 10 equivalentes molares de cromóforo y a una cantidad catalítica (0,1 eq.) de ácido para-toluenosulfónico (pTSA). Se añadió dicitclohexilcarbodiimida (DCC, 3 eq.) para iniciar las reacciones de acoplamiento. La formación de producto se verificó mediante HPLC y se encontró que era completa después de 12-72 horas de reacción a temperatura ambiente. La piridina disolvente se evaporó a vacío y se eliminó adicionalmente mediante evaporación azeotrópica con tolueno. El éster peptídico se desprotegió con TFA al 95% en DCM durante dos horas y se extrajo tres veces con éter etílico anhidro para eliminar el cromóforo en exceso. El sustrato desprotegido se purificó mediante HPLC en fase reversa en una columna C₃ o C₈ con un gradiente de acetonitrilo de 30% a 60% (utilizando seis veces el volumen de la columna). El rendimiento global tras la purificación mediante HPLC fue aproximadamente 20-30%. La masa molecular se confirmó mediante espectroscopia de masas de ionización por electrolupverización. Los sustratos se almacenaron en forma de polvo seco con desecación.

50

Espectros de Sustratos y Productos: Los espectros de los sustratos y de los productos cromofóricos correspondientes se obtuvieron en el tampón de análisis a pH 6,5. Los coeficientes de extinción se determinaron a la longitud de onda óptima fuera del pico en cubetas de 1 cm (340 nm para 3-Np y HMC, 370 nm para PAP y 400 nm para 4-Np) utilizando diluciones múltiples. La longitud de onda óptima fuera del pico se definió como la longitud de onda que produce la diferencia fraccionaria máxima en la absorbancia entre el sustrato y el producto (DO producto - DO sustrato)/DO sustrato).

65

ES 2 317 900 T3

Análisis de la Proteasa: los análisis de la proteasa de HCV se realizaron a 30°C utilizando una mezcla de reacción de 200 μ l en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Las condiciones del tampón de análisis (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, lauril maltosido al 0,05%, EDTA 5 μ M y DTT 5 μ M) se optimizaron para el heterodímero NS3/NS4A (D. L. Sali et al, *idem*). Típicamente, mezclas de 150 μ l de tampón, sustrato e inhibidor se colocaron en pocillos (concentración final de DMSO 4% v/v) y se dejaron preincubando a 30°C durante aproximadamente 3 minutos. Después se utilizaron cincuenta microlitros de proteasa precalentada (12 nM, 30°C) en tampón de análisis para iniciar la reacción (volumen final 200 μ l). Las placas se controlaron a lo largo de todo el ensayo (60 minutos) en busca del cambio de absorbancia a la longitud de onda apropiada (340 nm para 3-Np y HMC, 370 nm para PAP, y 400 nm para 4-Np) utilizando un lector de placas de microtitulación Spectromax Plus equipado con un monocromador (se pueden obtener resultados aceptables con lectores de placa que utilizan filtros de corte). La escisión proteolítica del enlace éster entre Nva y el cromóforo se verificó a la longitud de onda apropiada frente a un blanco no enzimático como control para la hidrólisis no enzimática. La evaluación de los parámetros cinéticos de sustrato se realizó a lo largo de un intervalo de concentración de sustrato de 30 veces (~6-200 μ M). Las velocidades iniciales se determinaron utilizando constantes de regresión lineal y las cinéticas se obtuvieron ajustando los datos a la ecuación de Michaelis-Menten utilizando análisis de regresión no lineales (Mac Curve Fit 1.1, K. Raner). Los índices de recambio (k_{cat}) se calcularon suponiendo que la enzima era completamente activa.

Evaluación de Inhibidores e Inactivadores: Las constantes de inhibición (K_i) para los inhibidores competitivos Ac-D-(D-Gla)-L-I-(Cha)-C-OH (27), Ac-DTEDVVA(Nva)-OH y Ac-DTEDVVP(Nva)-OH se determinaron experimentalmente a concentraciones fijas de enzima y sustrato trazando v_o/v_i vs. concentración de inhibidor ($[I]_o$) de acuerdo con la ecuación de Michaelis-Menten reordenada para cinéticas de inhibición competitiva: $v_o/v_i = 1 + [I]_o/(K_i(1 + [S]_o/K_m))$, donde v_o es la velocidad inicial no inhibida, v_i es la velocidad inicial en presencia de inhibidor a cualquier concentración de inhibidor dada ($[I]_o$) y $[S]_o$ es la concentración de sustrato utilizada. Los datos resultantes se ajustaron utilizando regresión lineal y la pendiente resultante, $1/(K_i(1+[S]_o/K_m))$, se utilizó para calcular el valor de K_i .

Los valores de K_i obtenidos para los diferentes macrociclos de la presente invención se proporcionan en la Tabla 1 anteriormente mencionada donde los compuestos han sido dispuestos en el orden de los intervalos de valores de K_i . A partir de estos resultados de ensayo, resultaría evidente para el experto en la técnica que los compuestos de la invención tienen una utilidad excelente como inhibidores de serina proteasa NS3.

Método de Bioanálisis Celular: Los bioanálisis celulares para la serina proteasa de HCV se realizaron en los compuestos de la invención siguiendo el procedimiento descrito por S. Agrawal *et al*, "Development and Characterization of Hepatitis C Virus Serine Protease Cell-based Trans-Cleavage Assay", Hepatology Supplement del Volumen 30 (Núm. 4, Parte 2, Octubre de 1999), *Abstract Núm. 615* (Proceedings of AASLD 50th Annual Meeting, Dallas, Texas, 5-9 de Noviembre de 1999), cuya descripción se incorpora en la presente memoria como referencia. El análisis se realizó en células HeLa/Huh7 que fueron co-transfectadas con un plásmido que expresa un sustrato de proteína informadora que contiene la secuencia de reconocimiento de la escisión NS5A/5B y un vector de expresión 1BNS4A₂₁₋₃₂GS-GSNS₃₋₈₁I17K e YFPn1 como proteína patrón interno para controlar la citotoxicidad. La actividad proteasa se midió mediante SDS-PAGE de los productos lisados celulares totales seguido de detección mediante transferencia Western utilizando un anticuerpo monoclonal dirigido contra el sustrato informador. La cuantificación de la escisión del sustrato se realizó barriendo la inmunotransferencia en el escáner fluorescente.

Material

ADN Plasmídicos

pBFP-5A/5B-GFP: El gen informador que expresa el sustrato codifica una proteína de fusión que comprende un dominio de la proteína fluorescente azul en el extremo N' (BFP) y un dominio de la proteína fluorescente verde en el extremo C' (GFP), separados por 25 aminoácidos derivados de la secuencia de reconocimiento de la escisión NS5A/5B. GFP y BFP son proteínas autofluorescentes esencialmente homólogas que emiten luz verde o azul, respectivamente, cuando se excitan con luz UV de la longitud de onda apropiada. Cuatro sustituciones de aminoácidos en el cromóforo de GFP alteran la longitud de onda de emisión y convierten la proteína en BFP.

El sustrato y los productos de GFP y BFP resultantes se pueden detectar en los productos lisados celulares mediante métodos inmunológicos utilizando un anticuerpo monoclonal que reconoce ambas proteínas.

El gen informador BFP-5A/5B-GFP contiene las secuencias que codifican las proteínas autofluorescentes BFP y GFP (Quantum Biotechnologies, Inc., Montreal, Canada) separadas mediante la secuencia de reconocimiento de la escisión NS5A/5B, clonada entre los sitios de las endonucleasas de restricción NheI y BamHI del vector de clonación pQB125 (Quantum Biotechnologies, Inc.). La expresión de la proteína de fusión se encuentra bajo el control del promotor-intensificador IE de CMV. La secuencia de la hormona de crecimiento bovina p(A) del vector proporciona la señal de poliadenilación para el ARNm. La secuencia de escisión NS5A/5B es: SSGADTEDVCCSMSYTWGALVTP. La secuenciación del ADN se utilizó para validar el clon.

PIBOO2: 1 bNS4A21-32GS-GS NS 3-81 I17K: La proteasa de subtipo 1b se clonó como un fragmento XbaI/NotI detrás del promotor de CMV en el vector pCIneo.

ES 2 317 900 T3

YFPn1: YFPn1 fue adquirido de CLONTECH (Palo Alto, California). La adición de un tercer plásmido a la transfección suministra una proteína patrón interno para controlar la citotoxicidad y no afecta al porcentaje de escisión por la proteasa.

5 Los ADN plasmídicos se mantuvieron y propagaron en células DH5 α (obtenidas de Life Technologies) en medio LB con la selección con antibióticos apropiada, y se purificó utilizando QIAfilter Plasmid Kits (Qiagen, Valencia, California).

Cultivo Celular

10 Las células *HeLa* se mantuvieron y propagaron en Medio Esencial Mínimo de Eagle (EMEM; BioWhittaker, Walkersville, Maryland) con un suplemento de suero fetal de ternera al 10% (FCS), glutamina 2 mM, y 100 u/ml de penicilina-estreptomicina (BioWhittaker), NaHCO₃ al 2%.

15 Las células *Huh7* se mantuvieron y propagaron en Medio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM; BioWhittaker) con un suplemento de suero fetal de ternera al 10% (FCS), 100 u/ml de penicilina-estreptomicina (BioWhittaker) y 5 ml de NEAA (100x; BioWhittaker)/L.

Procedimiento SOP

20 *Día anterior a la transfección*

Las células HeLa se sembraron en placas de 24 pocillos (placas Falcon 3047) a una densidad de 6 x 10⁴ células/pocillo y se hicieron crecer durante la noche a 37°C en una incubadora con CO₂ al 5%.

25 *Día de la transfección*

Los ADN plasmídicos se diluyeron hasta una concentración final de 0,05 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en agua sin nucleasa (Promega, Madison, Wisconsin, Núm. de cat P119C). Se combinaron y se mezclaron 0,75 μg de BFP-5A/5B-GFP con 0,175 μg de P1B002 (0,23X) y 0,02 μg de YFPn1. Los ADN se llevaron a un volumen final de 60 μl con EMEM sin FBS, glutamina, y antibióticos. Se añadió una proporción de volúmenes de 5 μl de SuperFect Reagent (Qiagen, Núm. de cat. 301305) por μg totales de ADN y la mezcla se sometió a vórtice durante aproximadamente 10 segundos y se incubó durante 10 min. a temperatura ambiente para permitir la formación del complejo.

35 Mientras tuvo lugar la formación del complejo, el medio de crecimiento de las placas de cultivo celular se aspiró y las células se lavaron 1X con 1 ml de PBS sin Ca²⁺, Mg²⁺ (BioWhittaker). Se añadieron 350 μl de EMEM (con medio completo con los suplementos apropiados) al tubo que contenía los complejos de transfección y la mezcla se pipeteó arriba y abajo 2-3 veces. El volumen total se transfirió a un pocillo de la placa de cultivo de 24 pocillos. Las células HeLa se incubaron con los complejos de transfección durante aproximadamente 3 hr. a 37°C y CO₂ al 5%. El medio
40 que contenía los complejos de transfección se separó de las células mediante aspiración.

Las células se lavaron una vez en aproximadamente 1 ml de PBS, el PBS se aspiró y se añadieron 495 μl de EMEM completo seguido de 5 μl de compuesto/pocillo. Las células se incubaron durante 22-24 hr. a 37°C y CO₂ al 5%.

45 *Preparación de los Productos Lisados Celulares*

El medio de cada pocillo se aspiró y se lavó una vez 1 x con DPBS. Las células se cosecharon en 100 μl de 1 x tampón de muestra Tris-SDS-BME (sistema de separación OWL, Portsmouth, New Hampshire, Núm. de cat ER33) y se transfirieron a tubos de microcentrífuga. Después se hirvió durante 3-5 min. para lisar las células. La carga se
50 realizó a 10 μl /pocillo sobre gel SDS-PAGE. Los productos lisados se resolvieron mediante electroforesis sobre 10 cm x 10 cm de SDS-PAGE al 12,5% (Owl Scientific, Núm. de cat. OG-0125B) gobernada a 30 mamp en tampón Tris-Glicina-SDS (Owl Scientific). Antes de su uso, la membrana PVDF (Immobilon-P; tamaño de poro 45 μm ; Millipore, Bedford, Massachusetts) se empapó en metanol del 100% durante 10 segundos y después la transferencia se colocó en agua destilada. Las proteínas se transfirieron a membranas de filtro de PVDF (0,45 μm , Millipore) a 108 mamp por
55 gel durante 90 minutos utilizando una cámara de electrotransferencia.

Detección de Proteínas mediante Transferencia Western ECF (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, England), Núm. de catálogo RPN 5780). Las membranas de filtro PVDF se bloquearon con reactivo de bloqueo al 5% (del kit) en ~10 ml de PBS que contenía Tween 20 al 0,05%, pH 7,4 (Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, Núm. de
60 cat. 3563) durante la noche a 2-4°C en un refrigerador. El día siguiente, las membranas se enjuagaron brevemente dos veces con TPBS que contenía tampón de lavado Tween 20 al 0,05%, después se lavó tres veces cada vez 5 min. en PBS que contenía Tween 20 al 0,05%, pH 7,4. Las membranas se incubaron en 12 ml de una dilución 1:3000 de anticuerpo monoclonal anti-GFP durante 30 minutos (Clontech, Palo Alto, California) en PBS que contenía Tween 20 al 0,05%,
65 pH 7,4 mientras se añadía al mismo tiempo BSA al 1% (Albúmina bovina Núm. de cat A-2153 de Sigma) para reducir el fondo. Las membranas se lavaron brevemente dos veces con TPBS, después tres veces, durante 5 min. cada vez, en tampón de lavado TPBS. Las membranas se incubaron en 12 ml de una dilución 1:600 de Ig anti-ratón unida a anti-fluoresceína en TPBS durante 30 minutos. Las membranas se lavaron brevemente con TPBS dos veces, después durante 5 min. en tampón de lavado TPBS tres veces. Para la amplificación de la señal con sustrato ECF las membranas

ES 2 317 900 T3

se incubaron en 10 ml de producto conjugado de fosfatasa alcalina con anti-fluoresceína 1:2500 durante 30 minutos. Las membranas se enjuagaron brevemente con TPBS dos veces, después 5 min. en tampón de lavado TPBS tres veces. La solución sustrato de ECF se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante (toma de alícuotas y congelación), las membranas se incubaron durante 2-3 minutos, el exceso de reactivo se escurrió, después, se transfirieron a papeles de filtro, se secaron al aire durante 9-10 minutos y después se sometieron a barrido.

Barrido de la membrana: La transferencia se colocó en el vidrio del escáner fluorescente Storm 860. Se puso el agente quimioluminescente azul, tamaño 200 píxeles, voltaje 700 PMT. El archivo se abrió en ImageQuant y se cuantificó creando cuadrados alrededor de las bandas que representan el sustrato (S), el producto (P) y el control interno (CI). El porcentaje de escisión del sustrato se midió como $P/(S+P) \times 100$. La inhibición de la escisión debida al fármaco se midió comparándola por duplicado con los controles de fármaco incluidos en cada transferencia. Se creó un informe en Excel. Los resultados se muestran en la Tabla 2. A partir de estos resultados, resultaría evidente para un experto en la técnica que los compuestos de la invención tienen una utilidad excelente como inhibidores de la serina proteasa NS3.

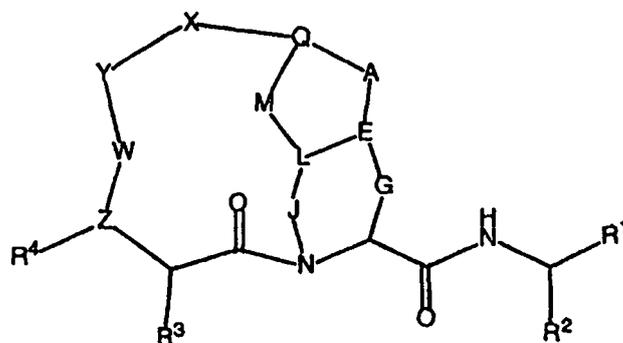
TABLA 2

Resultados del análisis basado en células del HCV

Número de Ejemplo	Análisis basado en células (μM)
1B	2
2	2
4A	2,5
4B	1,8
5	0,6
7B	7
8	3,5
12B	5,2
21	2
23	3
30	1
57B	1,5
58	2

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto macrocíclico, incluyendo enantiómeros; estereoisómeros, rotámeros y tautómeros de dicho compuesto, y las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, teniendo dicho compuesto la estructura general mostrada en la Fórmula I:



Fórmula I

donde:

X e Y se seleccionan independientemente entre los radicales: alquilo, alquil-arilo, heteroalquilo, heteroarilo, aril-heteroarilo, alquil-heteroarilo, cicloalquilo, éter alquílico, éter alquil-arílico, éter arílico, alquilamino, arilamino, alquil-arilamino, alquilsulfuro, alquilarilsulfuro, arilsulfuro, alquilsulfona, alquilarilsulfona, arilsulfona, alquil-alquilsulfóxido, alquil-arilsulfóxido, alquil-amida, alquil-arilamida, arilamida, alquilsulfonamida, alquil-arilsulfonamida, arilsulfonamida, alquilurea, alquil-arilurea, arilurea, alquilcarbamato, alquil-arilcarbamato, arilcarbamato, alquil-hidrazida, alquil-arilhidrazida, alquilhidroxamida, alquil-arilhidroxamida, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroalquilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquil-carbonilo, arilcarbonilo, heteroalquilcarbonilo, heteroarilcarbonilo, alcoxi-carbonilo, ariloxi-carbonilo, heteroariloxicarbonilo, alquilamino-carbonilo, arilaminocarbonilo, heteroaril-aminocarbonilo o una combinación de los mismos, con la condición de que X e Y pueden estar opcionalmente sustituidos adicionalmente con radicales seleccionados del grupo que consiste en aromático, alquilo, alquil-arilo, heteroalquilo, aril-heteroarilo, alquil-heteroarilo, cicloalquilo, éter alquílico, éter alquil-arílico, alquilsulfuro, alquilarilsulfuro, alquilsulfona, alquilarilsulfona, alquilamida, alquil-arilamida, alquilsulfonamida, alquilaminas, alquil-arilsulfonamida, alquilurea, alquil-arilurea, alquilcarbamato y alquil-arilcarbamato;

$R^1 = COR^5$ o $B(OR)_2$, donde $R^5 = H, OH, OR^8, NR^9R^{10}, CF_3, C_2F_5, C_3F_7, CF_2R^6, R^6, COR^7$ donde $R^7 = H, OH, OR^8, CHR^9R^{10},$ o NR^9R^{10} , donde R^6, R^8, R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, $CH(R^1)COOR^{11}, CH(R^1)CONR^{12}R^{13}, CH(R^1)CONHCH(R^2)COOR^{11}, CH(R^1)CONHCH(R^2)CONR^{12}R^{13}, CH(R^1)CONHCH(R^2)R^7, CH(R^1)CONHCH(R^2)CONHCH(R^3)COOR^{11}, CH(R^1)CONHCH(R^2)CONHCH(R^3)CONR^{12}R^{13}, CH(R^1)CONHCH(R^2)CONHCH(R^3)CONHCH(R^4)COOR^{11}, CH(R^1)CONHCH(R^2)CONHCH(R^3)CONHCH(R^4)CONR^{12}R^{13}, CH(R^1)CONHCH(R^2)CONHCH(R^3)CONHCH(R^4)CONHCH(R^5)COOR^{11}, H(R^1)CONHCH(R^2)CONHCH(R^3)CONHCH(R^4)CONHCH(R^5)CONR^{12}R^{13}$, donde $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^{11}, R^{12}, R^{13}$, y R^7 se seleccionan independientemente entre un grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquil-arilo, alquil-heteroarilo, aril-alquilo y heteroarilalquilo;

Z se selecciona entre O, N, o CH;

W puede estar presente o ausente, y si W está presente, W se selecciona entre C=O, C=S, o SO_2 ;

Q puede estar presente o ausente, y cuando Q está presente, Q es CH, N, P, $(CH_2)_p, (CHR)_p, (CRR')_p, O, NR, S,$ o SO_2 ; y cuando Q está ausente, M también está ausente, y A está unido directamente a X;

A es O, $CH_2, (CHR)_p, (CHR-CHR')_p, (CRR')_p, NR, S, SO_2$ o un enlace;

E es CH, N o CR, o un enlace doble hacia A, L o G;

G puede estar presente o ausente, y cuando G está presente, G es $(CH_2)_p, (CHR)_p,$ o $(CRR')_p$; y cuando G está ausente, J está presente y E está conectado directamente al átomo de carbono donde también se conectó G;

ES 2 317 900 T3

J puede estar ausente o presente, y cuando J está presente, J es $(\text{CH}_2)_p$, $(\text{CHR})_p$, o $(\text{CRR}')_p$, SO_2 , NH , NR o O ; y cuando J está ausente, G está presente y E está conectado directamente a N;

L puede estar presente o ausente, y cuando L está presente, L es CH, CR, O, S o NR; y cuando L está ausente, M puede estar ausente o presente, y si M está presente estando ausente L, M está unido directamente e independientemente a E, y J está unido directamente e independientemente a E;

M puede estar presente o ausente, y cuando M está presente, M es O, NR, S, SO_2 , $(\text{CH}_2)_p$, $(\text{CHR})_p$, $(\text{CHR-CHR}')_p$, o $(\text{CRR}')_p$;

p es un número de 0 a 6; y

R, R', R², R³ y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H; alquilo C₁-C₁₀; alqueno C₂-C₁₀; cicloalquilo C₃-C₈; heterocicloalquilo C₃-C₈, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro; átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo numerándose dichos átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo de cero a seis;

(cicloalquil)alquilo y (heterocicloalquil)alquilo, donde dicho cicloalquilo está formado por tres a ocho átomos de carbono, y cero a seis átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, o fósforo átomos, y dicho alquilo tiene de uno a seis átomos de carbono; arilo; heteroarilo; alquil-arilo; y alquil-heteroarilo;

pudiendo estar sustituidos opcionalmente dichos radicales alquilo, heteroalquilo, alqueno, heteroalqueno, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, refiriéndose dicho término "sustituido" a la sustitución opcional y adecuada con uno o más radicales seleccionados del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterocíclico, halógeno, hidroxilo, tio, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro, sulfonamida, sulfóxido, sulfona, sulfonilurea, hidrazida, e hidroxamato.

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R¹ = COR⁵, y R⁵ es H, OH, COOR⁸, CONR⁹R¹⁰.

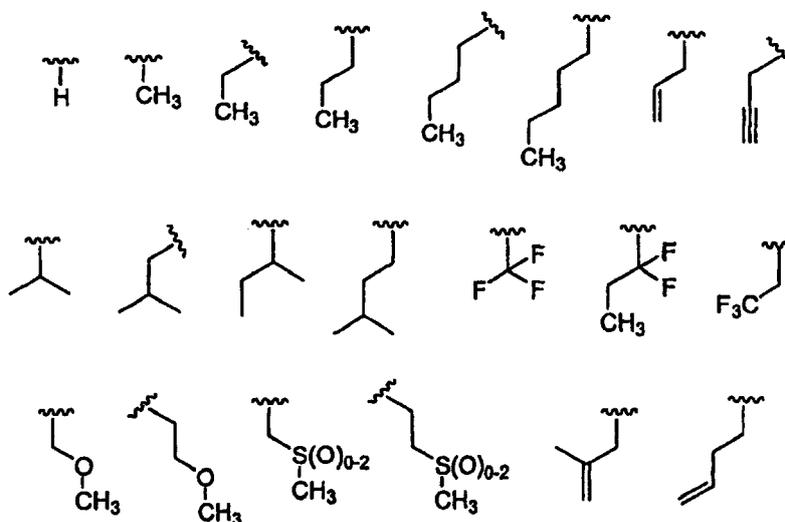
3. El compuesto de la reivindicación 2, donde R¹ = COCONR⁹R¹⁰, y R⁹ es H, R¹⁰ es H, CH(R^{1'})COOR¹¹, CH(R^{1'})CONR¹²R¹³, CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR¹¹, CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR¹²R¹³, CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})(R^{''}).

4. El compuesto de la reivindicación 3, donde R¹⁰ = CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR¹¹, CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR¹²R¹³, CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})(R^{''}), donde R^{1'} es H o alquilo, y R^{2'} es fenilo, fenilo sustituido, heteroátomo-fenilo sustituido, tiofenilo, ciclohexilo, ciclopentilo, ciclopropilo, piperidilo, piridilo y 2-indanilo.

5. El compuesto de la reivindicación 4, donde R^{1'} es H.

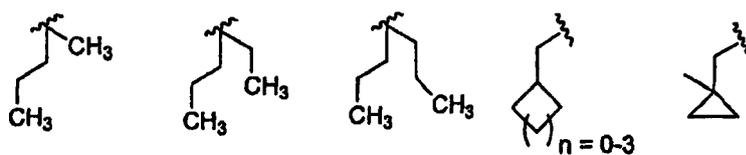
6. El compuesto de la reivindicación 5, donde R^{2'} = fenilo, tiofenilo, ciclohexilo, 2-indanilo, ciclopentilo, piridilo, fenil(4-HNSO₂NH₂), R¹¹ es H o *terc*-butilo, R¹² y R¹³ son metilo, y R^{''} es hidroximetilo o *terc*-butoximetilo.

7. El compuesto de la reivindicación 1, donde R² se selecciona del grupo que consiste en los siguientes radicales:

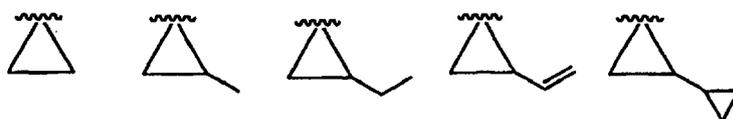


ES 2 317 900 T3

5



10



15

8. El compuesto de la reivindicación 7, donde $R^1 = COR^5$, y R^5 es H, OH, $COOR^8$, $CONR^9R^{10}$.

9. El compuesto de la reivindicación 8, donde L y M están ausentes, J está conectado directamente a E.

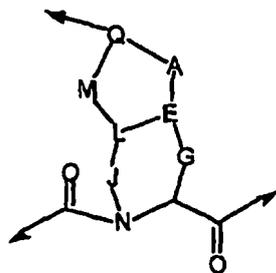
10. compuesto de la reivindicación 8, donde L, J y M están ausentes, E está conectado directamente a N.

20

11. El compuesto de la reivindicación 8, donde G y M están ausentes.

12. El compuesto de la reivindicación 8, donde el radical:

25

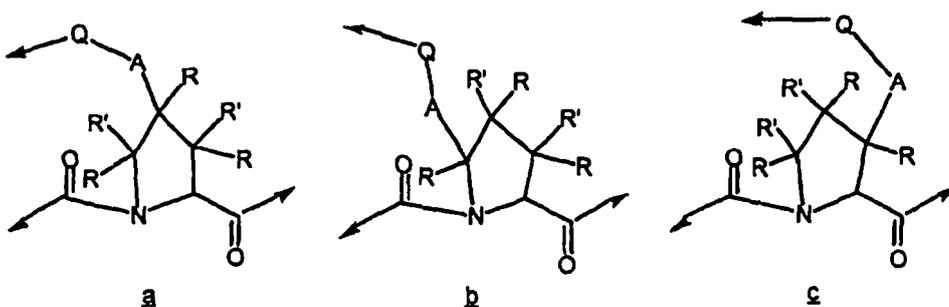


30

35

se selecciona del grupo que consiste en las siguientes estructuras a, b, o c:

40

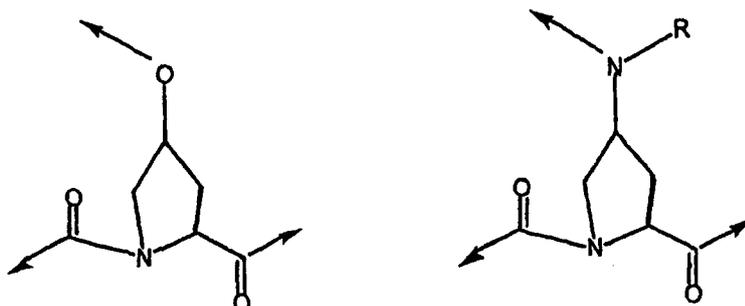


45

50

13. El compuesto de la reivindicación 12, donde la estructura a se selecciona entre las siguientes estructuras:

55

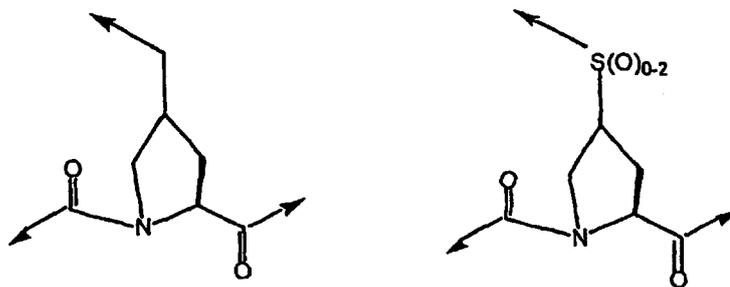


60

65

5

10

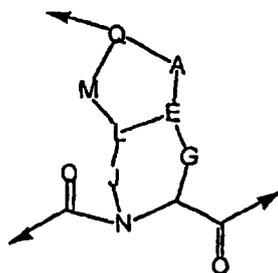


15

14. El compuesto de la reivindicación 8, donde:

20

25



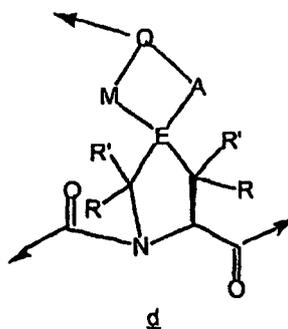
30

es

35

40

45



donde M puede estar ausente o presente, y si M está ausente, Q está unido a E.

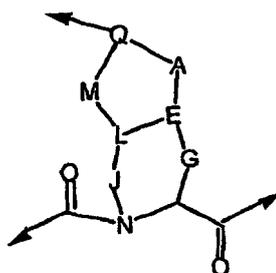
50

15. El compuesto de la reivindicación 8, donde:

55

60

65

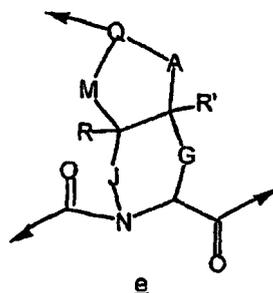


es

5

10

15



donde G y J se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, y $(CRR')_p$; A y M se seleccionan independientemente del grupo que consiste en O, S, SO_2 , NR, $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, y $(CRR')_p$; y Q es CH, CR, o N.

20

16. compuesto de la reivindicación 8, donde G y J se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, y $(CRR')_p$; y el radical A-E-L-M-Q es un anillo aromático que consiste en dos a ocho átomos de carbono, cero a seis heteroátomos estando X y J en *orto*, *para* o *meta* entre sí.

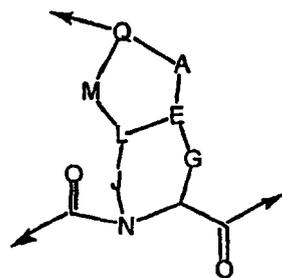
25

17. El compuesto de la reivindicación 16, donde:

30

35

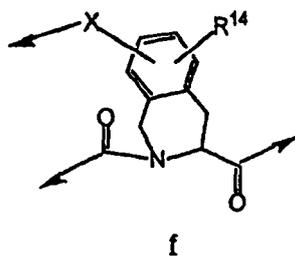
40



es

45

50



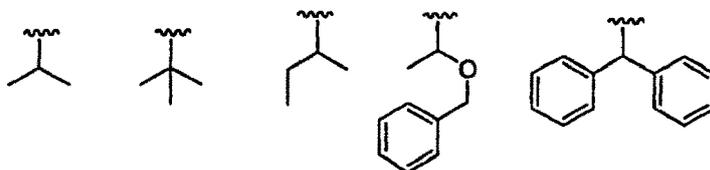
donde R^{14} se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquil-arilo, alquil-heteroarilo, aril-alquilo y heteroaralquilo.

55

18. El compuesto de la reivindicación 1, donde R^3 se selecciona del grupo que consiste en:

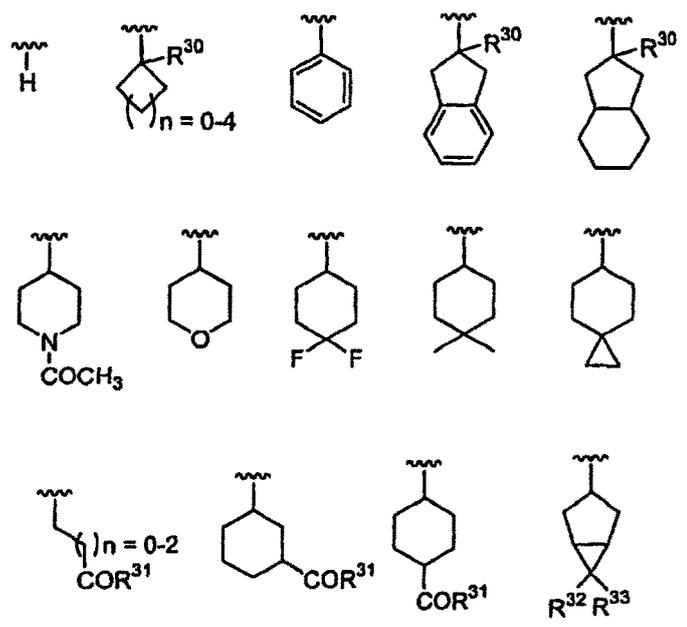
60

65



ES 2 317 900 T3

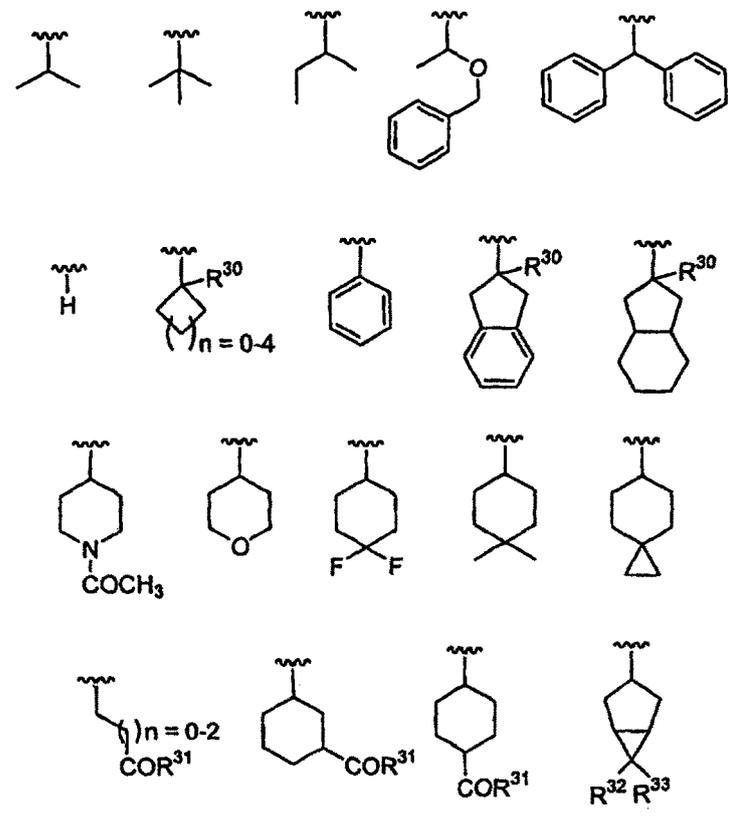
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



donde

$\text{R}^{30} = \text{H}, \text{CH}_3$ u otros grupos alquilo;
 $\text{R}^{31} = \text{OH}, \text{O-alquilo}, \text{NH}_2, \text{N-alquilo};$ y
 R^{32} y R^{33} pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente entre $\text{H}, \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$ y CH_3 .

19. El compuesto de la reivindicación 8, donde R^3 se selecciona del grupo que consiste en:



donde

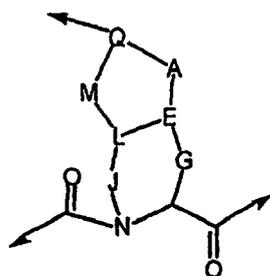
$R^{30} = H, CH_3$ u otros grupos alquilo;

5 $R^{31} = OH, O$ -alquilo, NH_2, N -alquilo; y

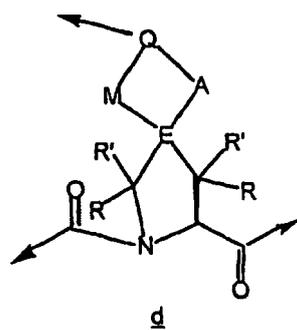
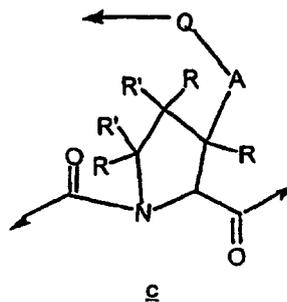
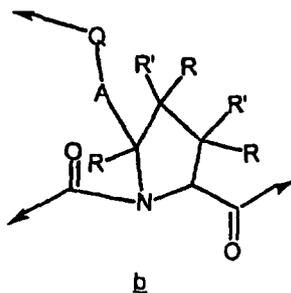
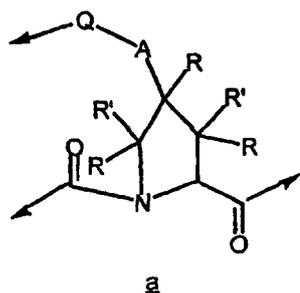
R^{32} y R^{33} pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan independientemente entre

10 H, F, Cl, Br y CH_3 ,

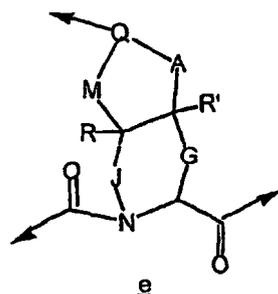
y el radical:



25 se selecciona entre una de las siguientes estructuras a, b, c, d, e, y f:



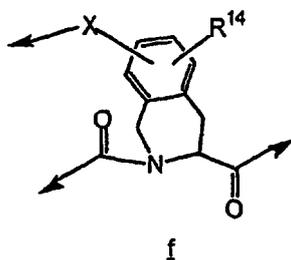
55 donde M puede estar ausente o presente, y si M está ausente, Q está unido a E;



ES 2 317 900 T3

donde G y J se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, y $(CRR')_p$; A y M se seleccionan independientemente del grupo que consiste en O, S, SO_2 , NR, $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, o $(CRR')_p$, Q es CH, CR, o N; y

5



10

f

15

20. Un compuesto de la reivindicación 19, donde $Z = N$ y $R^4 = H$.

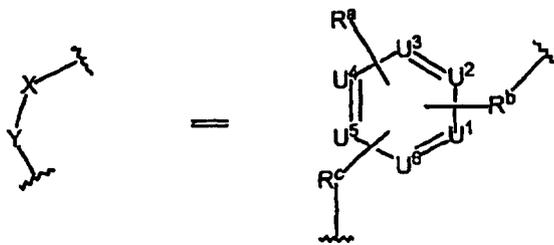
21. Un compuesto de la reivindicación 20, donde W es C=O.

20

22. Un compuesto de la reivindicación 21, donde el radical X-Y se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C_1-C_6 , O-alquilo, NR-alquilo.

23. Un compuesto de la reivindicación 21, donde:

25



30

35 donde

R^b está conectado directamente a Q si Q está presente o a A si Q está ausente; R^c está conectado a W; U^1 a U^6 pueden ser parte de un anillo carbonado de seis miembros, o un anillo de cinco o seis miembros con uno o más heteroátomos;

40

$R^a = H$, alquilo, alcoxi, hidroxilo, tio, halógeno, nitro, ciano, ácido carboxílico, éster, amida, amino, nitrilo, o CF_3 ;

R^b es un enlace, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , O, S, SO_2 , NH, O(alquilo), S(alquilo), SO_2 (alquilo) o N(alquilo); y

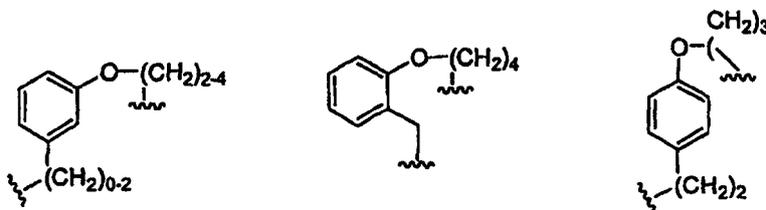
45

R^c es un enlace, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , O, S, SO_2 , NH, O(alquilo), S(alquilo), SO_2 (alquilo), N(alquilo) o CH_2-N (alquilo) estando CH_2 unido al anillo aromático.

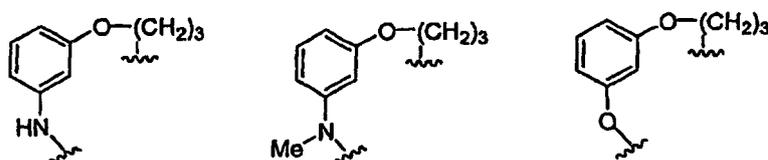
50

24. Un compuesto de la reivindicación 21, donde el radical X-Y se selecciona del grupo que consiste en las siguientes estructuras:

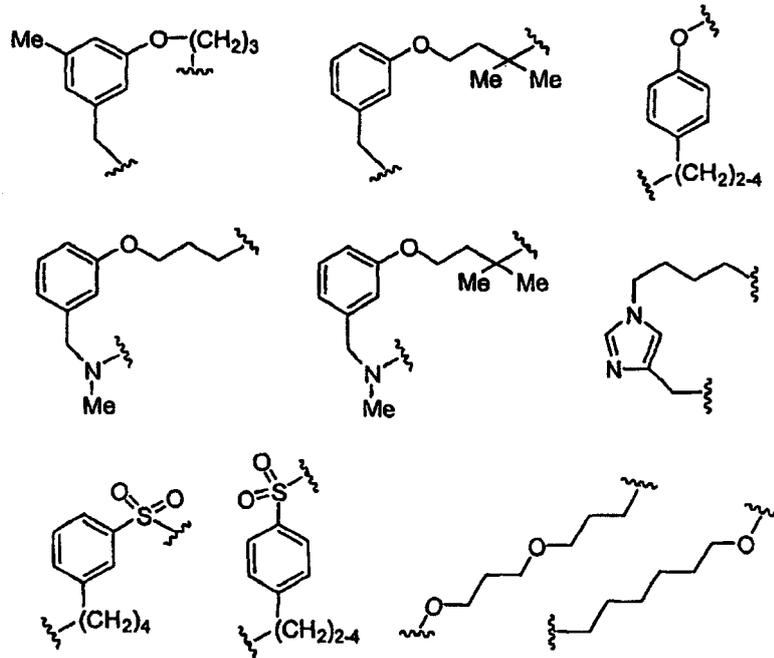
55



60



65



25. Una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo un compuesto de la reivindicación 1.

26. La composición farmacéutica de la reivindicación 25, para su uso en el tratamiento de trastornos asociados con el HCV.

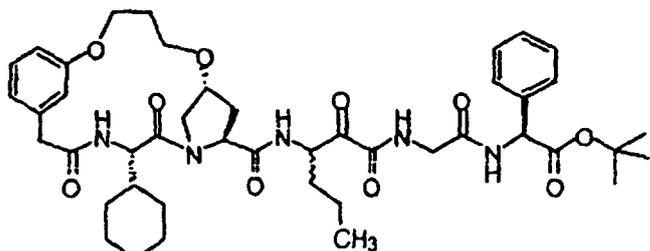
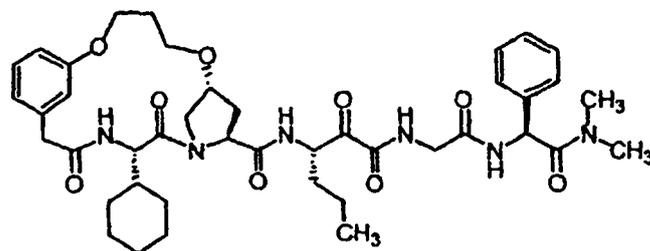
27. La composición farmacéutica de la reivindicación 25, que comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.

28. Un compuesto de la reivindicación 1, para el tratamiento de la hepatitis C.

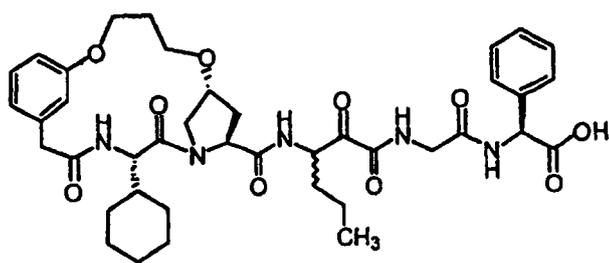
29. El uso de un compuesto de la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para tratar la hepatitis C.

30. Un método para preparar una composición farmacéutica para tratar los trastornos asociados con la proteasa de HCV, comprendiendo dicho método poner en estrecho contacto un compuesto de la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.

31. Un compuesto de la reivindicación 1 que muestra actividad inhibidora de la proteasa de HCV, incluyendo enantiómeros, estereoisómeros y tautómeros de dicho compuesto, y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, estando seleccionado dicho compuesto de los compuestos de estructuras enumeradas más abajo:

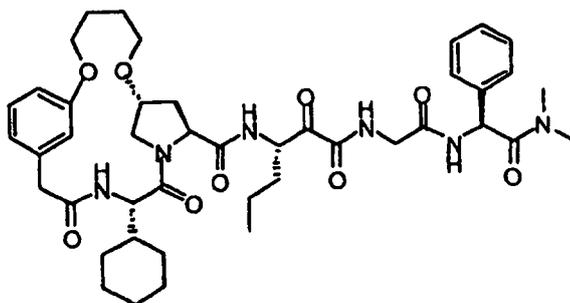


5



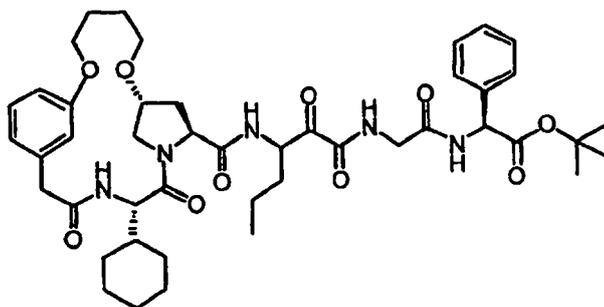
10

15



20

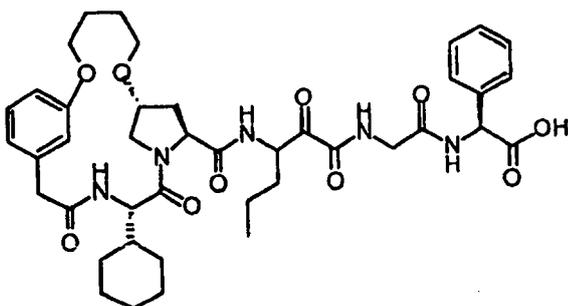
25



30

35

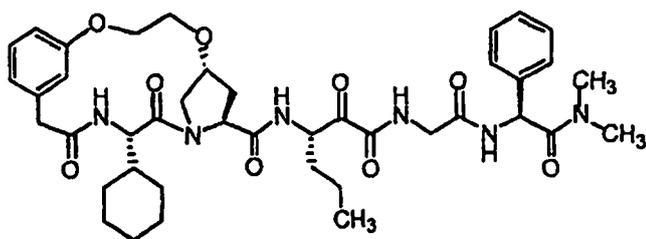
40



45

50

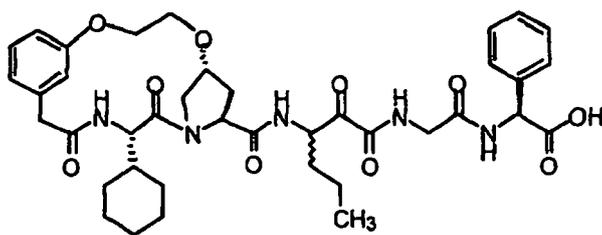
55



60

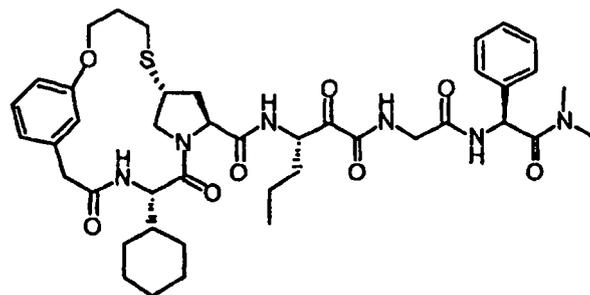
65

5



10

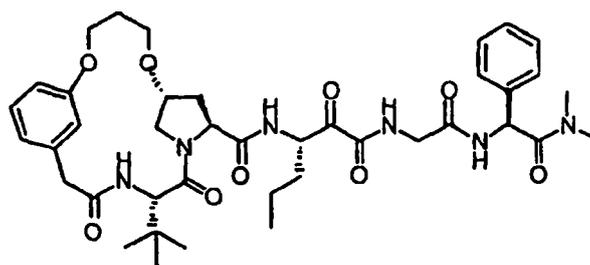
15



20

25

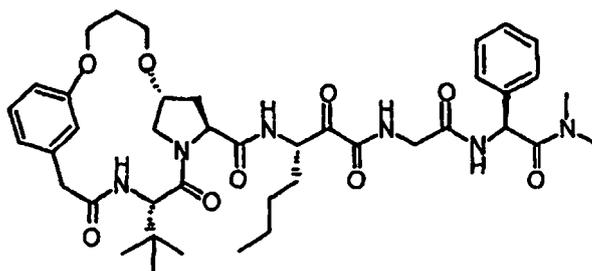
30



35

40

45



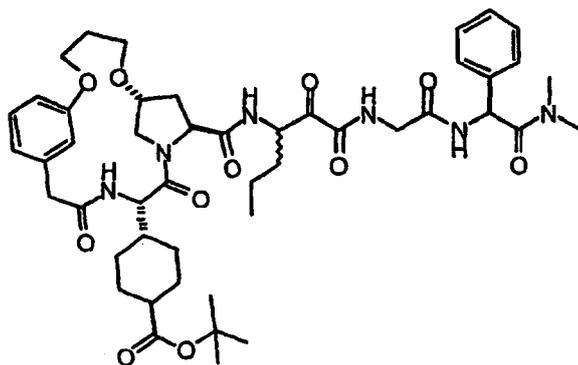
50

55

60

65

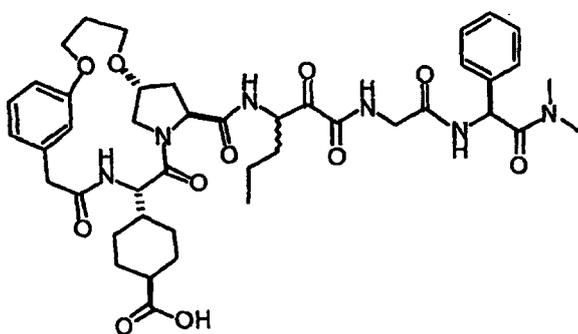
5



10

15

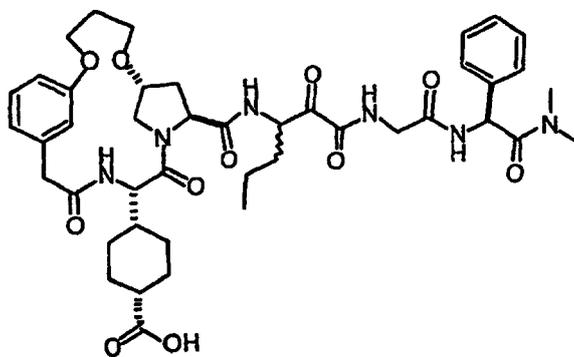
20



25

30

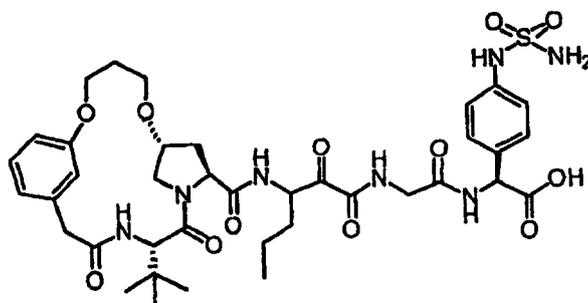
35



40

45

50

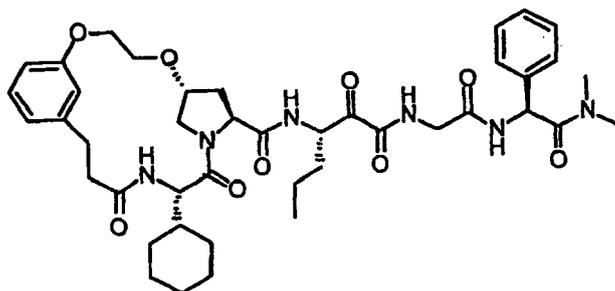


55

60

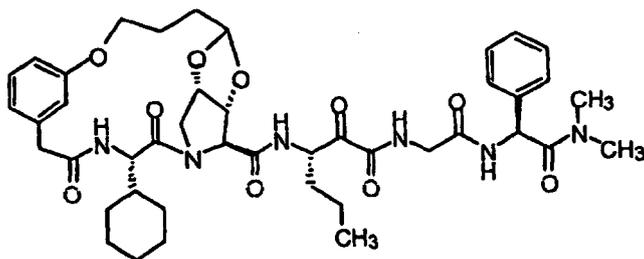
65

5



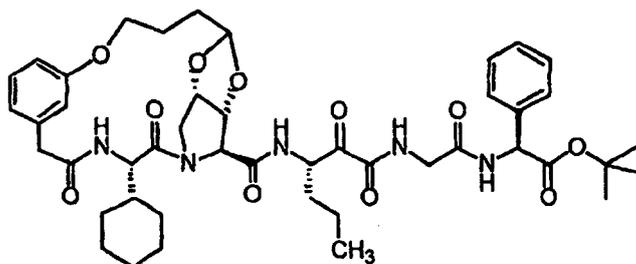
10

15



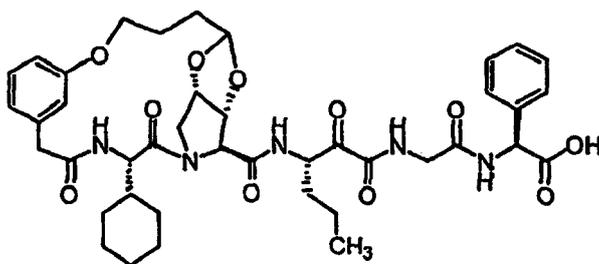
20

25



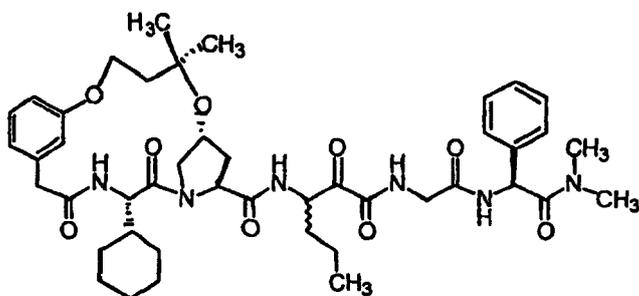
35

40



45

50

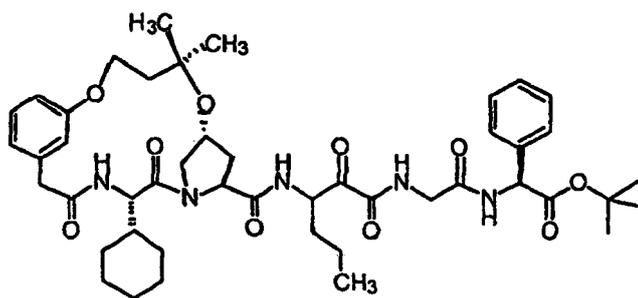


55

60

65

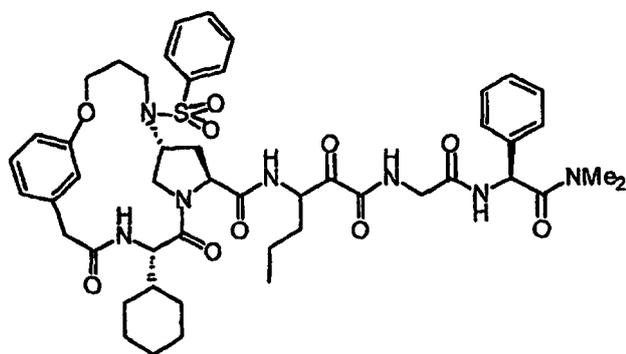
5



10

15

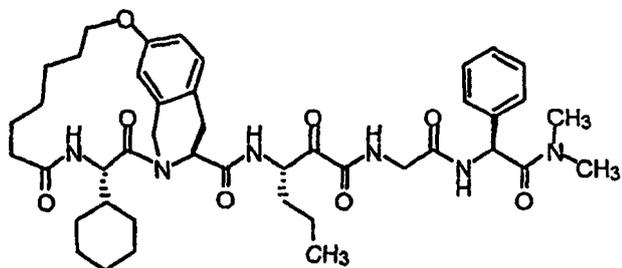
20



25

30

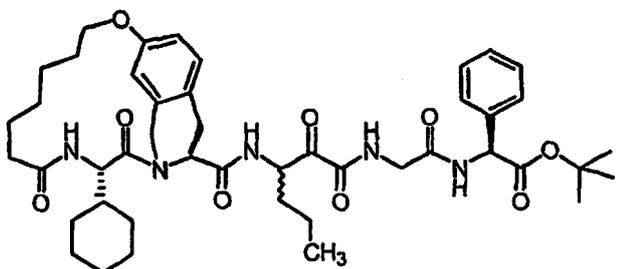
35



40

45

50



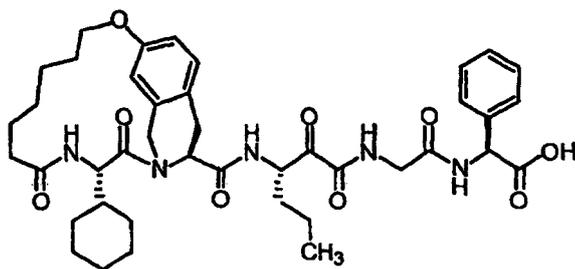
55

60

65

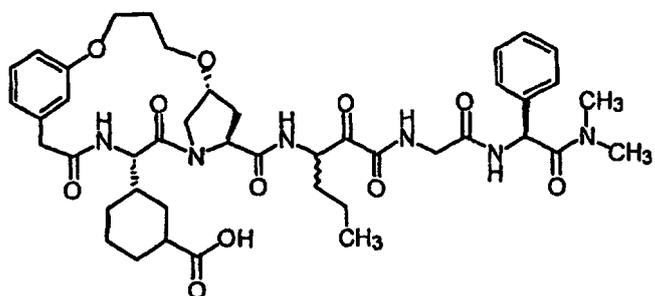
5

10



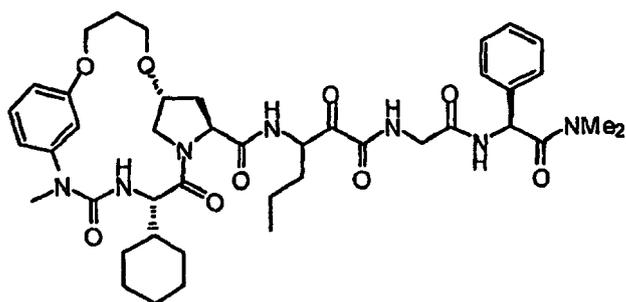
15

20



25

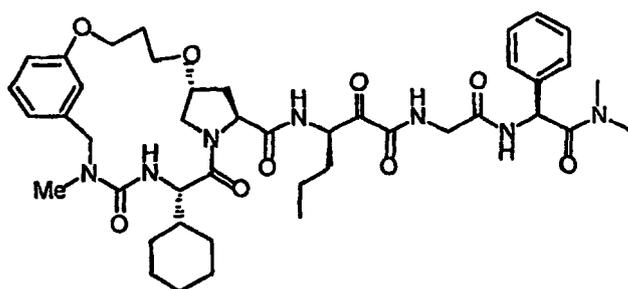
30



35

40

45



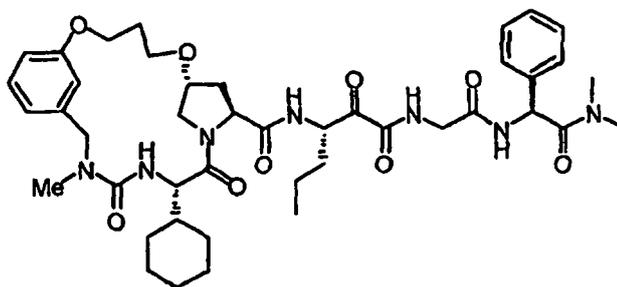
50

55

60

65

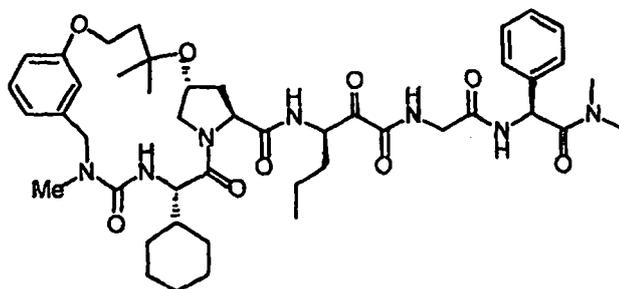
5



10

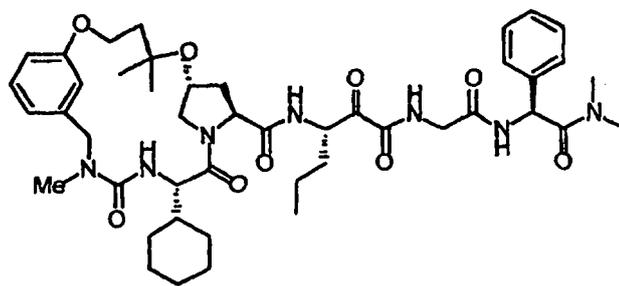
15

20



25

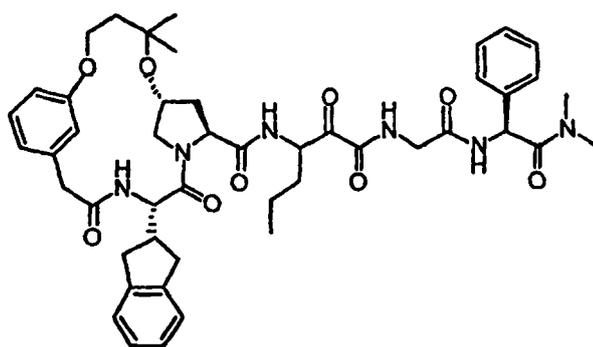
30



35

40

45



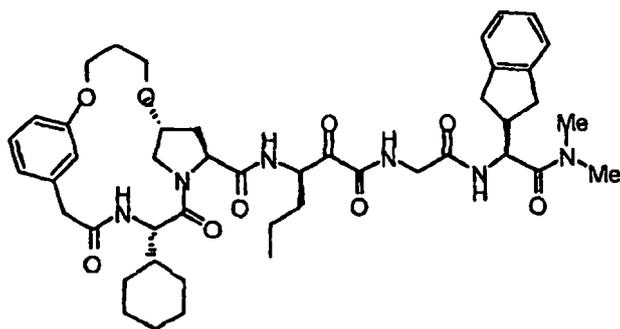
50

55

60

65

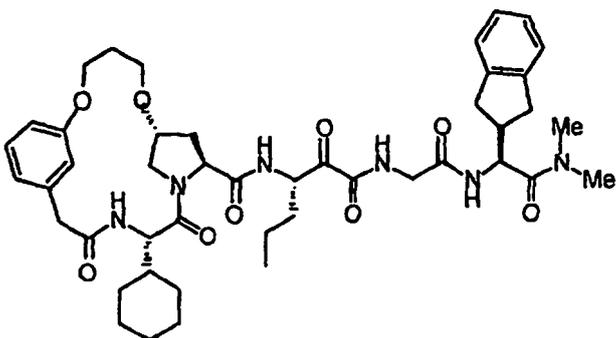
5



10

15

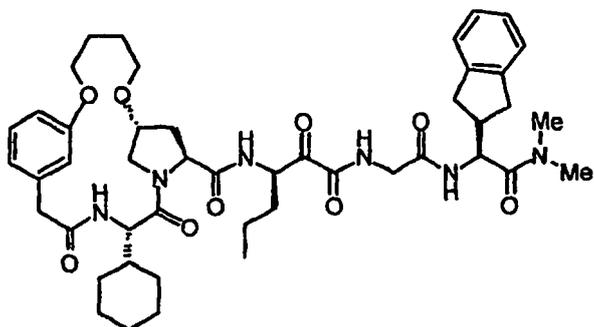
20



25

30

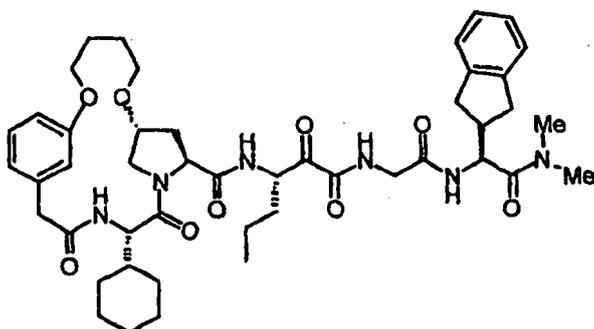
35



40

45

50

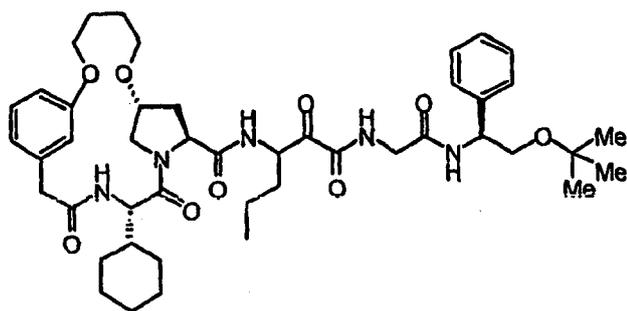


55

60

65

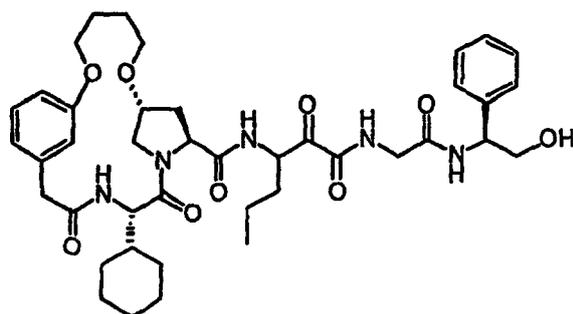
5



10

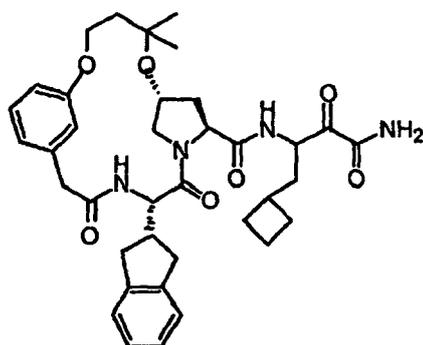
15

20



25

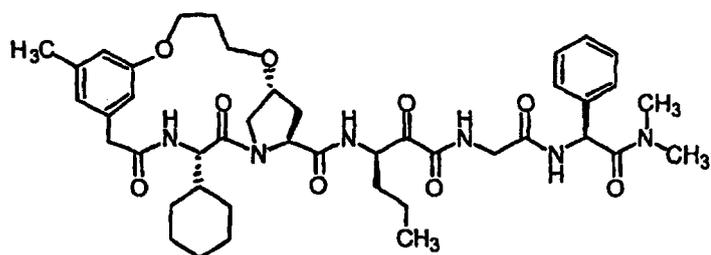
30



35

40

45



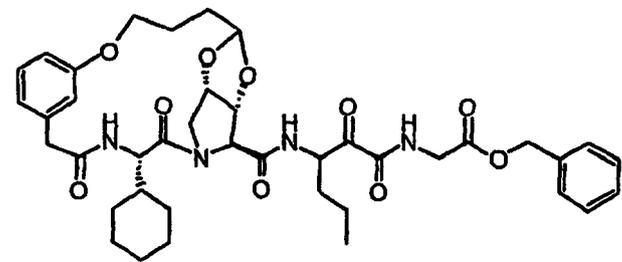
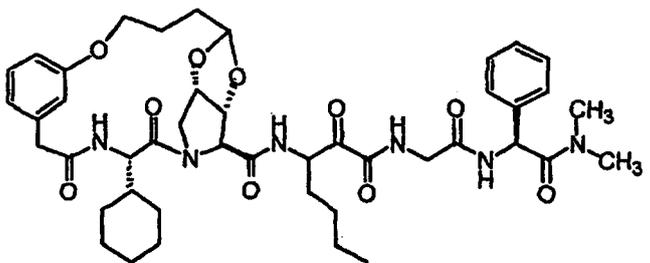
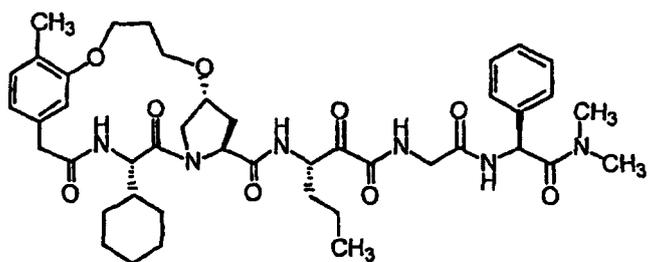
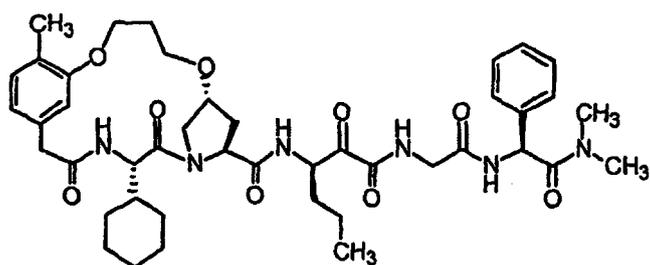
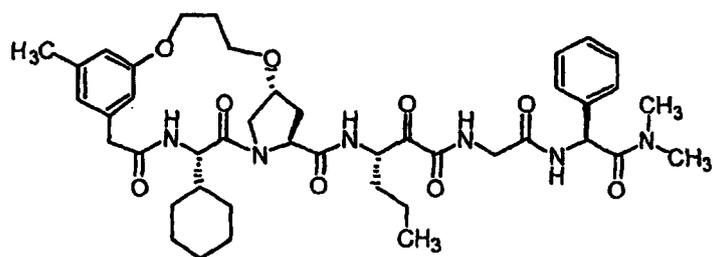
50

55

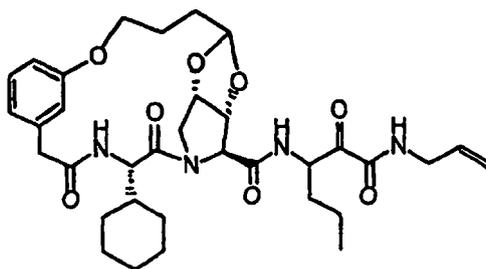
60

65

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

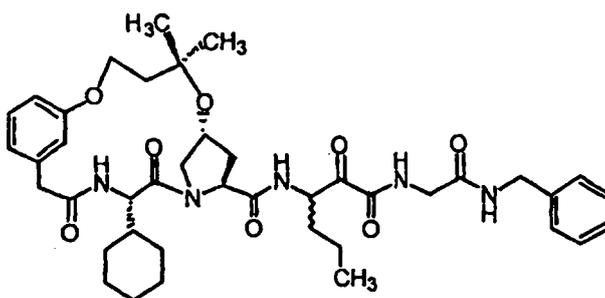


5



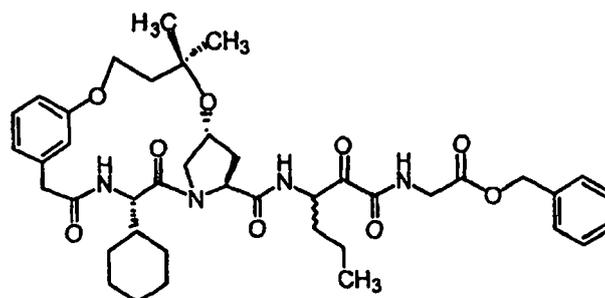
10

15



20

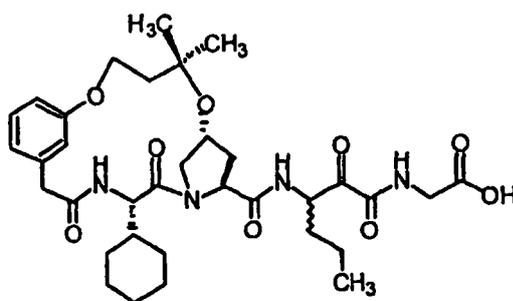
25



30

35

40



45

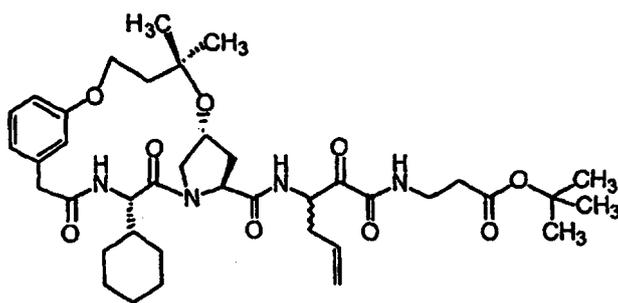
50

55

60

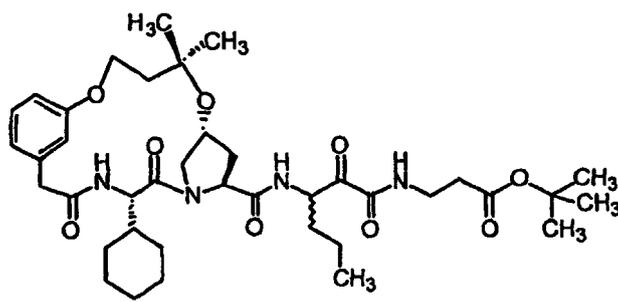
65

5



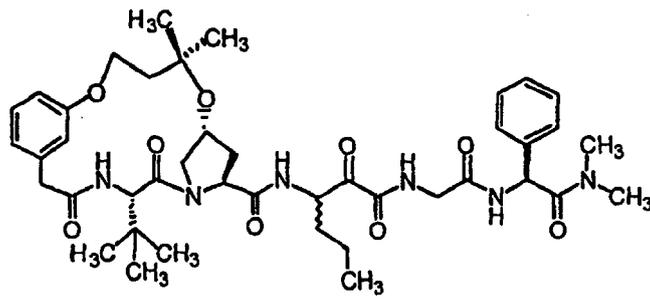
10

15



20

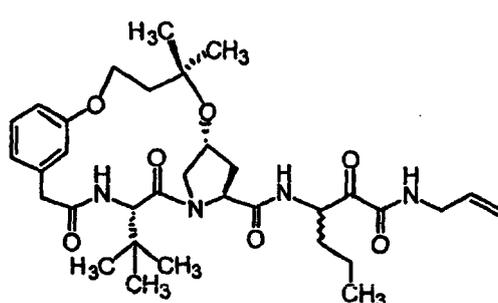
25



30

35

40



45

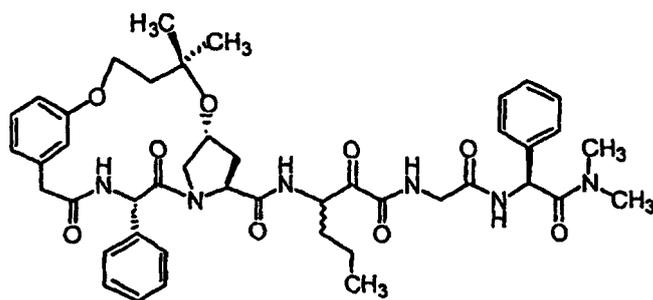
50

55

60

65

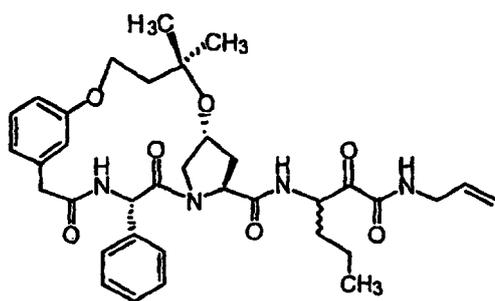
5



10

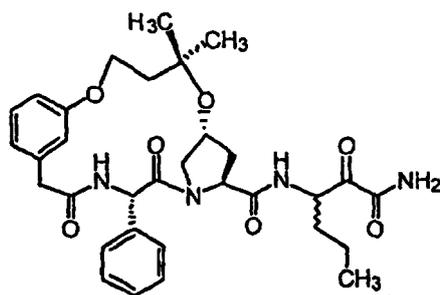
15

20



25

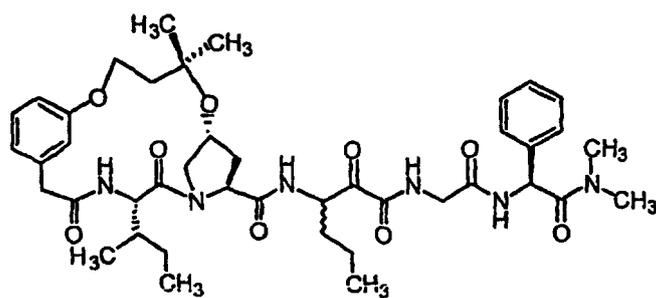
30



35

40

45



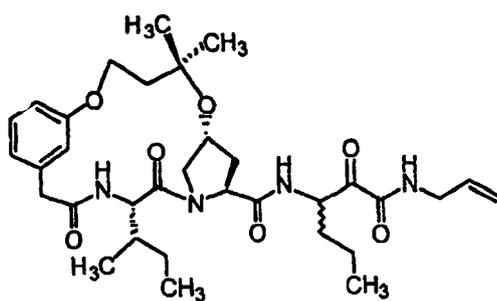
50

55

60

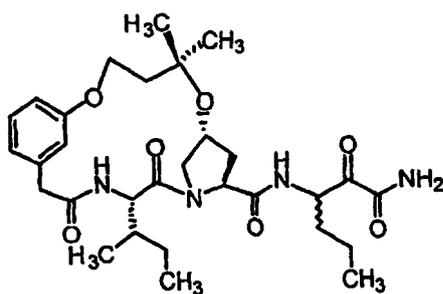
65

5



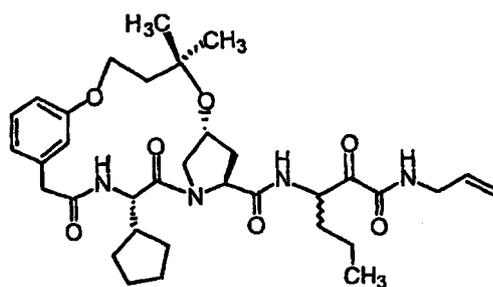
10

15



20

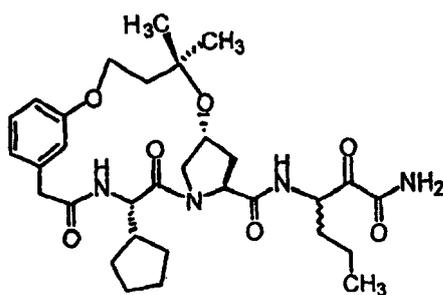
25



30

35

40



45

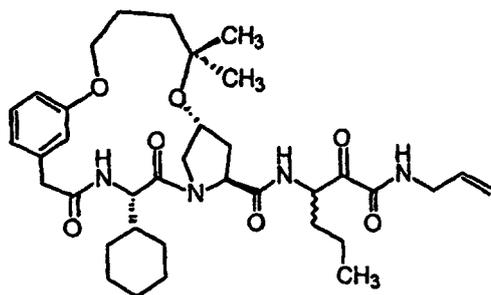
50

55

60

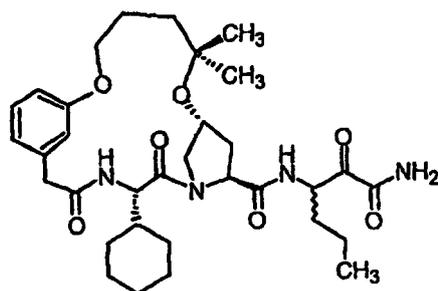
65

5



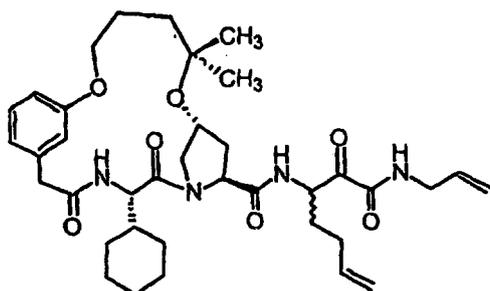
10

15



20

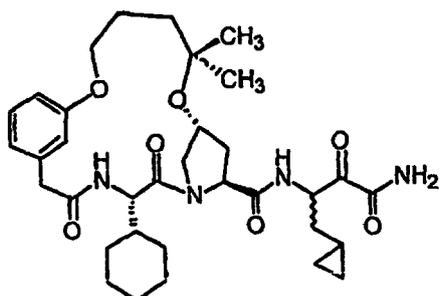
25



30

35

40



45

50

55

32. Una composición farmacéutica de la reivindicación 25 para tratar trastornos asociados con la proteasa de HCV, comprendiendo dicha composición una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de la reivindicación 31 y un portador farmacéuticamente aceptable.

60

33. La composición farmacéutica de la reivindicación 32, que contiene adicionalmente un agente antiviral.

34. La composición farmacéutica de la reivindicación 32 o la reivindicación 33, que contiene adicionalmente un interferón.

65

35. La composición farmacéutica de la reivindicación 34, donde dicho agente antiviral es la ribavirina y dicho interferón es el interferón α .