



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 344 890**

51 Int. Cl.:

C07K 5/062 (2006.01)

C07K 5/065 (2006.01)

A61K 38/55 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03731956 .3**

96 Fecha de presentación : **16.01.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1481000**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.12.2004**

54 Título: **Nuevos péptidos como inhibidores de la serina proteasa NS3 del virus de la hepatitis C.**

30 Prioridad: **18.01.2002 US 52386**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.09.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.09.2010

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

72 Inventor/es:
Saksena, Anil, K.; Girijavallabh, Viyyoor, M.;
Lovey, Raymond, G.; Jao, Edwin;
Bennett, Frank; Mc Cormick, Jinping, L.;
Wang, Haiyan; Pike, Russell, E.;
Bogen, Stephane, L.; Chan, Tin-Yau;
Liu, Yi-Tsung; Zhu, Zhaoning;
Njoroge, George, F.; Arasappan, Ashok;
Parekh, Tejal; Ganguly, Ashit, K.;
Chen, Kevin, X.; Venkatraman, Srikanth;
Vaccaro, Henry, A.; Pinto, Patrick A.;
Santhanam, Bama; Kemp, Scott Jeffrey;
Levy, Odile Esther; Lim-Wilby, Marguerita;
Tamura, Susan Y.; Wu, Wanli;
Hendratta, Siska; Huang, Yuhua;
Wong, Jesse K. y Nair, Latha G.

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Nuevos péptidos como inhibidores de la serina proteasa NS3 del virus de la hepatitis C.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de proteasa del virus de la hepatitis C ("VHC"), a composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de dichos inhibidores, a métodos para preparar dichos inhibidores y al uso de dichos inhibidores para tratar la hepatitis C y trastornos relacionados. Esta invención describe específicamente nuevos compuestos peptídicos como inhibidores de la serina proteasa NS3/NS4a del VHC.

Antecedentes de la invención

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus ARN monocatenario homosentido (+) que se ha implicado como el principal agente causante de la hepatitis no A, no B (HNANB), en particular la HNANB asociada con la sangre (BB-NANBH) (véase, publicación de solicitud internacional de patente n° WO 89/04669 y publicación de la solicitud europea de patente n° EP 381216). Hay que diferenciar la HNANB de otros tipos de enfermedades hepáticas inducidas por virus, tales como por el virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis delta (VHD), citomegalovirus (CMV) y virus de Epstein-Barr (VEB), así como de otras formas de enfermedades hepáticas tales como alcoholismo y cirrosis biliar primaria.

Recientemente, se ha identificado, clonado y expresado una proteasa del VHC necesaria para el procesamiento de polipéptidos y la replicación vírica; (véase, p. ej., la patente de EE.UU. 5.712.145). Esta poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos contiene, desde el extremo amino al extremo carboxi, una proteína de nucleocápsida (C), proteínas de la envuelta (E1 y E2) y varias 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 del VHC, y tiene dos dominios distintos: (a) un dominio de serina proteasa que consiste en aproximadamente 200 de los aminoácidos N-terminales; y (b) un dominio de ATPasa dependiente de ARN en el extremo C de la proteína. La proteasa NS3 se considera un miembro de la familia de quimotripsinas debido a las similitudes de la secuencia de la proteína, la estructura tridimensional general y el mecanismo de catálisis. Otras enzimas de tipo quimotripsina son elastasa, factor Xa, trombina, tripsina, plasmina, uroquinasa, tPA y PSA. La serina proteasa NS3 del VHC es responsable de la proteólisis del polipéptido (poliproteína) en las uniones NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a y NS5a/NS5b y por lo tanto es responsable de la generación de 4 proteínas víricas durante la replicación vírica. Esto ha hecho que la serina proteasa NS3 del VHC sean un objetivo atractivo para la quimioterapia antivírica.

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

El análisis de los sitios de escisión naturales de la proteasa del VHC puso de manifiesto la presencia de cisteína en P1 y serina en P1' y que estos restos están estrictamente conservados 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 da cuenta del requisito de procesamiento en *cis* en lugar de en *trans* en esta unión. Véase, 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 también 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 los restos ácidos en la región secuencia arriba del sitio de escisión son necesarios para una escisión eficaz. Véase, p. ej., Komoda *et al.* (1994) *J. Virol.* 68:7351-7357.

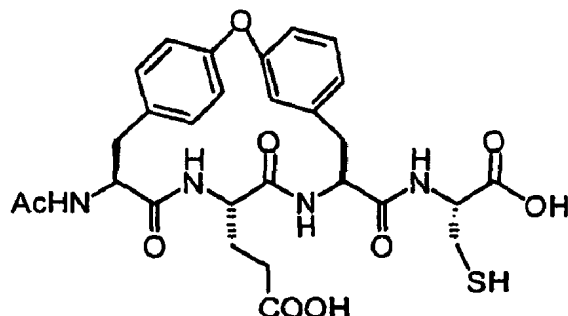
Los inhibidores de la proteasa del VHC que se han descrito incluyen antioxidantes (véase, la publicación de solicitud internacional de patente n° WO 98/14181), algunos péptidos y análogos de péptidos (véase, la publicación de solicitud internacional de patente n° WO 98/17679, Landro *et al.* (1997) *Biochem.* 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 eglina c de 70 aminoácidos (Martin *et al.* (1998) *Biochem.* 37:11459-11468, inhibidores de afinidad seleccionados del inhibidor del secretor pancreático de tripsina humana (hPSTI-C3) y repertorios de mini-cuerpos (MBip) (Dimasi *et al.* (1997) *J. Virol.* 71:7461-7469), cV_HE2 (un fragmento de anticuerpo de dominio variable "camelizado") (Martin *et al.* (1997) *Protein Eng.* 10:607-614), y α 1-antiquimotripsina (ACT) (Elzouki *et al.* (1997) *J. Hepat.* 27:42-28). Recientemente se ha descrito un ribozima diseñado para destruir selectivamente el ARN del virus de la hepatitis C (véase, *BioWorld Today* 9(217): 4 (10 de noviembre, 1998)).

También se hace referencia a las publicaciones PCT n° WO 98/17679, publicada el 30 de abril, 1998 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496, publicada el 28 de mayo, 1998 (F. Hoffmann-La Roche AG); y WO 99/07734, publicada el 18 de febrero, 1999 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd.).

El VHC se ha implicado en la cirrosis del hígado y en la inducción del carcinoma hepatocelular. El pronóstico para pacientes que padecen de infección por el VHC actualmente es pobre. La infección por el VHC es más difícil de tratar que otras formas de hepatitis debido a la falta de inmunidad o de remisión asociada con la infección por el VHC. Los datos actuales indican una tasa de supervivencia menor del 50% para los cuatro años posteriores al

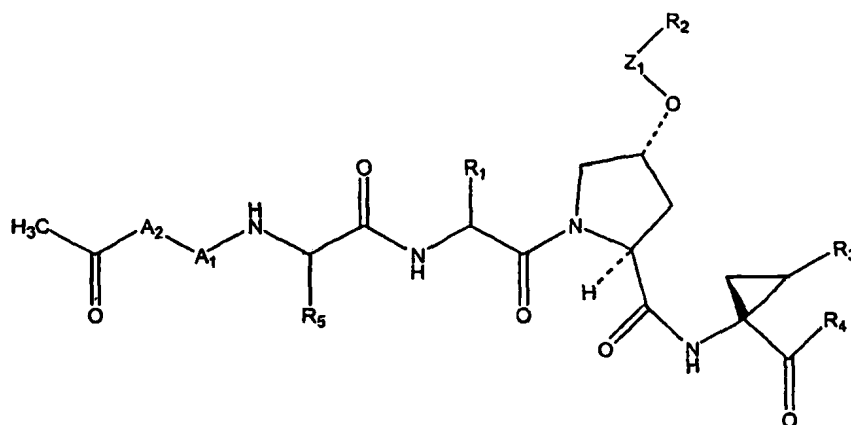
diagnóstico de la cirrosis. Los pacientes diagnosticados de carcinoma hepatocelular localizado operable tienen una tasa de supervivencia de 5 años de 10-30%, mientras que los de carcinoma hepatocelular localizado no operable tienen una tasa de supervivencia de 5 años menor de 1%.

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

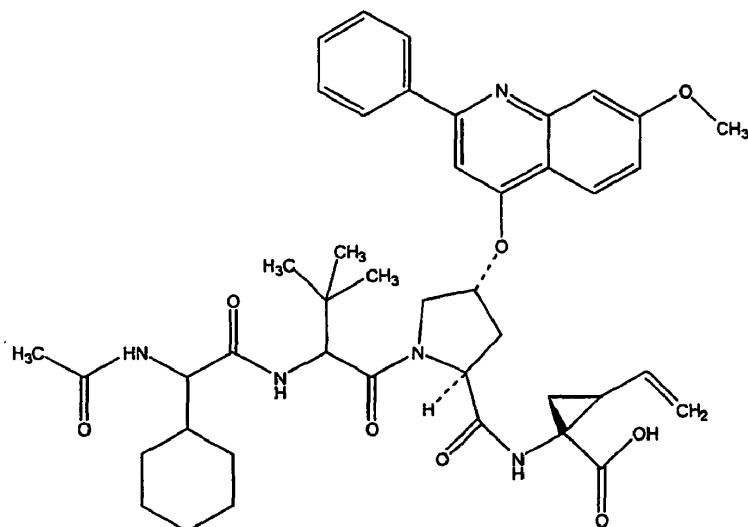


Se hace referencia a W. Han *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.*, (2000) 10, 711-713, que describen la preparación de determinadas α -cetoamidas, α -cetoésteres y α -dicetonas que contienen los grupos funcionales alilo y etilo.

- 25 También se hace referencia al documento WO 00/09558 (Cesionario: Boehringer Ingelheim Limited; publicada el 24 de febrero, 2000) que describe derivados peptídicos de fórmula:

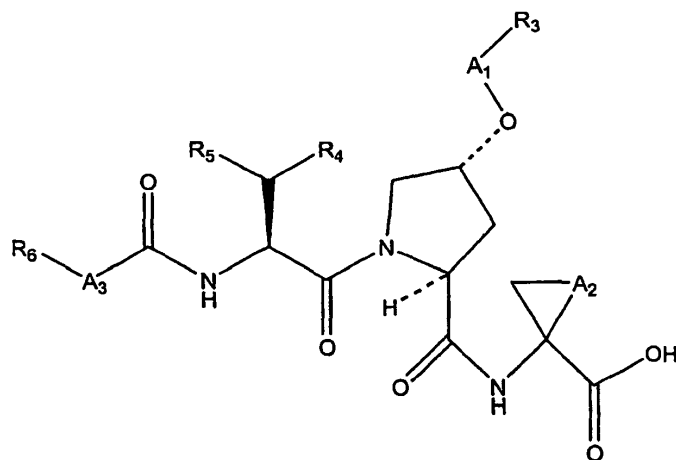


en la que se definen en la misma los diferentes elementos. Un compuesto ilustrativo de esta serie es:

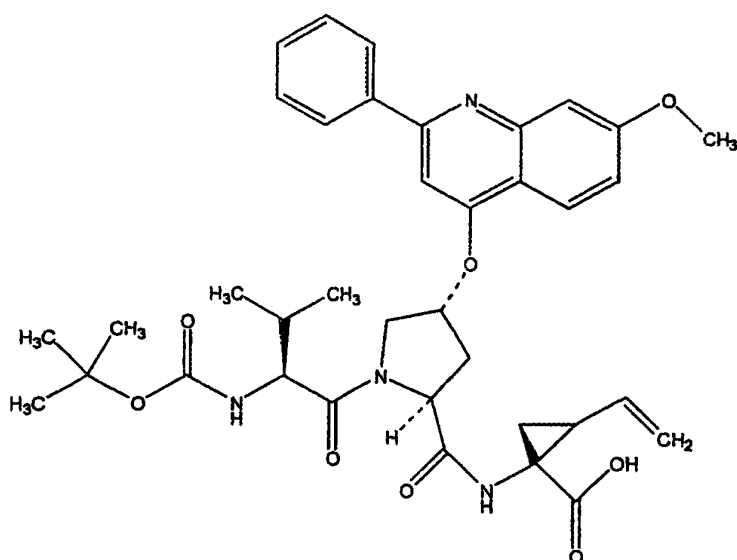


ES 2 344 890 T3

También se hace referencia al documento WO 00/09543 (Cesionario: Boehringer Ingelheim Limited; publicada el 24 de febrero, 2000) que describe derivados peptídicos de fórmula:



en la que se definen en la misma los diferentes elementos. Un compuesto ilustrativo de esta serie es:



Las terapias actuales para la hepatitis C incluyen el interferón- α (INF_α) y la terapia de combinación con ribavirina e interferón. Véase, p. ej., Berenguer *et al.* (1998) *Proc. Assoc. Am. Physicians* 110(2):98-112. Estas terapias tienen una velocidad de respuesta sostenida baja y efectos secundarios frecuentes. Véase, p. ej., Hoofnagle *et al.* (1997) *N. Engl. J. Med.* 336:347. Actualmente no hay vacuna disponible para la infección por el VHC.

Los documentos US 2002107181, US 2002016294, US 2002102235, US 2003036501, US 2002160962, US 2002147139 y US 2002068702 describen diferentes tipos de péptidos y/u otros compuestos como inhibidores de la serina proteasa NS-3 del virus de la hepatitis C.

El documento WO 01/40262 describe compuestos de cetoamida y cetoéster que se dice que son útiles como inhibidores de la proteasa NS3 del VHC.

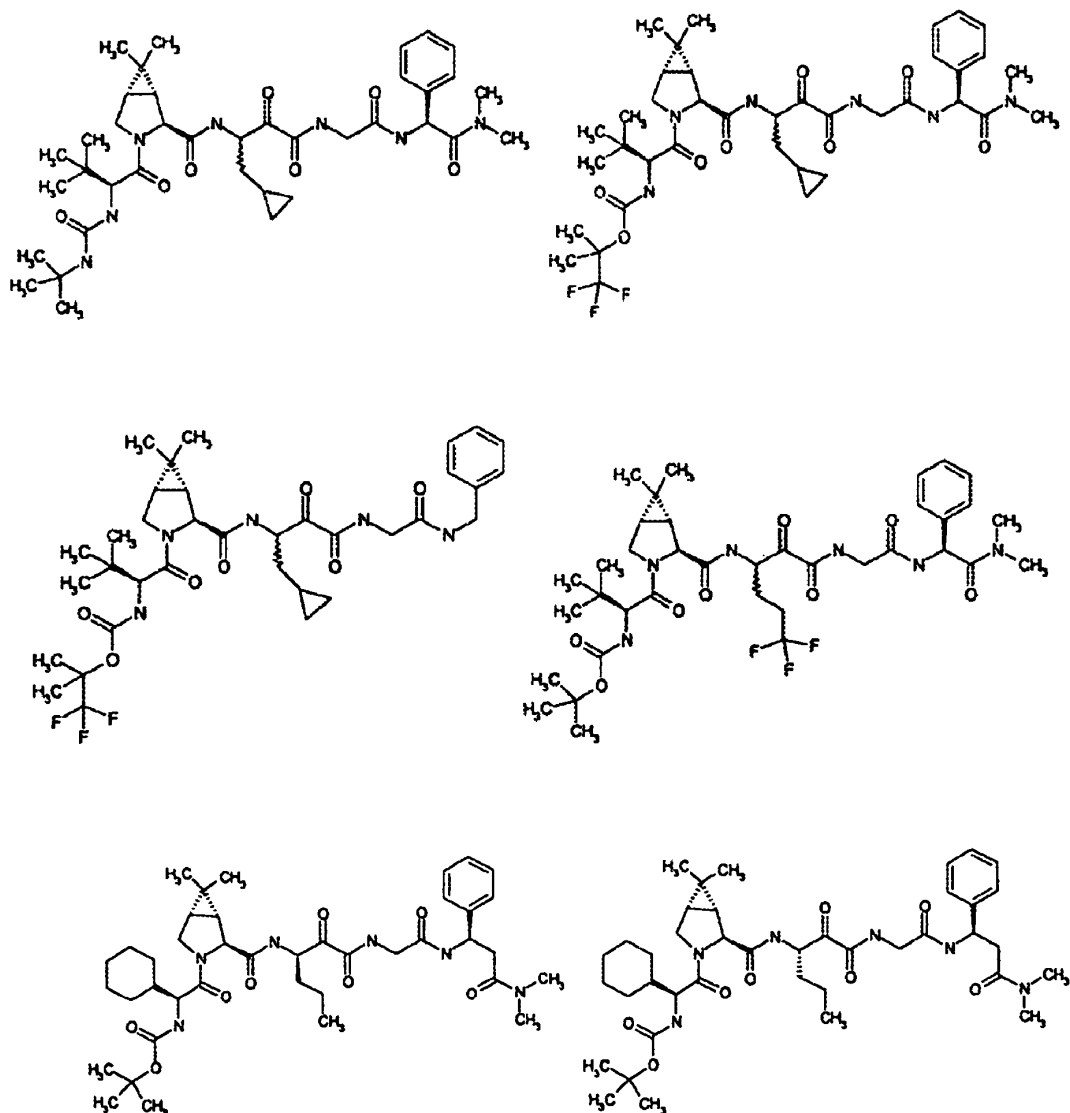
Son necesarios nuevos tratamientos y terapias para la infección por el VHC. Por lo tanto, un objeto de esta invención es proporcionar compuestos útiles en el tratamiento o prevención o mejora de uno o más síntomas de la hepatitis C.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar compuestos útiles para modular la actividad de serina proteasas del VHC, en particular la serina proteasa NS3/NS4a del VHC.

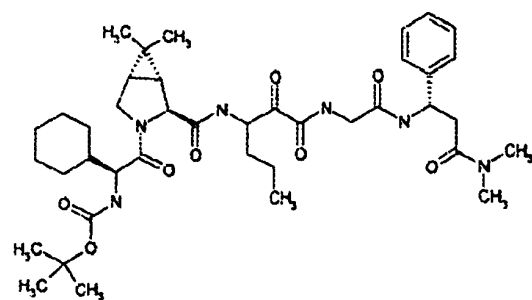
Otro objeto en la presente memoria es proporcionar compuestos útiles para modular el procesamiento del polipéptido del VHC.

Sumario de la invención

En sus muchas realizaciones, la presente invención proporciona nuevos inhibidores de la proteasa del VHC, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de los compuestos, y métodos para preparar formulaciones farmacéuticas que comprenden uno o más de dichos compuestos, también se describen métodos de tratamiento, prevención o mejora de uno o más de los síntomas de la hepatitis C. También se describen métodos para modular la interacción de un polipéptido del VHC con la proteasa del VHC. Entre los compuestos proporcionados en esta memoria, se prefieren los compuestos que inhiben la actividad de la serina proteasa NS3/NS4a del VHC. La presente solicitud proporciona un compuesto que presenta actividad inhibidora de la proteasa del VHC, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros o racematos de dicho compuesto, o sales o solvatos de dicho compuesto farmacéuticamente aceptables, seleccionándose dicho compuesto de los compuestos de las estructuras listadas a continuación:

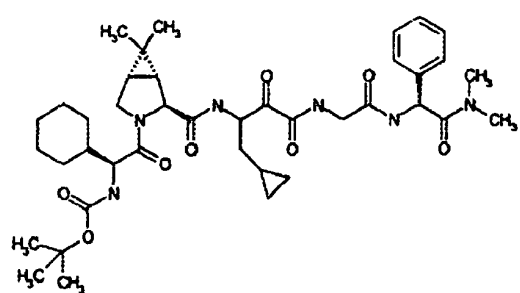


5

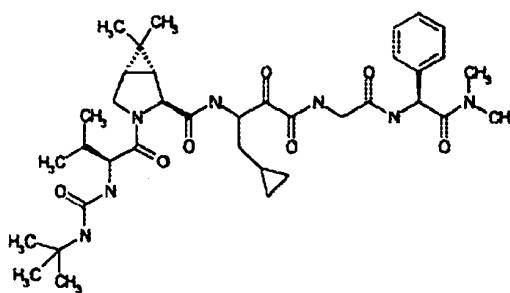


10

15

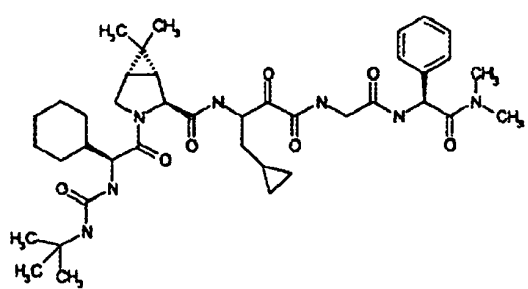


20

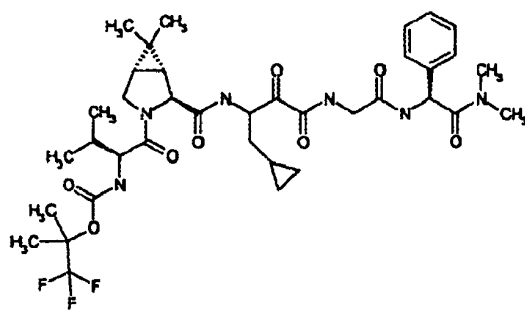


25

30

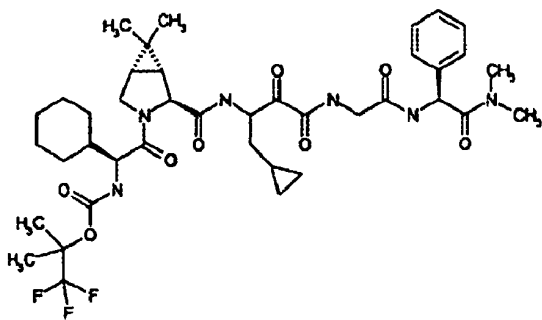


35

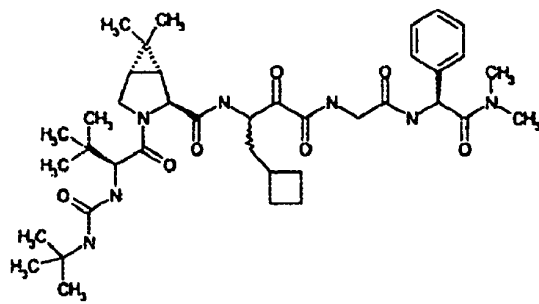


40

45



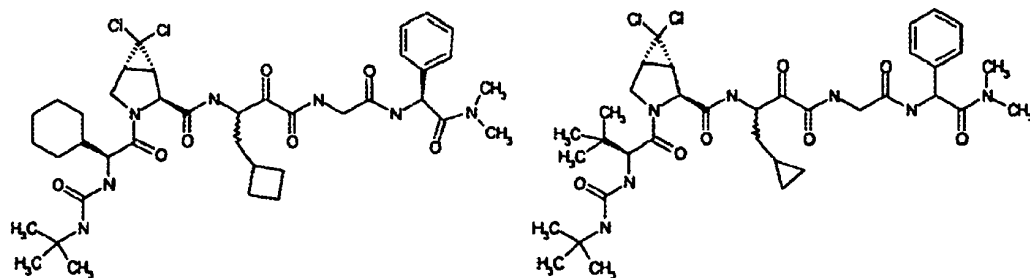
50

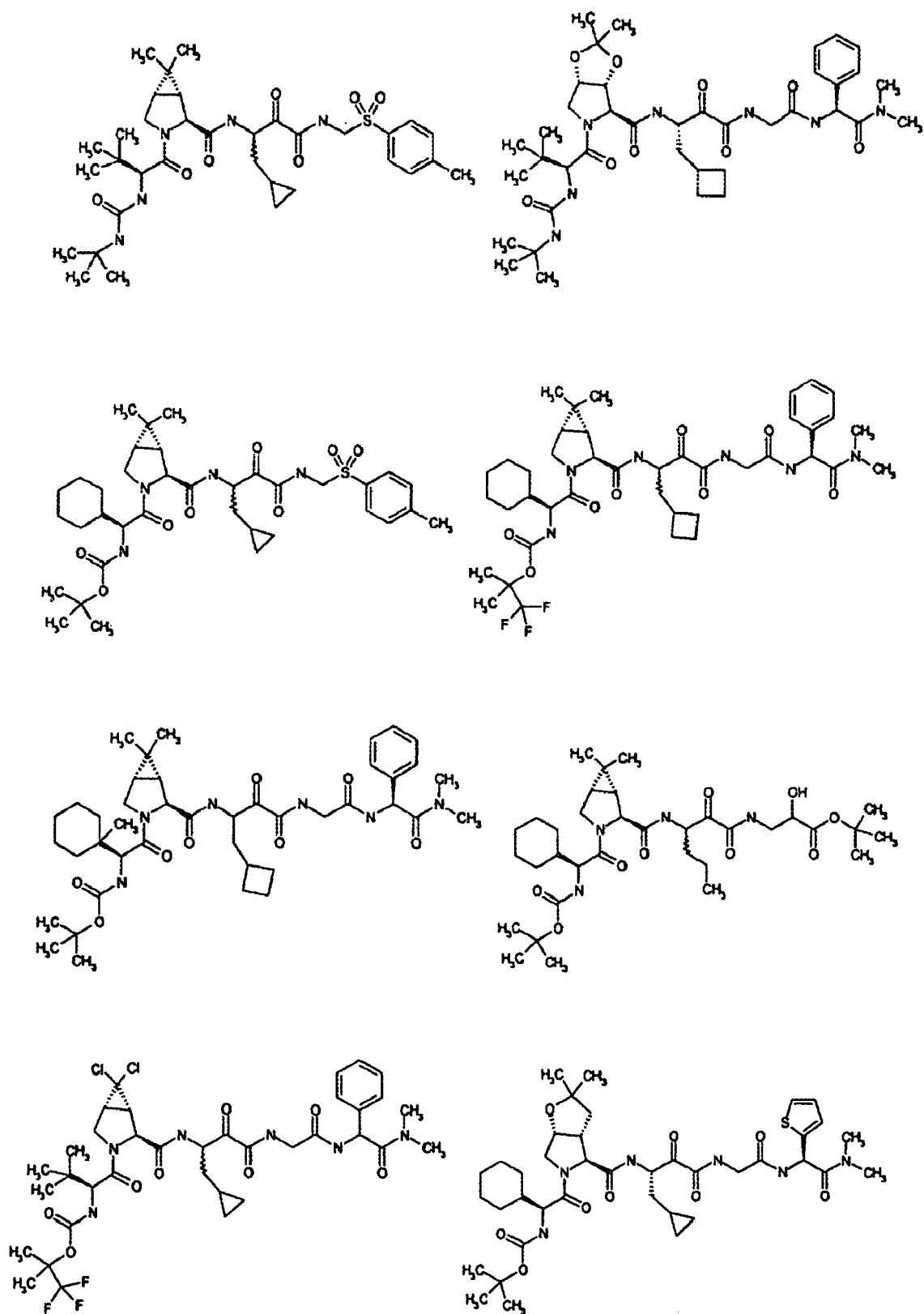


55

60

65





5

10

15

20

25

30

35

40

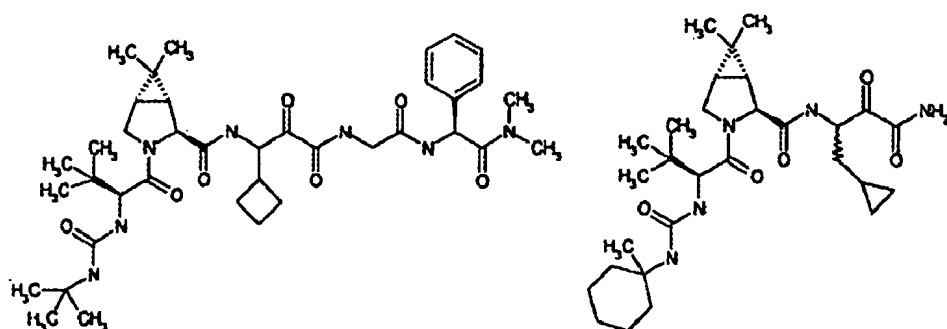
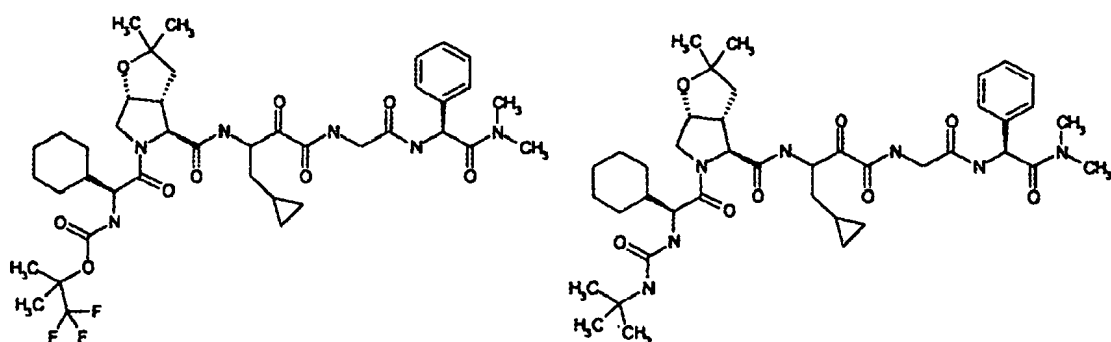
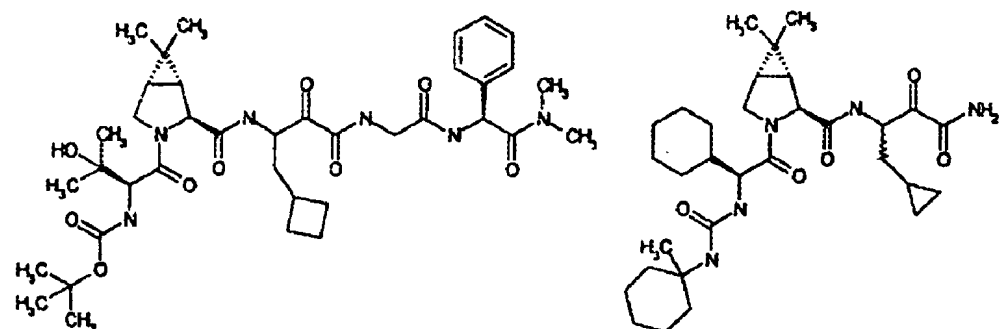
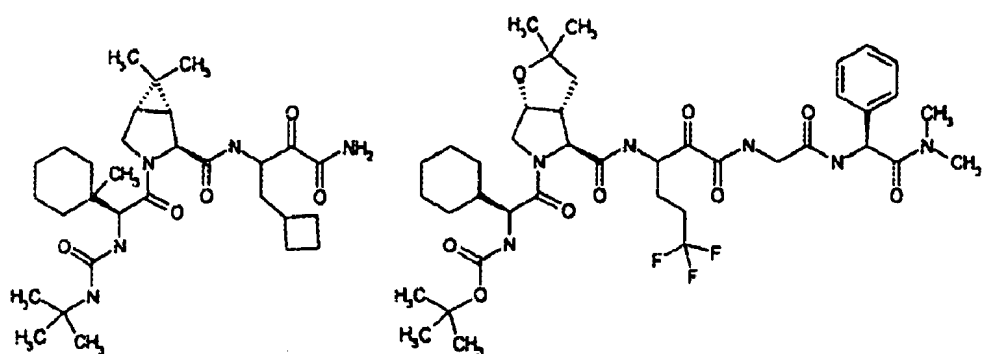
45

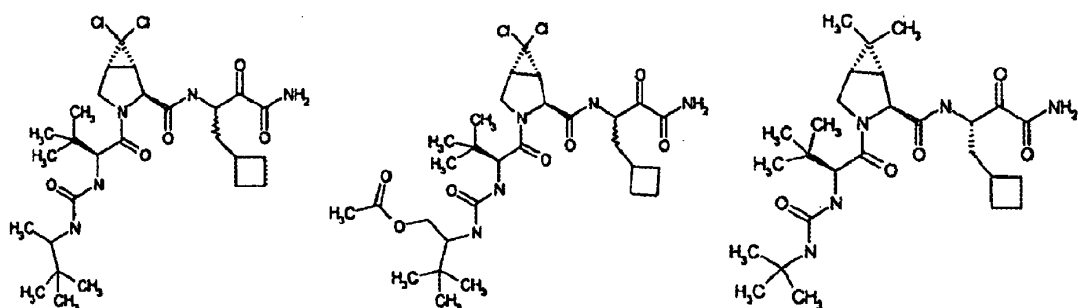
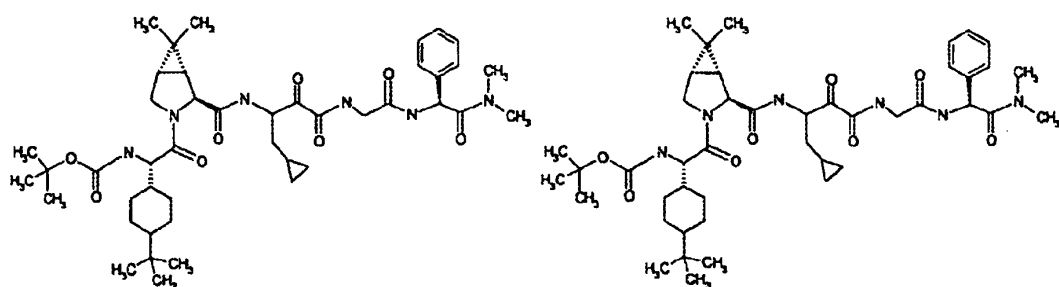
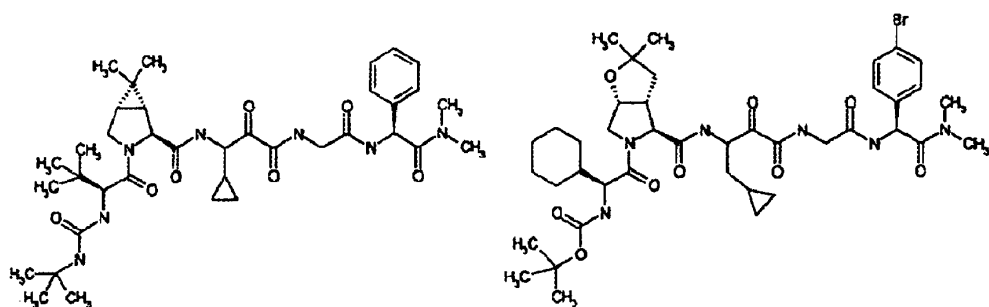
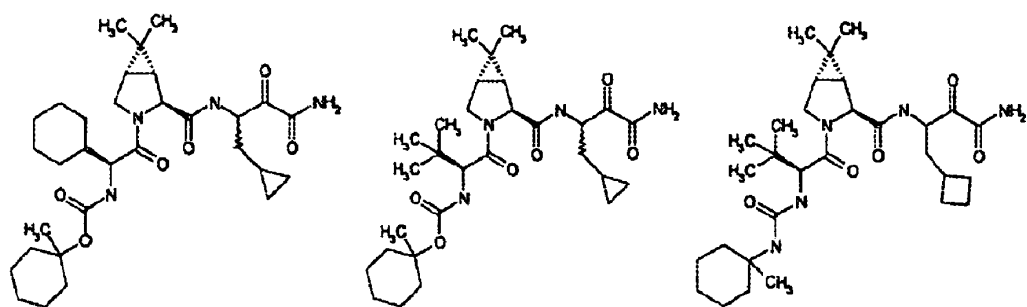
50

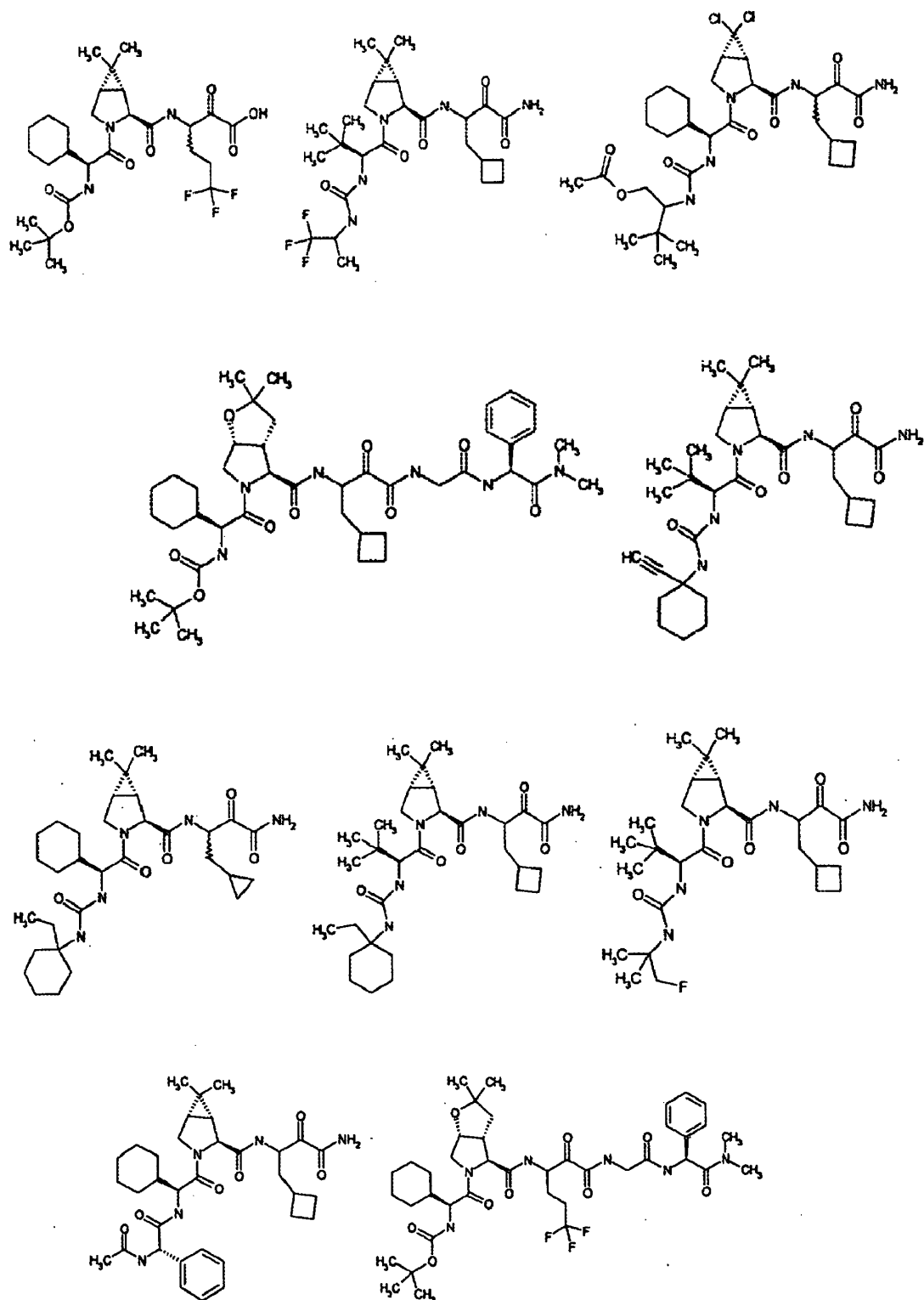
55

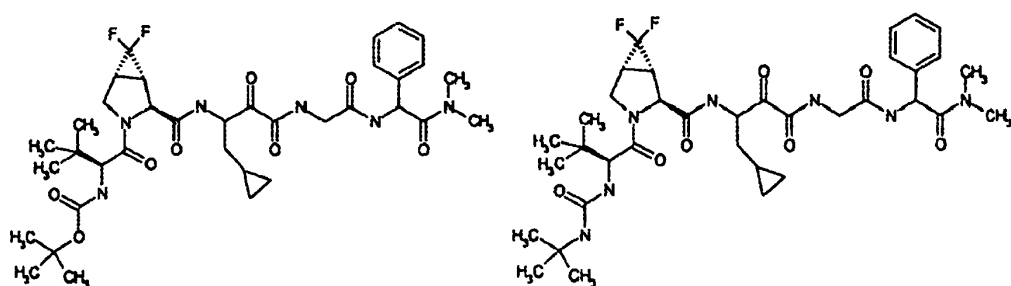
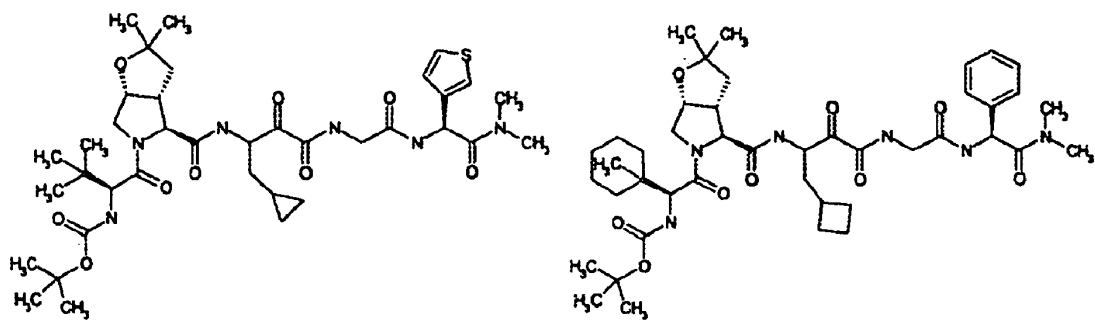
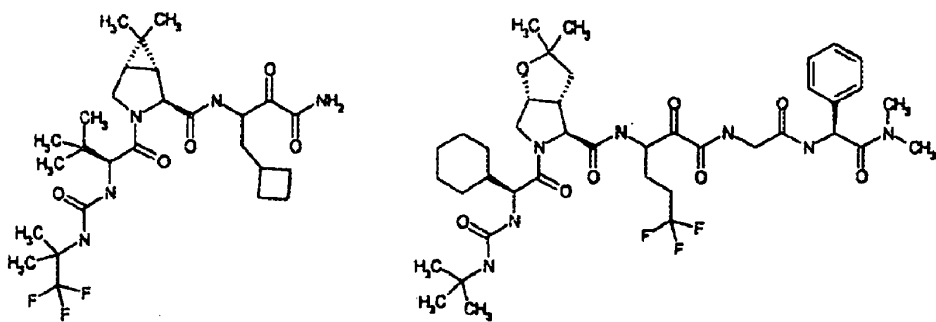
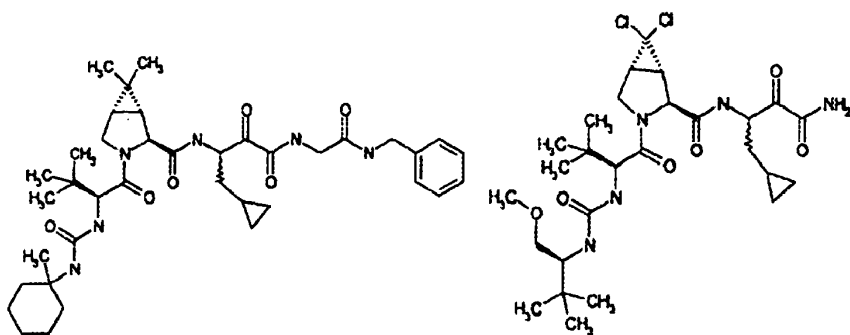
60

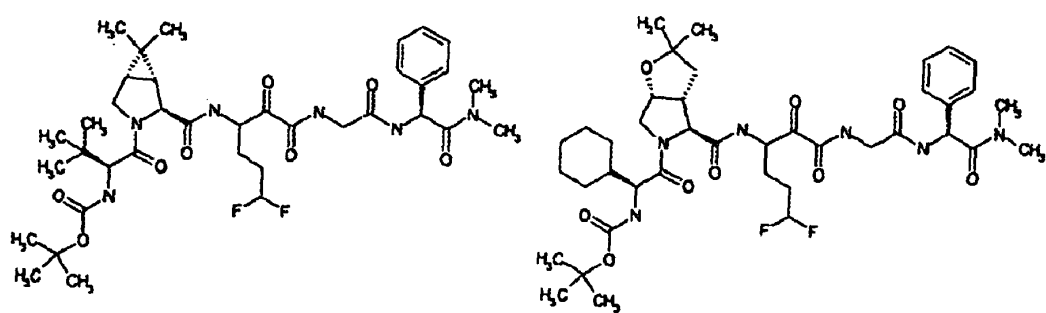
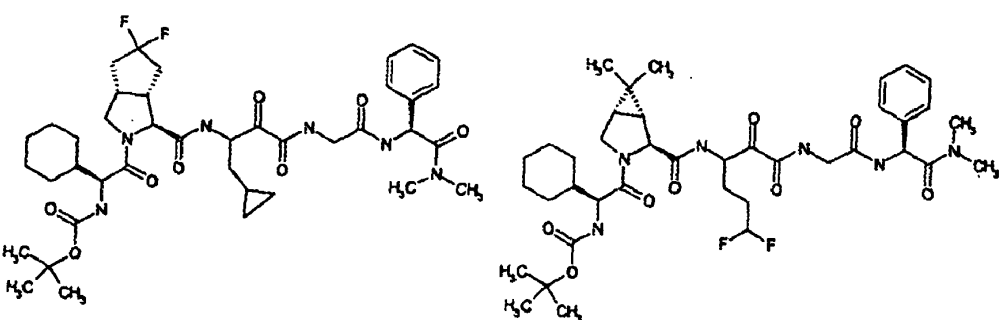
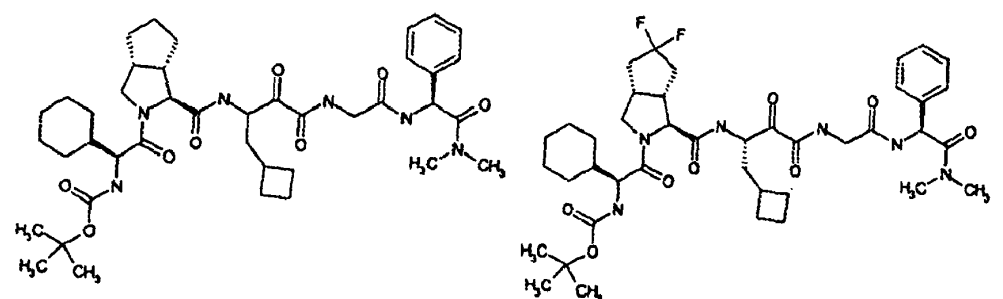
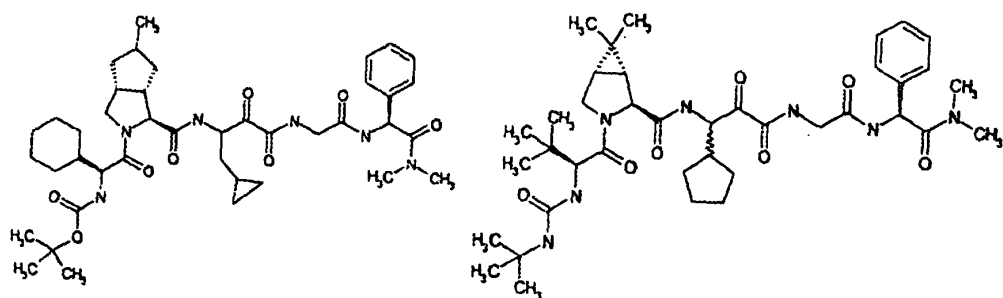
65

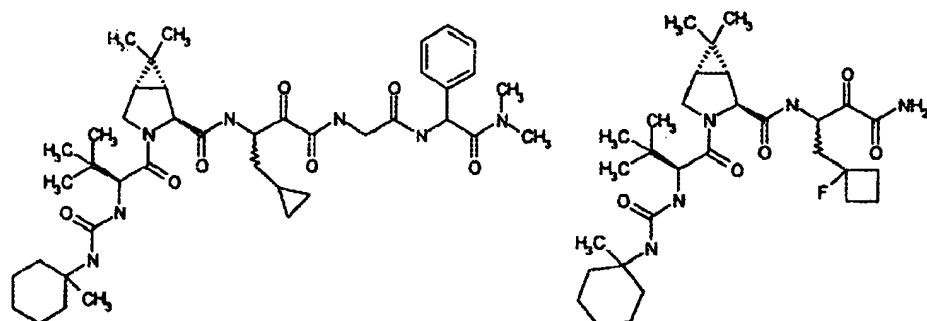
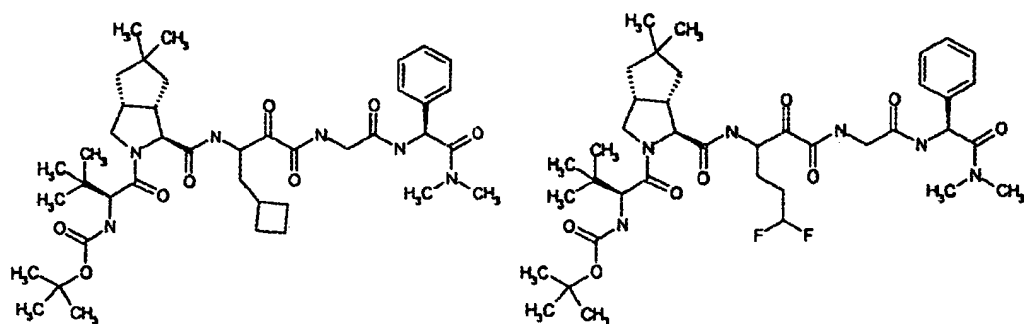
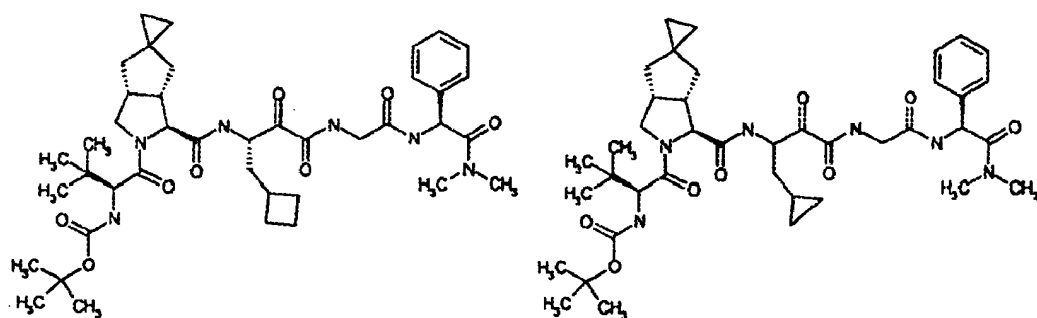
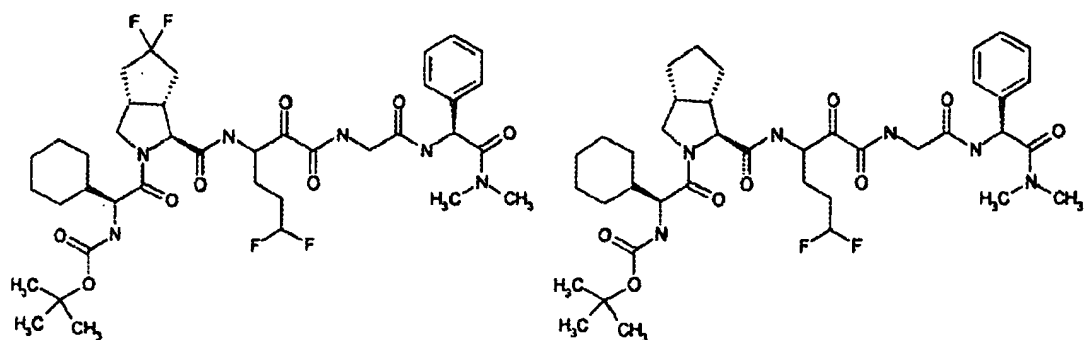


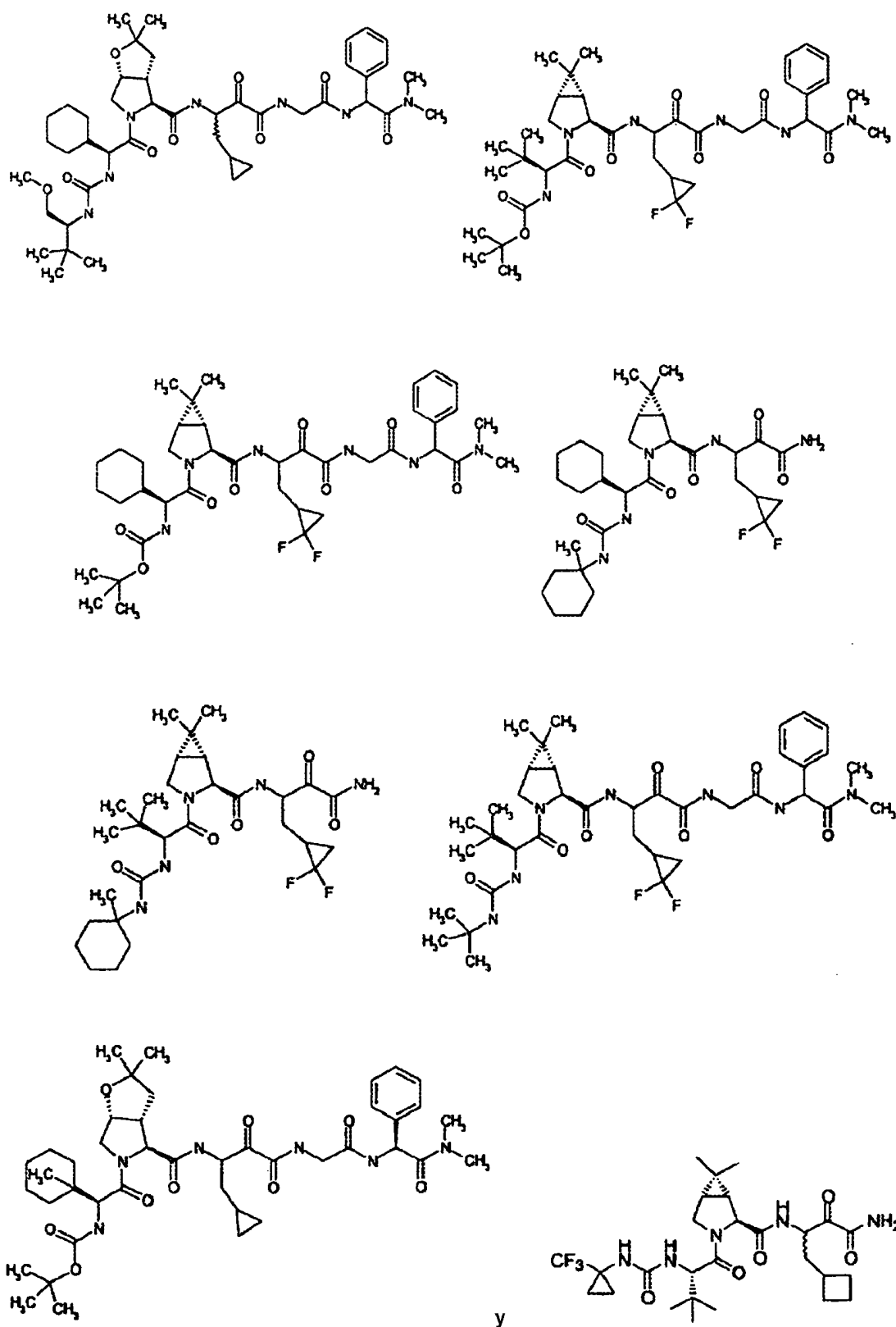












En la invención también están incluidos tautómeros, rotámeros, enantiómeros y otros isómeros ópticos de compuestos de la invención, así como las sales, solvatos y derivados de los mismos farmacéuticamente aceptables.

Otra característica de la invención son composiciones farmacéuticas que contienen como principio activo un compuesto de la invención (o su sal, solvato o isómeros) junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona métodos para preparar compuestos de la invención, y también describe métodos para tratar enfermedades asociadas con el VHC. Los métodos de tratamiento comprenden administrar a un paciente que padece dicha enfermedad o enfermedades una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención.

También se describe el uso de un compuesto de la invención para fabricar un medicamento para tratar un trastorno asociado con el VHC.

También se describe un método de tratamiento de un trastorno asociado con el virus de la hepatitis C, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más de los compuestos de la invención.

También se describe un método para modular la actividad de la proteasa del virus de la hepatitis C (VHC), que comprende poner en contacto la proteasa del VHC con uno o más compuestos de la invención, en el que dicho método es un método distinto de un método de tratamiento por terapia del cuerpo humano o animal.

También se describe un método para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de la hepatitis C, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más de los compuestos de la invención. La proteasa del VHC es la proteasa NS3 o NS4a. Los compuestos de la invención inhiben dicha proteasa. También modulan el procesamiento del polipéptido del virus de la hepatitis C (VHC).

Descripción detallada de realizaciones preferidas

En una realización, la presente invención describe compuestos de la invención como inhibidores de la proteasa del VHC, en especial la serina proteasa NS3/NS4a del VHC, o una de sus derivados farmacéuticamente aceptable.

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

En otra realización, esta invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los péptidos de la invención como un principio activo. Las composiciones farmacéuticas en general comprenden además un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable (denominados de forma colectiva en esta memoria como materiales vehículo). Debido a su actividad inhibidora del VHC, dichas composiciones farmacéuticas tienen utilidad en el tratamiento de la hepatitis C y trastornos relacionados.

En otra realización más, la presente invención describe métodos para preparar composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención como un principio activo. En las composiciones farmacéuticas y métodos de la presente invención, los principios activos normalmente se administrarán mezclados con materiales vehículo adecuados seleccionados adecuadamente con respecto a la forma pretendida de administración, es decir, comprimidos orales, cápsulas (cargadas de sólido, cargadas de semisólido o cargadas de líquido), polvos para constituir, geles orales, elixires, gránulos dispersables, jarabes, suspensiones y similares, de acuerdo con las prácticas farmacéuticas. Por ejemplo, para la administración oral en forma de comprimidos o cápsulas, el componente de fármaco activo se puede combinar con cualquier vehículo oral inerte no tóxico farmacéuticamente aceptable, tal como lactosa, almidón, sacarosa, celulosa, estearato magnésico, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, talco, manitol, alcohol etílico (formas líquidas) y similares. Además cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y colorantes adecuados. Los polvos y comprimidos pueden comprender de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% de la composición de la invención. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y ceras. Entre los lubricantes para usar en estas formas de dosificación se pueden mencionar el ácido bórico, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico, y similares. Los disgregantes incluyen almidón, metilcelulosa, goma guar y similares.

También se pueden incluir agentes edulcorantes y de sabor y conservantes cuando sea adecuado. Algunos de los términos indicados antes, en concreto disgregantes, diluyentes, lubricantes, aglutinantes y similares, se discuten con más detalle a continuación.

Además, las composiciones de la presente invención se pueden formular en una forma de liberación sostenida para proporcionar la liberación de velocidad controlada o uno o más de los componentes o principios activos para optimizar los efectos terapéuticos, es decir actividad inhibidora del VHC y similares. Las formas de dosificación adecuadas para la liberación sostenida incluyen comprimidos de capas que contienen capas de diferentes velocidades de disgregación o matrices poliméricas de liberación controlada impregnadas con los componentes activos y moldeadas en forma de comprimido o cápsulas que contienen dichas matrices poliméricas porosas impregnadas o encapsuladas.

Las preparaciones de forma líquida incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones. Como ejemplo, pueden mencionarse agua o disoluciones en agua-propilenglicol para inyecciones parenterales o la adición de edulcorantes y

ES 2 344 890 T3

opacificantes para disoluciones, suspensiones y emulsiones orales. Las preparaciones de forma líquida pueden incluir también disoluciones para administración intranasal.

5 Las preparaciones de aerosol adecuadas para inhalación pueden incluir disoluciones y sólidos en forma de polvo, que pueden estar en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un gas comprimido inerte, por ejemplo, nitrógeno.

10 Para preparar supositorios, primero se funde una cera de bajo punto de fusión tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos tal como manteca de cacao, y se dispersa el principio activo de forma homogénea en la misma por agitación o mezclamiento similar. Después, la mezcla homogénea fundida se vierte en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y de esta forma solidificar.

15 Se incluyen también preparaciones de forma sólida que se pretenden convertir, poco antes del uso, en preparaciones de forma líquida para administración oral o parenteral. Dichas formas líquidas incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones.

20 Los compuestos de la invención pueden ser también suministrables por vía transdérmica. Las composiciones transdérmicas pueden tomar la forma de cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones, y pueden incluirse en un parche transdérmico de tipo matriz o depósito como son convencionales en la técnica con este fin.

Preferiblemente, el compuesto se administra por vía oral, intravenosa o subcutánea.

25 Preferiblemente, la preparación farmacéutica está en una forma de dosificación unitaria. En dicha forma, se subdivide la preparación en dosis unitarias adecuadamente dimensionadas que contienen cantidades apropiadas de los componentes activos, por ejemplo, una cantidad eficaz para conseguir el fin deseado.

30 La cantidad de la composición activa de la invención en una dosis unitaria en general se puede variar o ajustar de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1.000 mg, preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 950 mg, más preferiblemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 500 mg, y típicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg, de acuerdo con la aplicación particular. La dosificación real empleada puede variar dependiendo de la edad, sexo, peso del paciente y de la gravedad de la afección que se esté tratando. Dichas técnicas son conocidas para los expertos en la materia.

35 En general, la forma de dosificación oral humana que contiene los principios activos se puede administrar 1 ó 2 veces al día. La cantidad y frecuencia de la administración se regulará de acuerdo con el criterio del médico que atiende. Un régimen de dosificación diario recomendado en general para la administración oral puede variar de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1.000 mg al día, en una dosis o en dosis divididas.

40 A continuación se describen algunos términos útiles:

45 **Cápsula** - se refiere a un receptáculo o envase especial hecho de metilcelulosa, poli(alcoholes vinílicos), o gelatinas desnaturalizadas o almidón para mantener o contener composiciones que comprenden los principios activos. Las cápsulas de cubierta dura normalmente se hacen de mezclas de gelatinas de piel de cerdo y hueso de resistencia de gel relativamente alta. La propia cápsula puede contener cantidades pequeñas de colorantes, agentes opacificantes, plastificantes y conservantes.

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

50 **Gel oral** - se refiere a principios activos dispersados o solubilizados en una matriz semisólida hidrófila.

55 **El polvo para constituir** se refiere a mezclas de polvos que contienen los principios activos y diluyentes adecuados que se pueden suspender en agua o zumos.

60 **Diluyente** - se refiere a sustancias que normalmente componen la porción principal de la composición o la 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 variar 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%.

65 **Disgregante** - se refiere a materiales añadidos a la composición para ayudar a que se desmenuce (disgregue) y libere los medicamentos. Los disgregantes adecuados incluyen almidones; almidones modificados "solubles en agua fría" tales como carboximetilalmidón sódico; gomas naturales y sintéticas tales como goma de algarrobbilla, karaya, tragacanto y agar; derivados de celulosa tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica; celulosas microcristalinas y celulosas microcristalinas reticuladas tales como croscarmelosa sódica; alginatos tales como ácido alginico y alginato sódico; arcillas tal como bentonitas; y mezclas efervescentes. La cantidad de disgregante en la composi-

ES 2 344 890 T3

ción puede variar de aproximadamente 2 a aproximadamente 15% en peso de la composición, más preferiblemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 10% en peso.

5 Aglutinante - se refiere a sustancias que unen o “pegan” polvos entre sí y los hacen cohesivos formando gránulos, sirviendo así como el “adhesivo” en la formulación. Los aglutinantes añaden fuerza de cohesión que ya está disponible en el diluyente o agente de carga. Los aglutinantes adecuados incluyen azúcares tales como sacarosa; almidones derivados de trigo, maíz, arroz y patata; gomas naturales tal como goma arábica, gelatina y tragacanto; derivados de algas tales como ácido alginico, alginato sódico y alginato de amonio y calcio; materiales celulósicos tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropilmetilcelulosa; polivinilpirrolidona; y compuestos inorgánicos tales como silicato de aluminio y magnesio. La cantidad de aglutinante en la composición puede variar 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.

15 Lubricante - se refiere a una sustancia añadida a la forma de dosificación para permitir que después de haber comprimido los comprimidos, gránulos, etc., se desprenda del molde o la boquilla reduciendo la fricción o desgaste. Los lubricantes adecuados incluyen estearatos metálicos tales como estearato magnésico, estearato de calcio o estearato de potasio; ácido esteárico; ceras de alto punto de fusión; y lubricantes solubles en agua tales como cloruro sódico, benzoato de sodio, acetato de sodio, oleato de sodio, polietilenglicoles y d'I-leucina. Los lubricantes normalmente se añaden en la última etapa antes de la compresión, puesto que deben estar presentes en las superficies de los gránulos y entre ellos y las piezas de la prensa de comprimidos. La cantidad de lubricante en la composición puede variar 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.

25 Deslizante - material que previene que se apelmace y mejora las características de flujo de las granulaciones, de modo que el flujo es suave y uniforme. Los deslizantes adecuados incluyen dióxido de silicio y talco. La cantidad de deslizante en la composición puede variar de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5% en peso de la composición total, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2% en peso.

30 Agentes colorantes - excipientes que proporcionan coloración a la composición o la forma de dosificación. Dichos excipientes pueden incluir colorantes de calidad alimentaria y colorantes de calidad alimentaria adsorbidos en 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%.

35 Biodisponibilidad - se refiere a la velocidad y extensión a la que el fármaco activo o resto terapéutico es absorbido en la circulación sistémica a partir de la forma de dosificación administrada, comparado con una referencia o control.

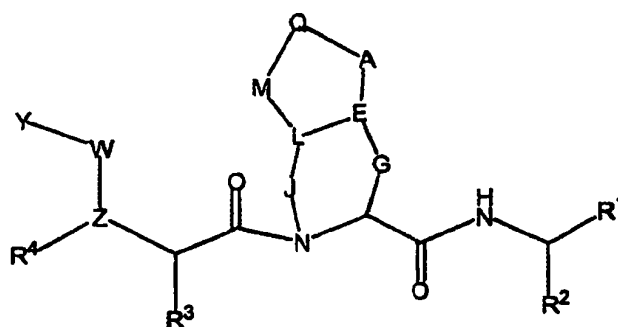
Los métodos convencionales para preparar comprimidos son conocidos. Dichos métodos incluyen métodos en seco tales como la compresión directa y la compresión de la granulación producida por compactación, o métodos en húmedo y otros procedimientos especiales. Los métodos convencionales para hacer otras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

Las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente se pueden usar para el tratamiento de la hepatitis C. El método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica de la invención a un paciente que tiene dicha enfermedad o enfermedades y que necesitan dicho tratamiento.

Los compuestos de la invención se pueden usar para el tratamiento de la hepatitis C en seres humanos en modo de monoterapia o en una terapia de combinación (p. ej., combinación dual, combinación triple, etc.) tal como, por ejemplo, en combinación con agentes antivíricos y/o inmunomoduladores. Los ejemplos de dichos agentes antivíricos y/o inmunomoduladores incluyen Ribavirina (de Schering-Plough Corporation, Madison, New Jersey) y LevovirinaTM (de ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, California), VP 50406TM (de Viropharma, Incorporated, Exton, Pennsylvania), ISIS 14803TM (de ISIS Pharmaceuticals, Carlsbad, California), HeptazymeTM (de Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, Colorado), VX 497TM (de Vertex Pharmaceuticals, Cambridge, Massachusetts), ThymosinTM (de SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, California), MaxamineTM (Maxim Pharmaceuticals, San Diego, California), micofenolato de mofetilo (de Hoffman-LaRoche, Nutley, New Jersey), interferón (tal como, por ejemplo, interferón-alfa, conjugados de PEG-interferón alfa) y similares. Los “conjugados de PEG-interferón alfa” son moléculas de interferón alfa unidas de forma covalente a una molécula de PEG. Los conjugados de PEG-interferón alfa ilustrativos incluyen interferón alfa-2a (RoferonTM, de Hoffman La-Roche, Nutley, New Jersey) en forma de interferón alfa-2a pegilado (p. ej., vendido con el nombre comercial de PegasysTM), interferón alfa-2b (IntronTM, de Schering-Plough Corporation) en forma de interferón alfa-2b pegilado (p. ej., vendido con el nombre comercial de PEG-IntronTM), interferón alfa-2c (Berofer AlphaTM, de Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania) o interferón de consenso definido por determinación de una secuencia consenso de interferones alfa naturales (InfergenTM, de Amgen, Thousand Oaks, California).

65 Como se ha expuesto antes, la invención también incluye tautómeros, rotámeros, enantiómeros y otros estereoisómeros de los compuestos de la invención. Por lo tanto, como observará un experto en la técnica, algunos de los compuestos de la invención pueden existir en formas isómeras adecuadas. Se contempla que dichas variaciones están dentro del alcance de la invención.

Los compuestos de la invención son un subconjunto de la clase más amplia de compuestos representados por la estructura general mostrada en la fórmula I:



Fórmula I

en la que:

Y se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquilarilo, heteroalquilo, heteroarilo, arilheteroarilo, alquilheteroarilo, cicloalquilo, alquiloxi, alquil-ariloxi, ariloxi, heteroariloxi, heterocicloalquilo, cicloalquilo, alquilamino, arilamino, alquil-arilamino, arilamino, heteroarilamino, cicloalquilamino y heterocicloalquilamino, con la condición de que Y puede estar opcionalmente sustituido con X¹¹ o X¹²;

X¹¹ es alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicliilo, heterociclilalquilo, arilo, alquilario, arilalquilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, o heteroarilalquilo, con la condición de que X¹¹ puede estar además opcionalmente sustituido con X¹²:

X¹² es hidroxi, alcoxi, ariloxi, tio, alquiltio, ariltio, amino, alquilamino, arilamino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonamido, arilsulfonamido, carboxi, carbalcoxi, carboxamido, alcocicarbonilamino, alcocicarboniloxi, alquilureido, arilureido, halógeno, ciano o nitro, con la condición de que dicho alquilo, alcoxi y arilo pueden estar opcionalmente sustituidos con restos independientemente seleccionados de X¹²;

R¹ es -C(O)R⁵ o -B(OR)₂, en el que R⁵ es H, -OH, -OR⁸, -NR⁹R¹⁰, -CF₃, -C₂F₅, -C₃F₇, -CF₂R⁶, -R⁶ o -C(O)R⁷ en el que R⁷ es H, -OH, -OR⁸, -CHR⁹R¹⁰ o -NR⁹R¹⁰, en los que R⁶, R⁸, R⁹ y R¹⁰ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, -[CH(R^{1'})]_pC(O)OR¹¹, -[CH(R^{1'})]_pC(O)NR¹²R¹³, -[CH(R^{1'})]_pS(O)₂R¹¹, -[CH(R^{1'})]_pC(O)R¹¹, -[CH(R^{1'})]_pCH(OH)R¹¹, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)OR¹¹, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)NR¹²R¹³, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})R', -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)OR¹¹, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)NR¹²R¹³, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)NR¹²R¹³, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)N(H)CH(R^{4'})C(O)OR¹¹, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)N(H)CH(R^{4'})C(O)NR¹²R¹³, -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)N(H)CH(R^{4'})C(O)NR¹²R¹³ y -CH(R^{1'})C(O)N(H)CH(R^{2'})C(O)N(H)CH(R^{3'})C(O)N(H)CH(R^{4'})C(O)N(H)CH(R^{5'})C(O)NR¹²R¹³,

en los que $R^{1'}$, $R^{2'}$, $R^{3'}$, $R^{4'}$, $R^{5'}$, R^{11} , R^{12} , R^{13} , y R' se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, arilalquilo y heteroaralquilo;

Z se selecciona de O, N, C(H) o C(R):

W puede estar presente o ausente, y si W está presente, W se selecciona de C(=O), C(=S), C(=N-CN) o S(O₂);

Q puede estar presente o ausente, y cuando Q está presente, Q es C(H), N, P, (CH₂)_p, (CHR)_p, (CRR')_p, O, NR, S o SO₂; y cuando Q está ausente, M puede estar presente o ausente; cuando Q y M están ausentes, A está directamente unido a L;

A es O, CH₂, (CHR)_p, (CHR-CHR')_p, (CRR')_p, N(R), S, S(O₂) o un enlace;

E es CH, N, CR, o un doble enlace 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 directamente conectado al átomo de carbono en la fórmula I como está G unido al mismo;

J puede estar presente o ausente, y cuando J está presente, J es $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, o $(CRR')_p$, $S(O_2)$, $N(H)$, $N(R)$ o O ; y cuando J está ausente, G está presente y E está directamente unido al N mostrado en la fórmula I como está J unido;

L puede estar presente o ausente, y cuando L está presente, L es $C(H)$, $C(R)$, O , S o $N(R)$; y cuando L está ausente, entonces M puede estar presente o ausente; y si M está presente estando L ausente, entonces M está directa e independientemente unido a E, y J está directa e independientemente unido a E;

M puede estar presente o ausente, y cuando M está presente, M es O , NR , S , $S(O_2)$, $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$ $(CHR-CHR')_p$, o $(CRR')_p$;

p es un número de 0 a 6; y

R, R', R², R³ y R⁴ pueden ser iguales o diferentes y son independientemente del grupo que consiste en H; alquilo C₁-C₁₀; alqueniolo C₂-C₁₀; cicloalquilo C₃-C₈; heterocicloalquilo C₃-C₈, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro, halógeno; (cicloalquil)alquilo y (heterocicloalquil)alquilo, en el que dicho cicloalquilo está compuesto de 3 a 8 átomos de carbono y de 0 a 6 átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre o fósforo, y dicho alquilo es de 1 a 6 átomos de carbono; arilo; heteroarilo; alquilarilo; y alquilheteroarilo;

en el que dichos restos alquilo, heteroalquilo, alqueniolo, heteroalqueniolo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo pueden estar opcional y químicamente sustituidos de forma adecuada, refiriéndose dicho término "sustituido" a la sustitución opcional y químicamente adecuada con uno o más restos seleccionados del grupo que consiste en alquilo, alqueniolo, alquiniolo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterocíclico, halógeno, hidroxilo, tio, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, urea, cetona, aldehído, ciano, nitro, sulfonamido, sulfóxido, sulfona, sulfonilurea, hidrazida e hidroxamato;

además, cuando dicha unidad N-C-G-E-L-J-N en la fórmula I representa una estructura de anillo cíclico de 5 miembros o una estructura de anillo cíclico de 6 miembros con la condición de que dicha unidad N-C-G-E-L-J-N represente una estructura de anillo cíclico de 5 miembros, o cuando la estructura de anillo bicíclico en la fórmula I que comprende N, C, G, E, L, J, N, A, Q y M representa una estructura de anillo cíclico de 5 miembros, entonces dicha estructura de anillo cíclico de 5 miembros carece de un grupo carbonilo como parte del anillo cíclico.

Los compuestos de fórmula I, incluyendo los compuestos de la invención, se pueden preparar por varias técnicas conocidas en la materia. A continuación se describen procedimientos ilustrativos en los siguientes esquemas de reacción. Debe entenderse que aunque los siguientes esquemas ilustrativos describen la preparación de algunos compuestos representativos, la sustitución adecuada de cualquiera o de ambos aminoácidos naturales y no naturales dará como resultado la formación de los compuestos deseados basados en dicha sustitución. En los siguientes ejemplos, los ejemplos XXXX y XXXXII describen la preparación de compuestos de la invención. Los demás ejemplos se proporcionan por referencia.

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

THF: Tetrahidrofurano

DMF: *N,N*-Dimetilformamida

EtOAc: Acetato de etilo

AcOH: Ácido acético

HOObt: 3-Hidroxilo-1,2,3-benzotriazin-4(3*H*)-ona

EDCl: Hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida

NMM: *N*-Metilmorfolina

ADDP: 1,1'-(Azodicarboxil)dipiperidina

DEAD: Azodicarboxilato de dietilo

MeOH: Metanol

EtOH: Etanol

Et₂O: Éter dietílico

ES 2 344 890 T3

DMSO: Dimetilsulfóxido

HOBt: N-Hidroxibenzotriazol

5 PyBrOP: Hexafluorofosfato de bromo-*tris*-pirrolidinofosfonio

DCM: Diclorometano

DCC: 1,3-Diciclohexilcarbodiimida

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

Phg: Fenilglicina

15 Chg: Ciclohexilglicina

Bn: Bencilo

Bzl: Bencilo

20 Et: Etilo

Ph: Fenilo

25 iBoc: Isobutoxicarbonilo

iPr: Isopropilo

30 ^tBu o Bu^t: *terc*-Butilo

Boc: *terc*-Butiloxicarbonilo

Cbz: Benciloxicarbonilo

35 Cp: Cilcopentildienilo

Ts: p-toluenosulfonilo

Me: Metilo

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

DMAP: 4-N,N-Dimetilaminopiridina

45 Bop: Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)

50 (Esquema pasa a página siguiente)

55

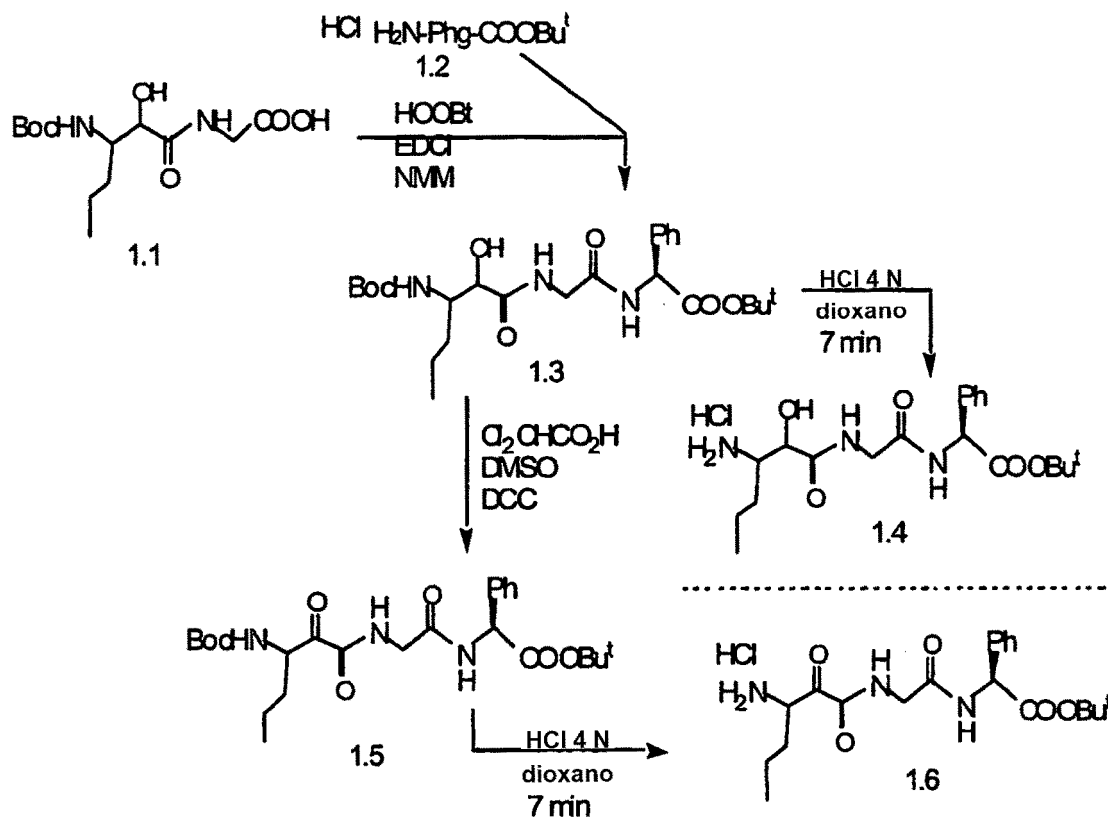
60

65

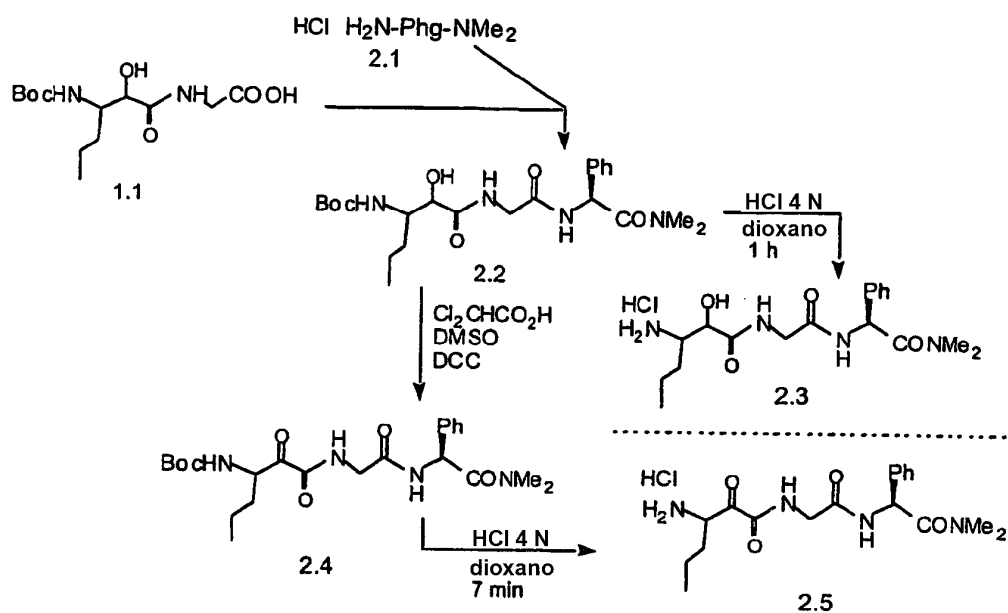
Esquemas preparativos generales

Los siguientes esquemas describen los métodos de síntesis de unidades estructurales intermedias:

Esquema 1

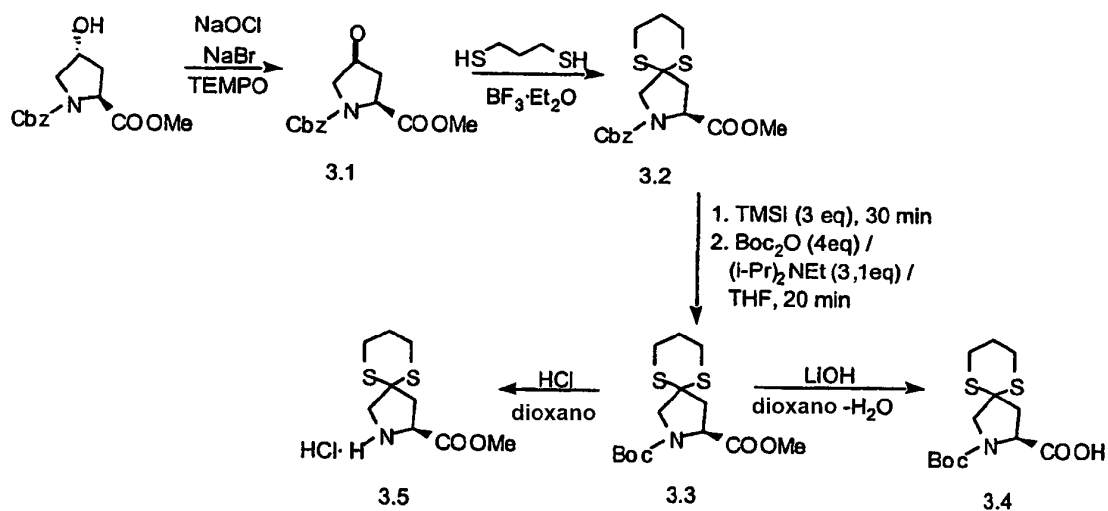


Esquema 2

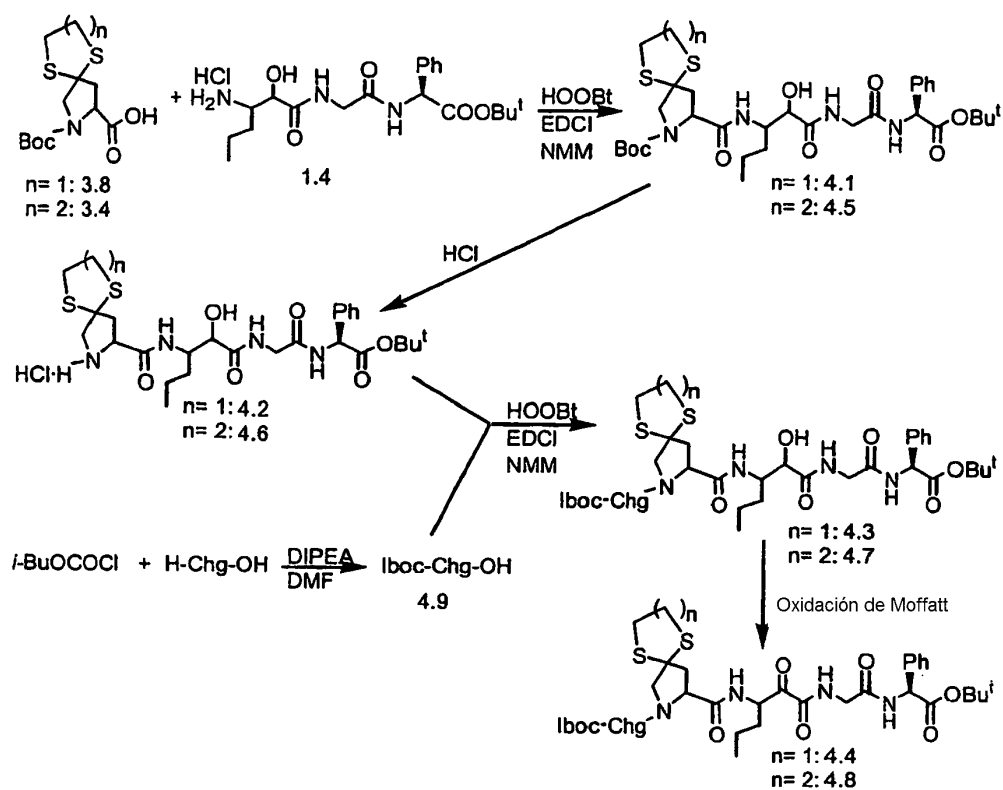


ES 2 344 890 T3

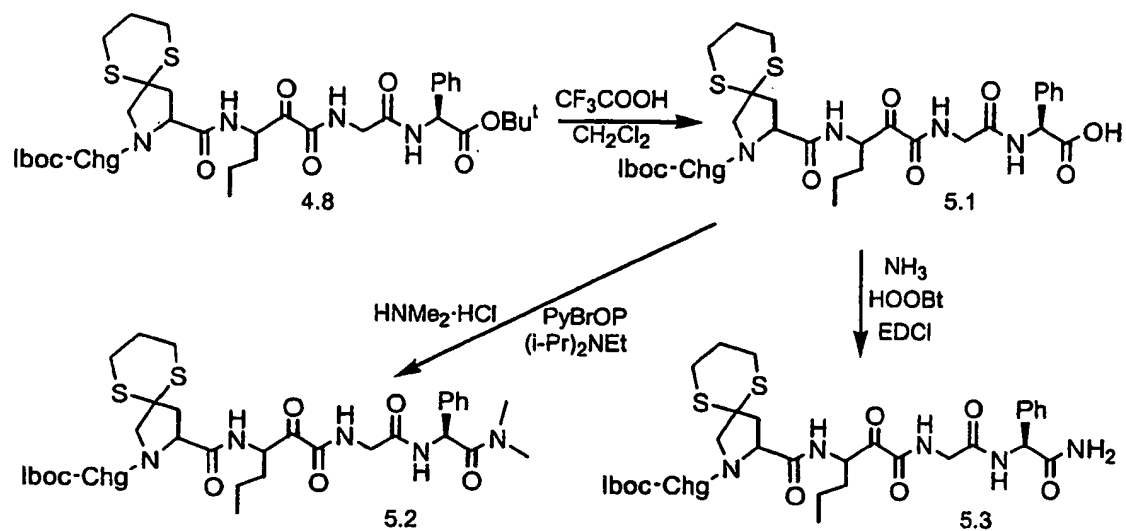
Esquema 3



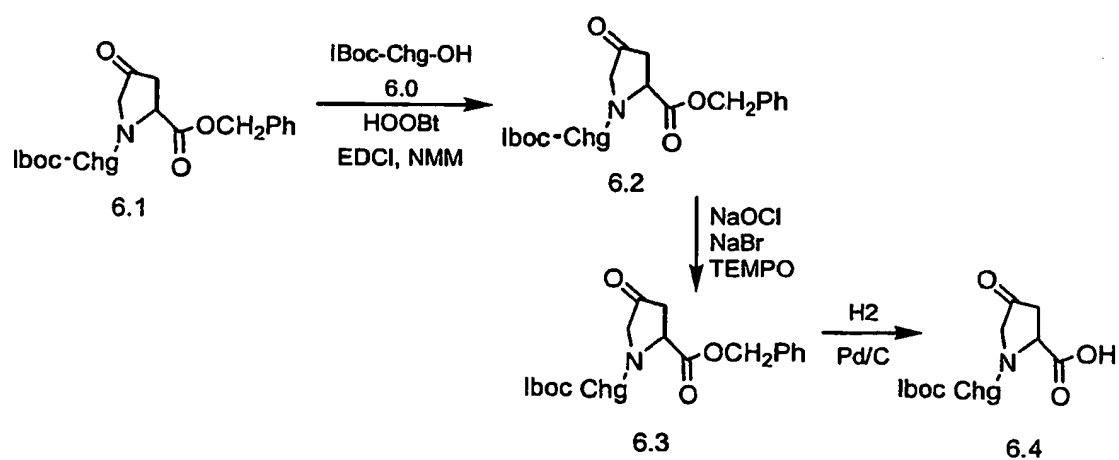
Esquema 4



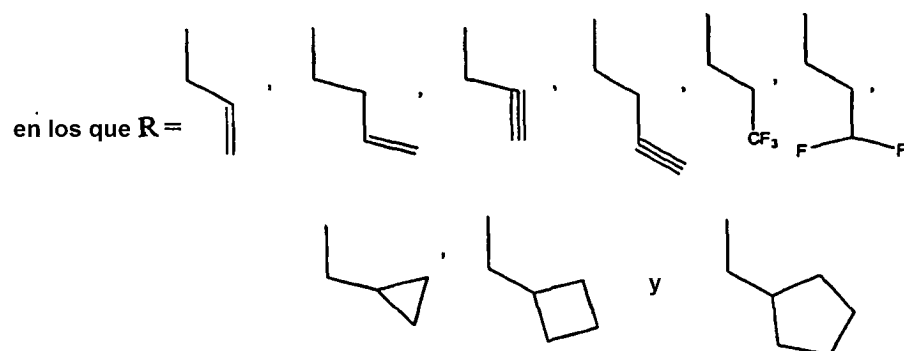
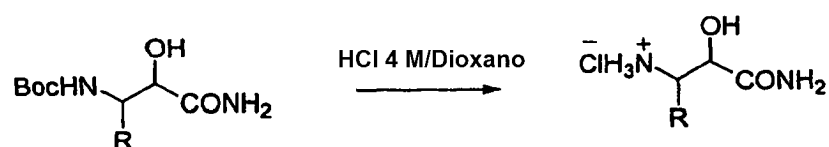
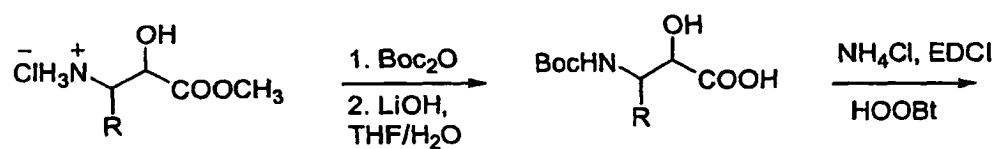
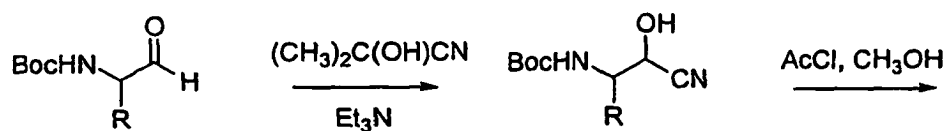
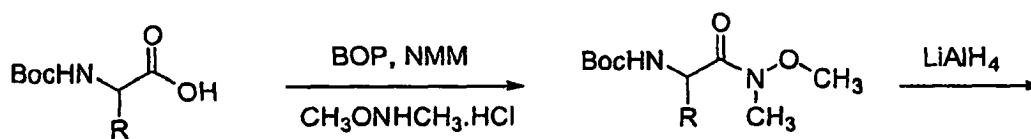
Esquema 5



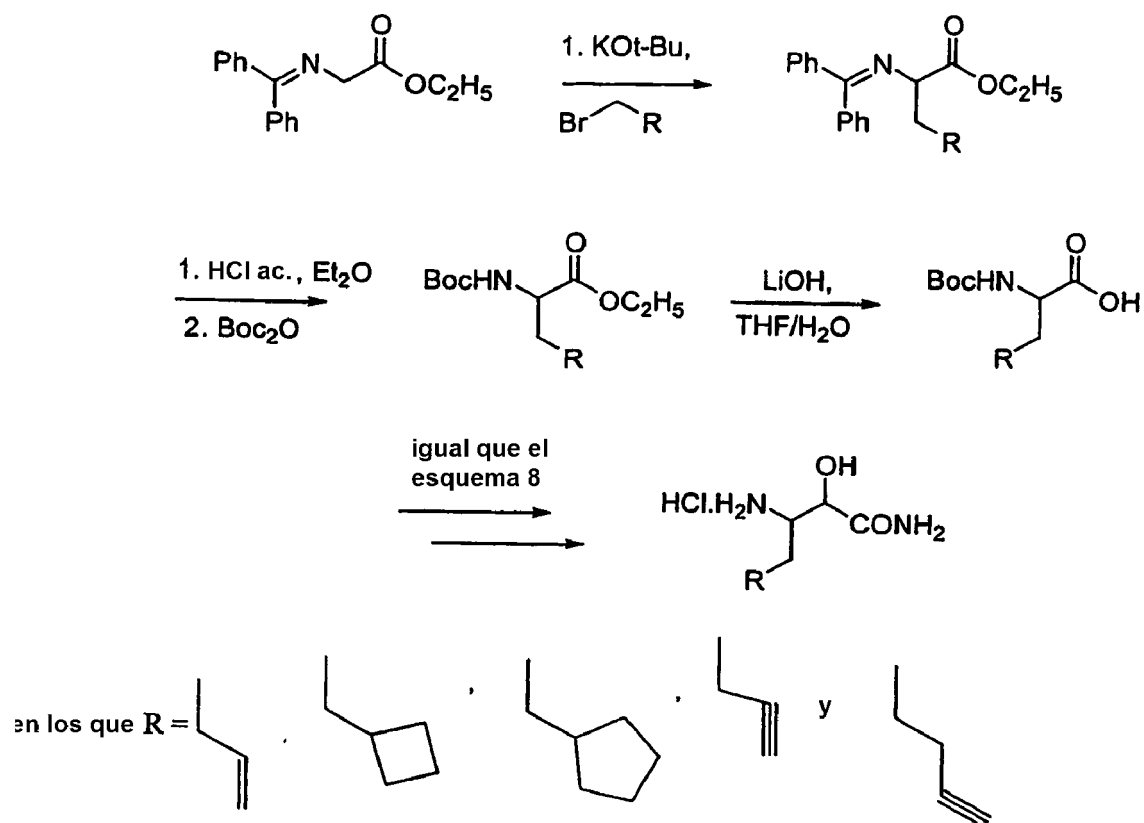
Esquema 6



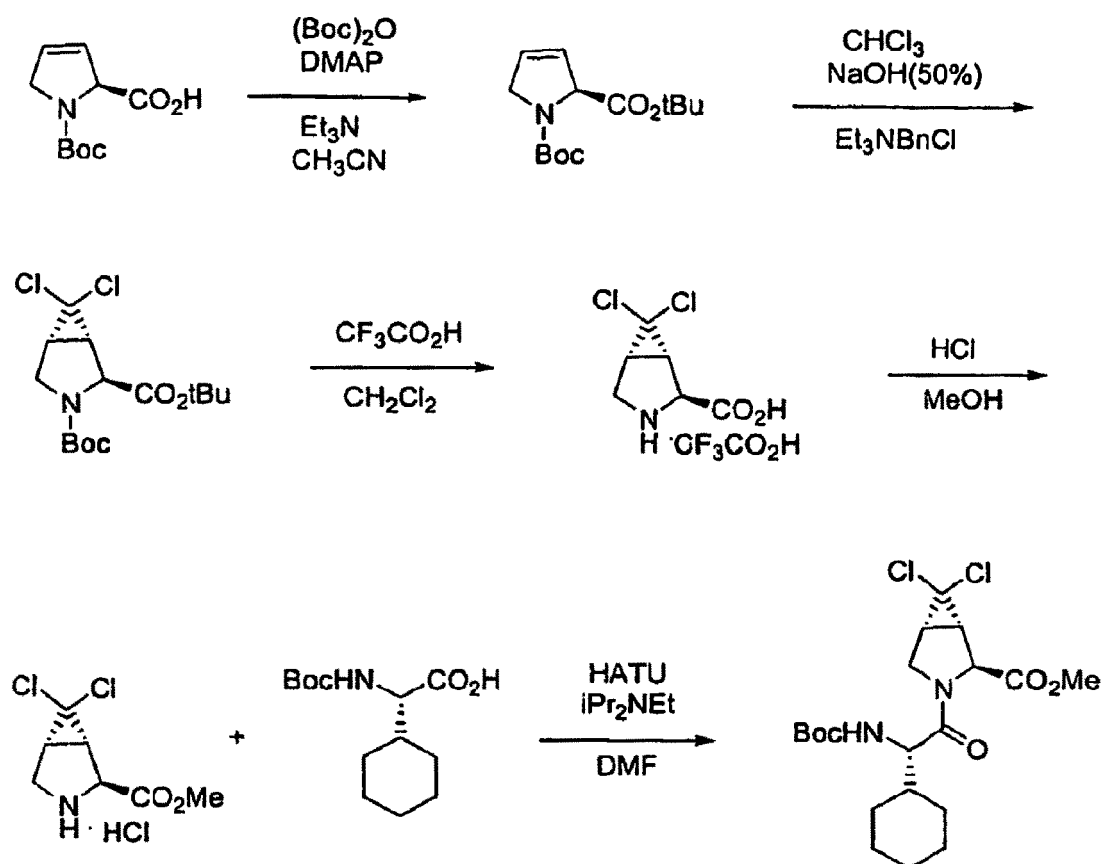
Esquema 8



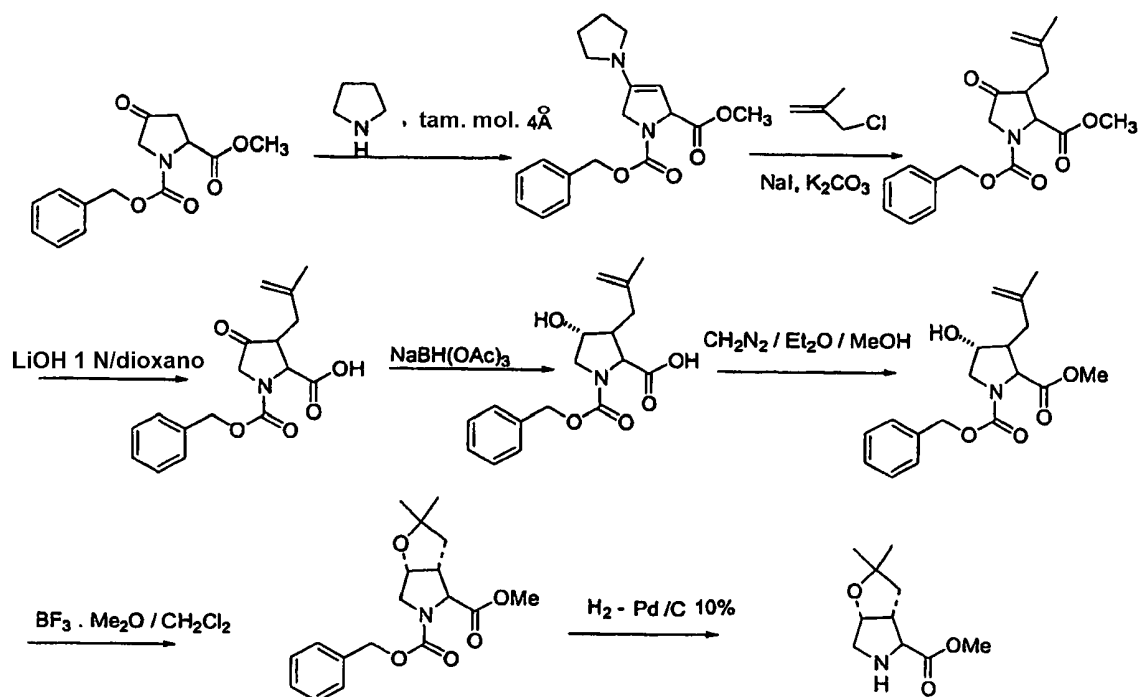
Esquema 9



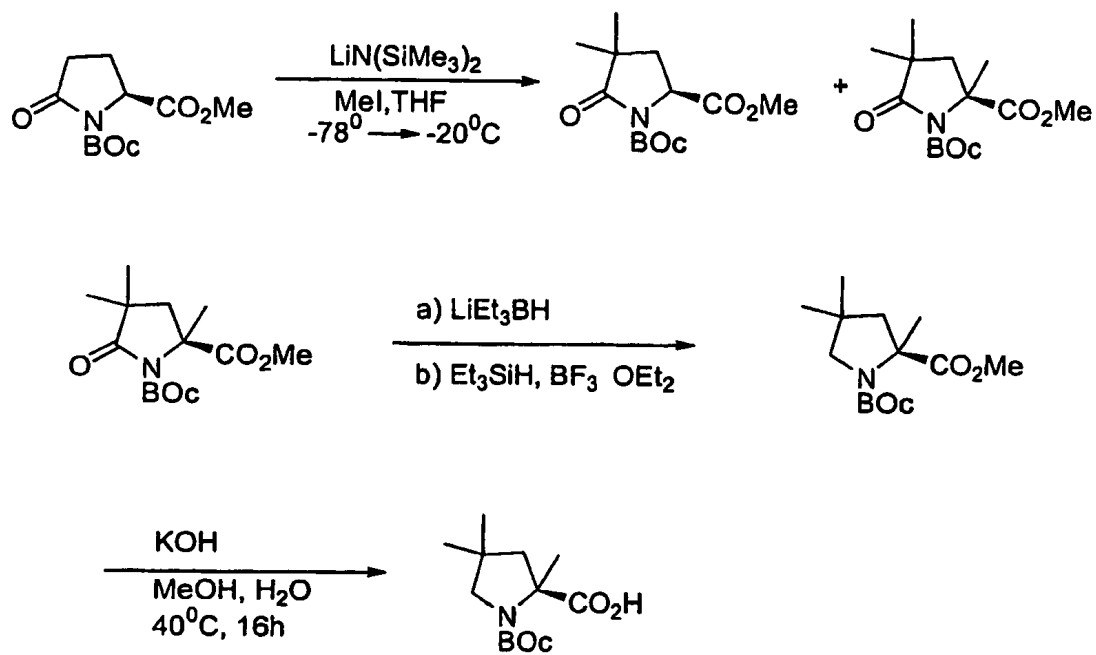
Esquema 10



Esquema 11

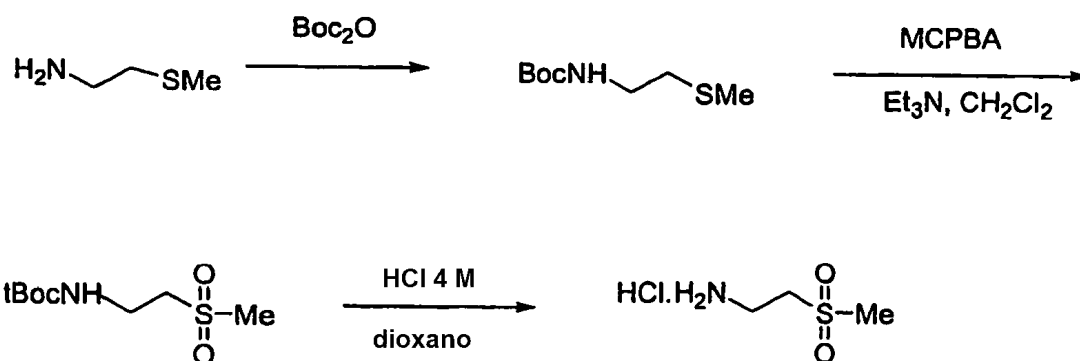


Esquema 12

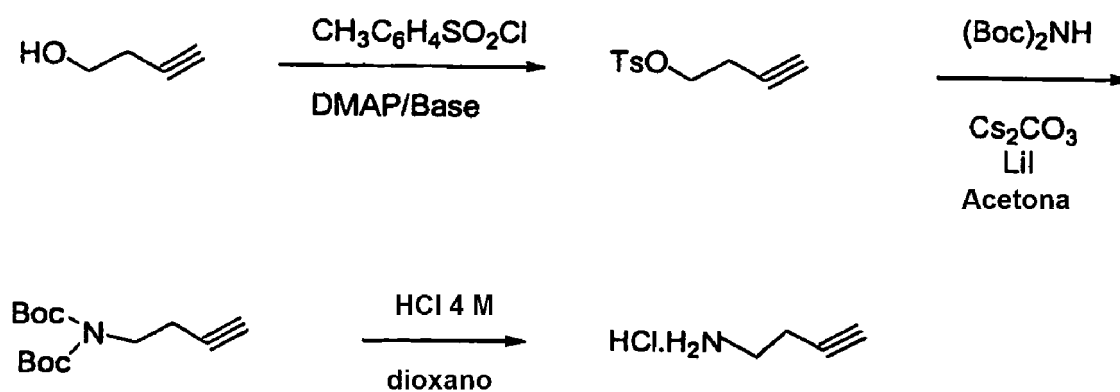


ES 2 344 890 T3

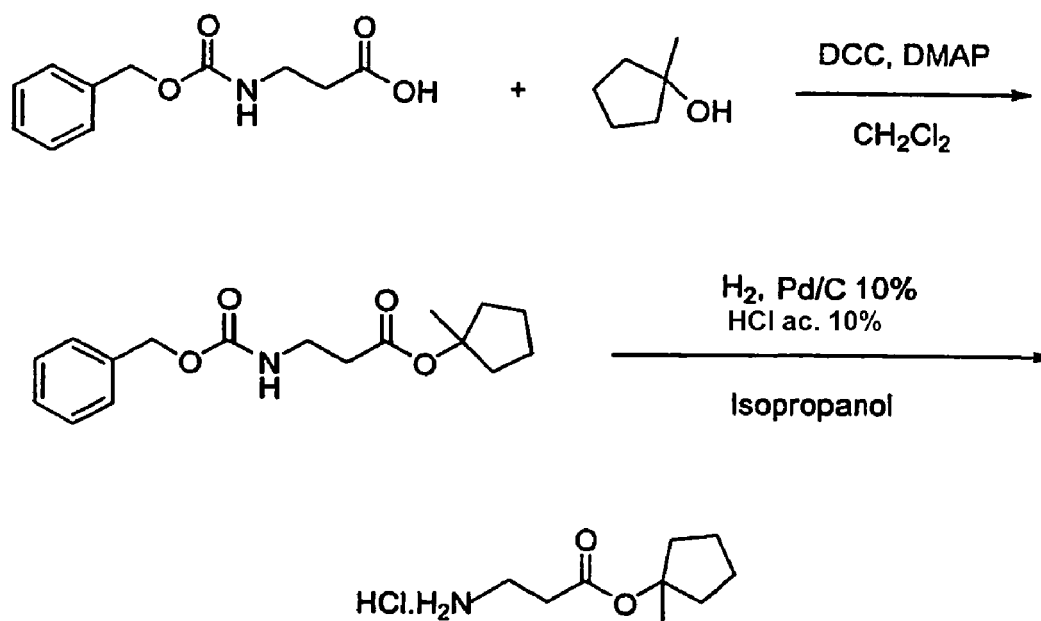
Esquema 13



Esquema 14

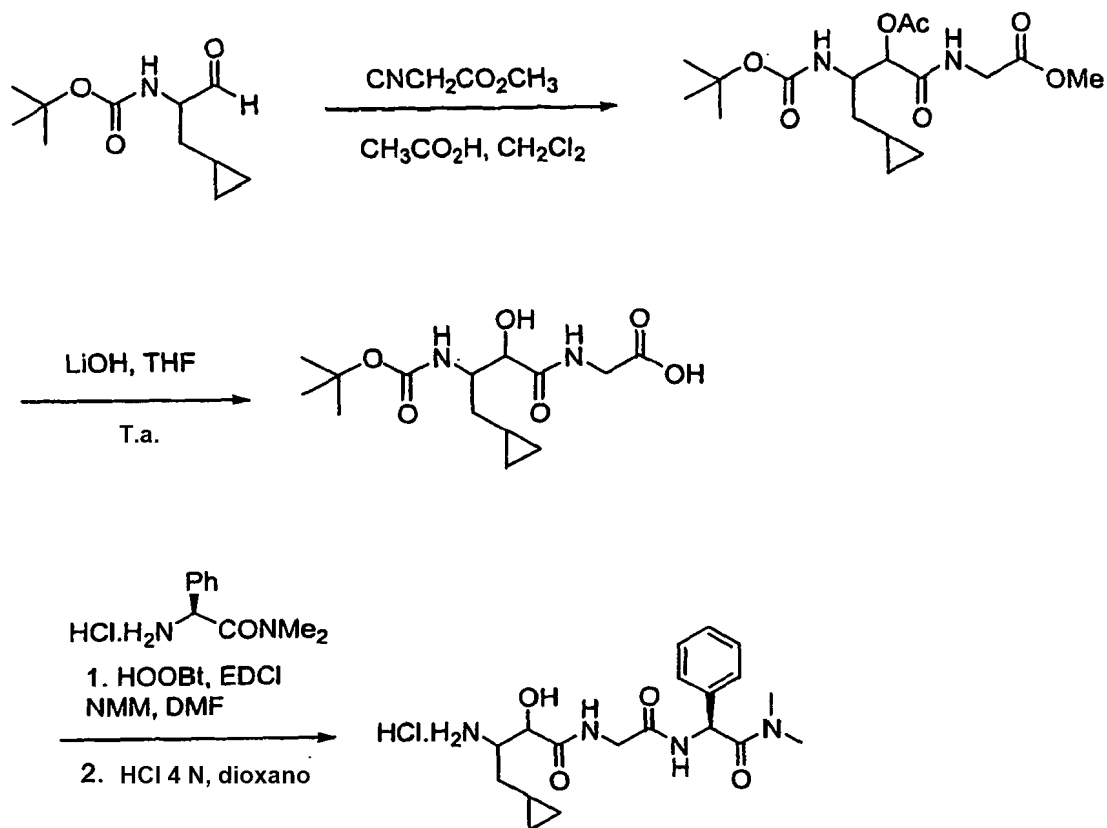


Esquema 15

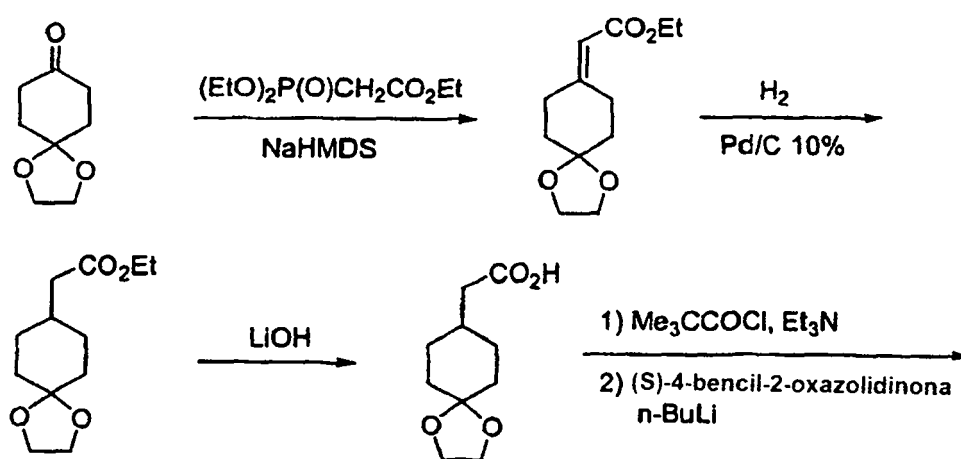


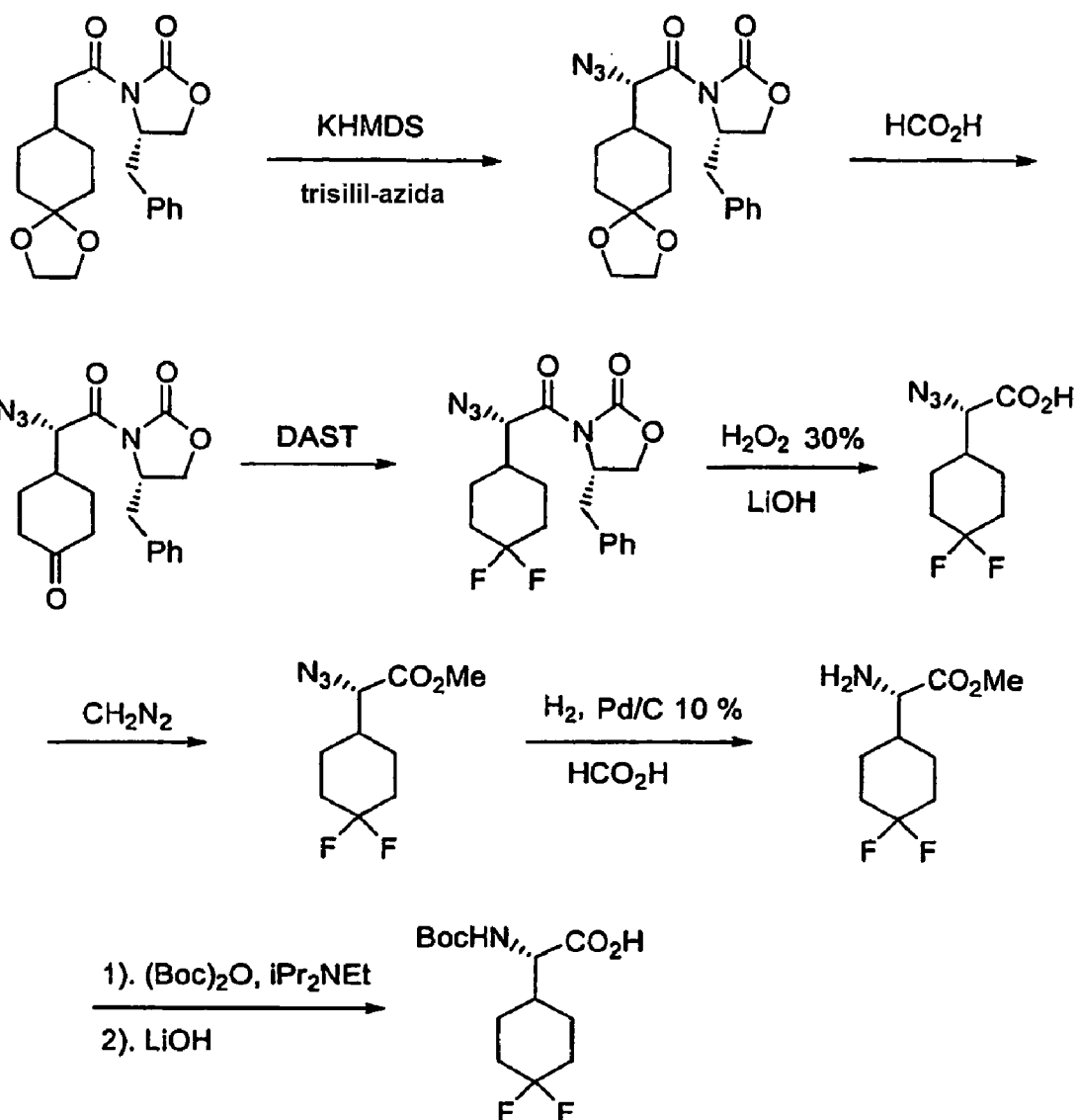
ES 2 344 890 T3

Esquema 16

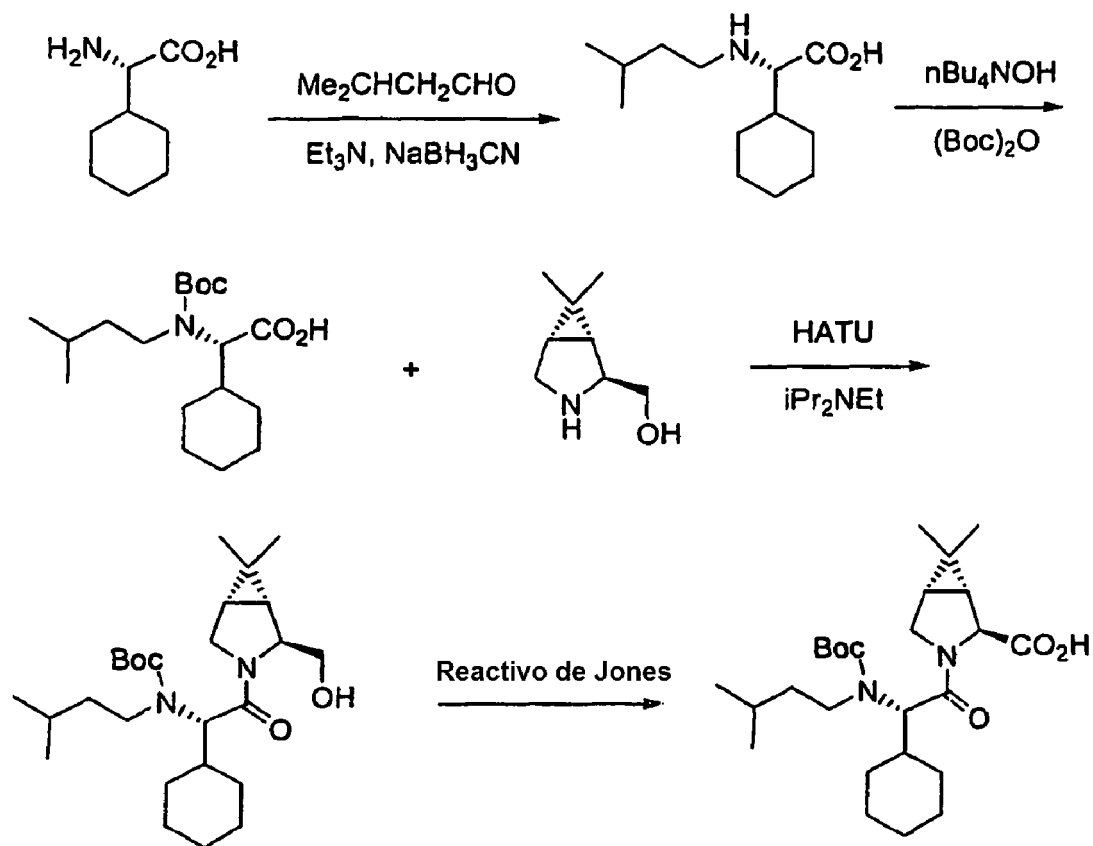


Esquema 17

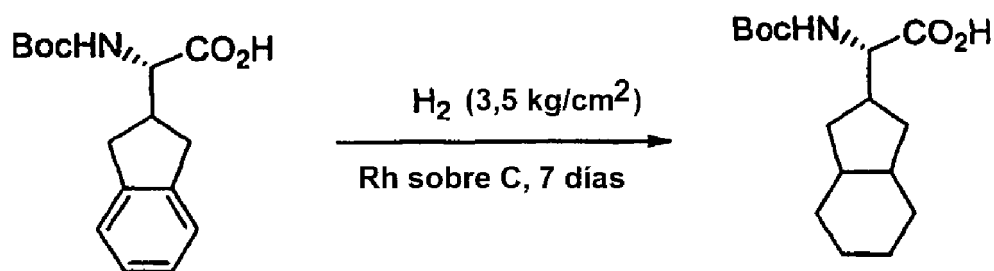




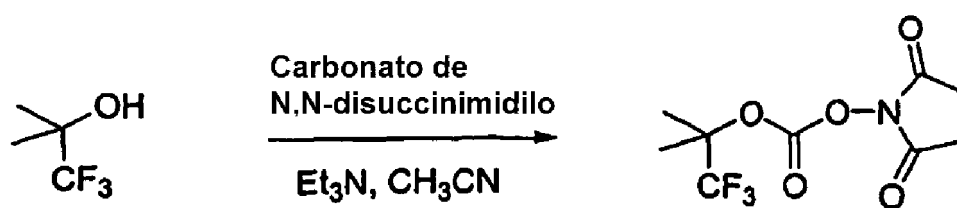
Esquema 18



Esquema 19



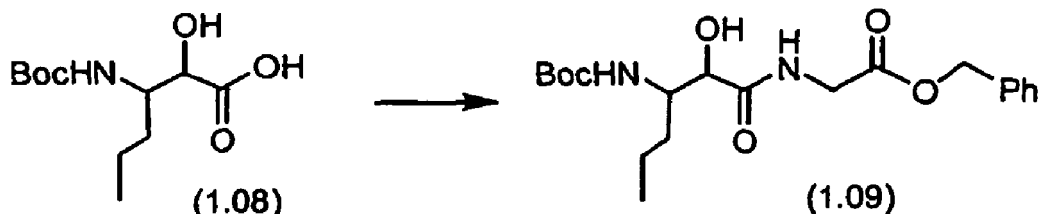
Esquema 20



Preparación de productos intermedios

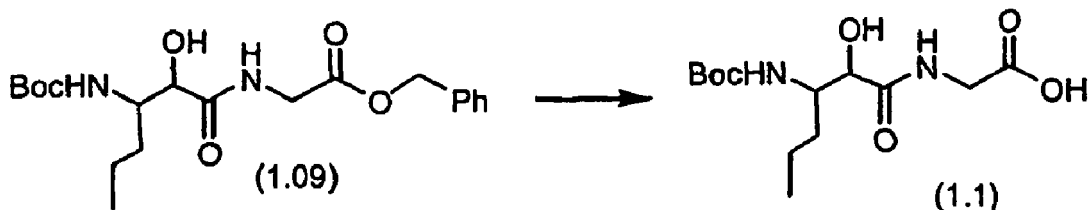
Ejemplo preparativo 1

Etapa A: Compuesto (1.1)



A una disolución agitada del compuesto (1.08) (3,00 g, 12,0 mmol (S.L. Harbeson *et al. J. Med. Chem.* 37 No.18 (1994) 2918-2929) en DMF (15 ml) y CH_2Cl_2 (15 ml) a -20°C se añadió HOObt (1,97 g, 12,0 mmol), *N*-metilmorfolina (4,0 ml, 36,0 mmol) y EDCI (2,79 g, 14,5 mmol) y se agitó durante 10 minutos, seguido de la adición de $\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{N-Gly-OBn}$ (2,56 g, 13,0 mmol). La disolución resultante se agitó a -20°C durante 2 h, se mantuvo refrigerada durante una noche y después se concentró hasta sequedad, seguido de la dilución con EtOAc (150 ml). Después, la disolución de EtOAc se lavó dos veces con disolución saturada de NaHCO_3 , H_2O , H_3PO_4 al 5%, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró hasta sequedad para dar al compuesto (1.09) (4,5 g, 94%). LRMS m/z MH^+ = 395,1.

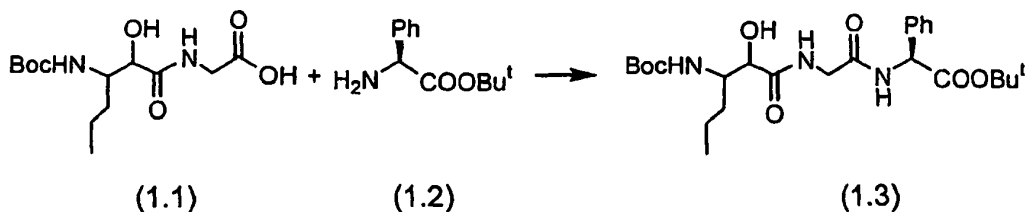
Etapa B: Compuesto (1.1)



Una disolución del compuesto (1.09) (7,00 g, 17,8 mmol) en etanol absoluto (300 ml) se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno en presencia de Pd-C (300 mg, 10%). El avance de la reacción se siguió por tlc. Después de 2 h, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de celita y la disolución resultante se concentró a vacío para dar el compuesto (1.1) (5,40 g, cuantitativo). LRMS m/z MH^+ = 305,1.

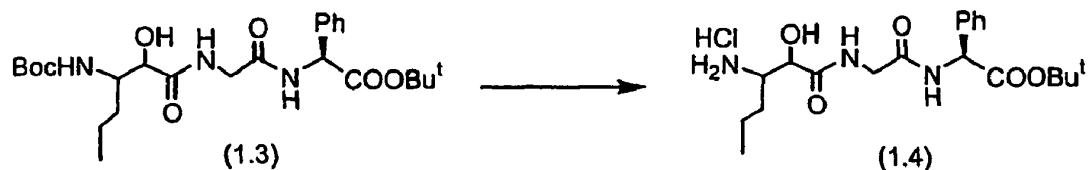
Ejemplo preparativo 2

Etapa A: Compuesto (1.3)



Una mezcla del compuesto (1.1) del ejemplo preparativo 1, etapa B anterior (1 eq.), el compuesto (1.2) (de Novabiochem, n° de catálogo 04-12-5147) (1,03 eq.), HOObt (1,03 eq.), *N*-metilmorfolina (2,2 eq.) y dimetilformamida (70 mUg) se agitó a -20°C . Se añadió EDCI (1,04 eq.) y la reacción se agitó durante 48 h. La mezcla de reacción se vertió en KH_2PO_4 acuoso al 5% y se extrajo con acetato de etilo (2 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con K_2CO_3 acuoso frío al 5%, después KH_2PO_4 acuoso al 5%, después salmuera, y la capa orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro. La mezcla se filtró, después se evaporó y el filtrado se secó a vacío, el residuo se trituró con Et_2O -hexano y se filtró para dar el compuesto del título (1.3) (86% de rendimiento), $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7$ (493,60), espectro de masas (FAB) $\text{M}+1$ = 494,3.

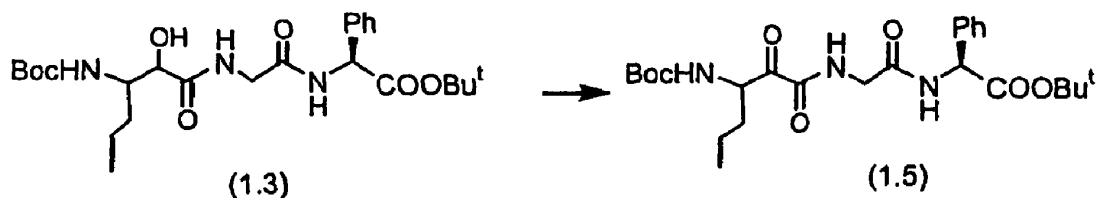
Etapa B: Compuesto (1.4)



El compuesto (1.3) del ejemplo preparativo 2, etapa A (3,0 g), se trató con HCl/dioxano 4 N (36 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 7 min. La mezcla se vertió en 1,5 litros de hexano frío (5°C) y se agitó, después se dejó reposar en frío durante 0,5 h. La mezcla se filtró con succión en una atmósfera seca y el sólido recogido se secó más para dar el compuesto del título (1.4) (2,3 g, 88% de rendimiento), $C_{20}H_{31}N_3O_5 \cdot HCl$, RMN H^1 (DMSO- d_6 /NaOD) δ 7,38 (m, 5H), 5,25 (m, 1H), 4,3-4,1 (m, 1H), 3,8 (m, 2H), 3,4-3,3 (m, obscured by D_2O), 1,7-1,1 (m, 4H), 1,35 (s, 9H), 0,83 (m, 3H).

Ejemplo preparativo 3

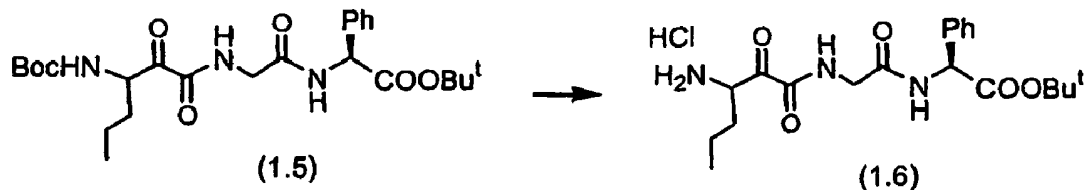
Compuesto (1.5)



El compuesto (1.3) del ejemplo preparativo 2, etapa A, se trató esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 7, etapa A anterior, para dar el compuesto (1.5).

Ejemplo preparativo 4

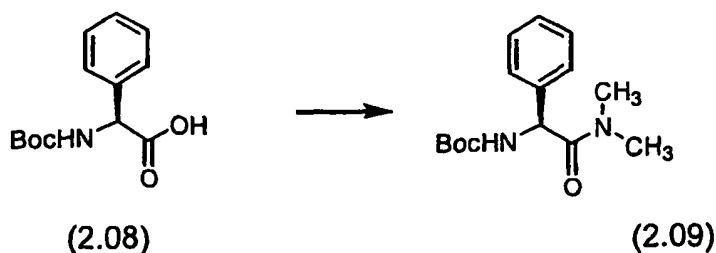
Compuesto (1.6)



El compuesto (1.5) del ejemplo preparativo 3, se trató esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa B, para dar el compuesto (1.6).

Ejemplo preparativo 5

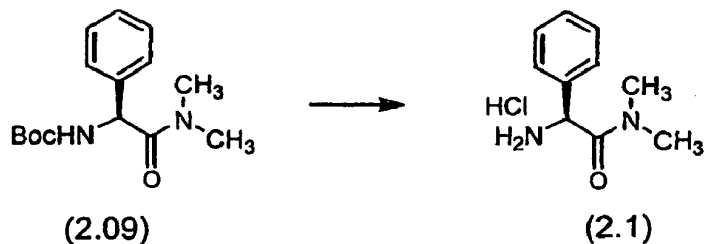
Etapa A: Compuesto (2.09)



ES 2 344 890 T3

A una disolución del hidrocloreto de dimetilamina (1,61 g, 19,7 mmol), *N*-Boc-fenilglicina, compuesto (2.08) (4,50 g, 17,9 mmol, Bachem Co. n° A-2225), HOObt (3,07 g, 18,8 mmol) y EDCI (4,12 g, 21,5 mmol) en DMF anhidra (200 ml) y CH₂Cl₂ (150 ml) a -20°C se añadió NMM (5,90 ml, 53,7 mmol). Después de agitar a esta temperatura durante 30 min, la mezcla de reacción se mantuvo en un refrigerador durante una noche (18 h). Después, se dejó calentar a t.a., y se añadieron EtOAc (450 ml), salmuera (100 ml) y H₃PO₄ al 5% (100 ml). Después de separar las capas, la capa orgánica se lavó con H₃PO₄ al 5% (100 ml), disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (2 X 150 ml), agua (150 ml) y salmuera (150 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar el compuesto (2.09) (4,86 g) en forma de un sólido blanco, que se usó sin más purificación.

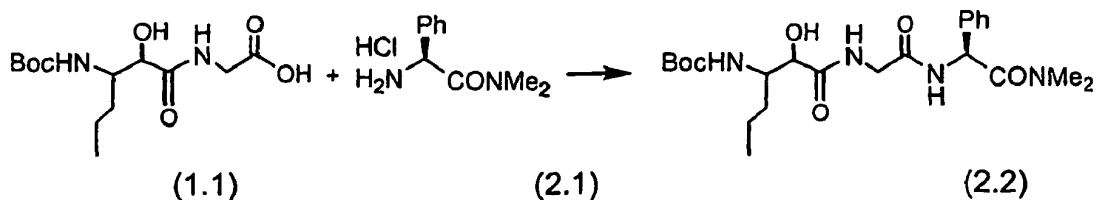
Etapa B: Compuesto (2.1)



El compuesto (2.09) del ejemplo preparativo 5, etapa A (4,70 g, bruto) se disolvió en HCl 4 N (60 ml, 240 mmol) y la disolución resultante se agitó a temperatura ambiente. El avance de la reacción se siguió por TLC. Después de 4 h, la disolución se concentró a vacío para dar el compuesto (2.1) en forma de un sólido blanco que se usó en la siguiente reacción sin más purificación. LRMS m/z MH⁺ = 179,0.

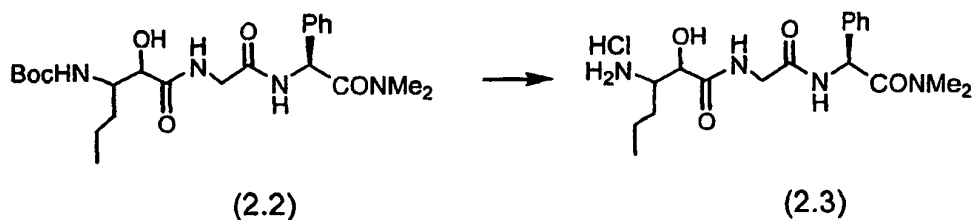
Ejemplo preparativo 6

Etapa A: Compuesto (2.2)



Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 2, etapa A, sustituyendo el hidrocloreto del éster de *t*-butilo de fenilglicina por la *N,N*-dimetilamida de fenilglicina, se preparó el compuesto (2.2), espec. de masas (FAB) M+1 = 465,3.

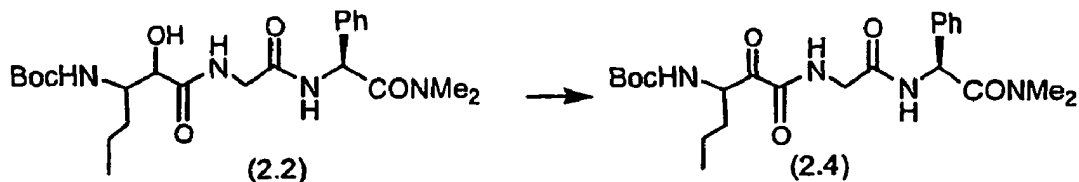
Etapa B: Compuesto (2.3)



El compuesto (2.2) de la etapa A (1,85 g) se hizo reaccionar con HCl/dioxano 4 N (50 ml) a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se evaporó a vacío en un baño de agua a 20°C, se trituroó en éter isopropílico, se filtró y se secó para proporcionar el compuesto (2.3) (1,57 g, 98% de rendimiento), C₁₈H₂₈N₄O₄·HCl, espectro de masas (FAB) M+1 = 365,3.

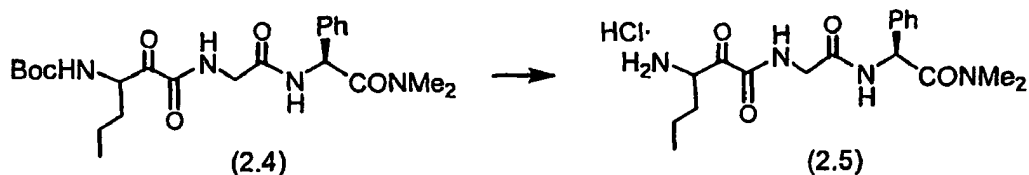
Ejemplo preparativo 7

Etapa A: Compuesto (2.4)



Una disolución del compuesto (2.2) del ejemplo preparativo 5, etapa A (2,0 g) en diclorometano (60 ml) se trató con dimetilsulfóxido (3,0 ml) y ácido 2,2-dicloroacético (0,70 ml). La mezcla agitada se enfrió a 5°C y después se añadió disolución de dicitlohexilcarbodiimida/diclorometano 1 M (8,5 ml). El baño frío se retiró y la mezcla se agitó durante 22 h. Después se añadió 2-propanol (0,5 ml) y se agitó durante 1 h adicional. La mezcla se filtró, después se lavó con NaOH 0,1 N (50 ml) enfriado con hielo, después HCl 0,1 N (50 ml) enfriado con hielo, después KH₂PO₄ acuoso al 5%, y después salmuera saturada. La disolución orgánica se secó sobre sulfato magnésico anhidro y después se filtró. El filtrado se evaporó y se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para proporcionar el compuesto (2.3) (1,87 g, 94% de rendimiento), C₂₃H₃₄N₄O₆, espectro de masas (FAB) M+1 = 463,3.

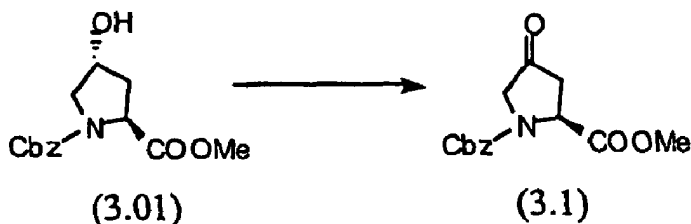
Etapa B: Compuesto (2.5)



Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 2, etapa B, se preparó el compuesto (2.5).

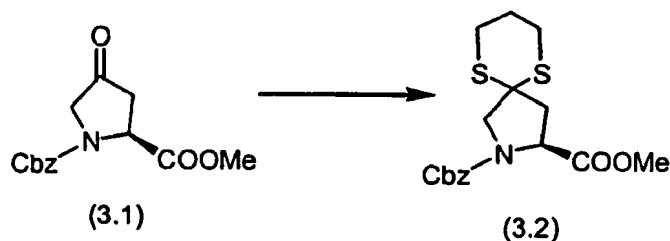
Ejemplo preparativo 8

Etapa A: Compuesto (3.1)



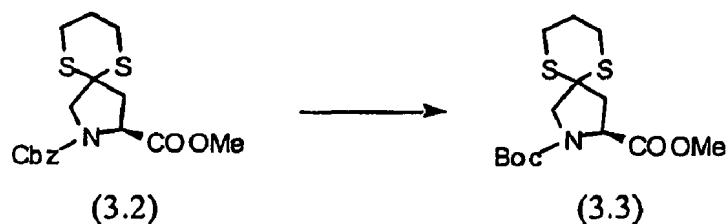
En un matraz se combinaron el éster de metilo de la N-Cbz-hidroxirolina (disponible en Bachem Biosciences, Incorporated, King of Prussia, Pennsylvania), el compuesto (3.01) (3,0 g), tolueno (30 ml) y acetato de etilo (30 ml). La mezcla se agitó enérgicamente, y después se añadió una disolución de NaBr/agua (1,28 g/5 ml). A esta se le añadió el radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO, 17 mg, de Aldrich Chemicals, Milwaukee, Wisconsin). La mezcla agitada se enfrió a 5°C y después se añadió gota a gota una disolución preparada de oxidante [blanqueador disponible en el comercio, Clorox® (18 ml), NaHCO₃ (2,75 g) y agua hasta completar 40 ml] a lo largo de 0,5 h. A esta se añadió 2-propanol (0,2 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se combinaron, se lavaron con tiosulfato sódico al 2% y después salmuera saturada. La disolución orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó a vacío para dar una goma amarillo pálido adecuada para reacciones posteriores (2,9 g, 97% de rendimiento), C₁₄H₁₅NO₅ (277,28), espectro de masas (FAB) M+1 = 278,1.

Etapa B: Compuesto (3.2)



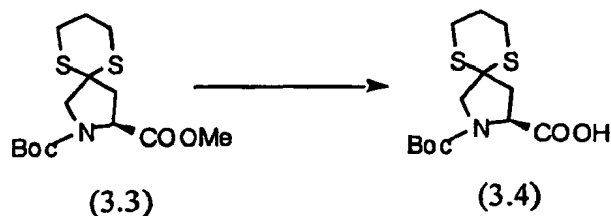
El compuesto (3.1) de la etapa A anterior (7,8 g) se disolvió en diclorometano (100 ml) y enfrió a 15°C. A esta mezcla se añadió primero 1,3-propanoditiol (3,1 ml), seguido de eterato de trifluoruro de boro recién destilado (3,7 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Mientras se agitaba enérgicamente, se añadió con cuidado una disolución de K_2CO_3 /agua (2 g/30 ml), seguido de disolución saturada de $NaHCO_3$ (10 ml). La capa orgánica se separó de la capa acuosa (pH - 7,4), se lavó con agua (10 ml) y después salmuera. La disolución orgánica se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con tolueno y después con un gradiente de hexano- Et_2O (2:3 a 0:1) para proporcionar un aceite marrón (7,0 g, 68% de rendimiento), $C_{17}H_{21}NO_4S_2$ (367,48), espectro de masas (FAB) $M+1 = 368,1$.

Etapa C: Compuesto (3.3)



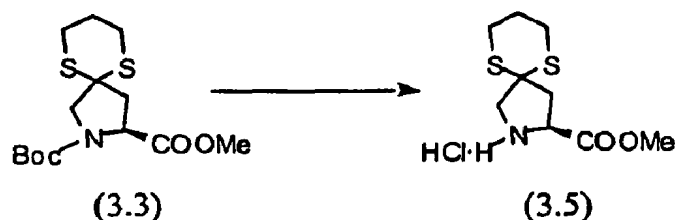
Una disolución del compuesto (3.2) de la etapa B anterior (45 g) en acetonitrilo (800 ml) a 20°C, se trató con yodotrimetilsilano recién destilado (53 ml) en una vez. La reacción se agitó durante 30 min, después se vertió en una disolución recién preparada de dicarbonato de di-t-butilo (107 g), éter dietílico (150 ml) y diisopropiletilamina (66,5 ml). La mezcla se agitó durante 30 min más y después se lavó con hexano (2 x 500 ml). Se añadió acetato de etilo (1000 ml) a la capa inferior de acetonitrilo y después la capa se lavó con KH_2PO_4 acuoso al 10% (2 x 700 ml) y salmuera. El filtrado se evaporó a vacío en un baño de agua a 25°C, se recogió en acetato de etilo reciente (1000 ml), y se lavó sucesivamente con HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, KH_2PO_4 acuoso al 10% y salmuera. La disolución orgánica se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío. El residuo (66 g) se cromatografió en gel de sílice (2 kg), eluyendo con hexano (2 litros), después Et_2O /hexano (55:45, 2 litros) y después Et_2O (2 litros) para proporcionar una goma naranja que cristalizó lentamente al reposar (28 g, 69% de rendimiento), $C_{14}H_{23}NO_4S_2$ (333,46), espectro de masas (FAB) $M+1 = 334,1$.

Etapa D: Compuesto (3.4)



Una disolución del compuesto (3.3) de la etapa C anterior (11 g) en dioxano (150 ml) a 20°C se trató con LiOH acuoso 1 N (47 ml) y se agitó durante 30 h. La mezcla se concentró a vacío en un baño a 30°C hasta la mitad de volumen. El resto se diluyó con agua (300 ml), se extrajo con Et_2O (2 x 200 ml). La capa acuosa se acidificó a pH ~4 con HCl 12 N (3-4 ml), se extrajo con acetato de etilo, y se lavó con salmuera. La disolución orgánica se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío para dar el compuesto (3.4) (8,1 g, 78%), $C_{13}H_{21}NO_4S_2$ (319,44), espectro de masas (FAB) $M+1 = 320,1$.

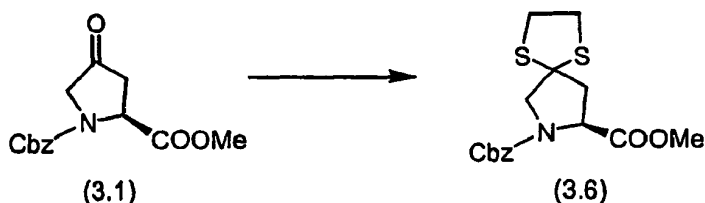
Etapa E: Compuesto (3.5).



A una disolución del compuesto (3.3) de la etapa C anterior (1 g) en dioxano (5 ml), se añadió disolución de HCl-dioxano 4 N (50 ml). La mezcla se agitó enérgicamente durante 1 h. La mezcla se evaporó a vacío en un baño a 25°C. El residuo se trituroó con Et₂O y se filtró para dar el compuesto del título (0,76 g, 93% de rendimiento), C₉H₁₅NO₂S₂·HCl (269,81), espectro de masas (FAB) M+1 = 234,0.

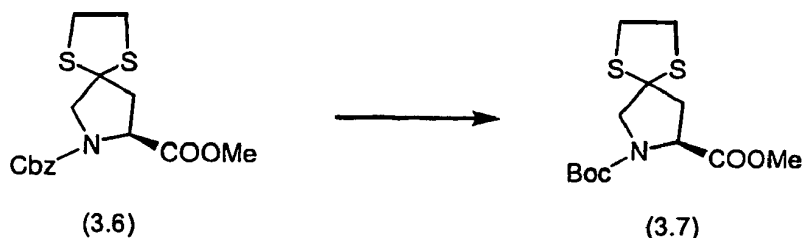
Ejemplo preparativo 9

Etapa A: Compuesto (3.6)



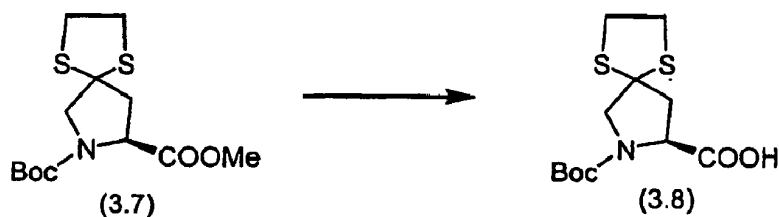
Siguiendo esencialmente el mismo procedimiento del ejemplo preparativo 8, etapa B, sustituyendo el propanoditiol por etanoditiol, se obtuvo el compuesto (3.6).

Etapa B: Compuesto (3.7)



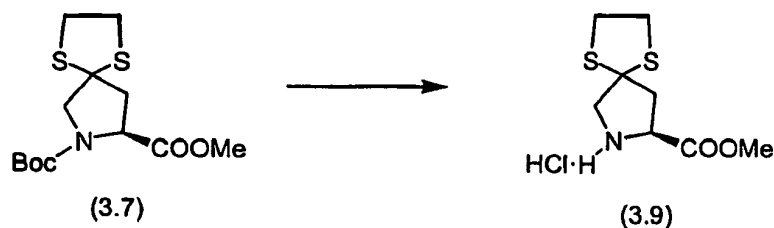
Siguiendo esencialmente el mismo procedimiento del ejemplo preparativo 8, etapa C, sustituyendo el compuesto (3.2) por el compuesto (3.6), se obtuvo el compuesto (3.7).

Etapa C: Compuesto (3.8)



Siguiendo esencialmente el mismo procedimiento del ejemplo preparativo 8, etapa C, sustituyendo el compuesto (3.3) por el compuesto (3.7), se obtuvo el compuesto (3.8).

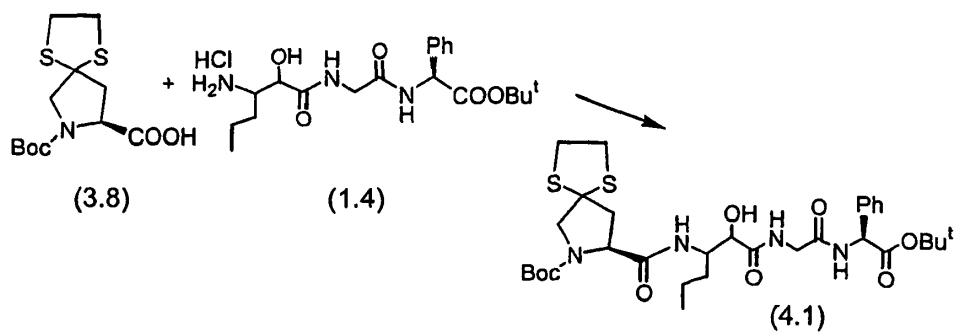
Etapa D: Compuesto (3.9)



Siguiendo esencialmente el mismo procedimiento del ejemplo preparativo 8, etapa E, sustituyendo el compuesto (3.3) por el compuesto (3.7), se obtuvo el compuesto (3.9).

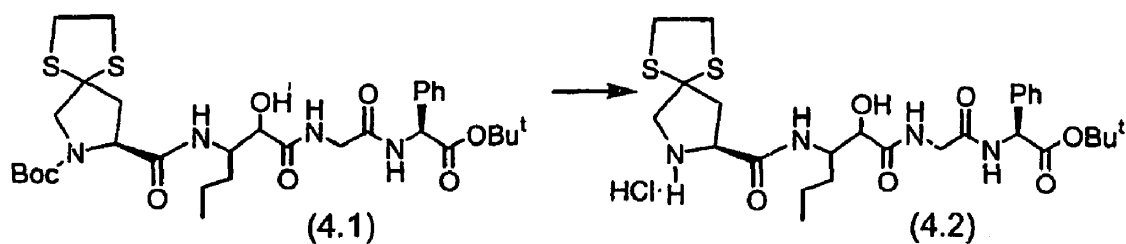
Ejemplo preparativo 10

Etapa A: Compuesto (4.1)



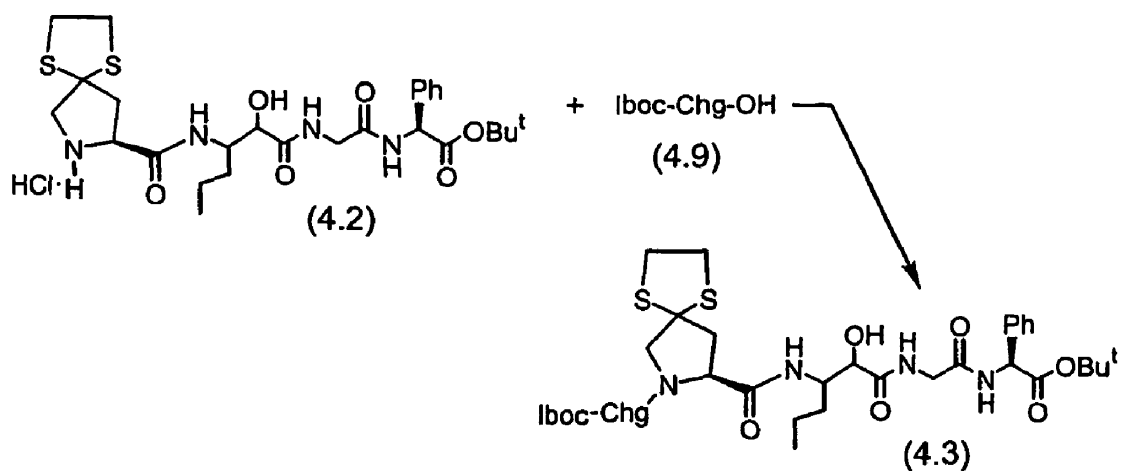
Esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa A, se preparó el compuesto (4.1), $C_{33}H_{48}N_4O_9S_2$ (708,89).

Etapa B: Compuesto (4.2)



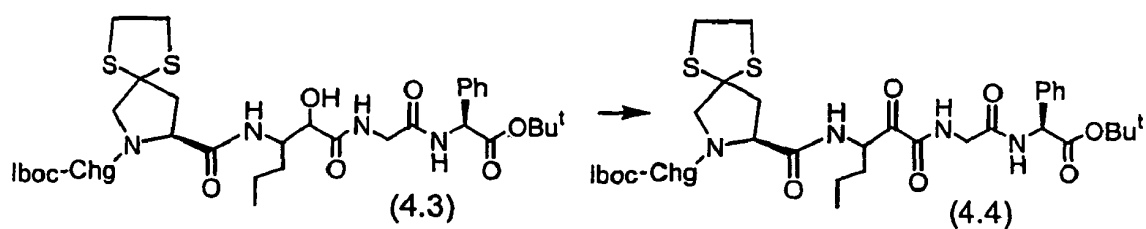
Esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa B, se preparó el compuesto (4.2), espectro de masas (FAB) $M+1 = 609,3$.

Etapa C: Compuesto (4.3)



Esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa A, se preparó el compuesto (4.3), $C_{41}H_{61}N_5O_{10}S_2$ (708.89), espectro de masas (FAB) $M+1 = 709,3$.

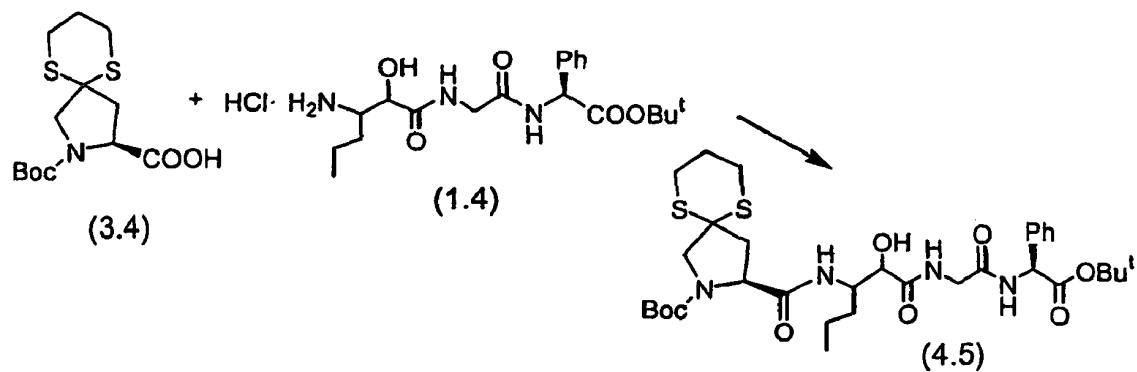
Etapa D: Compuesto (4.4)



Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 7, etapa B, se preparó el compuesto (4.4).

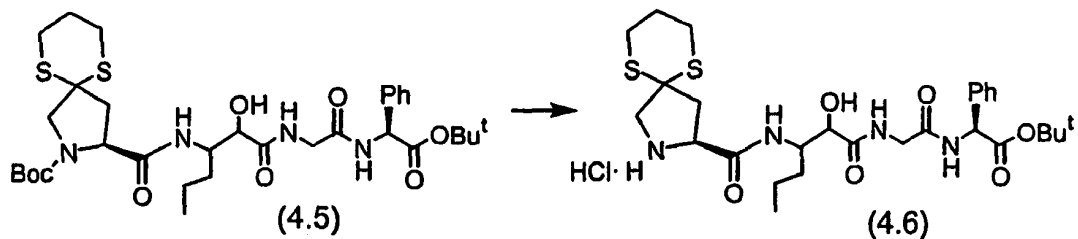
Ejemplo preparativo 11

Etapa A: Compuesto (4.5)



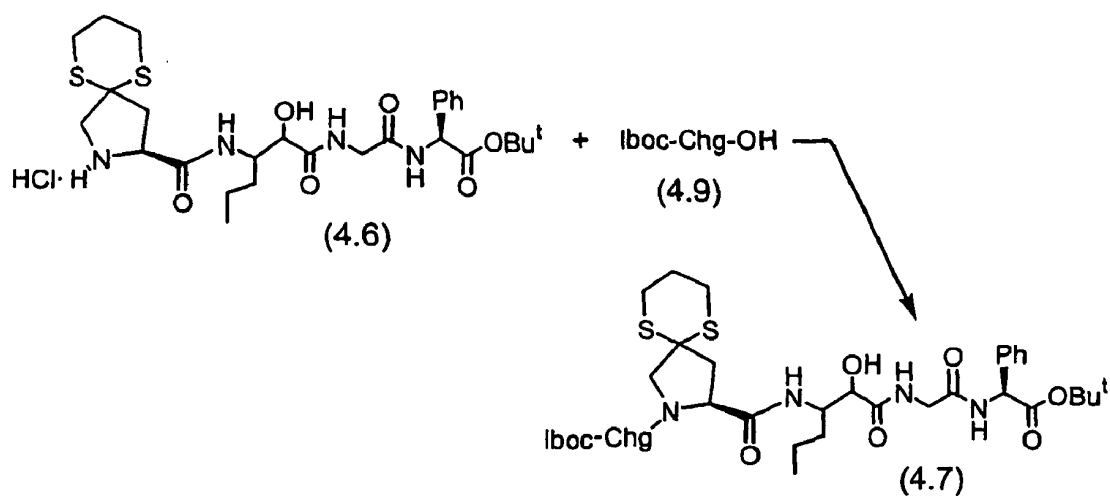
Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 2, etapa A, se preparó el compuesto (4.5).

Etapa B: Compuesto (4.6)



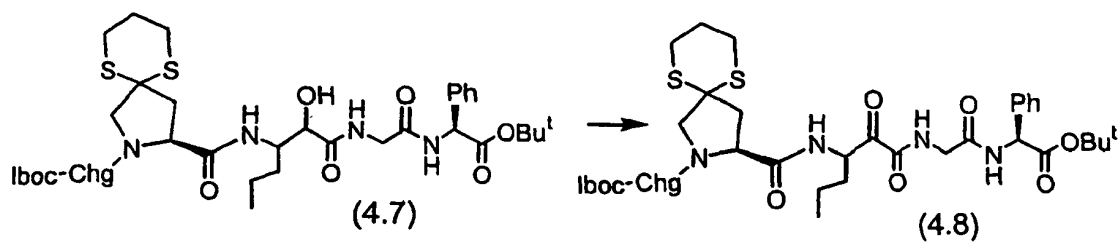
Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 2, etapa B, se preparó el compuesto (4.6).

Etapa C: Compuesto (4.7)



El compuesto (4.9) del ejemplo preparativo 12, se hizo reaccionar con el compuesto (4.6) de la etapa B anterior, esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa A, para proporcionar el compuesto (4.7).

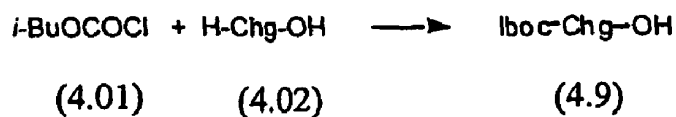
Etapa D: Compuesto (4.8)



Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 7, etapa A, se preparó el compuesto (4.8).

Ejemplo preparativo 12

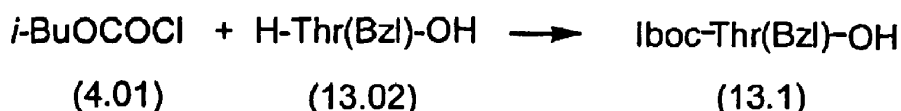
Compuesto (4.9)



Una disolución de L-ciclohexilglicina (4.02) (1,0 eq.), dimetilformamida (20 ml/g) y diisopropiletilamina (1,1 eq.) a 5°C se trata con cloroformiato de isobutilo (4.01) (1,1 eq.). El baño frío se retira y se agita durante 6 h. La mezcla de reacción se vierte en KH_2PO_4 acuoso al 5% y se extrae con acetato de etilo (2 x). Los extractos orgánicos combinados se lavan con K_2CO_3 acuoso frío al 5%, después KH_2PO_4 acuoso al 5%, después salmuera, y los extractos orgánicos se secan sobre MgSO_4 anhidro. La mezcla se filtra, el filtrado se evapora a vacío, el residuo se cromatografía si es necesario, o el residuo se tritura con Et_2O -hexano, y se filtra para dar el compuesto del título (4.9), $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (257,33).

10 Ejemplo preparativo 13

Compuesto (13.1)



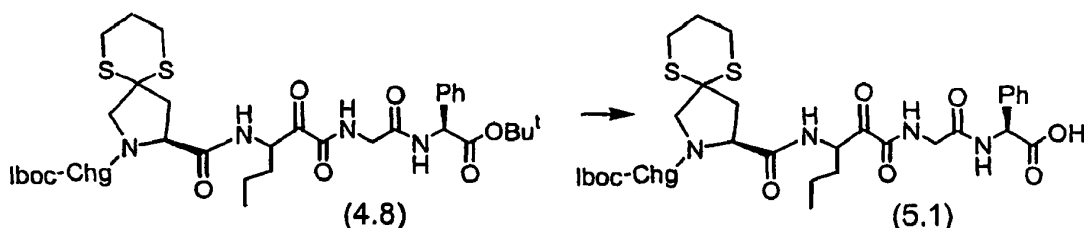
20

15

25

Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 12, sustituyendo la L-ciclohexilglicina (4.02) por la L-O-benciltreonina (13.02) (Wang *et al.*, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, (1997) No. 5, 621-624.), se prepara el compuesto (13.1) $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (309,36), espectro de masas (FAB) $\text{M}+1 = 310,2$.

Ejemplo preparativo 14



40

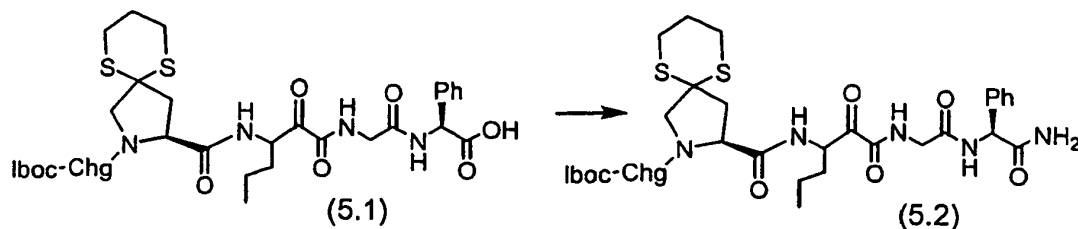
35

30

45

El compuesto (4.8) del ejemplo preparativo 11, etapa D (1,0 g) se hizo reaccionar con una disolución de ácido trifluoroacético anhidro-diclorometano (1:1, 50 ml) durante 2 h. La disolución se diluyó con xileno (100 ml) y se evaporó a vacío. El residuo se trituró con Et_2O y se filtró para dar el compuesto del título (5.1) (0,9 g), $\text{C}_{37}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}_2$ (775,98), espectro de masas (FAB) $\text{M}+1 = 776,5$.

Etapa B: Compuesto (5.2)



60

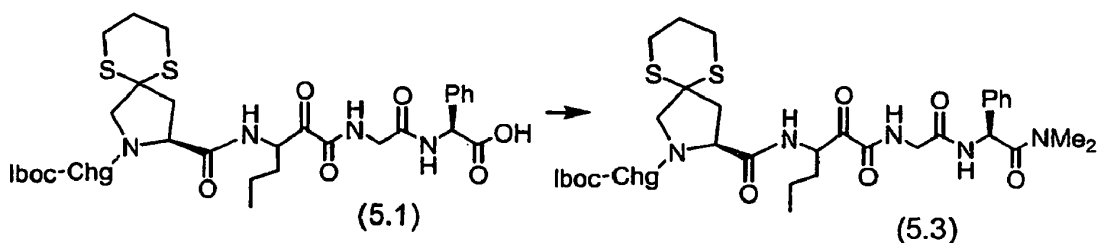
55

50

65

Esencialmente de la misma forma que el ejemplo preparativo 2, etapa A, se hizo reaccionar el compuesto (5.1) con amoníaco (disolución 0,5 M en 1,4-dioxano), para obtener el compuesto del título (5.2) $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}_2$ (774,99), espectro de masas (FAB) $\text{M}+1 = 775,4$.

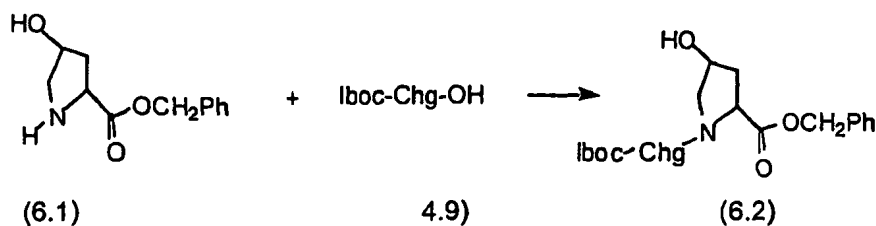
Ejemplo preparativo 15



Una mezcla del compuesto (5.1) del ejemplo preparativo 14, etapa A (0,15 g), N,N-dimetilamina (0,12 ml de disolución 2 M en THF), dimetilformamida (10 ml) y el reactivo de acoplamiento PyBrOP (0,11 g) se enfrió a 5°C, y después se añadió diisopropiletilamina (DIEA o DIPEA, 0,12 ml). La mezcla se agitó en frío durante 1 min y después se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. La mezcla de reacción se vertió en H₃PO₄ acuoso frío al 5% (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con K₂CO₃ acuoso frío al 5%, después KH₂PO₄ acuoso al 5% y después salmuera. La disolución orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con MeOH-CH₂Cl₂ para dar el compuesto del título (5.3), C₃₉H₅₈N₆O₈S₂ (803,05), espec. de masas (FAB) M+1 = 803,5.

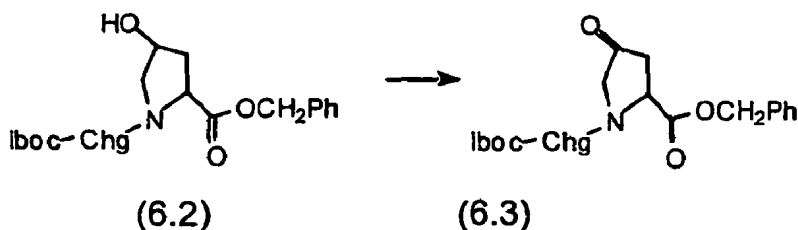
Ejemplo preparativo 16

Etapa A: Compuesto (6.2)



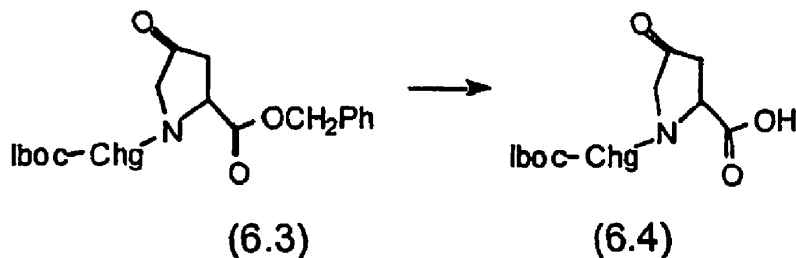
Esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa A, se hizo reaccionar el compuesto (6.1) hidrocloreto del éster de bencilo de la hidroxiprolina con el compuesto (4.9) del ejemplo preparativo 12, para obtener el compuesto del título (6.2), C₂₅H₃₆N₂O₆ (460,56), espec. de masas (FAB) M+1 = 461,2.

Etapa B: Compuesto (6.3)



Esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 8, se preparó el compuesto (6.3), C₂₅H₃₄N₂O₆ (458,55), espec. de masas (FAB) M+1 = 459,2.

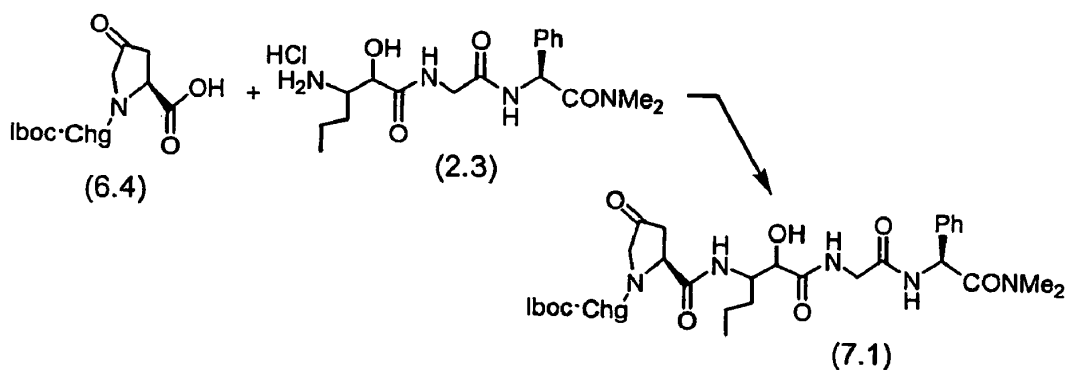
Etapa C: Compuesto (6.4)



Una mezcla del compuesto (6.3) de la etapa B (1 g), Pd/C al 10% (0,05 g) y EtOH (100 ml) se agitó con 1 atm de H_2 durante 6 h. La mezcla se filtró y se evaporó hasta sequedad a vacío para dar el compuesto del título (6.4) (0,77 g), $C_{18}H_{28}N_2O_6$ (368,42) espec. de masas (FAB) $M+1 = 369,2$.

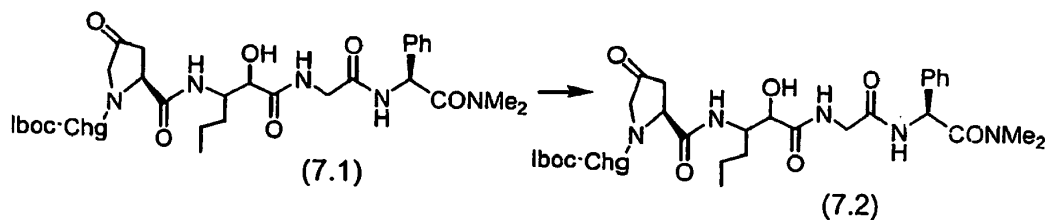
Ejemplo preparativo 17

Etapa A: Compuesto (7.1)



El compuesto (6.4) del ejemplo preparativo 16, etapa C, se hizo reaccionar con el compuesto (2.3) del ejemplo preparativo 6, etapa B, esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 2, etapa A, para proporcionar el compuesto (7.1), $C_{36}H_{54}N_6O_9$ (714,85), espec. de masas (FAB) $M+1 = 715,9$.

Etapa B: Compuesto (7.2)



El compuesto (7.1) se hizo reaccionar esencialmente de la misma forma que en el ejemplo preparativo 7, etapa A, para proporcionar el compuesto (7.2), $C_{36}H_{52}N_6O_9$ (712,83), espec. de masas (FAB) $M+1 = 713,5$.

Usando los procedimientos indicados antes y descritos en esta memoria, se prepararon los compuestos de la invención de la tabla 1 adjunta. Como nota general para la tabla 1 así como para los ejemplos y esquemas en esta memoria descriptiva, cualquier átomo de nitrógeno en un extremo abierto con la valencia no completada en las estructuras químicas en los ejemplos y la tabla, se refiere a NH, o en el caso de un nitrógeno terminal a -NH₂. Igualmente, cualquier átomo de nitrógeno en un extremo abierto con la valencia no completada en las estructuras químicas y en los ejemplos y la tabla, se refiere a -OH y cualquier átomo de carbono en extremo abierto con la valencia no completada se completa de forma adecuada con -H.

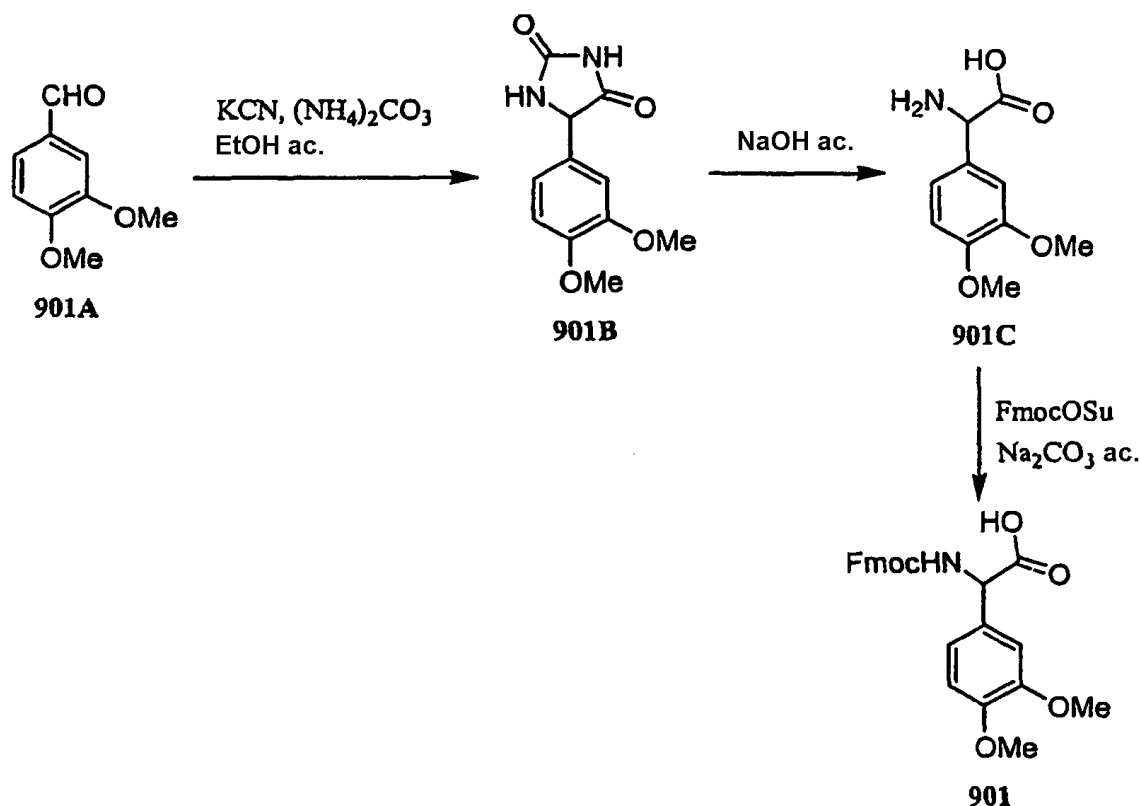
Procedimiento general para las reacciones de acoplamiento en fase sólida

La síntesis se hizo en un recipiente de reacción que se construyó a partir de un cartucho de jeringuilla de polipropileno equipado con una frita de polipropileno en la parte inferior. Los aminoácidos protegidos con Fmoc se acoplaron mediante técnicas en fase sólida habituales. Cada recipiente de reacción se cargó con 100 mg de la resina de partida Fmoc-Sieber (aproximadamente 0,03 mmol). La resina se lavó con porciones de 2 ml de DMF (2 veces). El grupo protector Fmoc se eliminó por tratamiento con 2 ml de una disolución de piperidina en DMF al 20% v/v durante 20 min. La resina se lavó con porciones de 2 ml de DMF (4 veces). El acoplamiento se hizo en DMF (2 ml), usando 0,1 mmol de Fmoc-aminoácido, 0,1 mmol de HATU [hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio] y 0,2 mmol de DIPEA (N,N-diisopropiletilamina). Después de agitar durante 2 h, el recipiente de reacción se drenó y la resina se lavó con porciones de 2 ml de DMF (4 veces). El ciclo de acoplamiento se repitió con el siguiente Fmoc-aminoácido o grupo terminal.

Procedimiento general para la oxidación de Dess-Martin en fase sólida

La síntesis se llevó a cabo en un recipiente de reacción que se construyó a partir de un cartucho de jeringuilla de polipropileno equipado con una frita de polipropileno en la parte inferior. El compuesto hidroxilado unido a la resina (aproximadamente 0,03 mmol) se trató con una disolución de 0,12 mmol de peryodinato de Dess-Martin y 0,12 mmol de *t*-BuOH en 2 ml de DCM durante 4 h. La resina se lavó con porciones de 2 ml de una disolución de *i*PrOH en DCM al 20% v/v, THF, una disolución de THF en agua al 50% v/v (4 veces), THF (4 veces) y DCM (4 veces).

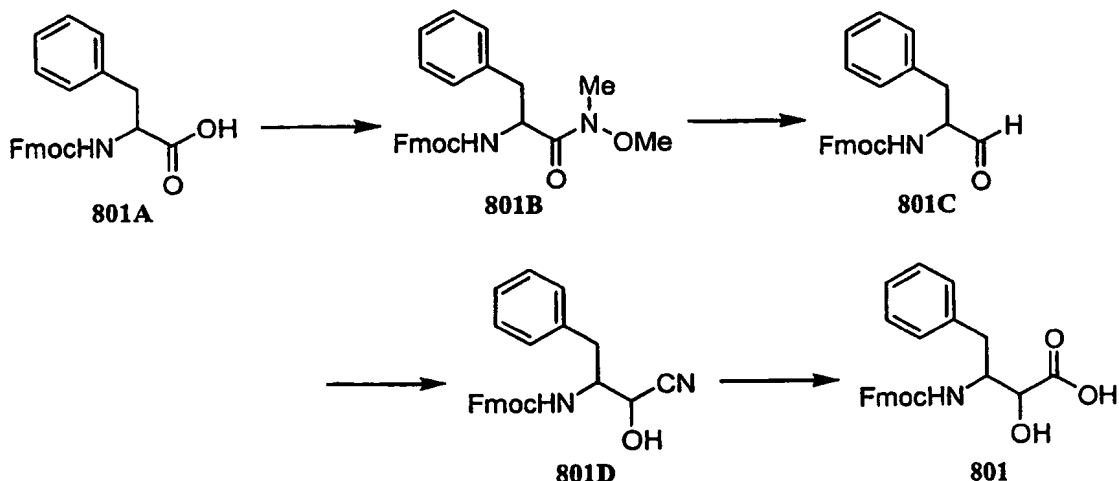
Ejemplo preparativo 18

Preparación del compuesto *N*-Fmoc-2',3'-dimetoxifenilglicina (901)

A una disolución de cianuro potásico (1,465 g, 22,5 mmol) y carbonato amónico (5,045 g, 52,5 mmol) en agua (15 ml) se añadió una disolución de 2,3-dimetoxibenzaldehído 901A (2,5 g, 15 mmol) en etanol (15 ml). La mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 24 h. El volumen de la disolución se redujo a 10 ml por evaporación a presión reducida. Se añadió ácido clorhídrico concentrado (15 ml) y se obtuvo el compuesto 901B en forma de un precipitado blanco. El compuesto 901B se aisló por filtración (2,2 g, 9,3 mmol). El compuesto 901B se disolvió en hidróxido sódico acuoso al 10% p/p (15 ml) y la disolución resultante se calentó a reflujo durante 24 h. Se añadió ácido clorhídrico concentrado y el pH se ajustó a neutro (pH 7). La disolución resultante que contenía el compuesto 901C se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en disolución acuosa de bicarbonato sódico al 5% p/p (150 ml). La disolución se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se añadió 1,4-dioxano (30 ml) y una disolución de 9-carbonato de fluorenilmetilo y succinimidilo (2,7 g, 8 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. El 1,4-dioxano se evaporó a presión reducida. La disolución acuosa se lavó con éter dietílico. Se añadió ácido clorhídrico concentrado y el pH se ajustó a ácido (pH 1). Se añadió acetato de etilo, la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida para proporcionar el compuesto 901 deseado en forma de un sólido espumoso blanco (3,44 g, 7,9 mmol). EM (LCMS-Electropulverización) 434,1 MH⁺.

Ejemplo preparativo 19

Compuesto (801)



A una disolución de N-Fmoc-fenilalanina 801A (5 g, 12,9 mmol) en DCM anhidro (22 ml) enfriada a -30°C en un baño de hielo seco-acetona, se añadió N-metilpirrolidina (1,96 ml, 16,1 mmol) y cloroformato de metilo (1,2 ml, 15,5 mmol) secuencialmente. La mezcla de reacción se agitó a -30°C durante 1 h y se añadió una disolución de hidrocloreuro de N,O-dimetilhidroxilamina (1,51 g, 15,5 mol) y N-metilpirrolidina (1,96 ml, 16,1 mmol) en DCM anhidro (8 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió tolueno y la capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico diluido, disolución acuosa de bicarbonato sódico y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida para proporcionar el compuesto 801B (4 g, 9,29 mmol).

A una disolución de Red-Al (6,28 ml, 21,4 mmol) en tolueno anhidro (8 ml) enfriada a -20°C en un baño de hielo seco-acetona se añadió una disolución del compuesto 801B (4 g, 9,29 mmol) en tolueno anhidro (12 ml). La mezcla de reacción se agitó a -20°C durante 1,5 h. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico diluido, disolución acuosa de bicarbonato sódico y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida y el producto bruto 801C se usó en la siguiente reacción sin más purificación.

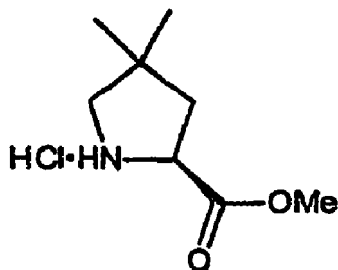
A una disolución del compuesto 801C (aprox. 9,29 mmol) en hexano (15 ml) se añadió una disolución de cianuro potásico (24 mg, 0,37 mmol) y yoduro de tetrabutilamonio (34 mg, 0,092 mmol) en agua (4 ml) y cianhidrina de la acetona (1,27 ml, 13,9 mmol) de forma secuencial. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió acetato de etilo y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida para proporcionar el compuesto 801D (2,4 g, 6,03 mmol).

A una disolución del compuesto 801D (2,4 g, 6,03 mmol) en 1,4-dioxano (11 ml) se añadió ácido clorhídrico concentrado (11 ml). La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 3 h. Se añadió acetato de etilo (25 ml) y agua (25 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida para proporcionar el compuesto 801 deseado en forma de un sólido espumoso blanco (2 g, 4,8 mmol). EM (LCMS-Electropulverización) 418,1 MH^{+} .

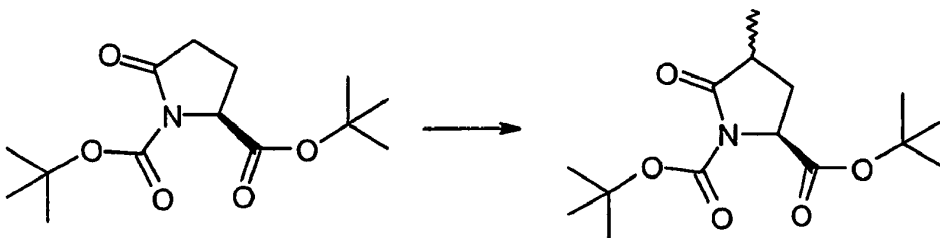
Los compuestos de la invención que se prepararon y sus intervalos de actividad (Ki^{*}) se dan en la Tabla 1 adjunta. El procedimiento usado para preparar los compuestos en la Tabla 1 se resumen a continuación.

I) Síntesis de productos intermedios

Ejemplo I

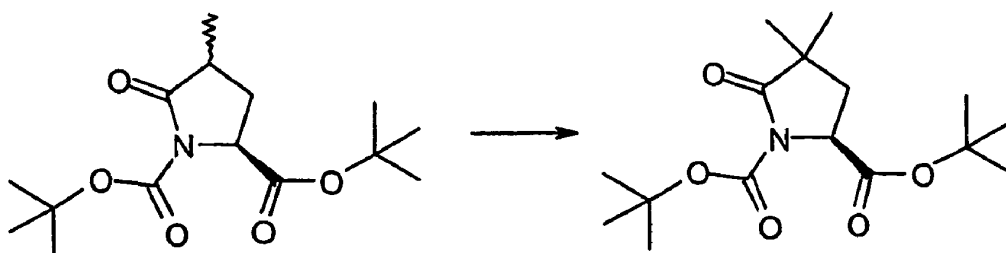
5 Síntesis de éster de metilo de la 4,4-dimetilprolina (*H-Pro(4,4-diMe)-OMe*)

Etapa 1

20 Síntesis de *N*-terc-butoxicarbonil-4-metil-L-pirolutamato de terc-butilo (*Boc-PyroGlu(4-metil)-OtBu*)

35 A una disolución de *N*-terc-butoxicarbonil-pirolutamato de terc-butilo (11,5 g, 40 mmol) en THF (200 ml) agitando a -78°C , se añadió gota a gota una disolución de hexametildisilazida de litio 1 M en THF (42 ml, 42 mmol) a lo largo de 5 minutos. Después de 30 minutos, se añadió yoduro de metilo (3,11 ml, 50 mmol). Después de 2 horas adicionales a -78°C , se quitó el baño de enfriamiento y se añadió disolución acuosa saturada de cloruro amónico al 50% (200 ml). La disolución se agitó durante 20 minutos y después se extrajo con éter dietílico (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió con acetato de etilo/hexano 1:1 para dar *Boc-PyroGlu(4-metil)-OtBu* (10,6 g, 35,4 mmol, 88%) en forma de una mezcla de isómeros (*cis* a *trans* 2:1).

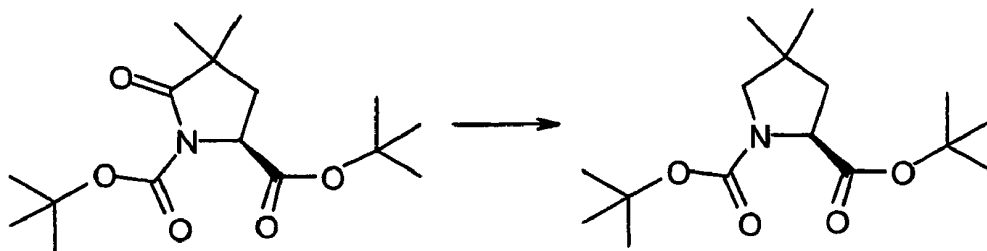
Etapa 2

45 Síntesis de *N*-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetil-L-pirolutamato de terc-butilo (*Boc-PyroGlu(4,4-dimetil)-OtBu*)

60 A una disolución de *N*-terc-butoxicarbonil-4-metil-L-pirolutamato de terc-butilo (1,2 g, 4,0 mmol) en tetrahydrofurano (20 ml) agitando a -78°C , se añadió gota a gota una disolución de hexametildisilazida de litio 1 M en tetrahydrofurano (4,4 ml, 4,4 mmol) a lo largo de 5 minutos. Después de 30 minutos, se añadió yoduro de metilo (0,33 ml, 5,2 mmol). Después de 3 horas adicionales a -78°C , se quitó el baño de enfriamiento y se añadió disolución acuosa saturada de cloruro amónico al 50% (40 ml). La disolución se agitó durante 20 minutos y después se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 25 ml), disolución saturada de bicarbonato sódico (2 x 25 ml), salmuera (50 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron para dar *Boc-PyroGlu(4,4-dimetil)-OtBu* (0,673 g, 54%).

Etapa 3

Síntesis del éster de terc-butilo de la N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilprolina (Boc-Pro(4,4-dimetil)-OtBu)

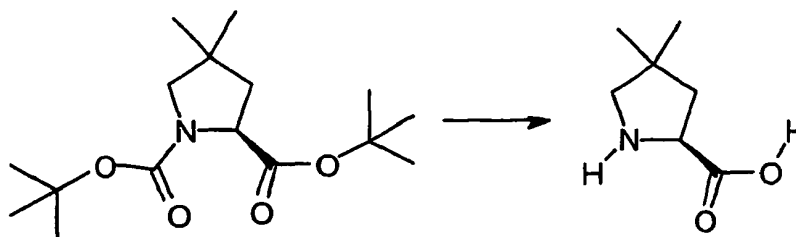


Modificación del procedimiento conocido: Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Escribano, A.; Carreno, M. C.; Garcia Ruano, J. L. *Tetrahedron Letters* 1994, 35(13), 2053-2056).

A una disolución de N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilprolina (2,0 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) agitando a -78°C , se añadió gota a gota una disolución de trietilborohidruro de litio 1 M en tetrahidrofurano (2,4 ml, 2,4 mmol) a lo largo de 5 minutos. Después de 30 minutos, se quitó el baño de enfriamiento y se añadió disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (5 ml). La mezcla de reacción se sumergió en un baño de hielo/agua y se añadió peróxido de hidrógeno acuoso al 30% (10 gotas). La disolución se agitó durante 20 minutos a 0°C y después la mezcla de reacción se concentró a vacío para separar el tetrahidrofurano. La disolución acuosa se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con diclorometano (3 x 40 ml). Las capas orgánicas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El residuo se disolvió en diclorometano (20 ml) y trietilsilano (310 μl , 2,0 mmol), después enfrió a -78°C y se añadió gota a gota dietileterato de trifluoruro de boro (270 μl , 2,13 mmol). La agitación se continuó durante 30 minutos, momento en el que se añadieron trietilsilano (310 μl , 2,0 mmol) y dietileterato de trifluoruro de boro (270 μl , 2,13 mmol) adicionales. Después de agitar a -78°C durante 2 horas adicionales, se quitó el baño de enfriamiento y se añadió disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (4 ml). Después de 5 minutos, la mezcla se extrajo con diclorometano (3 x 40 ml). Las capas orgánicas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron para dar Boc-Pro(4,4-dimetil)-OtBu.

Etapa 4

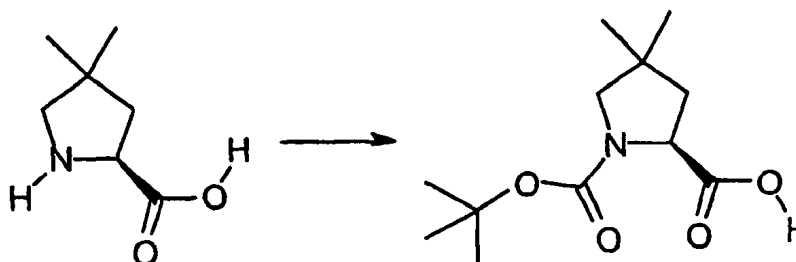
Síntesis de 4,4-dimetilprolina (H-Pro(4,4-dimetil)-OH)



Una disolución de éster de terc-butilo de la N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilprolina en diclorometano (5 ml) y ácido trifluoroacético (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. La disolución se concentró, se secó con alto vacío y se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa 5

Síntesis de N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilprolina (Boc-Pro(4,4-dimetil)-OH)

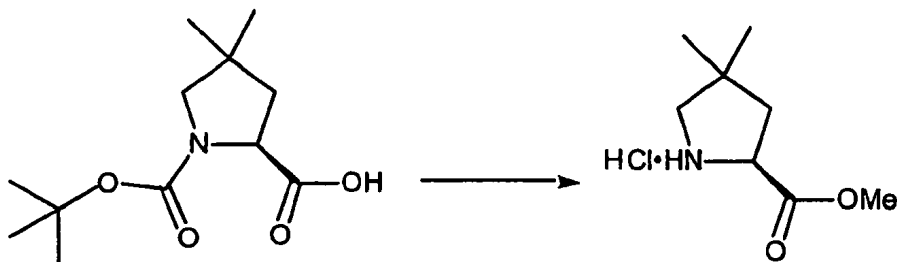


ES 2 344 890 T3

A una disolución de la sal del ácido trifluoroacético de la 4,4-dimetilprolina (1,5 mmol) en dioxano (7 ml), acetonitrilo (12 ml) y diisopropiletilamina (700 μ l, 4 mmol), se añadió una disolución de dicarbonato de di-terc-butilo (475 mg, 2,18 mmol) en acetonitrilo (5 ml). Después de agitar durante 12 h a temperatura ambiente, la disolución se concentró a vacío, se disolvió en disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (50 ml) y se lavó con éter dietílico (3 $\times$ 40 ml). La capa acuosa se acidificó a pH=3 con ácido cítrico, y después se extrajo con diclorometano (3 $\times$ 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron.

Etapa 6

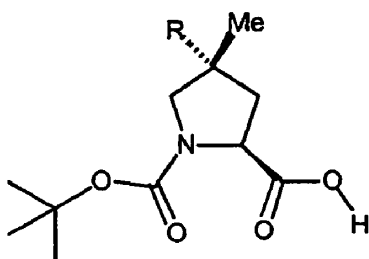
Síntesis de la sal de hidrocloreto del éster de metilo de la 4,4-dimetilprolina (HCl-H-Pro(4,4-dimetil)-OMe)



A una disolución de Boc-Pro(4,4-diMe)-OH (0,5 g, 2,06 mmol) en metanol anhidro (8 ml) se añadió gota a gota cloruro de tionilo (448 ml, 6,18 mmol) y la reacción se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró hasta un sólido amorfo (377 mg, 95%).

Ejemplo II

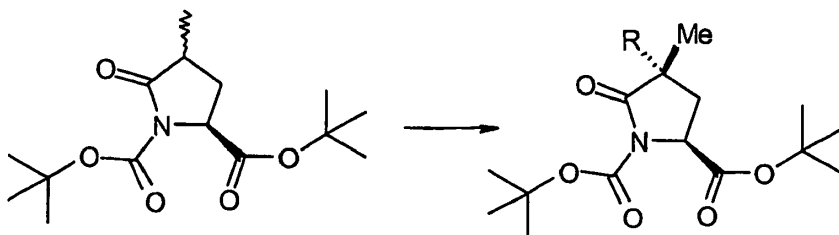
Procedimiento general para la síntesis de N-terc-butoxicarbonil-4-alquil-4-metil-prolina



Los compuestos en los que R es alilo y bencilo se sintetizaron siguiendo las siguientes etapas 1-4:

Etapa 1

Síntesis de N-terc-butoxicarbonil-4-alquil-4-metil-L-pirolutamato de terc-butilo



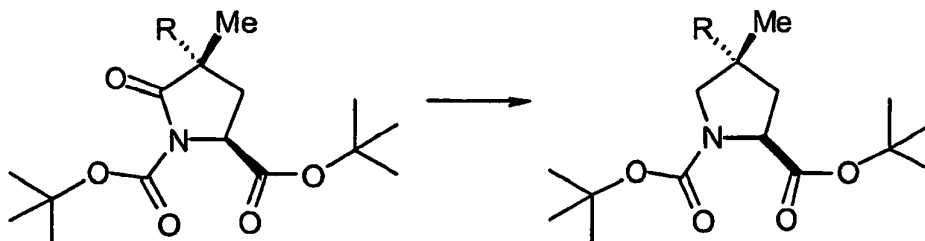
A una disolución de N-terc-butoxicarbonil-4-metil-L-pirolutamato de terc-butilo (10,2 g, mmol) (véase el ejemplo I, etapa 1) en tetrahidrofurano (170 ml) agitando a -78°C, se añadió gota a gota una disolución de hexametildisilazida de litio 1 M en tetrahidrofurano (37,5 ml, 37,5 mmol) a lo largo de 5 minutos. Después de 40 minutos, se añadió haluro de alquilo (61,4 mmol). Después de 3 horas adicionales a -78°C, se quitó el baño de enfriamiento y se añadió

ES 2 344 890 T3

disolución acuosa saturada de cloruro amónico al 50% (200 ml). La disolución se agitó durante 20 minutos y después se extrajo con éter dietílico (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se diluyeron con hexano (150 ml) y se lavaron con disolución saturada de bicarbonato sódico (100 ml), agua (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió por cromatografía ultrarrápida usando acetato de etilo al 20% en hexanos para dar el N-terc-butoxicarbonil-4-alkuil-4-metil-L-pirolglutamato de terc-butilo.

Etapa 2

Síntesis de éster de terc-butilo de la N-terc-butoxicarbonil-4-alkuil-4-metilprolina

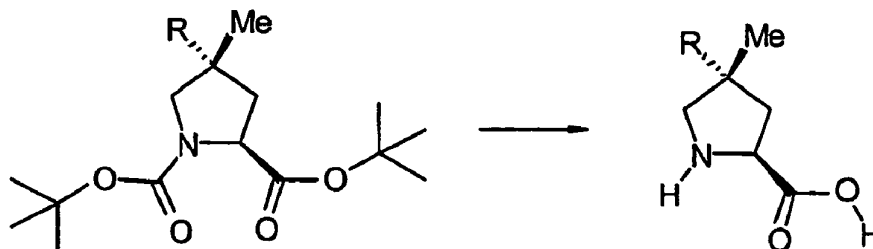


Modificación del procedimiento conocido: Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Escribano, A.; Carreno, M. C.; Garcia Ruano, J. L. *Tetrahedron Letters* (1994) 35(13), 2053-2056).

A una disolución de N-terc-butoxicarbonil-4-alkuil-4-metilpiroglutamato de terc-butilo (16,6 mmol) en tetrahydrofurano (40 ml) agitando a -78°C , se añadió gota a gota una disolución de trietilborohidruro de litio 1 M en tetrahydrofurano (20 ml, 20 mmol) a lo largo de 10 minutos. Después de 120 minutos, el baño de enfriamiento se dejó calentar a -25°C , momento en el que se añadió disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (40 ml). La mezcla de reacción se sumergió en un baño de hielo/agua y se añadió peróxido de hidrógeno acuoso al 30% (4 ml). La disolución se agitó durante 10 minutos a 0°C y después la mezcla de reacción se concentró a vacío para separar el tetrahydrofurano. La disolución acuosa se diluyó con agua (300 ml) y se extrajo con diclorometano (3 x 200 ml). Las capas orgánicas se secaron (sulfato sódico), se filtraron y se concentraron. El residuo se disolvió en diclorometano (100 ml) y trietilsilano (2,6 ml, mmol), después se enfrió a -78°C y se añadió gota a gota dietileterato de trifluoruro de boro (2,2 ml, mmol). La agitación se continuó durante 1 h, momento en el que se añadieron trietilsilano (2,6 ml, mmol) y dietileterato de trifluoruro de boro (2,2 ml, mmol) adicionales. Después de agitar a -78°C durante 4 h adicionales, se retiró el baño de enfriamiento, y se añadieron disolución acuosa saturada (30 ml) y agua (150 ml). Después de 5 minutos, la mezcla se extrajo con diclorometano (3 x 200 ml). Las capas orgánicas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron.

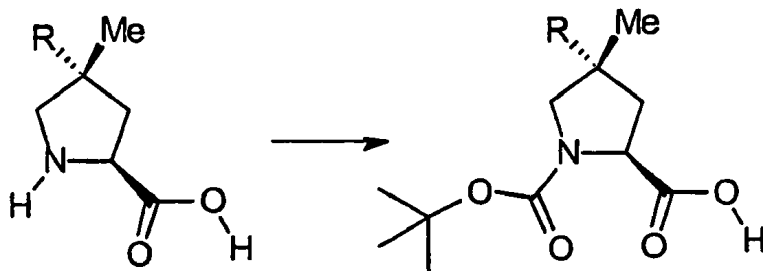
Etapa 3

Síntesis de 4-alkuil-4-metilprolina



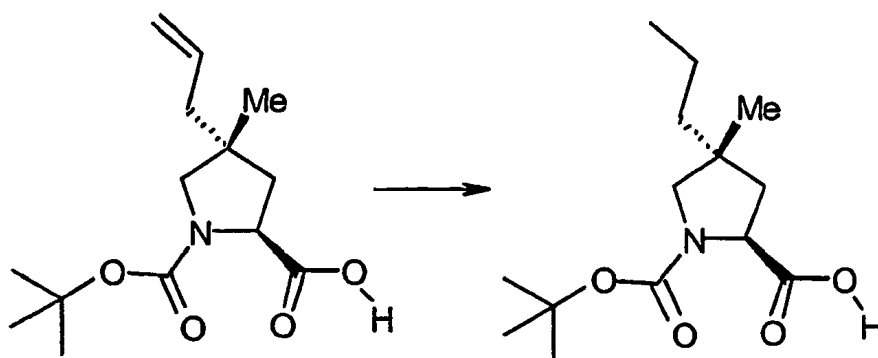
Una disolución de éster de terc-butilo de la N-terc-butoxicarbonil-4-alkuil-4-metilprolina en diclorometano (5 ml) y ácido trifluoroacético (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Se añadió tolueno y la disolución se concentró y después se secó con alto vacío.

Etapa 4

Síntesis de N-terc-butoxicarbonil-4-alkil-4-metilprolina

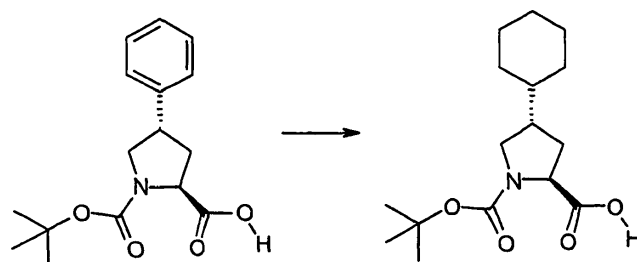
A una disolución de la sal del ácido trifluoroacético de la 4-alkil-4-metilprolina (1,5 mmol) en dioxano (7 ml), acetonitrilo (12 ml) y diisopropiletilamina (700 μ l, 4 mmol), se añadió una disolución de dicarbonato de di-terc-butilo (475 mg, 2,18 mmol) en acetonitrilo (5 ml). Después de agitar durante 12 h a temperatura ambiente, la disolución se concentró a vacío, se disolvió en disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (50 ml) y se lavó con éter dietílico (3 x 40 ml). La capa acuosa se acidificó a pH=3 con ácido clorhídrico 1 N y después se extrajo con diclorometano (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía instantánea usando acetato de etilo/hexanos 1:1 con ácido acético al 1%.

Ejemplo III

Síntesis de N-terc-butoxicarbonil-4-propil-4-metilprolina

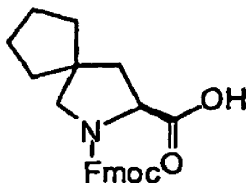
Una disolución de N-terc-butoxicarbonil-4-alkil-4-metilprolina (400 mg, 1,48 mmol) (véase el ejemplo II, etapa 4) y Pd sobre carbón al 10% Pd (400 mg) en metanol (20 ml) se hidrogenó a 3,5 kg/cm² durante 4 horas. La mezcla se filtró y se concentró.

Ejemplo IV

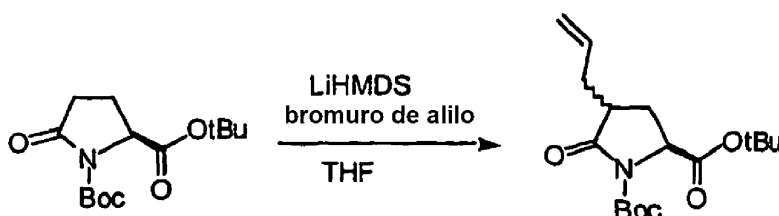
Síntesis de Boc-4-ciclohexilprolina

Una disolución de Boc-4-fenilprolina disponible en el comercio (750 mg) y Rh sobre carbón al 5% (750 mg) en metanol (15 ml) se hidrogenó a 3,5 kg/cm² durante 24 horas. La mezcla se filtró y se concentró para dar 730 mg de producto.

Ejemplo V

Preparación de ácido fluorenilmetoxicarbonil-Pro(4-espirociclopentano)-carboxílico

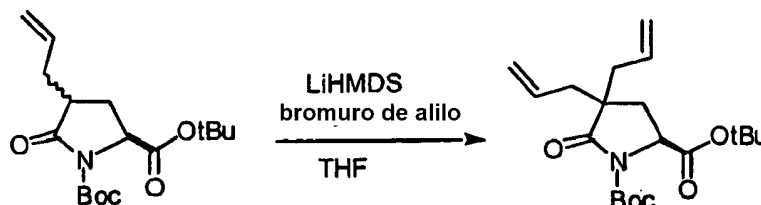
Etapa 1

Síntesis de éster de terc-butilo del ácido Boc-4-alil-pirolglutámico

A una disolución enfriada (-78°C) del N'-Boc-pirolglutamato de terc-butilo (10 g, 35,1 mmol) en THF (175 ml) se añadió hexametildisilazida de litio (36,8 ml, 36,8 mmol) a lo largo de 5 minutos. Se continuó la agitación durante 30 minutos. Se añadió gota a gota una disolución de bromuro de alilo (6,1 ml, 70,2 mmol) en THF (39 ml) a la primera disolución. Después de 2 h a -78°C, la reacción se inactivó por la adición lenta de disolución saturada de cloruro amónico (50 ml). Después, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se separaron las capas. La capa orgánica se secó sobre sulfato magnésico y se concentró.

La cromatografía en columna ultrarrápida llevada a cabo en acetato de etilo:hexano 2:8 proporcionó el producto (6 g, 53%). RMN δ ppm (CDCl₃): 5,7 (m, 1H), 5,1 (dd, 2H), 4,4 (m, 1H), 2,6 (m, 2H), 2,4 (m, 1H), 1,8-2,2 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,4 (s, 9H).

Etapa 2

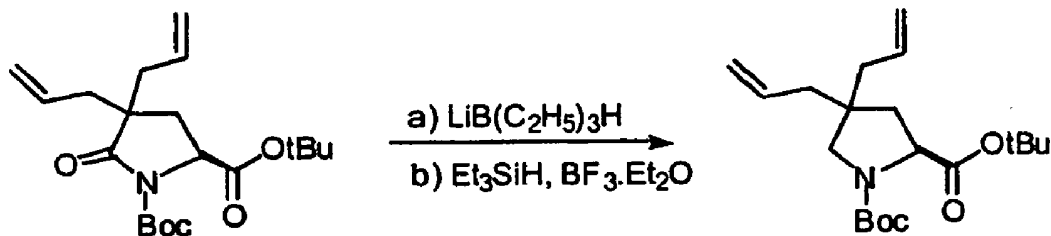
Síntesis de éster de terc-butilo del ácido N-Boc-(4,4-dialil)-pirolglutámico

El éster de terc-butilo del ácido N-Boc-(4-alil)-pirolglutámico obtenido en la etapa 1 anterior (2,68 g, 8,24 mmol) se sometió a una segunda alquilación con bromuro de alilo en condiciones similares. La cromatografía ultrarrápida en acetato de etilo:hexanos 15:85 proporcionó 2,13 g de producto (71%) en forma de un aceite transparente.

ES 2 344 890 T3

Etapa 3

Síntesis de éster de terc-butilo de (4,4-dialil)-Boc-Pro

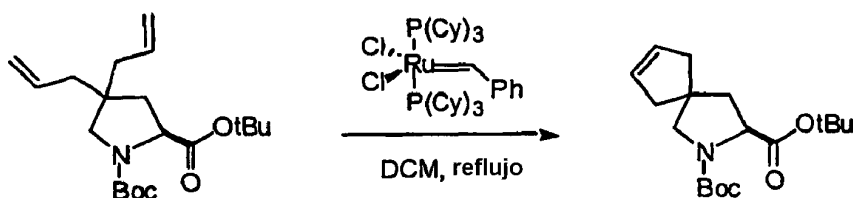


Parte a: A una disolución enfriada (-78°C) de éster de terc-butilo de Boc-PyroGlu(4,4-dialilo) (2,13 g, 5,83 mmol) en tetrahidrofurano (14 ml) se añadió trietilborohidruro de litio (1 M en tetrahidrofurano, 7,29 ml, 7,29 mmol) a lo largo de 5 minutos. Después de 2 h a -78°C, la reacción se calentó hasta 0°C y se inactivó por la adición lenta de disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (20 ml) y peróxido de hidrógeno al 30% (20 gotas). Se continuó la agitación durante 20 minutos. El tetrahidrofurano se separó a presión reducida y el residuo blanco espeso que quedaba se diluyó con agua (80 ml) y se extrajo 3 veces con diclorometano. La capa orgánica se secó, se filtró y se concentró, y se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

Parte b): Al producto obtenido en la parte (a) en diclorometano (14 ml) se añadió trietilsilano (931 μ l, 5,83 mmol) seguido de dietileterato de trifluoruro de boro (776 μ l, 6,12 mmol). Después de 30 minutos se añadieron más trietilsilano (931 μ l, 5,83 mmol) y dietileterato de trifluoruro de boro (776 μ l, 6,12 mmol) y la reacción se agitó a -78°C durante 3 h, momento en el que la reacción se inactivó por adición lenta de disolución saturada de bicarbonato sódico y agua. La mezcla de reacción se extrajo con diclorometano y la capa orgánica se secó, se filtró y concentró. La cromatografía en columna ultrarrápida en acetato de etilo en hexanos al 15% proporcionó 1,07 g de aceite incoloro (57%). RMN δ ppm (CDCl₃): 5,7-5,8 (m, 2H), 5,1 (m, 4H), 4,1-4,2 (2 dd, 1H rotámeros), 3,5-3,3 (dd, 1H) y 3,2 (dd, 1H) rotámeros, 2,2-2,0 (m, 5H), 1,7(m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,43 (s, 9H).

Etapa 4

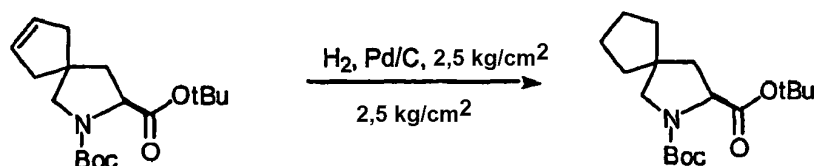
Síntesis de éster de terc-butilo de Boc-Pro(4-espirociclopenteno)



Al éster de terc-butilo de Boc-Pro(4,4-dialilo) (1,07 g, 3,31 mmol) en diclorometano (66 ml) se añadió dicloruro de bis(triciclohexilfosfin)benzidileno-rutenio IV al 5% (catalizador de Grubbs) y la mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo restante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida con acetato de etilo en hexanos al 15%. Se obtuvo un aceite amarillo (0,57 g, 53%). RMN δ ppm (CDCl₃): 5,56 (s ancho, 2H), 4,2 y 4,1 (t, 1H, rotámeros), 3,2-3,5 (m, 2H), 2,2-2,5 (m, 5H), 1,9 (dd, 1H) 1,47 y 1,46 (2 s, 9H, rotámeros), 1,45 y 1,44 (2 s, 9H, rotámeros).

Etapa 5

Síntesis de éster de terc-butilo de Boc-Pro(4-espirociclopentano)

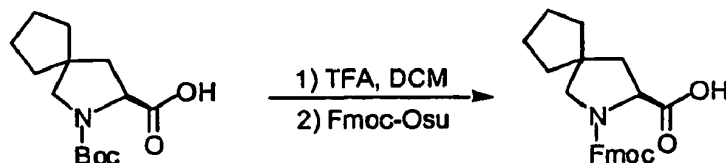


ES 2 344 890 T3

Una disolución de éster de terc-butilo de Boc-Pro(4-espirociclopenteno) (1,12 g) en metanol (18 ml), agua (4 ml) y ácido acético (4 ml) se puso en un agitador Parr y se hidrogenó durante 3 horas a 0,245 kg/cm² en presencia de paladio sobre carbón al 10% (300 mg). El catalizador se separó por filtración y el filtrado se concentró hasta un aceite incoloro (1,26 g). RMN δ ppm (CDCl₃): 4,1 y 4,2 (t, 1H, rotámeros, 3,4 (d, 1H), 3,2 (d, 1H), 2,1 (m, 1H), 1,9 (m, 1H), 1,6-1,7 (m, 10H), 1,5 (3 s, 18H, rotámeros).

Etapa 6

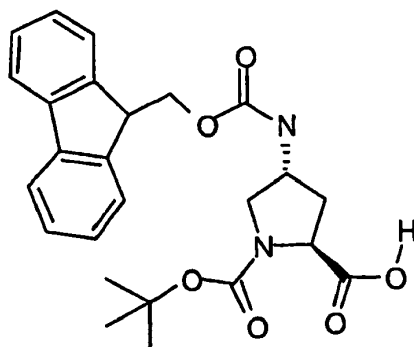
Síntesis de ácido Fmoc-Pro(4-espirociclopentano)-carboxílico



El éster de terc-butilo de Boc-Pro(4-espirociclopentano) (1,26, 3,9 mmol) se trató con diclorometano (10 ml) y ácido trifluoroacético (15 ml) durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró y el aceite amarillo obtenido se disolvió en agua (6 ml). Se añadió en porciones carbonato de fluorenilmetilo y succinilo (1,45 g, 4,3 mmol) disuelto en dioxano (6 ml) seguido de la adición de carbonato potásico (2,16 g, 15,6 mmol). La reacción se agitó durante 18 horas y se concentró. El residuo que quedaba se diluyó con la disolución saturada de bicarbonato sódico (10 ml) y se lavó con éter dietílico (3 $\times$ 10 ml). La capa acuosa después se acidificó a pH -1 con disolución de bisulfato sódico 1 N y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró hasta una espuma beige (1,3 g, 100%).

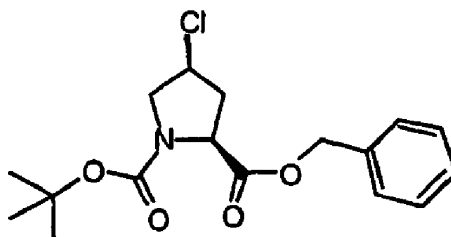
Ejemplo VI

Síntesis de Boc-Pro(4t-NH(Fmoc))-OH



Etapa 1

Síntesis de éster de bencilo de la N^α-terc-butoxicarbonil-cis-4-cloro-L-prolina

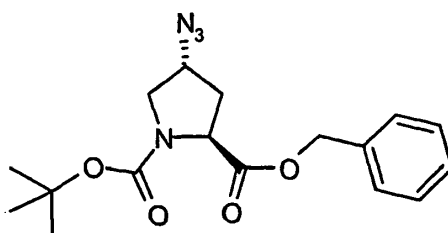


ES 2 344 890 T3

Una mezcla de N^α-terc-butoxicarbonil-trans-4-hidroxi-prolina (8,79 g, 38 mmol) disponible en el comercio, carbonato de potasio (13,0 g, 94 mmol), bromuro de bencilo (4,5 ml, 38 mmol) y dimetilformamida (150 ml) se agitó durante 18 h. A la adición de acetato de etilo (100 ml) le siguió la filtración. El filtrado turbio blanco se aclaró por adición de HCl 1 M (100 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo adicional (2 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 × 50 ml), se secaron (sulfato sódico), se filtraron y concentraron. Se añadió tolueno al éster de bencilo bruto y la disolución se filtró y se volvió a concentrar. Se añadieron diclorometano (70 ml) y tetracloruro de carbono (70 ml), seguido de trifenilfosfina (21,11 g, 80 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 10 h, se inactivó con etanol (7 ml) y se agitó durante 5 h más. La disolución se concentró hasta aproximadamente 100 ml, después se añadió diclorometano (40 ml), seguido de la adición de éter dietílico (200 ml) mientras se agitaba. La disolución se enfrió durante 4 h, se filtró y se concentró para dar un aceite marrón-amarillo que se purificó por cromatografía ultrarrápida usando éter etílico/hexano/diclorometano 2:2:1 para dar el compuesto del título (9,13 g, 26,9 mmol, 71%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 2

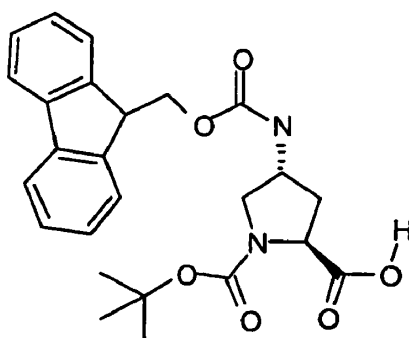
Síntesis de éster de bencilo de la N^α-terc-butoxicarbonil-trans-4-azido-L-prolina



Una disolución del éster de bencilo de la N^α-terc-butoxicarbonil-cis-4-cloro-L-prolina (9,0 g, 26,5 mmol) y azida sódica (7,36 g, 113 mmol) en dimetilformamida (270 ml) se calentó a 75°C durante 2 días. Se añadió agua (100 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 × 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 × 50 ml), se secaron (sulfato sódico), se filtraron y concentraron. El aceite se purificó por cromatografía ultrarrápida usando acetato de etilo/hexanos 1:1 para dar el compuesto del título (8,59 g, 24,8 mmol, 94%).

Etapa 3

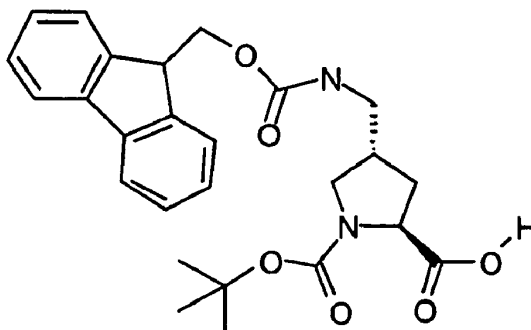
Síntesis de Boc-Pro(4t-NH(Fmoc))-OH



Una mezcla de éster de bencilo N-^α-t-butoxicarbonil-trans-4-azido-L-prolina (8,59 g, 24,8 mmol) y paladio sobre carbón al 10% (900 mg) en etanol (500 ml) se hidrogenó 3,5 kg/cm² durante 14 h usando un aparato de hidrogenación Parr. La mezcla se filtró, se concentró, se disolvió en metanol (60 ml), se volvió a filtrar y se concentró para dar un aceite incoloro. El aceite se disolvió en agua (53 ml) que contenía carbonato de sodio (5,31 g, 50,1 mmol) y se añadió una disolución de carbonato de fluorenilmétilo y succinilo (8,37 g, 29,8 mmol) en dioxano (60 ml) a lo largo de 40 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 17 h, después se concentró para separar el dioxano y se diluyó con agua (200 ml). La disolución se lavó con éter dietílico (3 × 100 ml). El pH de la disolución se ajustó a 2 mediante la adición de ácido cítrico (¡precaución! ¡formación de espuma!) y agua (100 ml). La mezcla se extrajo con diclorometano (400 ml, 100 ml, 100 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron (sulfato sódico), se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título.

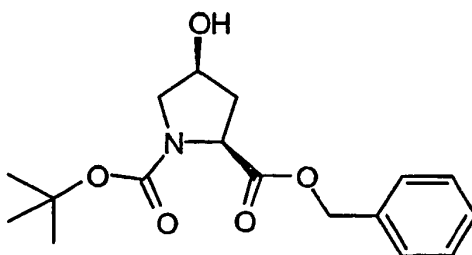
Ejemplo VII

Síntesis de N-t-butoxicarbonil-4-trans-(N-fluorenilmetiloxycarbonil-aminometil)-L-prolina (Boc-Pro(4t-MeNHFmoc)-OH)



Etapa 1

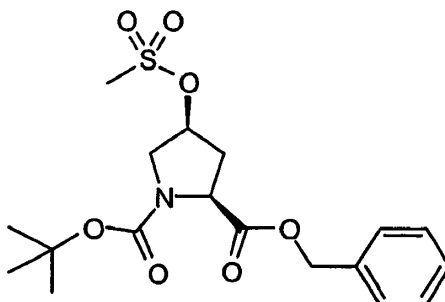
Síntesis de éster de bencilo de la terc-butoxicarbonil-cis-4-hidroxi-L-prolina (Boc-Pro(4-cis-OH)-OBn)



A Una mezcla de cis-hidroxi-L-prolina (5 g, 38,1 mmol) en benceno (45 ml) y alcohol bencílico (45 ml) se añadió ácido p-toluenosulfónico monohidrato (7,6 g, 40,0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 125°C durante 20 h mientras se eliminaba el agua (2 ml) usando una trampa de Dean-Stark. La disolución se filtró mientras todavía estaba caliente, y después se añadió éter etílico (150 ml). La disolución se dejó enfriar durante 3 h a temperatura ambiente, después 3 h a 4°C. El sólido resultante se recogió, se lavó con éter dietílico (100 ml) y se secó a vacío durante 1 h para dar 13,5 gramos de sólido blanco. El sólido se disolvió en dioxano (40 ml) y diisopropiletilamina (7,6 ml), y después se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (10 g, 45,8 mmol) a lo largo de 5 min mientras se usaba un baño de hielo para mantener la temperatura de reacción constante. Después de 10 h a temperatura ambiente la mezcla de reacción se vertió en agua fría (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 × 100 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml), se secaron (sulfato sódico), se filtraron y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida usando acetato de etilo en hexanos al 40-60% para dar el compuesto del título (10,04 g, 31,24 mmol, 82%).

Etapa 2

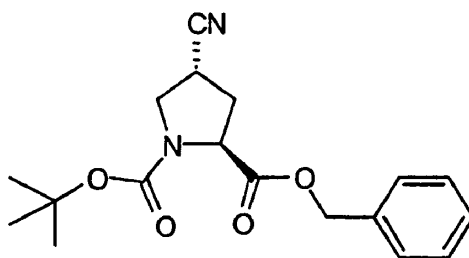
Síntesis del éster de bencilo de la N-t-butoxicarbonil-cis-4-mesiloxi-L-prolina (Boc-Pro(4-cis-OMs)-OBn)



A una disolución de Boc-Pro(4-cis-OH)-OBn (8,45 g, 26,3 mmol) en piridina (65 ml) a 0°C, se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (3,4 ml, 44 mmol) a lo largo de 7 min. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente a lo largo de 2 h y después se agitó durante una noche. Se añadió una disolución de agua en piridina al 10% (20 ml) a lo largo de 15 min y la mezcla de reacción se concentró. El residuo se disolvió en agua y se extrajo con acetato de etilo (2 × 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 × 50 ml), disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (50 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml), se secaron (sulfato sódico), se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se disolvió en tolueno (100 ml) y se concentró para eliminar las cantidades en trazas de piridina. El residuo se secó a vacío durante 30 min para dar el compuesto del título (10,7 g, 102%) y después se usó en la siguiente etapa sin purificar.

Etapa 3

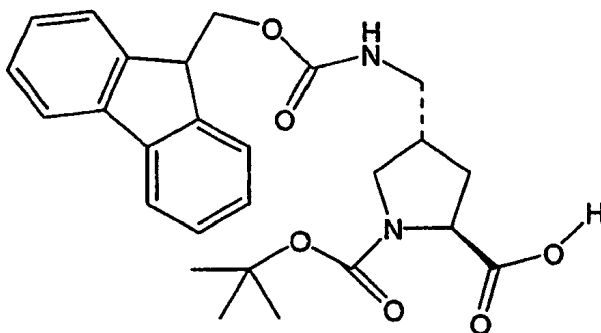
Éster de bencilo de la N-t-butoxicarbonil-trans-4R-ciano-L-prolina (Boc-Pro(4-trans-CN)-OBn)



Una disolución de Boc-Pro(4-cis-OMs)-OBn (10,7 g, 26,3 mmol) y cianuro de tetrabutilamonio (15,0 g, 56 mmol) en dimetilformamida (100 ml) se calentó en un baño de aceite a 55°C durante 28 h. Después de enfriar, se añadió agua (150 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 × 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 × 100 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (100 ml), se secaron (sulfato sódico), se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (éter dietílico/hexanos 1:1) y después se recrystalizó en acetato de etilo/hexanos para proporcionar el compuesto del título (2,40 g, 7,26 mmol, 28%).

Etapa 4

Síntesis de N-t-butoxicarbonil-4-trans-(N-fluorenilmetiloxycarbonil-aminometil)-L-prolina (Boc-Pro(4t-MeNHf-moc)-OH)

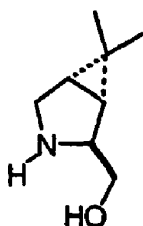


Una mezcla del compuesto de la etapa 3 anterior (2,31 g, 7 mmol), agua (10 ml), metanol (85 ml) y paladio sobre carbón al 10% (700 mg) se hidrogenó a 3,5 kg/cm² durante 11 h usando un aparato de hidrogenación Parr. La mezcla se filtró y se concentró. Se añadió al residuo agua (15 ml) y carbonato de sodio (1,5 g, 14,2 mmol). Se añadió una disolución de carbonato de fluorenilmetilo y succinilo (2,36 g, 7,0 mmol) en dioxano (17 ml) a lo largo de 5 min y la agitación se continuó durante 28 h a temperatura ambiente. La reacción se concentró a vacío hasta un volumen de 15 ml y se añadió agua (100 ml). La disolución se lavó con éter dietílico (3 × 75 ml). El pH de la disolución se ajustó a 2 mediante la adición de ácido cítrico (aproximadamente 20 g, ¡precaución! ¡formación de espuma!) y agua (100 ml). La mezcla se extrajo con diclorometano (4 × 100 ml), y las capas orgánicas combinadas se secaron (sulfato sódico), se filtraron y concentraron. El producto bruto contenía una impureza importante que necesitó una purificación de 3 etapas. El producto bruto se disolvió en diclorometano (50 ml) y ácido trifluoroacético (50 ml) y se agitó durante 5 h antes de concentrar. El residuo se purificó por HPLC de fase inversa preparativa. Se disolvió la sal de trifluoroacetato de 4-(N-fluorenilmetiloxycarbonil-aminometil)prolina (1,887 g, 3,93 mmol) en dioxano (10 ml), acetonitrilo (20 ml) y diisopropiletilamina (1,4 ml, 8 mmol). A la mezcla de reacción se añadió una disolución de dicarbonato de di-terc-butilo (1,1 g, 5 mmol) en dioxano (5 ml). Después de agitar durante 18 h, el pH de la disolución se ajustó a 2 mediante

la adición de ácido cítrico (¡precaución! ¡formación de espuma!) y agua (100 ml). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3×150 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución acuosa saturada de cloruro sódico (100 ml), se secaron (sulfato sódico), se filtraron y concentraron. El producto bruto se disolvió en disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (100 ml) y se lavó con éter dietílico (3×75 ml). La capa acuosa se ajustó a pH = 3 por adición de ácido cítrico y después se extrajo con diclorometano (4×100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (sulfato sódico), se filtraron y se concentraron hasta el compuesto del título (1,373 g, 2,94 mmol, 42%).

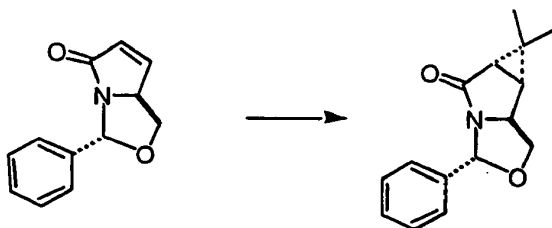
Ejemplo VIII

Síntesis de 3,4-isopropilidenprolinol



Etapa 1

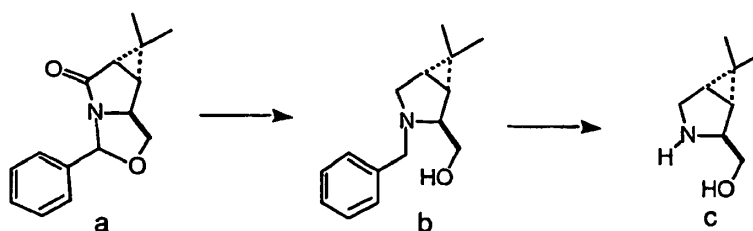
Reacción de ciclopropanación (*Tetrahedron Lett.* 1993, 34(16), 2691 y 2695)



A una disolución con agitación de yoduro de isopropiltrifenilfosfonio (4,14 g, 9,58 mmol) en tetrahidrofurano (60 ml) a 0°C, se añadió n-butil-litio (1,6 M en hexanos, 5,64 ml, 9,02 mmol) a lo largo de 5 min. Después de 30 min, se añadió una disolución de enamida ((5R,7S)-5-fenil-5,6,7,7a-tetrahidro-6-oxapirrolizina-3-ona) (1,206 g, 6,0 mmol) (véase *J. Org. Chem.* 1999, 64(2), 547, para la síntesis del material de partida enamida) en tetrahidrofurano (40 ml) a lo largo de 10 min. Después de 10 min adicionales, se quitó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se vertió en agua (400 ml) y se extrajo con éter dietílico (400 ml) y acetato de etilo (2×400 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar el producto bruto deseado. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo/hexanos/cloruro de metileno 3:5:2 para dar el producto ciclopropanado puro (750 mg, 3,08 mmol, 51%).

Etapa 2

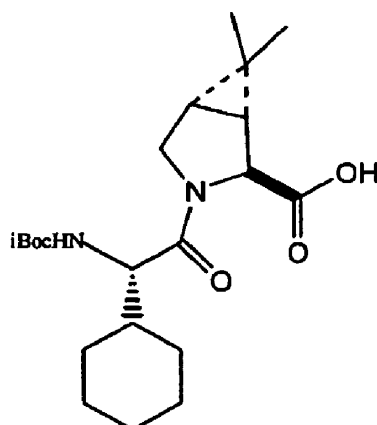
Síntesis de 3,4-isopropilidenprolinol P[3,4-(diMe-ciclopropil)]-alcohol (*J. Org. Chem.* (1999) 64(2),330)



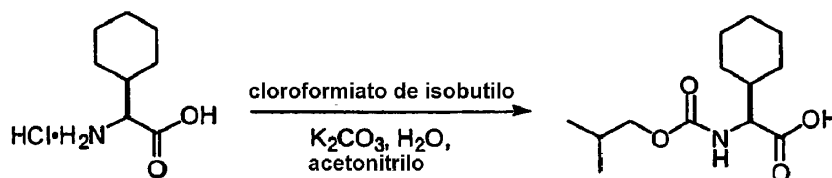
Una mezcla del producto obtenido en la etapa 1 anterior (1,23 g, 5,06 mmol) e hidruro de litio y aluminio (1,0 M en THF, 15 ml, 15 mmol) se calentó a reflujo durante 5 horas. Después de enfriar a 0°C, el hidruro de aluminio que quedaba se inactivó con cuidado por la adición gota a gota de disolución acuosa saturada de sulfato sódico (1,5 ml) a lo largo de 15 min. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (40 ml) y después se filtró a través de celita. El filtrado se secó con sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar el N-bencil-aminoalcohol (1,25 g), que se llevó a

la siguiente etapa sin más purificación. Una disolución del N-bencil-aminoalcohol bruto (1,25 g, 5,06 mmol) en ácido acético/acetato de etilo 1:1 (30 ml) con Pd/C al 10% (1 g) se hidrogenó a 3,5 kg/cm² durante 16 horas usando un aparato de hidrogenación Parr. La mezcla de reacción se filtró para separar el catalizador basado en carbón y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en agua (30 ml) y el pH se ajustó a 13 con NaOH al 50%. La mezcla se extrajo con éter dietílico (3 × 60 ml). Los extractos combinados se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar el aminoalcohol bruto (485 mg, 3,43 mmol). Este material se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

Ejemplo IX

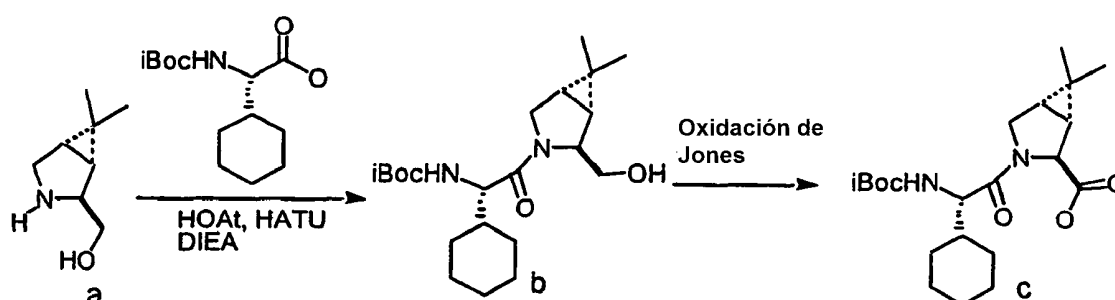
Síntesis de ácido iBoc-G(Chx)-Pro(3,4-isopropiliden)-carboxílico

Etapa 1

Síntesis de isobutylloxycarbonil-ciclohexilglicina (iBoc-G(Chx)-OH)

A una disolución de hidrocloreuro de ciclohexilglicina disponible en el comercio (15 g, 77,4 mmol) en acetonitrilo (320 ml) y agua (320 ml) se añadió carbonato de potasio. Se añadió cloroformiato de isobutilo (11,1 ml, 85,1 mmol) a la disolución transparente a lo largo de 15 minutos y la reacción se agitó durante 17 horas. El acetonitrilo se separó a presión reducida y la capa acuosa que quedaba se extrajo dos veces con éter dietílico (100 ml). La capa acuosa después se acidificó a pH 1 con ácido clorhídrico 6 N y después se extrajo con diclorometano (3 x 300 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar 18,64 g (94%) de producto en forma de un sólido blanco.

Etapa 2

Síntesis de isobutylloxycarbonil-ciclohexilglicil-3,4-isopropilidenprolina (iBoc-G(Chx)-P[3,4-(diMe-ciclopropil)]-OH)

a) *Etapa de acoplamiento*

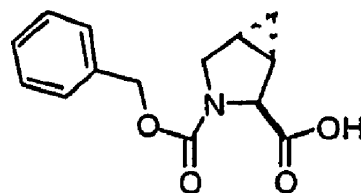
A una disolución de iBoc-G(Chx)-OH (890 mg, 3,45 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se añadió HATU (1,33 g, 3,5 mmol), HOAt (476 mg, 3,5 g) y después diisopropiletilamina (2,5 ml, 14 mmol). Después de 2 minutos, se añadió 3,4-isopropilidenprolinol (485 mg, 3,43 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche. A la adición de disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico le siguió la extracción con éter dietílico y acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo/hexanos 1:1 para dar el alcohol dipeptídico puro iBoc-G(Chx)-3,4-isopropilidenprolinol (870 mg, 2,3 mmol, 67%).

b) *Etapa de oxidación de Jones*

A una disolución del alcohol dipeptídico iBoc-G(Chx)-3,4-isopropilidenprolinol (100 mg, 0,26 mmol) en acetona (2 ml) con agitación a 0°C, se añadió gota a gota reactivo de Jones (300 µl) a lo largo de 5 min. [Reactivo de Jones: Preparado a partir de trióxido de cromo (13,4 g) y ácido sulfúrico concentrado (11,5 ml) diluido con agua hasta un volumen total de 50 ml.] Después de agitar a 0°C durante 3 horas, se añadió isopropanol (500 µl) y se continuó la agitación durante 10 minutos adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 70 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron, se filtraron y se concentraron para dar el dipéptido iBoc-G(Chx)-3,4-isopropilidenprolina (100 mg, 0,25 mmol, 96%).

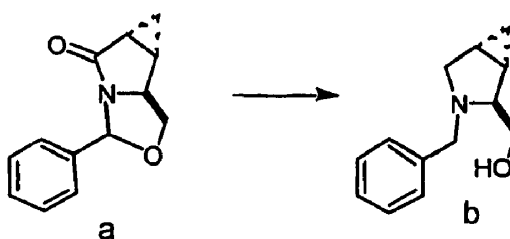
Ejemplo X

Síntesis de N-Cbz-3,4-metanoprolina



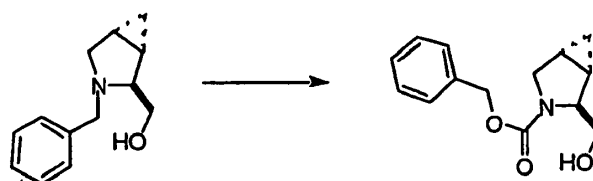
Etapa 1

Síntesis de N-bencil-3,4-metanoprolinol



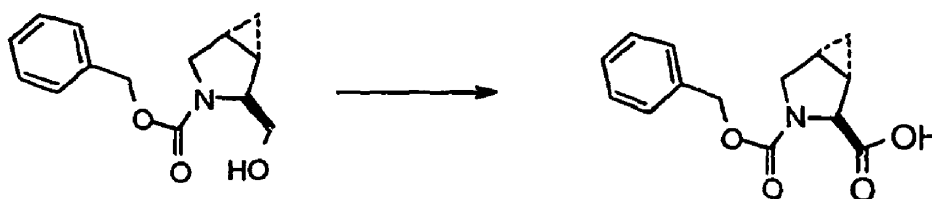
Una mezcla de material de partida de bencilideno (*J. Org. Chem.* 1999, 64(2), 547) (4,6 g, 21,4 mmol) e hidruro de litio y aluminio (1,0 M en THF, 64 ml, 64 mmol) se calentó a reflujo durante 5 horas. Después de enfriar a 0°C, el hidruro de aluminio que quedaba se inactivó con cuidado por la adición gota a gota de disolución acuosa saturada de sulfato sódico (5 ml) a lo largo de 15 min. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y después se filtró a través de celita. El filtrado se secó con sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar el N-bencil-aminoalcohol (3,45 g), que se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa 2

Síntesis de N-benciloxycarbonil-3,4-metanoprolinol (CBz-P(3,4-CH₂)-ol)

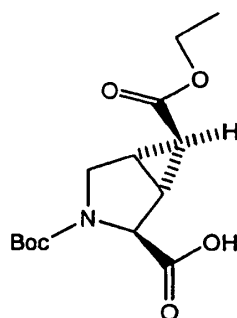
Una disolución del N-bencil-aminoalcohol bruto (3 g, 14,76 mmol) en metanol (120 ml) y HCl concentrado (1,5 ml) con Pd/C al 10% (300 mg) se hidrogenó a 3,5 kg/cm² durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró para separar el catalizador basado en carbón y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en agua/dioxano (100 ml) y se añadió diisopropiletilamina (3,2 ml). Se añadió cloroformato de bencilo (2,76 ml, 16,2 mmol) y la reacción se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se concentró, se disolvió en HCl 1 M (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida usando acetato de etilo/hexanos 1:3 para dar el N-Cbz-3,4-metanoprolinol (2,4 g).

Etapa 3

Síntesis de N-benciloxycarbonil-3,4-metanoprolina CBz-P(3,4-CH₂)-OH

A una disolución de N-Cbz-3,4-metanoprolinol (2,2 g, 8,90 mmol) en acetona (68 ml) con agitación a 0°C, se añadió gota a gota reactivo de Jones (6,6 ml) a lo largo de 5 min. [Reactivo de Jones: preparado a partir de trióxido de cromo (13,4 g) y ácido sulfúrico concentrado (11,5 ml) diluido con agua hasta un volumen total de 50 ml]. Después de agitar a 0°C durante 3 horas, se añadió isopropanol (11 ml) y se continuó la agitación durante 10 minutos adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron para dar la N-Cbz-3,4-metanoprolina (2,25 g, 96%).

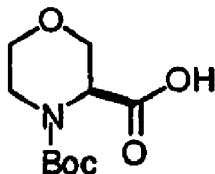
Ejemplo XI

Síntesis de Boc-(6S-carboetoximetano)prolina

La síntesis del compuesto del título se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento publicado: Marinozzi, M.; Naitani, B.; Ni, M.H.; Costantino, G.; Pellicciari R. *IL Farmaco* (1995) 50 (5), 327-331.

Ejemplo XII

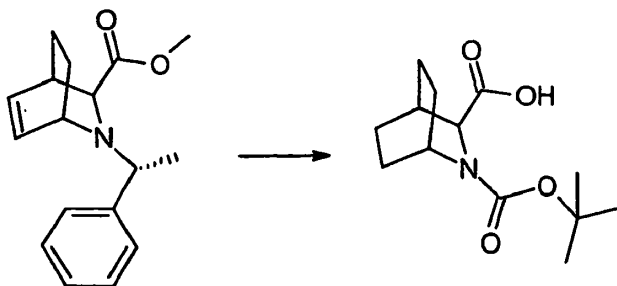
Síntesis de ácido Boc-3-morfolina-carboxílico



La síntesis del compuesto del título se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento publicado: Kogami Y., Okawa, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* (1987) 60, 2963-2965.

Ejemplo XIII

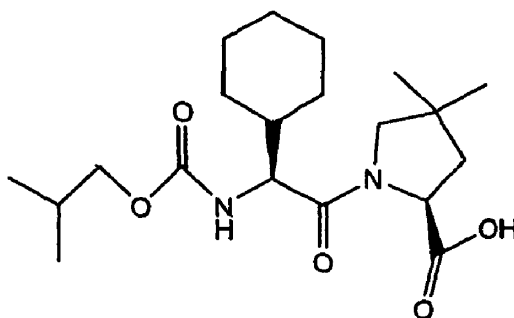
Síntesis de N-terc-butoxicarbonil-2-aza-3S-hidroxicarbonil-[2.2.2]-biciclooctano



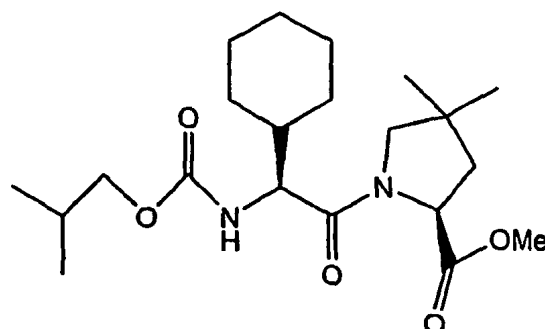
Una disolución de 2-aza-2-(1-feniletil)-3S-metoxicarbonil-[2,2,2]-biciclooct-5-eno bruto (10 mmol) (*Tetrahedron* (1992) 48(44) 9707-9718) y Pd sobre carbón al 10% (1 g) en metanol (30 ml) se acidificó con HCl 12 N y después se hidrogenó a 3,5 kg/cm² durante 16 horas usando un aparato de hidrogenación Parr. La mezcla de reacción se filtró para separar el catalizador basado en carbón y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en HCl concentrado y se agitó durante una noche. La disolución se concentró y se volvió a disolver en acetonitrilo (50 ml). Se añadieron diisopropiletilamina (3,5 ml) y dicarbonato de di-terc-butilo (1 g). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas y después se concentró. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ y ácido sulfúrico acuoso al 5%. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y las capas orgánicas combinadas se concentraron. El residuo se disolvió en disolución saturada de bicarbonato sódico al 10%, se lavó con éter dietílico (2x) y se acidificó con ácido sulfúrico acuoso al 5%. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x). Las capas de acetato de etilo combinadas se filtraron y se concentraron para dar el N-terc-butoxicarbonil-2-aza-3S-hidroxicarbonil-[2.2.2]-biciclooctano (650 mg).

Ejemplo XIV

Síntesis de isobutiloxycarbonil-ciclohexilglicil-4,4-dimetil-prolina (iBoc-G(Chx)-P(4,4-dimetil)-OH)

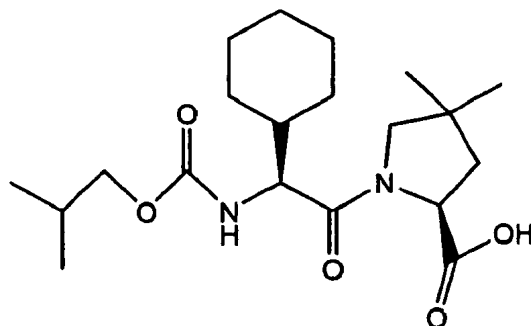


Etapa 1

Síntesis de iBoc-G(Chx)-P(4,4-dimetil)-OMe

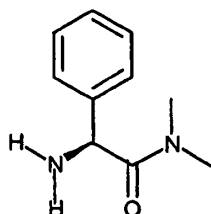
A una disolución de iBoc-G(Chx)-OH (ejemplo IX, etapa 1) (377 mg, 1,95 mmol) en acetonitrilo (7 ml) se añadieron sucesivamente HCl·HN-Pro(4,4-dimetil)-OMe (ejemplo I, etapa 6) (377 mg, 1,95 mmol), N-hidroxibenzotriazol (239 mg, 1,75 mmol), TBTU (845 mg, 2,63 mmol) y diisopropiletilamina (1,35 ml, 7,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo que quedaba se disolvió en acetato de etilo. La capa orgánica se lavó dos veces con porciones de 10 ml de disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico, disolución hidroclicórica 1 N y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró hasta un sólido blanco (612 g, 79%).

Etapa 2

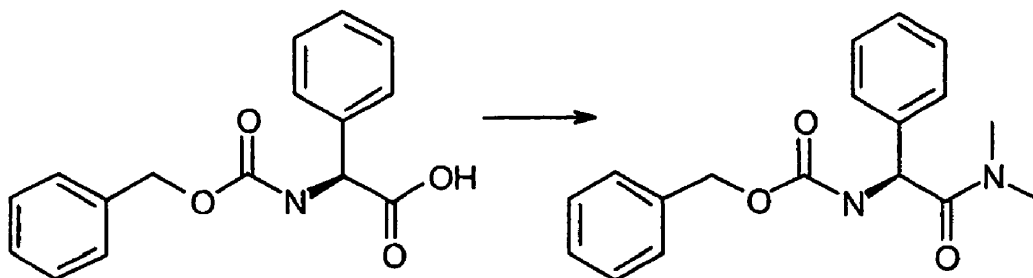
Síntesis de iBoc-G(Chx)-P(4,4-dimetil)-OH

El éster de metilo obtenido en la etapa 1 anterior (612 mg, 1,54 mmol) en metanol (6 ml) se saponificó en presencia de hidróxido de litio 2 M (1,16 ml) durante 3 horas. El metanol se separó a presión reducida y el residuo que quedaba se diluyó con acetato de etilo y se acidificó a pH=2 con ácido clorhídrico 1 N. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró.

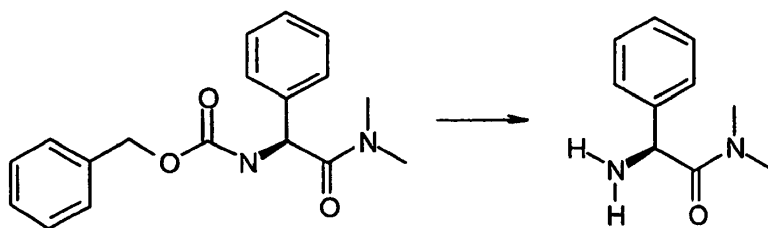
Ejemplo XV

Síntesis de la dimetilamida de L-fenilglicina

Etapa 1

Síntesis de dimetilamida de la N-benciloxicarbonil-L-fenilglicina (CBz-Phg-NMe₂)

Se disolvió la N-benciloxicarbonil-L-fenilglicina (25 g, 88 mmol) en THF (800 ml) y se enfrió a -10°C. Se añadieron N-metilmorfolina (9,7 ml, 88 mmol) y cloroformato de isobutilo (11,4 ml, 88,0 mmol) y la mezcla se dejó agitar durante 1 minuto. Se añadió dimetilamina (100 ml, 2 M en THF) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a vacío para proporcionar la dimetilamida de la N-benciloxicarbonil-L-fenilglicina (32,5 g) en forma de un aceite amarillo.

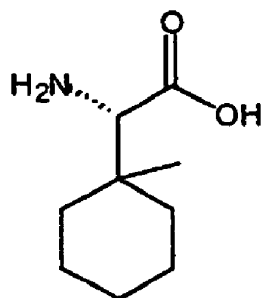


Etapa 2

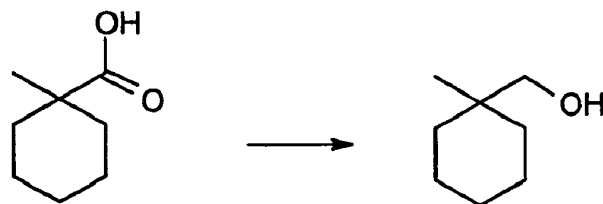
Síntesis de la dimetilamida de la L-fenilglicina (H-Phg-NMe₂)

La dimetilamida de la N-benciloxicarbonil-L-fenilglicina (32,5 g) obtenida antes se disolvió en metanol (750 ml) y se añadió paladio sobre carbón activado al 10% (3,3 g). La mezcla se hidrogenó en un aparato Parr a 2,45 kg/cm² durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y el disolvente se separó a vacío y el residuo se recrystalizó en metanol-hexanos para proporcionar la dimetilamida de la fenilglicina (26 g) en forma de un sólido blanquecino. Se determinó que el ee de este material era >99% por análisis por HPLC, del derivado de tioisocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetilglucopiranosilo.

Ejemplo XVI

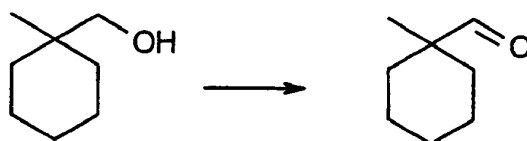
Síntesis de (1-metilciclohexil)glicina

Etapa 1

1-metil-1-hidroxiacetilciclohexano

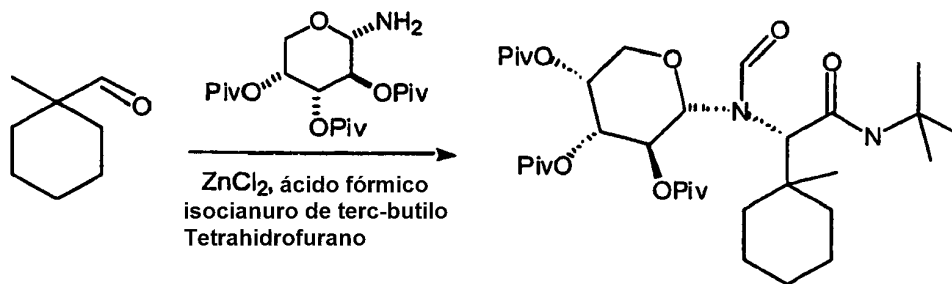
A una disolución de 1-metil-1-hidroxicarbonilciclohexano (10 g, 70 mmol) en tetrahidrofurano (300 ml) a 0°C se añadió diborano 1 M en tetrahidrofurano (200 ml, 200 mmol) a lo largo de 90 minutos. Se quitó el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. El borano restante se inactivó por adición lenta de disolución saturada de bisulfato sódico (10 ml) a lo largo de 90 min con enfriamiento. Se añadió disolución saturada de bisulfato sódico adicional (200 ml) y después de 20 min de agitación se separó la capa acuosa. La capa orgánica se lavó con agua y disolución saturada de cloruro sódico, se secó, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida usando éter dietílico en hexanos al 20% para dar el 1-metil-1-hidroxiacetilciclohexano (6,17 g, 48 mmol, 69%).

Etapa 2

1-metilciclohexilcarboxaldehído

A una disolución de 1-metil-1-hidroxiacetilciclohexano (6,17 g, 48 mmol) y trietilamina (20,1 ml, 144 mmol) en diclorometano (150 ml) a 0°C, se añadió una disolución de complejo de trióxido de azufre y piridina (22,9 g, 144 mmol) en dimetilsulfóxido (150 ml) a lo largo de 15 min. El baño de enfriamiento se dejó calentar a temperatura ambiente a lo largo de 2 h, momento en el que la mezcla de reacción se vertió en salmuera con hielo (400 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (200 ml). Las capas orgánicas combinadas se diluyeron con hexanos (600 ml) y se lavaron con HCl 1 M (2 x 150 ml), disolución saturada de cloruro sódico (2 x 100 ml), se secaron, se filtraron y concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el 1-metilciclohexilcarboxaldehído (1,77 g, 13,8 mmol, 29%).

Etapa 3

Síntesis de N-formil-N-glicosil-1-metilciclohexil-terc-butilamida

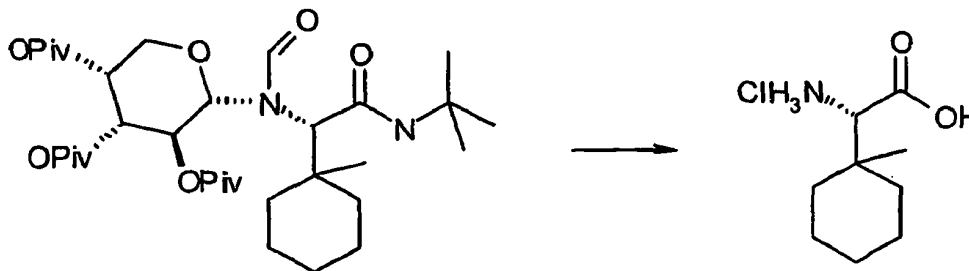
La síntesis de la 2,3,4-tri-O-pivaloil- α -D-arabinosilamina se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento publicado (Kunz, H.; Pfengle, W.; Ruck, K.; Wilfried, S. *Synthesis* (1991) 1039-1042).

ES 2 344 890 T3

A una disolución de 1-metilciclohexilcarboxaldehído (1,17 g, 8,34 mmol), 2,3,4-tri-O-pivaloil- α -D-arabinosilamina (8,3 g, 20,7 mmol), ácido fórmico (850 μ l, 22,2 mmol) e isocianuro de terc-butilo (2,4 ml, 21,2 mmol) en tetrahidrofurano (170 ml) a -30°C, se añadió cloruro de cinc 0,5 M en tetrahidrofurano (41 ml, 20,57 mmol). La disolución se agitó a -20°C durante 3 días y después se concentró. El residuo se diluyó con CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico (2 x 500 ml), y agua (500 ml). La capa orgánica se secó, se filtró y concentró para dar un aceite transparente. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo en hexanos al 20%) proporcionó el producto puro (4,3 g, 6,6 mmol, 33%).

Etapa 4

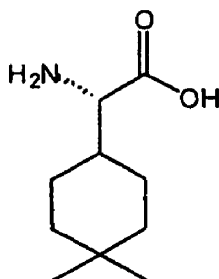
Síntesis de (1-metilciclohexil)glicina



Una disolución del producto obtenido en la etapa 3 anterior (4,3 g, 6,6 mmol), en diclorometano (30 ml) y HCl en metanol anhidro saturado (30 ml), se agitó durante una noche. La disolución se concentró y el residuo se disolvió en agua (100 ml) y se lavó con pentano (2 x 100 ml). La capa acuosa se concentró y el residuo se disolvió en HCl 6 N (50 ml) y se calentó a reflujo durante 30 h. La disolución se concentró para dar el hidrocloreto de (1-metilciclohexil)glicina bruto (790 mg, 3,82 mmol, 58%).

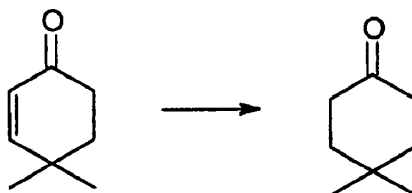
Ejemplo XVII

Síntesis de (4,4-dimetilciclohexil)glicina



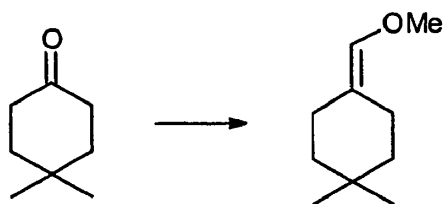
Etapa 1

Síntesis de 4,4-dimetilciclohexanona



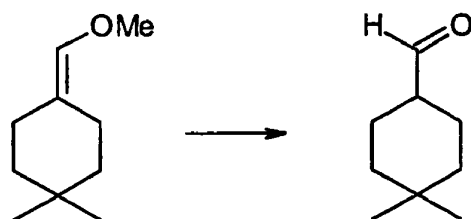
Una mezcla de 4,4-dimetilciclohex-2-en-1-ona (12 ml, 91,2 mmol) y Pd sobre carbón al 10% de tipo Degussa (2 g) se hidrogenó a 2,8 kg/cm² durante 18 horas. La mezcla se filtró y se concentró (la RMN ¹H mostró una mezcla de cetona y alcohol en una relación 5:3). La mezcla se disolvió en acetona (400 ml) y enfrió a 0°C. Se añadió reactivo de Jones (40 ml) a lo largo de 30 min y se quitó el baño de enfriamiento. Después de 2 días, se evaporó el exceso de acetona y el residuo resultante se disolvió en agua y éter dietílico. La capa de éter se lavó con agua hasta ser incolora, se secó, se filtró y se concentró para dar la 4,4-dimetilciclohexanona (7,4 g, 58,6 mmol, 64%).

Etapa 2

Síntesis del éter metílico del enol del 4,4-dimetilciclohexilcarboxaldehído

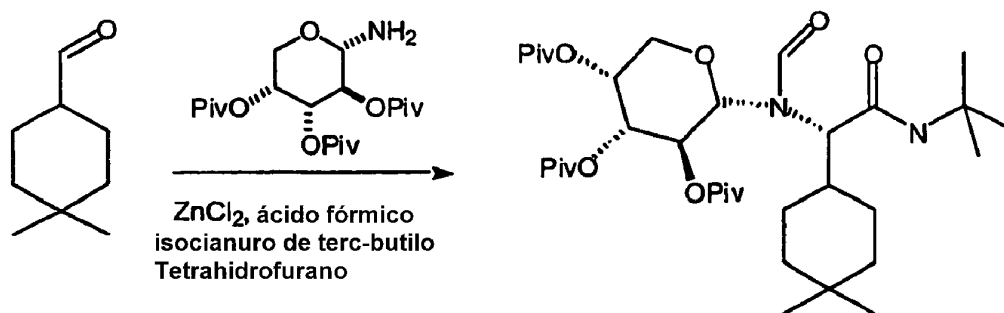
A una disolución de cloruro de metoximetil-trifenilfosfonio (8,6 g) en tetrahidrofurano (125 ml) a 0°C se añadió n-butil-litio (1,6 M en hexanos, 14,3 ml) a lo largo de 10 min. Después de 30 min, la mezcla de reacción se enfrió a -78°C y se añadió una disolución de 4,4-dimetilciclohexanona (2,45 g, 19,1 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) a lo largo de 20 min. Después de 1 h, se quitó el baño de enfriamiento y la reacción se calentó lentamente a 0°C. La reacción se diluyó con disolución saturada de cloruro amónico (50 ml), acetato de etilo (100 ml) y hexanos (100 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó, se filtró y se concentró. El residuo se agitó con hexanos (70 ml) durante 10 min y se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió usando acetato de etilo en hexanos al 25% para dar el compuesto del título (1,925 g, 12,5 mmol, 65%).

Etapa 3

4,4-dimetilciclohexilcarboxaldehído

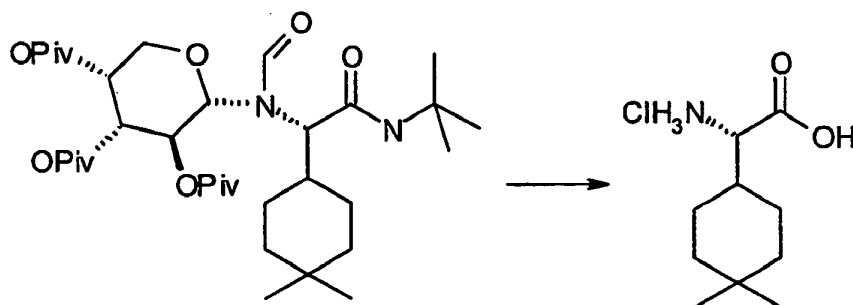
Una disolución éter metílico del enol del 4,4-dimetilciclohexilcarboxaldehído (1,925 g, 12,5 mmol) (etapa II anterior), tetrahidrofurano (100 ml) y HCl 6 M (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se diluyó con hexanos, éter dietílico, salmuera y agua. La capa orgánica se secó, se filtró y concentró para dar el 4,4-dimetilciclohexilcarboxaldehído (1,0 g, 7,1 mmol, 57%).

Etapa 4

Síntesis de N-formil-N-glicosil-4,4-dimetilciclohexil-terc-butilamida

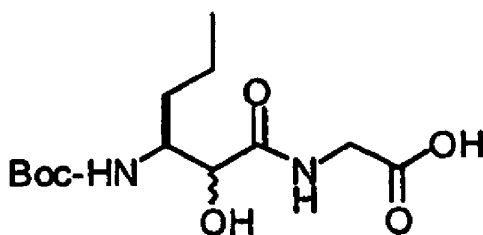
A una disolución de 4,4-dimetilciclohexilcarboxaldehído (1,17 g, 8,34 mmol), 2,3,4-tri-O-pivaloil- α -D-arabinosilamina (3,43 g, 8,55 mmol), ácido fórmico (350 μ l, 9,17 mmol) e isocianuro de terc-butilo (990 μ l, 8,76 mmol) en THF (70 ml) a -30°C se añadió cloruro de cinc 0,5 M en tetrahidrofurano (17 ml, 8,5 mmol). La disolución se agitó a -20°C durante 2 días, y después se concentró. El residuo se diluyó con diclorometano (200 ml), se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico (2 x 200 ml), y agua (200 ml). La capa orgánica se secó, se filtró y concentró para dar un aceite transparente. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo en hexanos al 20%) proporcionó el producto puro (2,1 g, 3,3 mmol, 39%).

Etapa 5

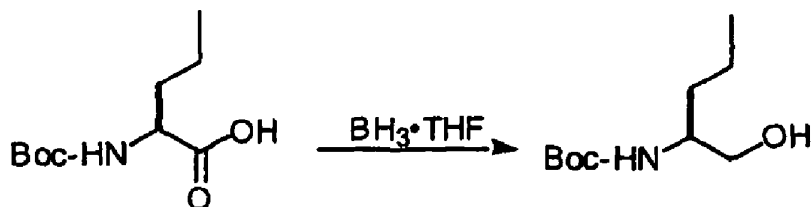
Síntesis de (4,4-dimetilciclohexil)glicina

Una disolución del producto Ugi obtenido en la etapa 4 anterior (2,1 g, 3,3 mmol) en diclorometano (20 ml) y HCl en metanol anhidro saturado (20 ml) se agitó durante una noche. La disolución se concentró y el residuo se disolvió en agua (100 ml) y se lavó con pentano (2 x 100 ml). La capa acuosa se concentró y el residuo se disolvió en HCl 6 N (40 ml) y se calentó a reflujo durante 30 h. La disolución se concentró para dar el hidrocloreto de (1-metilciclohexil)glicina bruto (300 mg, 1,36 mmol, 41%).

Ejemplo XVIII

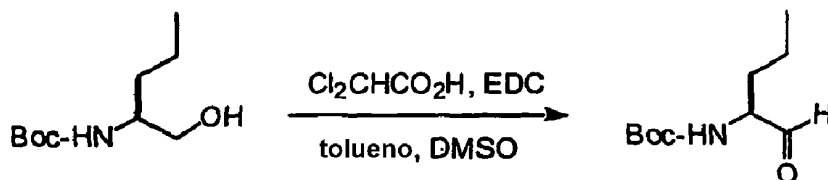
Síntesis de Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OH

Etapa 1

Preparación de Boc-norvalinol

A una disolución de Boc-norvalina (25,0 g, 0,115 mol) en tetrahidrofurano (461 ml), enfriada a 0°C, se añadió gota a gota complejo de borano/tetrahidrofurano (461 ml de una disolución 1,0 M en tetrahidrofurano). Después de 1 h a 0°C, la disolución se calentó a temperatura ambiente a lo largo de un periodo de 1,5 h. La TLC indicaba que la reacción se había completado. Se añadió metanol para inactivar la reacción. La disolución se concentró para dar el compuesto del título (22,56 g, 96%) en forma de un jarabe espumoso. La TLC de los productos indicaba una pureza satisfactoria. $R_f = 0,34$ (acetato de etilo/hexanos al 40%).

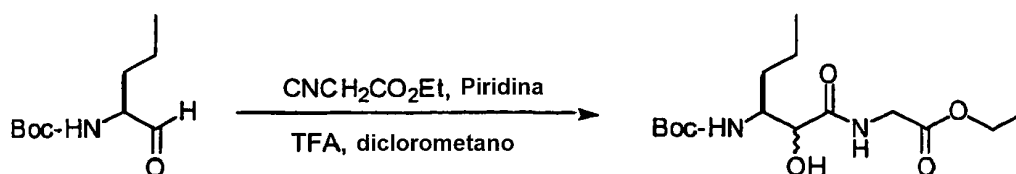
Etapa 2

Preparación de Boc-norvalinal

15 Al Boc-norvalinol (7,77 g, 38 mmol), en dimetilsulfóxido anhidro (153 ml) y tolueno (153 ml) se añadió EDC (73,32 g, 382 mmol). Después de enfriar la disolución a 0°C, se añadió gota a gota ácido dicloroacético (15,8 ml, 191 mmol). Después de completar la adición, la reacción se agitó durante 15 min. La disolución se dejó calentar a temperatura ambiente a lo largo de un periodo de 2 h. La mezcla de reacción se concentró para separar el tolueno y después se disolvió en acetato de etilo. La disolución se lavó sucesivamente con bisulfato sódico 1 N, disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para proporcionar el Boc-norvalinal bruto que se usó directamente en la siguiente etapa. TLC $R_f = 0,84$ (acetato de etilo/hexanos al 40%).

20

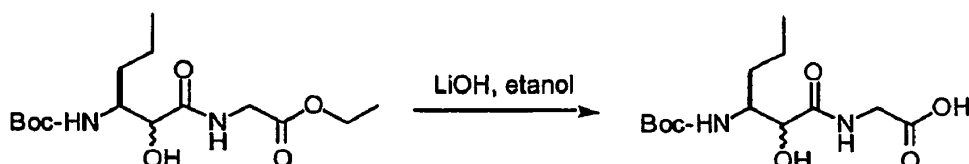
Etapa 3

Síntesis de Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OEt

40 A una disolución del Boc-norvalinal bruto (4,18 g, 20,77 mmol) en diclorometano (83 ml) se añadió isocianatoacetato de etilo (2,72 ml, 24,93 mmol) y piridina (6,72 ml, 83,09 mmol). Después de enfriar la disolución a 0°C, se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (4,15 ml, 41,54 mmol). Después de agitar durante 1 h, la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas mientras que se dejaba evaporar el disolvente de la mezcla de reacción en un recipiente sin cubrir, en condiciones ambientales. La mezcla de reacción se concentró y después se disolvió en acetato de etilo. La disolución se lavó sucesivamente con bisulfato sódico 1 N, disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y después se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo/hexanos de 20% a 40% para proporcionar 2,8 g del compuesto del título en forma de un jarabe amarillo. La espectroscopía de masas de baja resolución confirmó la presencia del producto deseado (MH^+ 333).

45

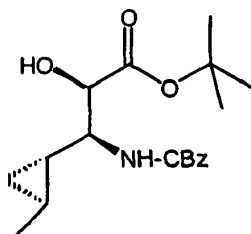
Etapa 4

Síntesis de Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OH

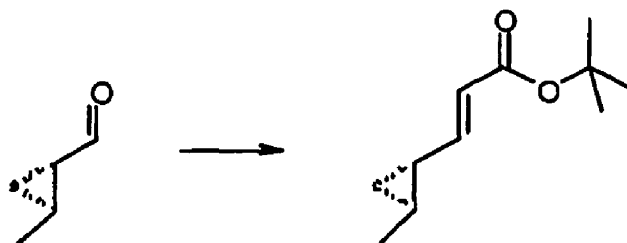
65 El producto obtenido (Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OEt) (1,52 g, 4,70 mmol) se disolvió en etanol (23 ml), se saponificó con hidróxido de litio 1 N (18,81 ml) durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se acidificó a $\text{pH} \approx 2$ con resina de intercambio iónico Dowex® 50 WX8, se agitó durante 20 minutos y después se filtró. La resina se lavó bien con etanol y agua y los filtrados combinados se concentraron hasta una espuma blanca (0,48 g, 33%).

Ejemplo XIV

Síntesis de (2R,3S,4S,5S)-N-CBz-3-amino-2-hidroxi-4,5-metilen-hexanoato de terc-butilo

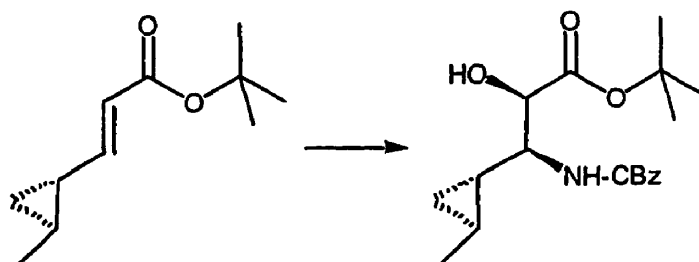


Etapa 1



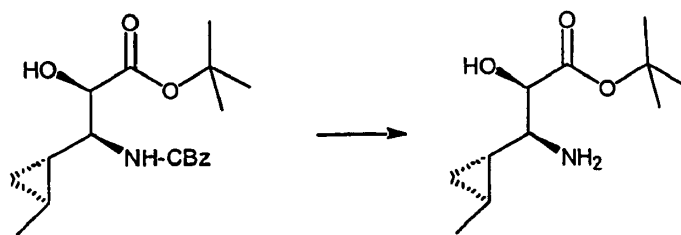
A una disolución de dietilfosonoacetato de terc-butilo (4,7 ml, 20 mmol) disuelto en THF (50 ml) a -78°C se añadió n-butil-litio 1,6 M en hexanos (12,4 ml). Después de 30 minutos, se añadió (1S, 2S)-2-metilciclopropilcarboxaldehído (1 g, 12 mmol) (Barrett, A. G. M.; Doubleday, W. W.; Kasdorf, K.; Tustin, G. J., *J. Org. Chem.* (1996) 61, 3280) en éter dietílico (100 ml) a lo largo de 10 min. La reacción se calentó a 0°C durante 2 h y a 6°C durante 12 h. La reacción se inactivó con disolución saturada de cloruro amónico (20 ml) y se separó la capa orgánica, se lavó con 50 ml de salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y concentró para proporcionar 3,5 g de un aceite transparente. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo en hexanos al 20%) proporcionó el éster de terc-butilo insaturado puro (1,4 g).

Etapa 2



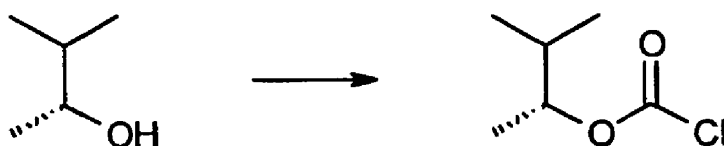
A una disolución de carbamato de bencilo (3,55 g, 23,5 mmol) en n-propanol (24 ml) se añadió una disolución de hidróxido sódico (900 mg, 22,7 mmol) en agua (48 ml), seguido de hipoclorito de terc-butilo (2,57 ml, 22,7 mmol). Después de 15 minutos, la reacción se enfrió a 0°C y se añadió (DHQ)₂PHAL (350 mg, 0,45 mmol) en n-propanol (24 ml), seguido del éster de terc-butilo insaturado (1,4 g) anterior en n-propanol (48 ml). Finalmente, se añadió osmiato potásico (110 mg, 0,30 mmol) en agua (2 ml) y la disolución desarrolló muy rápidamente un color verde oscuro que persistió durante 4 horas. Después de 6 h, se añadió disolución saturada de sulfato sódico (50 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y concentraron. La cromatografía ultrarrápida con acetato de etilo en hexanos al 20% proporcionó el éster de ter-butilo del amino protegido con CBz en forma de un sólido blanco (316 mg).

Etapa 3



Una mezcla de éster de t-butilo del amino protegido con CBz (316 mg, 0,9 mmol) y 32 mg de paladio sobre carbón al 10% en 9 ml de metanol se hidrogenó durante 8 horas. La mezcla se filtró y se concentró para proporcionar la amina libre en forma de un aceite transparente (195 mg).

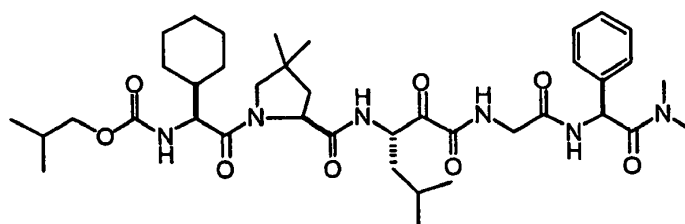
Ejemplo XX

Síntesis de cloroformiato de 1R,2-dimetilpropilo

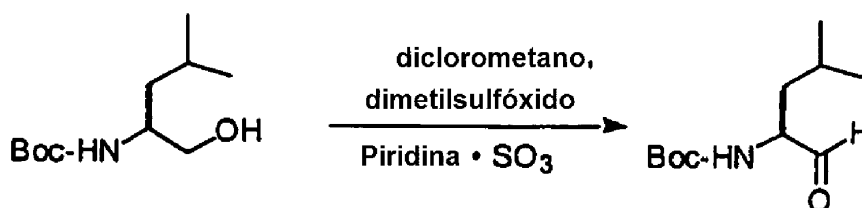
Al 2R-hidroxi-3-metilbutano disponible en el comercio (410 mg, 4,65 mmol) se añadió una disolución de fosgeno al 20% en tolueno (1 ml, 2 mmol). La disolución se agitó durante 6 horas para generar el cloroformiato (2 mmol) que se hizo reaccionar directa e inmediatamente con la amina deseada. El isómero S se sintetizó por el mismo procedimiento.

II) *Síntesis representativa de inhibidores de VHC en fase de disolución*

Ejemplo XXI

Síntesis en fase de disolución de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu-(CO)-Gly-Phg-dimetilamida

Etapa 1

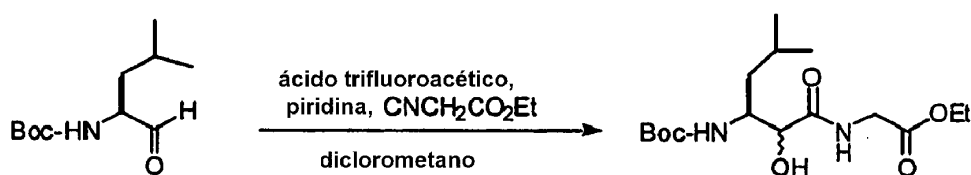
Síntesis de terc-butiloxycarbonil-leucinal (Boc-Leu-CHO)

ES 2 344 890 T3

A una disolución de Boc-L-leucinol (0,78 g, 3,6 mmol) disponible en el comercio (Advanced Chem Tech) en diclorometano anhidro (17,5 ml) se añadió trietilamina (2 ml, 14,36 mmol) y la mezcla se enfrió a 0°C. Se añadió dimetilsulfóxido (17,5 ml) seguido de complejo de trióxido de azufre y piridina (2,3 g, 14,36 mmol) y la reacción se agitó durante 2 h. La TLC en acetato de etilo:hexanos 1:1 confirmó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se concentró y el residuo que quedaba se diluyó con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se lavó con ácido clorhídrico 1 M (2 × 75 ml) seguido de disolución saturada de bicarbonato sódico (2 × 75 ml) y salmuera (75 ml). La capa orgánica se secó (sulfato sódico), se filtró y se concentró para dar 775 mg de producto.

Etapa 2

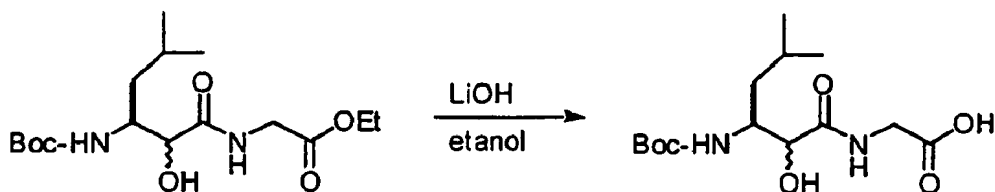
Síntesis de éster de etilo de la Boc-2-hidroxi-3-amino-5-metil-hexanoil-glicina (Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OEt)



A una disolución del aldehído de Boc-Leucina (0,77 g, 3,59 mmol) en diclorometano anhidro (24 ml) se añadió piridina anhidra (1,16 ml, 14,36 mmol) e isocianoacetato de etilo (0,4 ml, 4,66 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió ácido trifluoroacético (0,55 ml, 7,18 mmol) a lo largo de 2 min. La mezcla de reacción se tapó y se agitó a 4°C durante 4 días, y a temperatura ambiente durante 1 día. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (350 ml) y se lavó 2 veces, cada una con una porción de 75 ml de ácido clorhídrico, disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y concentró. El residuo obtenido se sometió a cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice de 5 × 15,2 cm usando acetato de etilo en hexanos al 10% (800 ml) seguido de acetato de etilo en hexanos 1:1 (800 ml). Las fracciones correspondientes al producto se juntaron y se concentraron para dar 980 mg (79%) de producto.

Etapa 3

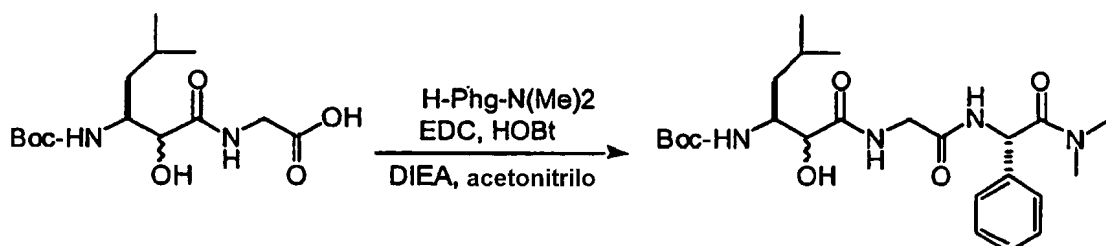
Síntesis de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OH



A una disolución de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-Oet (0,98 g, 2,83 mmol) en etanol (11,3 ml) se añadió hidróxido de litio 2 M (4,25 ml) y la reacción se agitó durante 5 h a temperatura ambiente. El etanol se separó a presión reducida y la capa acuosa se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico 1 M seguido de salmuera, se secó, se filtró y se concentró para dar 775 mg (86%) de producto en forma de un sólido blanco.

Etapa 4

Síntesis de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida

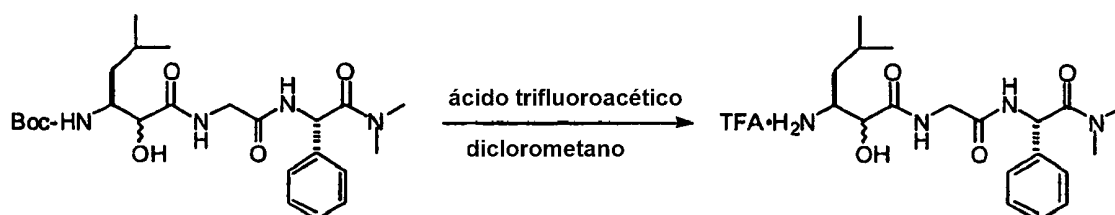


ES 2 344 890 T3

A una disolución de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OH (0,37 g, 1,18 mmol) en acetonitrilo (23 ml) se añadieron sucesivamente ladimetilamida de la fenilglicina (obtenida en el ejemplo XV, etapa 2), EDC (0,34 g, 1,76 mmol), N-hidroxibenzotriazol (HOBt) (0,18 g, 1,18 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA) (0,82 ml, 4,7 mmol) y la reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró y el resto que quedaba se diluyó con acetato de etilo y se lavó sucesivamente con 2 porciones de 75 ml de ácido clorhídrico 1 M, disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera. La capa orgánica después se secó, se filtró y concentró. El producto bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice de $5 \times 15,2$ cm usando acetato de etilo:hexanos 4:1 (700 ml) seguido de acetato de etilo (1000 ml) y metanol en diclorometano al 10% (600 ml). Las fracciones correspondientes al producto se juntaron y se concentraron para dar 445 mg (80%) de sólido blanco.

Etapa 5

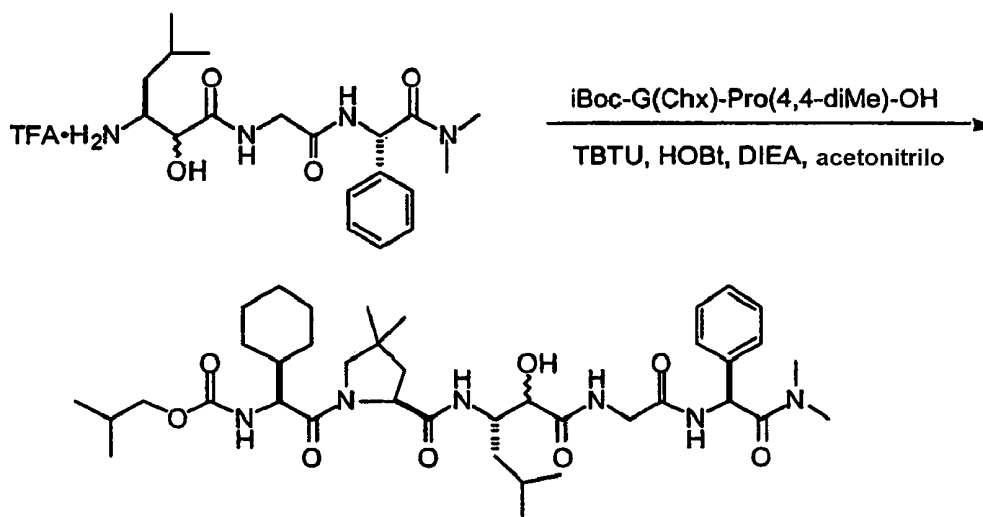
Síntesis de la sal de trifluoroacetato de la H-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida



A una disolución de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida (70 mg, 0,146 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró y se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa 6

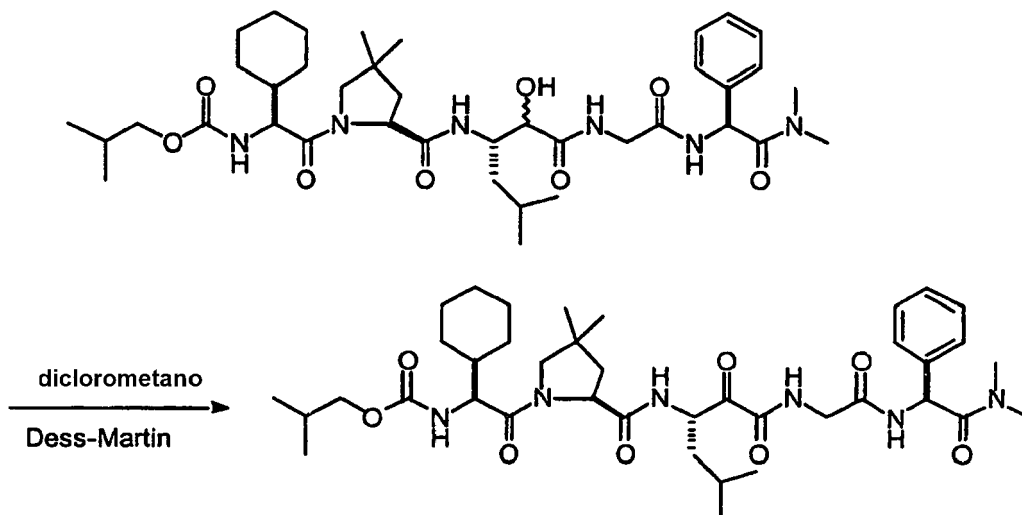
Síntesis de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida



A una disolución de iBoc-G(Chx)-P(4,4-diMe)-OH (ejemplo XIV, etapa 2) (53 mg, 0,148 mmol) en acetonitrilo (3 ml) se añadieron sucesivamente TFA-2HN-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-NMe₂ (61 mg, 0,148 mmol), N-hidroxibenzotriazol (HOBt) (23 mg, 0,148 mmol), TBTU (71,5 mg, 0,222 mmol) y diisopropiletilamina (103 ml, 0,593 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se concentró. El residuo que quedaba se disolvió en acetato de etilo y se lavó con ácido clorhídrico 1 M (2×5 ml), disolución saturada de bicarbonato sódico (2×5 ml) y salmuera (2×5 ml). La capa orgánica se secó, se filtró y se concentró. El producto (100 mg) se llevó la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa 7

Síntesis de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu-(CO)-Gly-Phg-dimetilamida



A una disolución de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida (30 mg, 0,04 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadió el reactivo de Dess-Martin disponible en el comercio (Omega Chemical Company Inc.) (67,8 mg, 0,16 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. La mezcla de reacción se concentró y el residuo que quedaba se agitó en tiosulfato sódico al 5%. Después se diluyó con diclorometano y se separaron las capas. La capa orgánica se lavó con tiosulfato sódico (4 x 3 ml), seguido de agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El producto bruto se disolvió en hexanos y alcohol isopropílico y se sometió a purificación por HPLC usando una columna de sílice de fase normal Kromasil 5 (Phenomenex, 250 x 21,20 mm, tamaño de poros 100 angstroms, partículas de gel de 5 μ m) eluyendo con un gradiente de 30 minutos que consistía en alcohol isopropílico en hexanos de 0 a 25% (25 ml/minutos). Las fracciones correspondientes al producto se juntaron y se concentraron. La liofilización del agua dio 6,7 mg de polvo blanco. El espectro de masas de baja resolución confirmó la masa deseada ($MH^+ = 741,4$).

III) Síntesis en fase sólida

La síntesis en fase sólida es útil para la producción de pequeñas cantidades de algunos compuestos de la presente invención. Como en la síntesis en fase sólida de péptidos convencional, los reactores para la síntesis en fase sólida de peptidil-cetoamidas comprenden un recipiente del reactor con al menos una superficie permeable al disolvente y los reactivos disueltos, pero no permeable a la resina del tamaño de malla seleccionado. Dichos reactores incluyen recipientes de reacción en fase sólida de vidrio con una frita de vidrio sinterizado, tubos de polipropileno o columnas con fritas o el reactor KansTM fabricado por Irori Inc., San Diego CA. El tipo de reactor elegido depende del volumen de la resina en fase sólida necesaria, y se pueden usar diferentes tipos de reactores en diferentes etapas de una síntesis. En los ejemplos posteriores se hará referencia a los siguientes procedimientos:

Procedimiento A: Reacción de acoplamiento: A la resina suspendida en N-metilpirrolidina (NMP) (10-15 ml/g de resina) se añadió Fmoc-aminoácido (2 eq), HOAt (2 eq), HATU (2 eq) y diisopropiletilamina (4 eq). La mezcla se dejó reaccionar durante 4-48 horas. Los reaccionantes se drenaron y la resina se lavó sucesivamente con dimetilformamida, diclorometano, metanol, diclorometano y éter dietílico (se usan 10-15 ml de disolvente/g de resina). Después, la resina se secó a vacío.

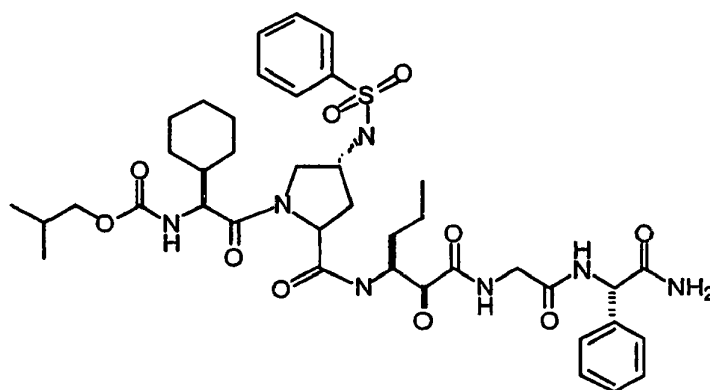
Procedimiento B: Desprotección de Fmoc: La resina protegida con Fmoc se trató con piperidina en dimetilformamida al 20% (10 ml de reactivo/g de resina) durante 30 minutos. Los reactivos se drenaron y la resina se lavó sucesivamente con dimetilformamida, diclorometano, metanol, diclorometano y éter dietílico (se usan 10 ml de disolvente/g de resina).

Procedimiento C: Desprotección de Boc: La resina protegida con Boc se trató con una mezcla de diclorometano y ácido trifluoroacético 1:1 durante 20-60 min (10 ml de disolvente/g de resina). Los reactivos se drenaron y la resina se lavó sucesivamente con diclorometano, dimetilformamida, diisopropiletilamina en dimetilformamida al 5%, dimetilformamida, diclorometano y dimetilformamida (10 ml de disolvente/g de resina).

Procedimiento D: *Hidrólisis de la semicarbazona*: La resina se suspendió en el cóctel de escisión (10 ml/g de resina) que constaba de ácido trifluoroacético: ácido pirúvico: diclorometano: agua 9:2:2:1 durante 2 h. Los reaccionantes se drenaron y el procedimiento se repitió 3 veces más. La resina se lavó sucesivamente con diclorometano, agua y diclorometano y se secó a vacío. Procedimiento E: *Escisión con HF*: El péptido-nVal(CO)-G-O-resina PAM seca (50 mg) se puso en un recipiente para HF que contenía una barra agitadora pequeña. Se añadió anisol (10% del volumen total) como un depurador. En presencia de los aminoácidos ácido glutámico y cisteína, también se añadieron tioanisol (10%) y 1,2-etanoditiol (0,2%). El recipiente para HF se conectó al aparato de HF (Immuno Dynamics) y el sistema se lavó por barrido con nitrógeno durante 5 min. Después se enfrió a -70°C con un baño de hielo seco/isopropanol. Después de 20 min, se destiló el HF hasta el volumen deseado (10 ml de HF/g de resina). La reacción se dejó que avanzara durante 1,5 horas a 0°C. El tratamiento consistía en la separación de todo el HF usando nitrógeno. Después se añadió diclorometano a la resina y la mezcla se agitó durante 5 minutos. A esto le siguió la adición de ácido acético en agua al 20% (4 ml). Después de agitar durante 20 minutos, la resina se filtró usando un embudo sinterizado y el diclorometano se separó a presión reducida. El residuo que quedaba y la mezcla se lavaron con hexanos (2x) para separar los depuradores. Mientras, la resina se sumergió en 1 ml de metanol. La capa acuosa (HOAc al 20%) se volvió a añadir a la resina y la mezcla se agitó durante 5 minutos y después se filtró. El metanol se separó a presión reducida y la capa acuosa se liofilizó. Después, el péptido se disolvió en metanol al 10-25% (que contenía ácido trifluoroacético al 0,1%) y se purificó por HPLC de fase inversa.

20 Ejemplo XXII

Síntesis en fase sólida representativa de inhibidores de Hep C: (iBoc-G(Chx)-P(4t-NHSO₂Ph)-nV-(CO)-G-G(Ph)-NH₂)

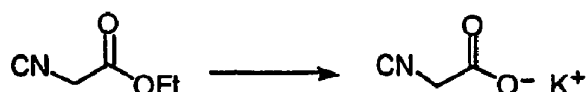


Etapa 1

Síntesis de Fmoc-nV-(dpSC)-Gly-OH

A) *Síntesis de isocianoacetato de alilo (etapas a-b, a continuación)*

a) *Síntesis de la sal de potasio del ácido isocianoacético*



Se añadió gota a gota isocianoacetato de etilo (96,6 ml, 0,88 mol) a una disolución enfriada de etanol (1,5 l) e hidróxido potásico (59,52 g, 1,0 mol). La reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 2 h, el producto precipitado se filtró en un embudo de vidrio y se lavó con varias porciones de etanol enfriado. La sal de potasio del ácido isocianoacético así obtenida se secó a vacío hasta un sólido marrón-dorado (99,92 g, 91,8%).

b) *Síntesis de isocianoacetato de alilo*

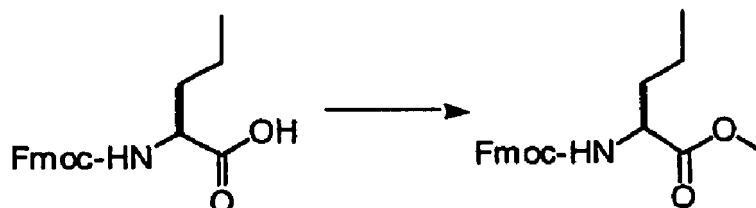


ES 2 344 890 T3

Al producto de la parte a (99,92 g, 0,81 mol) disuelto en acetonitrilo (810 ml) se añadió bromuro de alilo (92 ml, 1,05 mol). Después de calentar a reflujo durante 4 h, se obtuvo una disolución marrón oscura. La mezcla de reacción se concentró y el residuo que quedaba se disolvió en éter dietílico (1,5 l) y se lavó 3 veces con agua (500 ml). La capa orgánica se secó, se filtró y se concentró hasta un jarabe marrón oscuro. El producto bruto se purificó por destilación a vacío a 7 mm Hg (98°C) hasta un aceite transparente (78,92 g, 78%). RMN δ ppm (CDCl₃): 5,9 (m, 1 H), 5,3 (m, 2H), 4,7 (d, 2H), 4,25 (s, 2H).

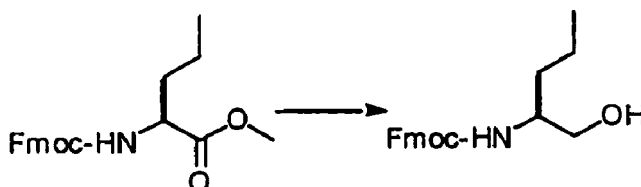
B) Síntesis de 9-fluorenilmetoxycarbonil-norvalinal (etapas a-c, a continuación)

a) Síntesis del éster de metilo de la 9-fluorenilmetoxycarbonil-L-norvalina (Fmoc-nVal-OMe)



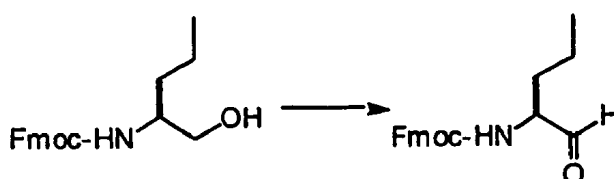
A una disolución enfriada de la Fmoc-norvalina disponible en el comercio (25 g, 73,75 mmol) en metanol anhidro (469 ml) se añadió cloruro de tionilo (53,76 ml, 737,5 mmol) a lo largo de 1 h. La TLC en acetato de etilo hecha 1 h más tarde, confirmó que la reacción se había completado ($R_f = 0,85$). La mezcla de reacción se concentró y el residuo que quedaba se disolvió en acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con varias porciones de 200 ml de disolución saturada de bicarbonato sódico seguido de salmuera. La capa orgánica se secó, se filtró y concentró para proporcionar Fmoc-nVal-OMe en forma de un sólido blanco (26,03 g) con rendimiento cuantitativo. RMN δ ppm (CD₃OD): 7,7 (m, 2H), 7,6 (m, 2H), 7,4 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 4,3 (m, 2H), 4,1 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 1,7 (m, 1H), 1,6 (m, 1H), 1,4 (m, 2H), 0,95 (t, 3H).

b) Síntesis de 9-fluorenilmetoxycarbonil-norvalinol (Fmoc-nValinol)



Al Fmoc-nVal-OMe (26,03 g, 73,75 mmol) en tetrahidrofurano (123 ml) y metanol (246 ml) se añadió cloruro de calcio (16,37 g, 147,49 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió borohidruro sódico (11,16 g, 294,98 mmol) en varios lotes. A la pasta espesa obtenida, se añadió metanol (500 ml) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 90 minutos. La TLC en acetato de etilo: hexanos 2:3 confirmó que la reacción se había completado ($R_f = 0,25$). La reacción se inactivó por adición lenta de agua (100 ml) a 0°C. Se separó el metanol a presión reducida y la fase acuosa que quedaba se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua (3 x 500 ml), disolución saturada de bicarbonato sódico (3 x 500 ml) y salmuera (500 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró hasta un sólido blanco (21,70 g, 90,5%). RMN δ ppm (CD₃OD): 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,4 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 4,3-4,5 (m, 2H), 4,2 (m, 1H), 3,6 (s, 1H), 3,5 (s, 2H), 1,5 (m, 1H), 1,3-1,4 (m, 3H), 0,99 (m, 3H).

c) Síntesis de 9-fluorenilmetoxycarbonil-norvalinal (Fmoc-nVal-CHO)

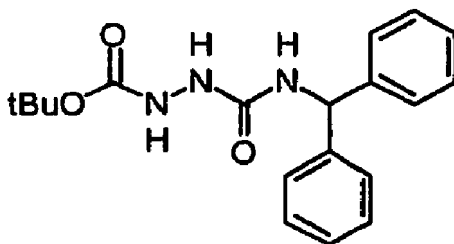


ES 2 344 890 T3

A una disolución de Fmoc-norValinol (21,70 g, 66,77 mmol) en diclorometano (668 ml) se añadió trietilamina (37,23 ml, 267 mmol) y la disolución se enfrió a 0°C. Se añadió una suspensión de complejo de piridina y trióxido de azufre (42,51 g, 267 mmol) en dimetilsulfóxido (96 ml) a la disolución enfriada. Después de 1 hora, la TLC en acetato de etilo:hexanos 2:3 confirmó que la reacción se había completado. El diclorometano se separó a presión reducida y el residuo que quedaba se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua (2 × 50 ml), disolución saturada de bisulfato sódico 1 N (2 × 50 ml), disolución saturada de bicarbonato sódico (2 × 50 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se concentró para dar un sólido blanco. Se supuso el rendimiento teórico (21,57 g) y la reacción se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

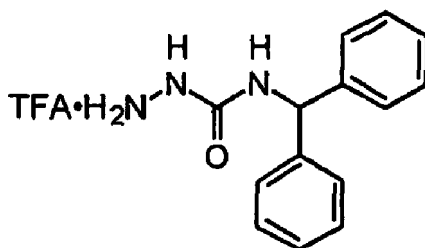
C) Síntesis de la sal de trifluoroacetato de la difenilmetil-semicarbazida (dpSC) (etapas a-b, a continuación)

a) Síntesis de Boc-semicarbazid-4-il-difenilmetano



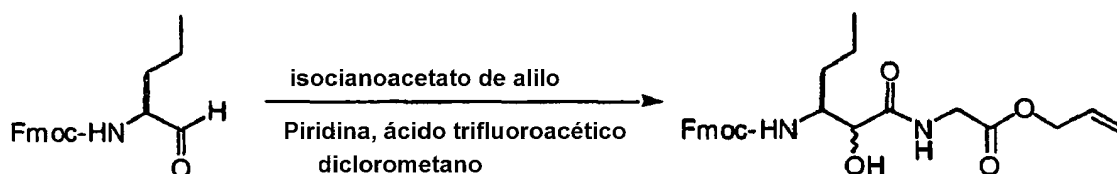
A una disolución de carbonildiimidazol (16,2 g, 0,10 mole) en dimetilformamida (225 ml) se añadió gota a gota una disolución de carbazato de t-butilo (13,2 g, 0,100 mol) en dimetilformamida (225 ml) a lo largo de 30 minutos. Después se añadió difenilmetilamina (18,3 g, 0,10 mol) a lo largo de 30 minutos. La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió agua (10 ml) y la mezcla se concentró a aproximadamente 150 ml a presión reducida. Esta disolución se vertió en agua (500 ml) y se extrajo con acetato de etilo (400 ml). La fase de acetato de etilo se lavó 2 veces con 75 ml cada vez de HCl 1 N, agua, disolución saturada de bicarbonato sódico y cloruro sódico, y se secó con sulfato magnésico. La mezcla se filtró y la disolución se concentró para dar 29,5 g (85% de rendimiento) de una espuma blanca. Este material se podía purificar por recristalización en acetato de etilo/hexano, pero estaba suficientemente puro para usarlo directamente en la siguiente etapa: p.f. 142-143°C. RMN ¹H (CDCl₃) δ 1,45 (s, 9H), 6,10 (dd, 2H), 6,42 (s, 1H), 6,67 (s ancho, 1H), 7,21-7,31 (m, 10H). Anal. calculado para C₁₉H₂₃N₃O₃: C, 66,84; H, 6,79; N, 12,31. Encontrado: C, 66,46; H, 6,75; N, 12,90.

b) Síntesis de la sal de trifluoroacetato de difenilmetil-semicarbazida (dpSC)



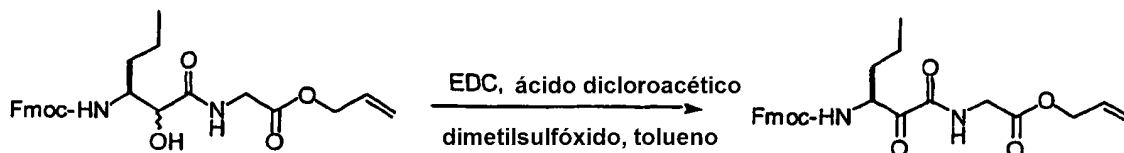
Una disolución de Boc-semicarbazid-4-il-difenilmetano (3,43 g, 10 mmol) en diclorometano (12,5 ml) se trató con 12,5 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. La disolución se añadió gota a gota a 75 ml de éter dietílico y el sólido resultante (2,7 g, 80%) se recogió por filtración, p.f. 182-184°C. RMN ¹H (CD₃OD) δ 6,05 (s, 1H), 7,21-7,35 (m, 10H). RMN ¹³C (CD₃OD) δ 57,6, 118,3 (q, CF₃), 126,7, 127,9, 141,6, 156,9, 160,9 (q, CF₃CO₂H).

D) Síntesis de Fmoc-nVal-(CHOH)-Gly-Oalilo



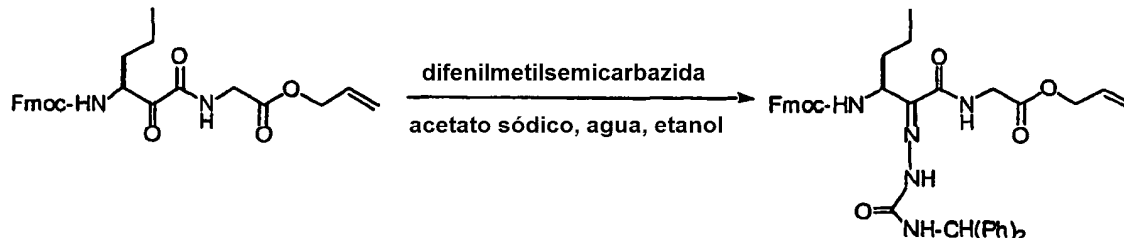
A una disolución de Fmoc-nVal-CHO (etapa IB) (5,47 g, 16,90 mmol) en diclorometano (170 ml) se añadió isocianoacetato de alilo (etapa IA) (2,46 ml, 20,28 mmol) y piridina (5,47 ml, 67,61 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (3,38 ml, 33,80 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 1 h y después a temperatura ambiente durante 48 h. La TLC hecha en acetato de etilo confirmó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se concentró y se sometió a cromatografía ultrarrápida usando acetato de etilo en hexanos de 20% a 70%. Las fracciones que contenían el producto deseado se mezclaron y se concentraron hasta una espuma blanca (6,88 g, 87,3%). La TLC en acetato de etilo 50:50 muestra una sola mancha ($R_f = 0,37$). RMN δ ppm (CD_3OD): 7,8 (m, 2H), 7,65 (m, 2H), 7,4 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 5,9 (m, 1H), 5,1-5,4 (m, 2H), 4,55-4,65 (m, 2H), 4,3-4,4 (m, 2H), 4,15-4,25 (m, 1H), 4,01 (s, 1H), 3,9-4,0 (m, 3H), 1,5-1,6 (m, 2H), 1,35-1,45 (m, 3H), 0,9 (m, 3H).

E) Síntesis de Fmoc-nVal-(CO)-Gly-Oalilo



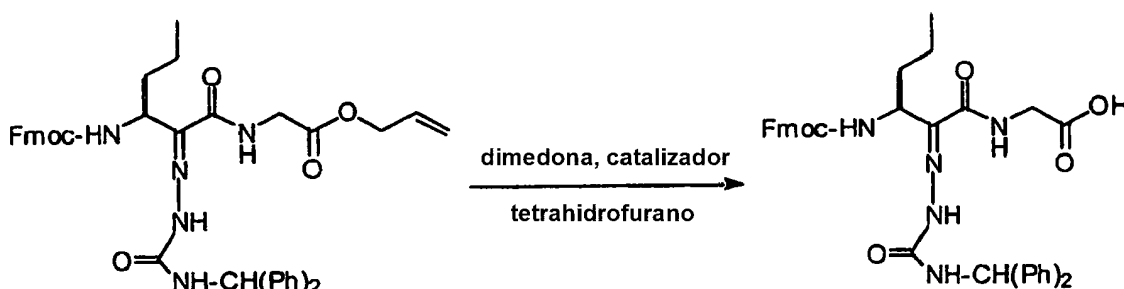
A una disolución de Fmoc-nVal-(CHOH)-Gly-Oalilo (etapa D) (5,01 g, 10,77 mmol) en dimetilsulfóxido (100 ml) y tolueno (100 ml) se añadió EDC (20,6 g, 107,7 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota ácido dicloroacético (4,44 ml, 53,83 mmol). La reacción se agitó durante 15 minutos a 0°C y 1 h a temperatura ambiente. Después de volver a enfriar a 0°C, se añadió agua (70 ml) y el tolueno se separó a presión reducida. El residuo que quedaba se diluyó con acetato de etilo y se lavó varias veces con una disolución saturada de bicarbonato sódico seguido de bisulfato sódico 1 N y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. Se supuso el rendimiento teórico de 4,99 g y la reacción se llevó a la siguiente etapa sin más purificación. La TLC en acetato de etilo 50:50 muestra una mancha ($R_f = 0,73$).

F) Síntesis de Fmoc-nVal-(dpSC)-Gly-Oalilo



A una disolución de Fmoc-nVal-(CO)-Gly-Oalilo (etapa E) (4,99 g, 10,75 mmol) en etanol (130 ml) y agua (42 ml) se añadió la sal de trifluoroacetato de difenilmetil-semicarbazida (dpSC) (etapa IC) (7,6 g, 21,5 mmol) y acetato sódico-3H₂O (1,76 g, 12,9 mmol), sucesivamente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 90 minutos. Se confirmó que la reacción se había completado por TLC hecha en acetato de etilo:hexano 1:1. El etanol se separó a presión reducida y el residuo que quedaba se disolvió en acetato de etilo y se lavó con bisulfato sódico 1 N (2×10 ml), disolución saturada de bicarbonato sódico (2×10 ml), seguido de salmuera (10 ml). La capa orgánica se secó, se filtró y concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida en acetato de etilo en hexanos de 20% a 50% para dar un sólido blanco (5,76 g, 78%). La TLC en acetato de etilo:hexanos 50:50 presentaba 2 manchas (isómeros cis y trans) con $R_f = 0,42$ y 0,5.

G) Síntesis de Fmoc-nVal-(dpSC)-Gly-OH

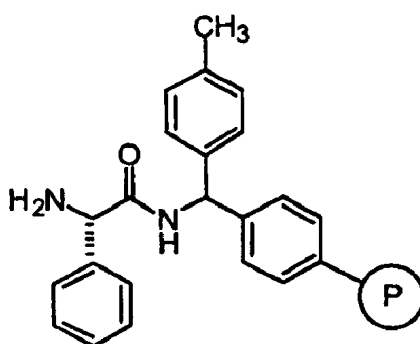


ES 2 344 890 T3

A una disolución de Fmoc-nVal-(dpSC)-Gly-Oalilo (etapa IG) (4,53 g, 6,59 mmol) en tetrahidrofurano (300 ml) se añadió dimedona (4,62 g, 32,97 mmol) seguido del catalizador tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,76 g, 0,66 mmol). Se confirmó que la reacción se había completado por TLC después de 90 minutos usando diclorometano:metanol 9:1. La mezcla de reacción se concentró y el residuo que quedaba se disolvió en acetato de etilo y se lavó 3 veces con porciones de 50 ml de bifosfato de potasio 0,1 M. Después, la capa orgánica se trató con 50 ml de bisulfito sódico y el sistema de 2 fases se agitó durante 15 minutos. Las fases se separaron y el procedimiento se repitió dos veces más. La capa orgánica se secó y se concentró y se sometió a cromatografía ultrarrápida con acetato de etilo en hexanos de 20% a 100%. A esto le siguió disolución de diclorometano:metanol 9:1. Las fracciones correspondientes al producto puro se juntaron y se concentraron para obtener un sólido blanco (3,99 g, 94%). La TLC en diclorometano:metanol 9:1 presentaba 2 manchas (isómeros cis y trans). RMN δ ppm (CD_3OD): 7,75 (m, 2H), 7,6 (m, 3H), 7,2-7,4 (m, 14H), 6,1-6,2 (m, 1H), 4,25-4,4 (m, 2H), 4,1=4,2 (m, 2H), 3,85 (s, 2H), 1,6-1,8 (m, 2H), 1,3-1,5 (m, 2H), 0,95 (t, 3H).

Etapa 2

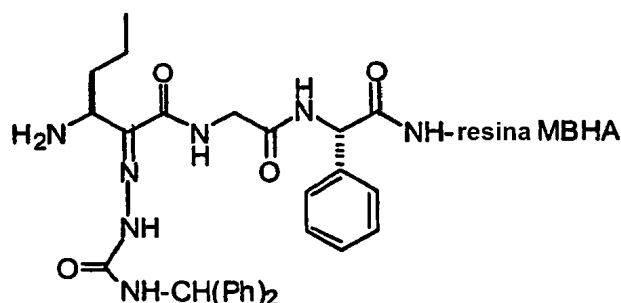
Síntesis de H-Phg-resina MBHA



La resina MBHA disponible en el comercio (2,6 g, 1,12 mmol/g, 2,91 mmol) se transfirió a un recipiente de reacción en fase sólida sinterizado de 250 ml, equipado con una entrada de nitrógeno. Después se lavó bien con porciones de 30 ml de diclorometano, metanol, dimetilformamida y se acopló durante 18 h al Fmoc-Phg-OH disponible en el comercio (2,17 g, 5,82 mmol) de acuerdo con el procedimiento A con una eficacia de 99,82%. Después, la resina se sometió a la desprotección de Fmoc de acuerdo con el procedimiento B. Una prueba cualitativa de ninhidrina en una pequeña parte alícuota dio una resina azul oscuro y disolución, indicando una reacción satisfactoria.

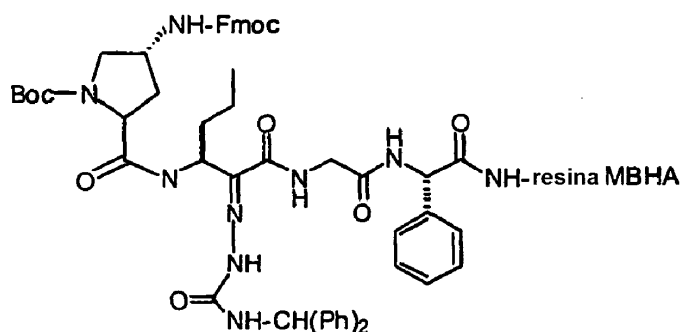
Etapa 3

Síntesis de la H-nVal(dpSC)-Gly-Phg-resina MBHA



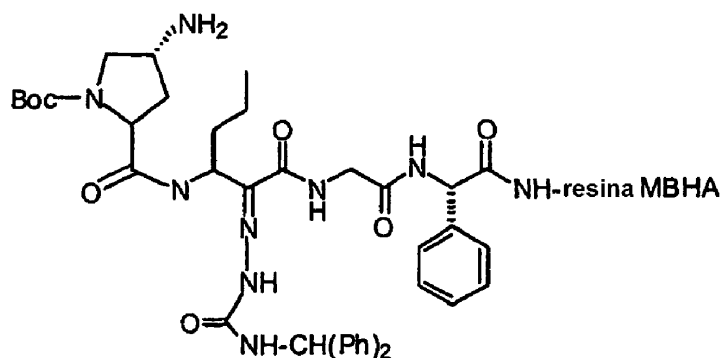
La resina obtenida en la etapa II (2,6 g, 0,8 mmol/g, 2,91 mmol) se hizo reaccionar con Fmoc-nVal-(dpSC)-Gly-Oalilo (etapa IG) (5,82 mmol, 3,77 g) de acuerdo con el procedimiento A. Después de 18 h, el análisis cuantitativo de ninhidrina indicaba una eficacia del acoplamiento de 99,91%. La resina se sometió a la desprotección de Fmoc de acuerdo con el procedimiento B. Una prueba cualitativa de ninhidrina en una pequeña parte alícuota dio una resina azul oscuro y disolución, indicando una reacción satisfactoria.

Etapa 4

Síntesis de Boc-Pro(4t-NHFmoc)-nVal(dpse)-Gly-Phg-resina MBHA

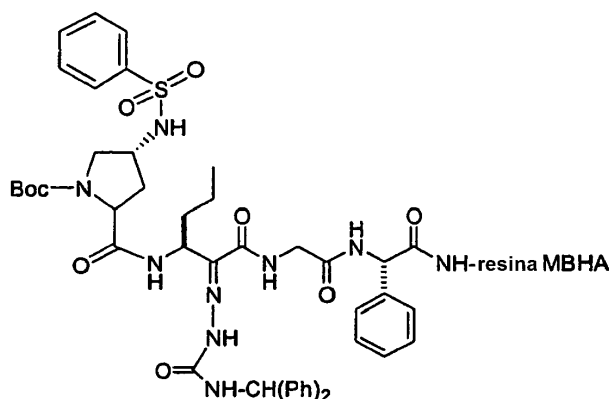
El compuesto H-nVal(dpse)-Gly-Phg-resina MBHA (etapa 3 anterior) (600 mg, 0,8 mmol/g, 0,67 mmol) se transfirió a un tubo de polipropileno sinterizado y se acopló a Boc-Pro(4t-NHFmoc)-OH (ejemplo VI, etapa 3) (610 mg, 1,34 mmol) de acuerdo con el procedimiento A. Después de 18 horas, el análisis cuantitativo de ninhidrina indicaba una eficacia del acoplamiento de 99,96%.

Etapa 5

Síntesis de Boc-Pro(4t-NH₂)-nVal(dpse)-Gly-Phg-resina MBHA

La resina de la etapa previa (Boc-Pro(4t-NHFmoc)-nVal(dpse)-Gly-Phg-resina MBHA) se sometió a la desprotección de Fmoc de acuerdo con el procedimiento B. Una prueba cualitativa de ninhidrina en una pequeña parte alícuota dio una resina azul oscuro y disolución, indicando una reacción satisfactoria.

Etapa 6

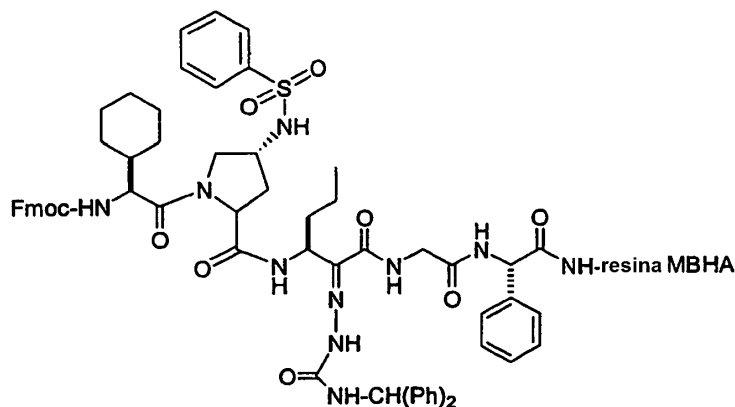
Síntesis de Boc-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(dpse)-Gly-Phg-resina MBHA

ES 2 344 890 T3

A la resina obtenida en la etapa previa (Boc-Pro(4t-NH₂)-nVal(dp_{sc})-Gly-Phg-resina MBHA) (0,2 g, 0,22 mmol) suspendida en NMP (2 ml) se añadió 2,4,6-colidina (0,24 ml, 1,79 mmol) y cloruro de bencenosulfonilo y la reacción se agitó durante 18 h. El disolvente se drenó y la resina se lavó bien con porciones de 2 ml de diclorometano, metanol, dimetilformamida y diclorometano. El análisis cualitativo de ninhidrina mostró perlas incoloras y la disolución indicaba una reacción satisfactoria.

Etapa 7

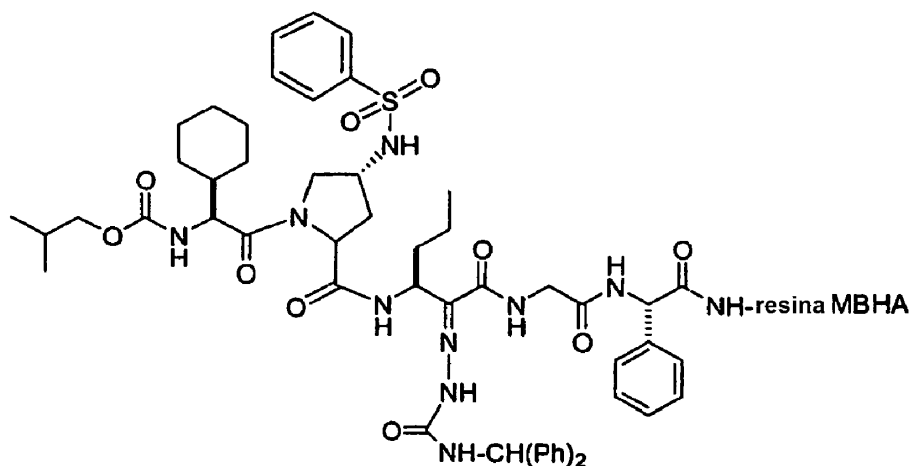
Síntesis de Fmoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(dp_{sc})-Gly-Phg-resina MBHA



La resina obtenida en la etapa previa (Boc-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(dp_{sc})-Gly-Phg-resina MBHA) se sometió a la desprotección de Boc de acuerdo con el procedimiento C. Después se acopló Fmoc-G(Chx) (0,17 g, 0,45 mmol) de acuerdo con el procedimiento A. Después de 18 h, el análisis cualitativo de ninhidrina mostró perlas incoloras y el análisis cuantitativo de ninhidrina indicaba una eficacia del acoplamiento de 99,79%.

Etapa 8

Síntesis de la iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(dp_{sc})-Gly-Phg-resina MBHA

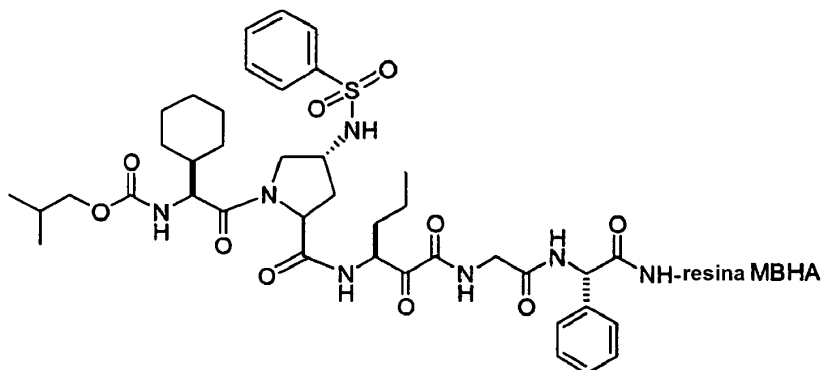


La resina de la etapa previa (Fmoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(dp_{sc})-Gly-Phg-resina MBHA) se sometió a la desprotección de Fmoc de acuerdo con el procedimiento B. Una prueba cualitativa de ninhidrina en una pequeña parte alícuota dio una resina azul oscuro y disolución, indicando una reacción satisfactoria. A la resina (0,2 g, 0,22 mmol) suspendida en 2 ml de NMP se añadió cloroformiato de isobutilo (0,12 ml, 0,90 mmol) seguido de diisopropiletilamina (0,31 ml, 1,79 mmol), y la mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. El análisis cualitativo de ninhidrina mostró perlas incoloras y la disolución indicaba una reacción satisfactoria.

ES 2 344 890 T3

Etapa 9

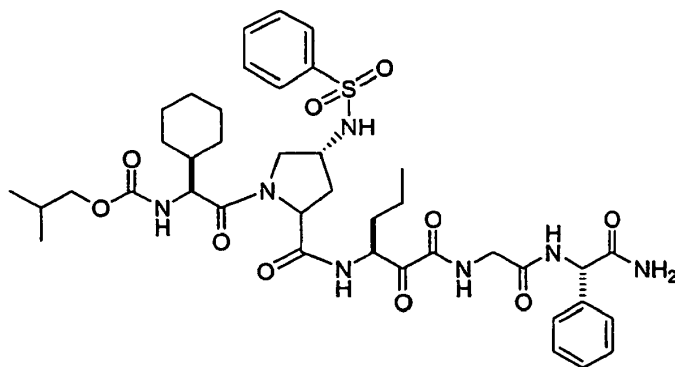
Síntesis de iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(CO)-Gly-Phg-resina MBHA



El compuesto de la etapa previa (iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(dpse)-Gly-Phg-resina MBHA) (200 mg) se sometió a la hidrólisis de semicarbazona del procedimiento D.

Etapa 10

Síntesis de iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(CO)-Gly-Phg-NH₂

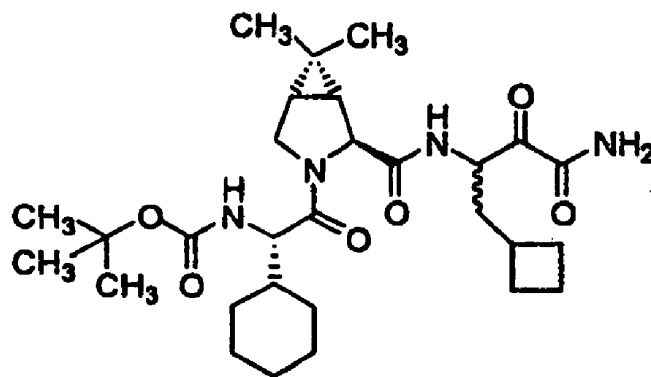


La resina de la etapa previa (iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO₂Bn)-nVal(CO) Gly-Phg-resina MBHA) (100 mg) se sometió a condiciones de escisión con HF (procedimiento E) para dar el producto bruto deseado. El material se purificó por HPLC usando una columna de fase inversa de 2,2 × 25, que contenía una resina C-18 compuesta de partículas de gel de sílice de 10 micrómetros con un tamaño de poros de 300 angstrom, eluyendo con un gradiente usando acetonitrilo en agua al 20-50%. La HPLC analítica usando una columna de fase inversa de 4,6 × 250, que contenía una resina C-18 compuesta de partículas de gel de sílice de 5 micrómetros con un tamaño de poros de 300, eluyendo con acetonitrilo (que contenía ácido trifluoroacético al 0,1%) al 25-75% mostró un pico a 13,5 minutos. El espectro de masas de baja resolución confirmó la masa deseada (MH⁺ 826,4).

IV. Compuestos adicionales preparados por síntesis en fase de disolución

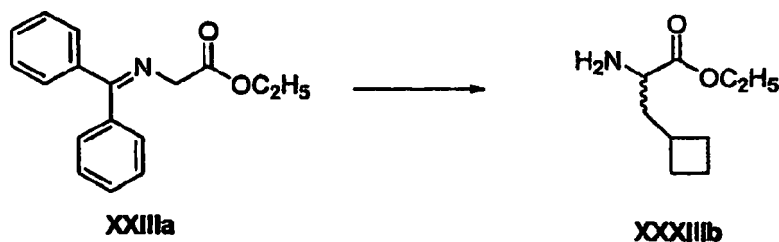
Ejemplo XXIII

5 Preparación de un compuesto de fórmula XXIII



XXIII

Etapa 1

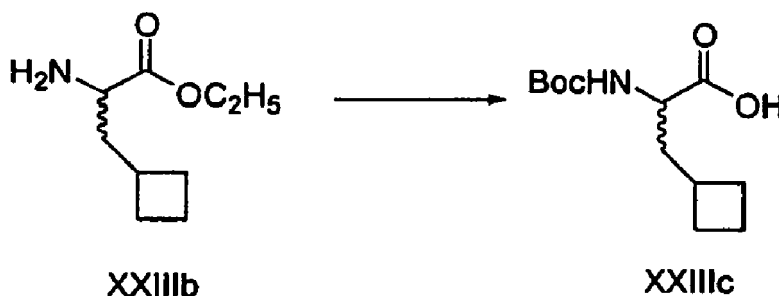


XXIIIa

XXIIIb

Una solución agitada de la cetimima XXIIIa (50 g, 187,1 mmol) en atmósfera de N_2 en THF seco (400 ml) se enfrió a $-78^\circ C$ y se trató con disolución de K^tBuO 1 M (220 ml, 1,15 equiv.) en THF. La mezcla de reacción se calentó a $0^\circ C$ y se agitó durante 1 h y se trató con bromometil-ciclobutano (28 ml, 249 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 h y se concentró a vacío. El residuo se disolvió en Et_2O (300 ml) y se trató con HCl ac. (2 M, 300 ml). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y se extrajo con Et_2O (1 litro). La capa acuosa se hizo básica a pH -12-14 con NaOH (acuoso al 50%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3x300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), se filtraron, y se concentraron para dar la amina pura (XXIIIb, 18 g) en forma de un aceite incoloro.

Etapa 2

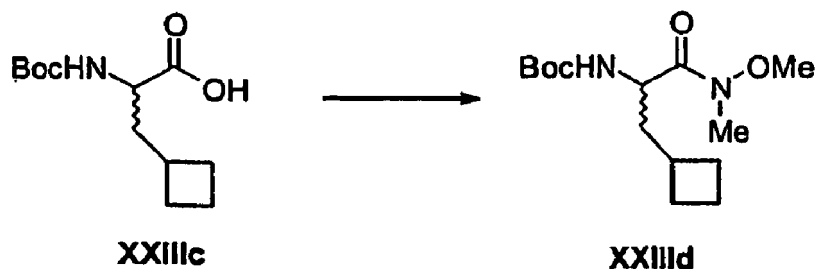


XXIIIb

XXIIIc

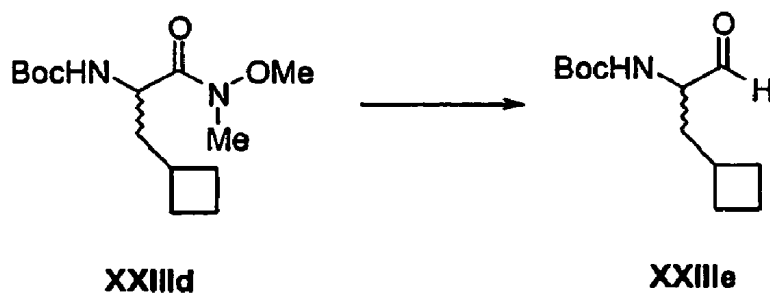
Una disolución de la amina XXIIIb (18 g, 105,2 mmol) a $0^\circ C$ en CH_2Cl_2 (350 ml) se trató con dicarbonato de di-*tert*-butilo (23 g, 105,4 mmol) y se agitó a t.a. durante 12 h. Después de completarse la reacción (TLC), la mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se disolvió en THF/ H_2O (200 ml, 1:1) y se trató con $LiOH \cdot H_2O$ (6,5 g, 158,5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró y la capa acuosa básica se extrajo con Et_2O . La capa acuosa se acidificó con HCl conc. hasta pH ~1-2 y se extrajo con CH_2Cl_2 . Las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a vacío para dar el compuesto XXIIIc en forma de un aceite viscoso incoloro que se usó para la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa 3



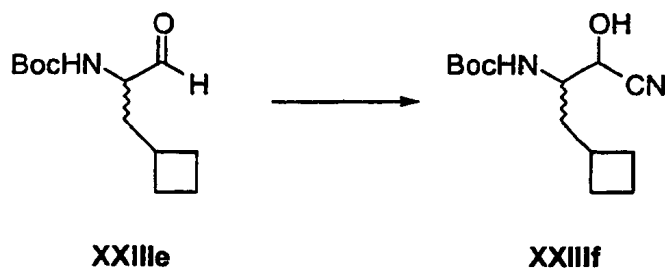
Una disolución del ácido XXIIIc (15,0 g, 62 mmol) en CH_2Cl_2 (250 ml) se trató con el reactivo BOP (41,1 g, 93 mmol), N-metil-morfolina (27 ml), hidrocloreuro de N,O-dimetil-hidroxilamina (9,07 g, 93 mmol) y se agitó durante una noche a t.a. La mezcla de reacción se diluyó con HCl ac. 1 N (250 ml) y se separaron las capas, y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3x300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y concentraron a vacío y se purificaron por cromatografía (SiO_2 , EtOAc/Hex 2:3) para dar la amida XXIIId (15,0 g) en forma de un sólido incoloro.

Etapa 4



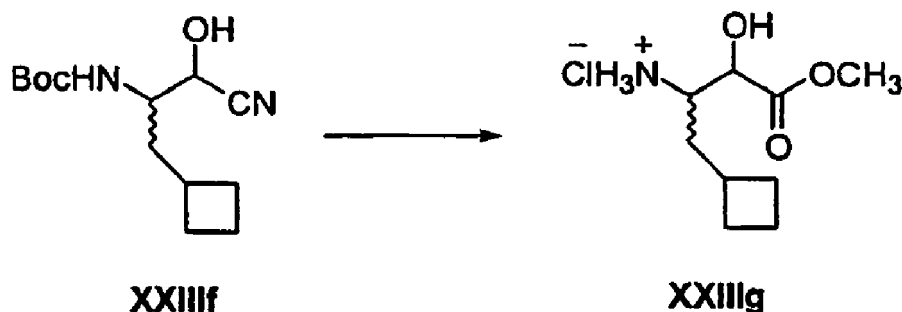
Una disolución de la amida XXIIId (15 g, 52,1 mmol) en THF seco (200 ml) se trató gota a gota con una disolución de LiAlH_4 (1 M, 93 ml, 93 mmol) a 0°C . La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se inactivó con cuidado a 0°C con una disolución de KHSO_4 (al 10% ac.) y se agitó durante 0,5 h. La mezcla de reacción se diluyó con HCl ac. (1 M, 150 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3x200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con HCl ac. (1 M), disolución saturada de NaHCO_3 , salmuera, y se secaron (MgSO_4). La mezcla se filtró y se concentró a vacío para dar el compuesto XXIIIe en forma de un aceite viscoso incoloro (14 g).

Etapa 5



Una disolución del aldehído XXIIIe (14 g, 61,6 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml), se trató con Et_3N (10,73 ml, 74,4 mmol) y cianhidrina de la acetona (10,86 g, 127,57 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se diluyó con HCl ac. (1 M, 200 ml) y se extrajo en CH_2Cl_2 (3x200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O , salmuera, se secaron (MgSO_4), se filtraron, se concentraron a vacío y se purificaron por cromatografía (SiO_2 , EtOAc/Hex 1:4) para dar el compuesto XXIIIf (10,3 g) en forma de un líquido incoloro.

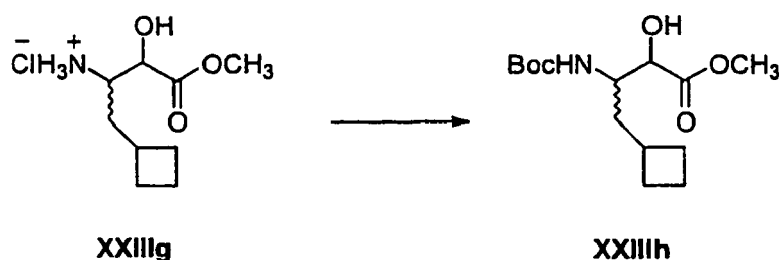
Etapa 6



Se trató metanol saturado con HCl*, preparado burbujeando HCl gaseoso en CH₃OH (700 ml) a 0°C, con la cianhidrina XXIII f y se calentó a reflujo durante 24 h. La reacción se concentró a vacío para dar el compuesto XXIII g, que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

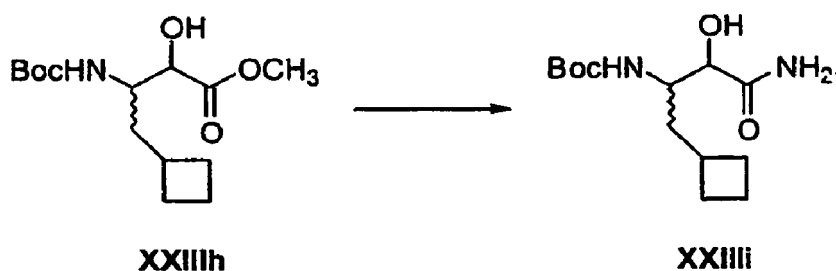
* Alternativamente, también se puede usar HCl 6 M preparado por adición de AcCl en metanol seco.

Etapa 7



Una disolución del hidrocloreto de la amina XXIII g en CH₂Cl₂ (200 ml) se trató con Et₃N (45,0 ml, 315 mmol) y Boc₂O (45,7 g, 209 mmol) a -78°C. Después, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y se diluyó con HCl (2 M, 200 ml) y se extrajo en CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron, se concentraron a vacío y se purificaron por cromatografía (EtOAc/Hex 1:4) para dar el hidroxi-éster XXIII h.

Etapa 8

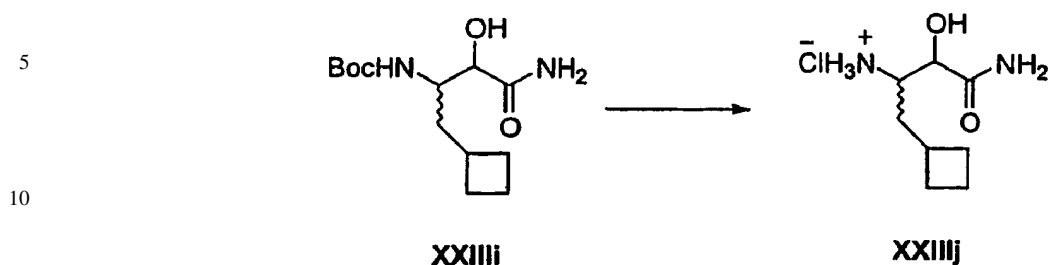


Una disolución del éster de metilo XXIII h (3 g, 10,5 mmol) en THF/H₂O (1:1) se trató con LiOH·H₂O (645 mg, 15,75 mmol) y se agitó a t.a. durante 2 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. (1 M, 15 ml) y se concentró a vacío. El residuo se secó a vacío.

Una disolución del ácido en CH₂Cl₂ (50 ml) y DMF (25 ml) se trató con NH₄Cl (2,94 g, 55,5 mmol), EDCI (3,15 g, 16,5 mmol), HOObt (2,69 g, 16,5 mmol) y NMM (4,4 g, 44 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Los disolventes se separaron a vacío y el residuo se diluyó con HCl ac. (250 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución acuosa saturada de NaHCO₃, se secaron (MgSO₄), se filtraron, se concentraron a vacío para obtener el compuesto XXIII i, que se usó como estaba en las siguientes etapas.

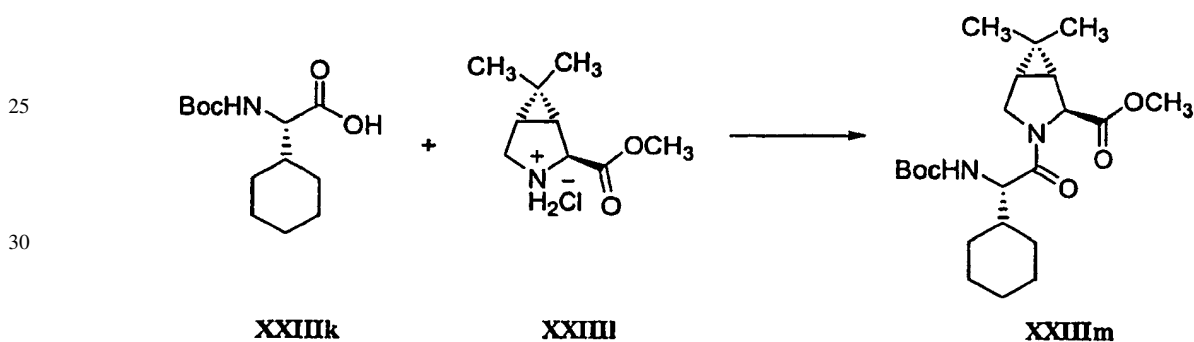
(Alternativamente el compuesto XXIII i también se podía obtener directamente por reacción del compuesto XXIII f (4,5 g, 17,7 mmol) con H₂O₂ ac. (10 ml), LiOH·H₂O (820 mg, 20,8 mmol) a 0°C en 50 ml de CH₃OH durante 0,5 h.)

Etapa 9



15 Una disolución del compuesto XXIIIi obtenido en la etapa previa se disolvió en HCl 4 N en dioxano y se agitó a t.a. durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío para dar el compuesto XXIIIj en forma de un sólido, que se usó sin más purificación.

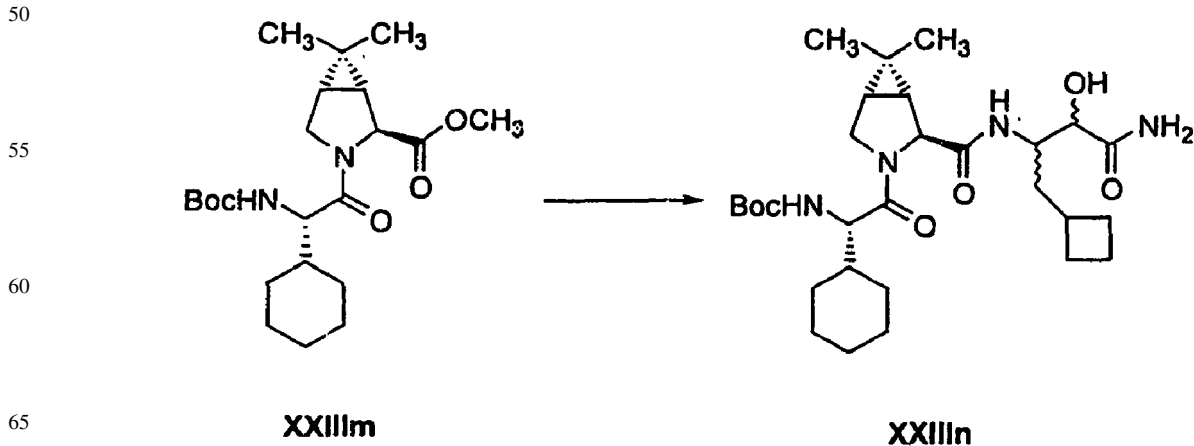
Etapa 10



35 El aminoéster XXIIIIm se preparó siguiendo el método de R. Zhang y J. S. Madalengoitia (*J. Org. Chem.* 1999, 64, 330), con la excepción de que el grupo Boc se escindió por reacción del aminoácido protegido con Boc con HCl en metanol.

40 Una disolución del aminoácido comercial Boc-Chg-OH, XXIIIk (Senn chemicals, 6,64 g, 24,1 mmol) y el hidrocloreto de la amina XXIIIl (4,5 g, 22 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) a 0°C se trató con el reactivo BOP y se agitó a t.a. durante 15 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío, después se diluyó con HCl ac. 1 M y se extrajo en EtOAc (3x200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución saturada de NaHCO₃ (200 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío, y se cromatografiaron (SiO₂, EtOAc/Hex 3:7) para obtener el compuesto XXIIIIm (6,0 g) en forma de un sólido incoloro.

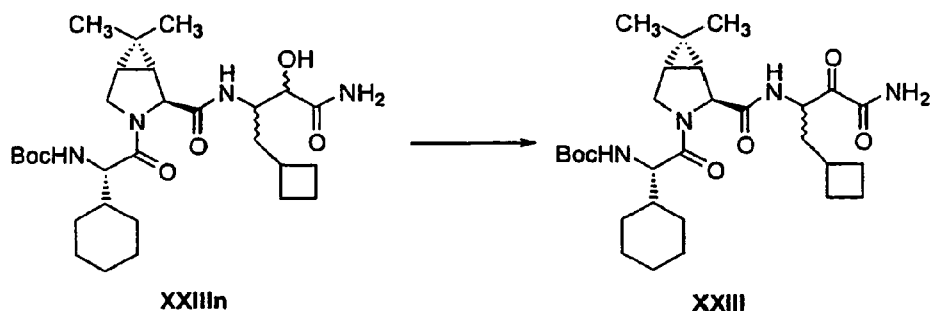
Etapa 11



Una disolución del éster de metilo XXIII_m (4,0 g, 9,79 mmol) en THF/H₂O (1:1) se trató con LiOH·H₂O (401 mg, 9,79 mmol) y se agitó a t.a durante 3 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. y se concentró a vacío para obtener el ácido libre.

Una disolución del ácido (1,5 g, 3,74 mmol) en DMF/CH₂Cl₂ (1:1 50 ml) se trató con la amina XXIII_j (772 mg, 3,74 mmol), EDCI (1,07 g, 5,61 mmol), HOObt (959 mg, 5,61 mmol) y NMM (2,15 ml, 14,96 mmol) a -10°C. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 48 h y se concentró a vacío. El residuo se diluyó con HCl ac. 1 M y se extrajo con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaHCO₃ ac., HCl ac., salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y concentraron a vacío para obtener el compuesto XXIII_n, (2,08 g) en forma de un sólido coloreado pardo.

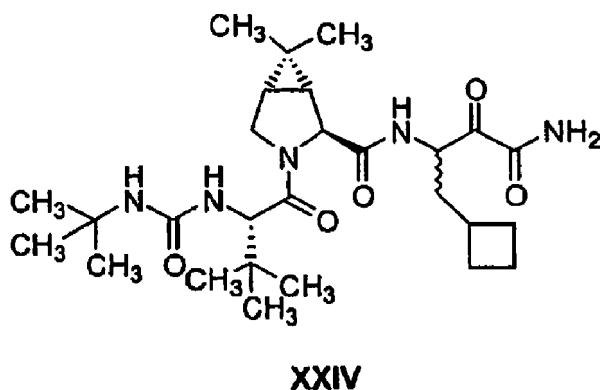
Etapa 12



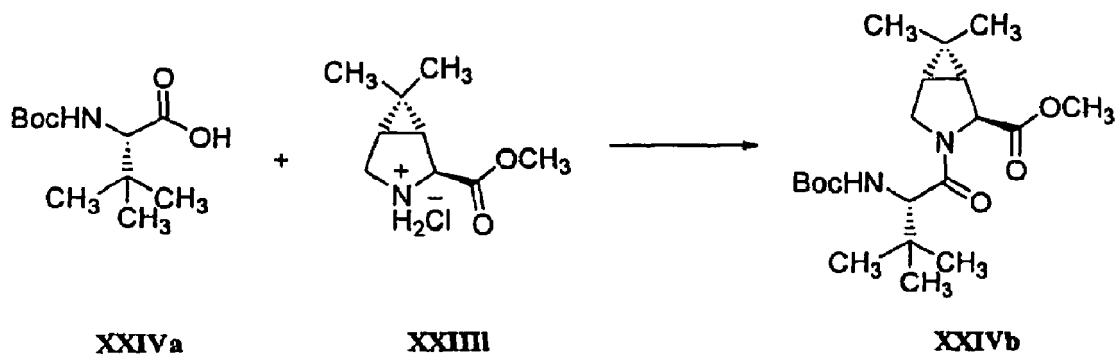
Una disolución de la amida XXIII_n (2,08 g, 3,79 mmol) en tolueno y DMSO (1:1 20 ml) a 0°C se trató con EDCI (7,24 g, 37,9 mmol) y ácido dicloroacético (2,42 g, 19,9 mmol) y se agitó a t.a durante 4 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con disolución saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) se filtró, se concentró a vacío y se purificó por cromatografía (SiO₂, acetona/hexanos 3:7) para dar el compuesto XXIII en forma de un sólido incoloro.

Ejemplo XXIV

Preparación de un compuesto de fórmula XXIV



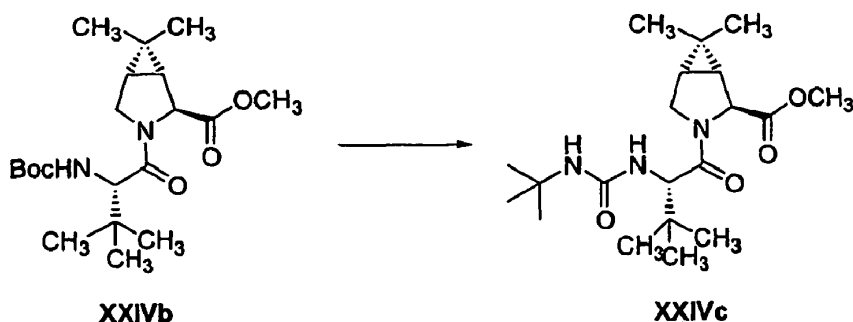
Etapa 1



ES 2 344 890 T3

Una disolución de Boc-*tert*-Lue XXIVa (Fluka, 5,0 g 21,6 mmol) en CH₂Cl₂/DMF secos (50 ml, 1:1) se enfrió a 0°C y se trató con la amina XXIII (5,3 g, 25,7 mmol), NMM (6,5 g, 64,8 mmol) y el reactivo BOP (11,6 g, 25,7 mmol). La reacción se agitó a t.a. durante 24 h, se diluyó con HCl ac. (1 M) y se extrajo con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con HCl (ac., 1 M), disolución saturada de NaHCO₃, salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío y se purificaron por cromatografía (SiO₂, acetona/hexano 1:5) para dar el compuesto XXIVb en forma de un sólido incoloro.

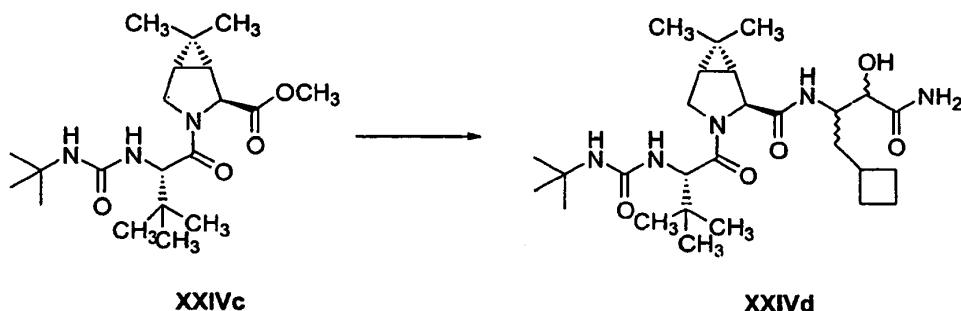
Etapa 2



Una disolución del éster de metilo XXIVb (4,0 g, 10,46 mmol) se disolvió en HCl (disolución 4 M en dioxano) y se agitó a t.a. durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío para obtener la sal de hidrocloreto de la amina usada en la siguiente etapa.

Una disolución de la sal de hidrocloreto de la amina (397 mg, 1,24 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se enfrió a -78°C y se trató con isocianato de *tert*-butilo (250 mg, 2,5 mmol) y se agitó a t.a. durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se diluyó con HCl ac. (1 M) y se extrajo con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con HCl (ac., 1 M), disolución saturada de NaHCO₃ y salmuera. Las capas orgánicas se secaron, se filtraron y se concentraron a vacío y el residuo se purificó por cromatografía (SiO₂, acetona/Hex 1:4) para dar el compuesto XXIVc en forma de un sólido incoloro.

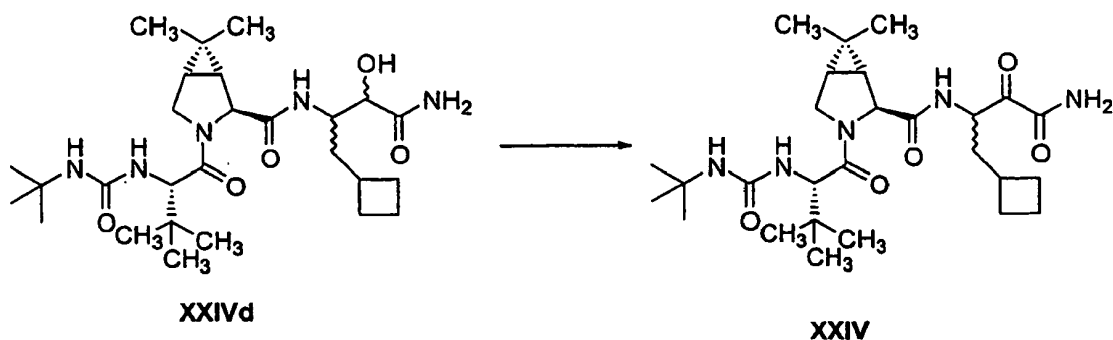
Etapa 3



Una disolución del éster de metilo XXIVc (381 g, 1,0 mmol) en THF/H₂O (1:1, 5 ml) se trató con LiOH·H₂O (62 mg, 1,5 mmol) y se agitó a t.a. durante 3 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. y se concentró a vacío para obtener el ácido libre.

Una disolución del ácido (254,9 g, 0,69 mmol) en DMF/CH₂Cl₂ (1:1, 5,0 ml) se trató con la amina XXIIIj (159 mg, 0,763 mmol), EDCI (199 g, 1,04 mmol), HOObt (169,5 mg, 1,04 mmol) y NMM (280 ml, 2,77 mmol) a -20°C. La mezcla de reacción se agitó a -20°C durante 48 h y se concentró a vacío. El residuo se diluyó con HCl ac. 1 M y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaHCO₃ ac., HCl ac., salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y concentraron a vacío para obtener el compuesto XXIVd, (470 mg) en forma de un sólido coloreado pardo.

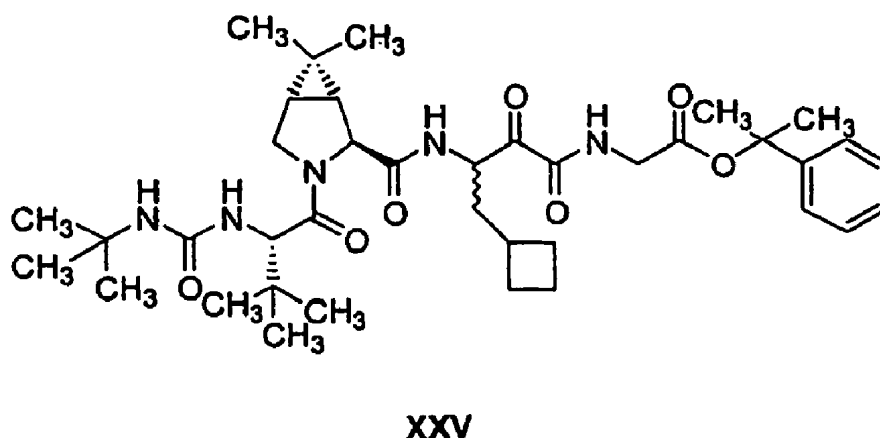
Etapa 4



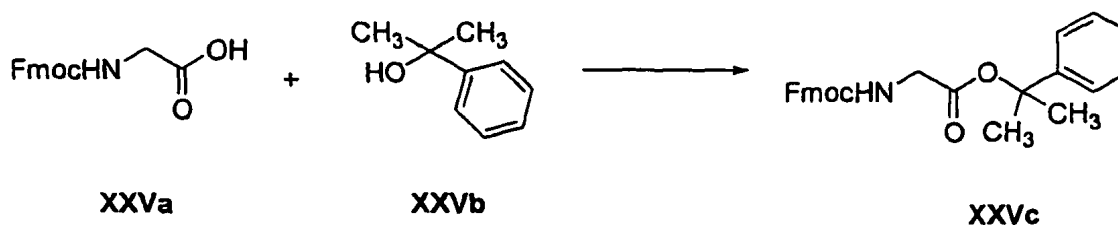
Una disolución de la amida **XXIVd** (470 mg, 0,9 mmol) en tolueno y DMSO (1:1 20 ml) a 0°C se trató con EDCI (1,72 g, 9,0 mmol) y ácido dicloroacético (0,37 ml, 4,5 mmol) y se agitó a 0°C durante 4 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂, y se lavó con disolución saturada de NaHCO₃ y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) se filtró, se concentró a vacío y se purificó por cromatografía (SiO₂, acetona/hexanos 3:7) para dar el compuesto **XXIV** en forma de un sólido incoloro.

Ejemplo XXV

Preparación de un compuesto de fórmula XXV

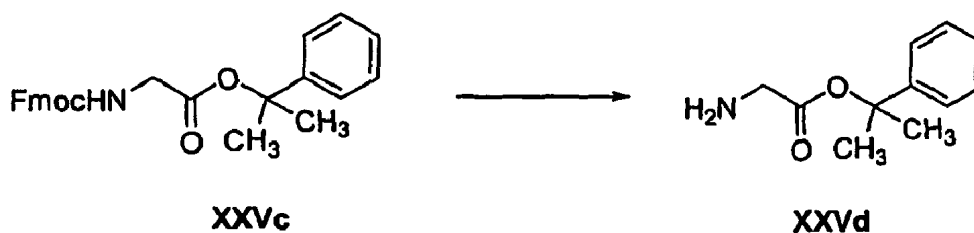


Etapa 1



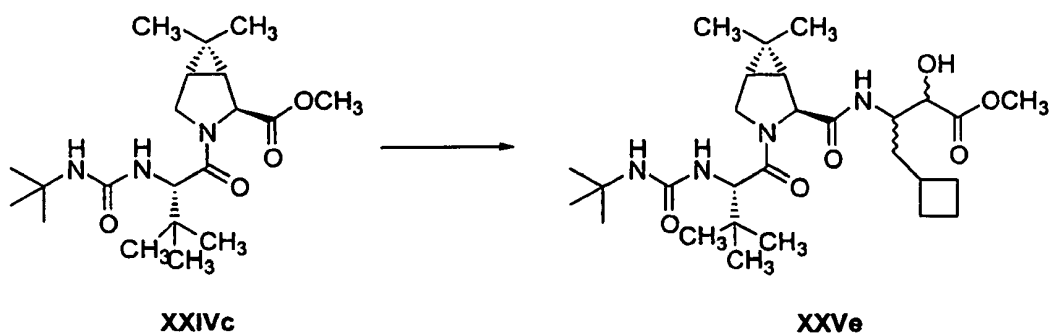
Una disolución de Fmoc-glicina (Bachem, 2,0 g, 6,87 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se trató con 2-fenil-2-propanol (Aldrich, 3,36 g, 24,7 mmol), DCC (disolución 1 M en CH₂Cl₂, 8,24 ml), DMAP (167 mg, 1,37 mmol) y se agitó a t.a. durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se diluyó con Et₂O (100 ml). El sólido que se separó, se filtró y el filtrado se lavó con disolución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró, se concentró a vacío, y se purificó por cromatografía (SiO₂, EtOAc/Hex 1:5) para dar el éster **XXVc** (1,1 g) en forma de un líquido viscoso incoloro.

Etapa 2



Una disolución de XXVc en CH_2Cl_2 (16,0 ml) se trató con piperidina (4,0 ml) y se agitó a t.a. durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se purificó por cromatografía (SiO_2 , acetona/hexanos de 1:10 a 1:1) para dar la amina XXVd (420 mg) en forma de un líquido incoloro.

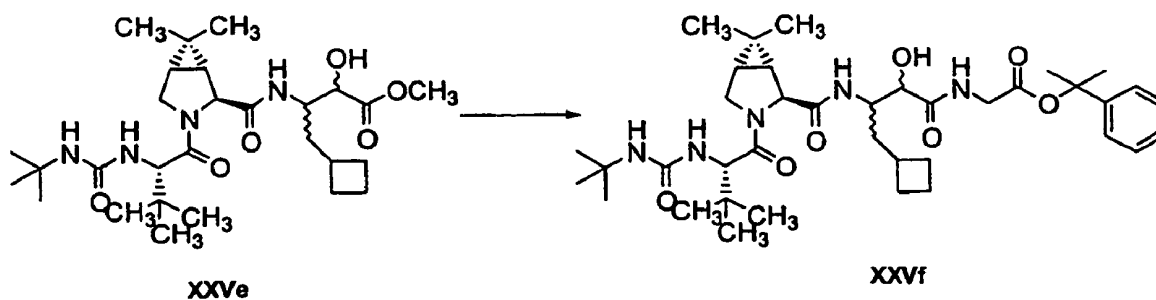
Etapa 3



Una disolución del éster de metilo XXIVc (381 g, 1,0 mmol) en THF/ H_2O (1:1, 5 ml) se trató con $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (62 mg, 1,5 mmol) y se agitó a t.a. durante 3 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. y se concentró a vacío para obtener el ácido libre.

Una disolución del ácido (2,0 g, 5,5 mmol) en DMF/ CH_2Cl_2 (11:1, 40,0 ml) a -10°C se trató con la amina XXIIIg (1,51 g, 6,8 mmol), EDCI (1,57 g, 8,25 mmol), HOObt (1,41 g, 8,25 mmol) y NMM (2,5 g, 24,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 48 h y se concentró a vacío. El residuo se diluyó con HCl ac. 1 M (100 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3x100 ml). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaHCO_3 ac., HCl ac., salmuera, se secaron (MgSO_4), se filtraron, se concentraron a vacío para obtener el compuesto XXVe (3,17 g) en forma de un sólido coloreado pardo, usado después sin purificación.

Etapa 4

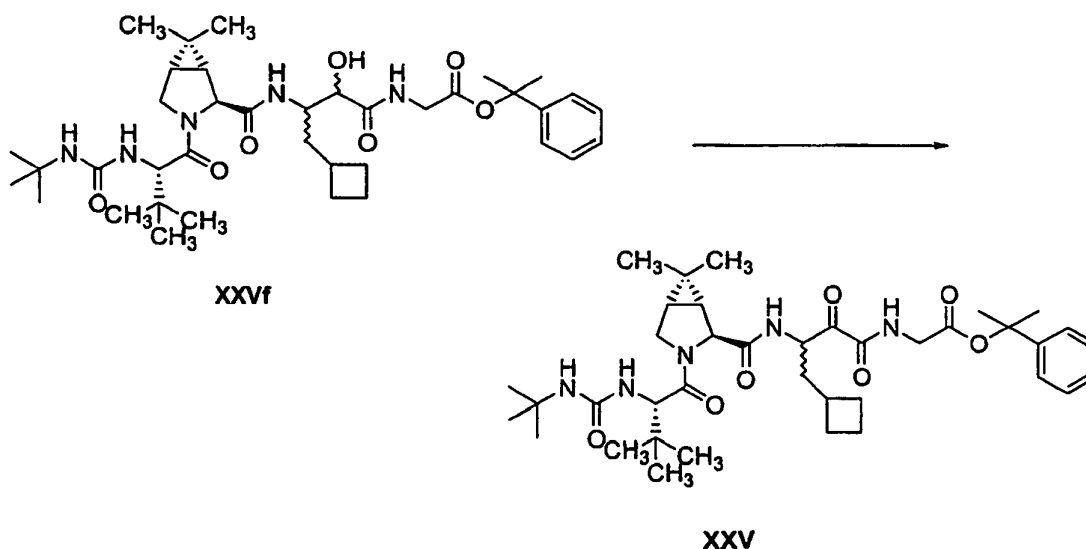


Una disolución del éster de metilo XXIVc (2,5 g, 4,66 mmol) en THF/ H_2O / CH_3OH (1:1:1, 60 ml) se trató con $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (200 mg, 4,87 mmol) y se agitó a t.a. durante 4 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. y se concentró a vacío para obtener el ácido libre.

ES 2 344 890 T3

Una disolución del ácido (200,0 g, 0,38 mmol) en DMF/CH₂Cl₂ (1:1, 6,0 ml) a -10°C se trató con la amina XXVd (78 mg, 0,4 mmol), EDCI (105 g, 0,55 mmol), HOObt (95 mg, 0,55 mmol) y NMM (150 ml, 1,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 48 h y se concentró a vacío. El residuo se diluyó con HCl ac. 1 M (30 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x30 ml). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con NaHCO₃ ac. (2x30 ml), HCl ac., salmuera (30 ml), se secaron (MgSO₄) se filtraron, se concentraron a vacío para obtener el compuesto XXVf (240 mg) en forma de un sólido coloreado.

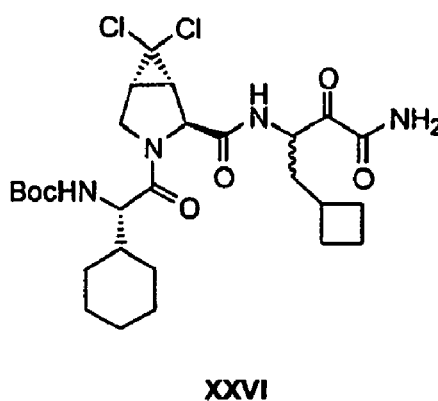
Etapa 5



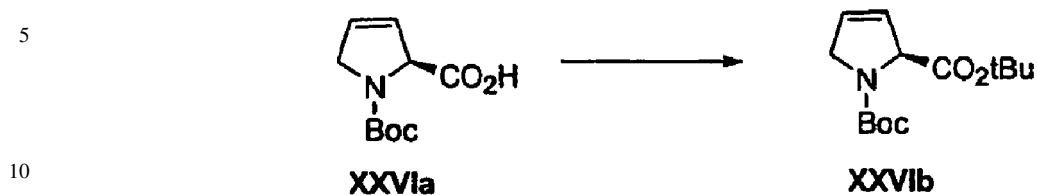
Una disolución del compuesto XXVf (240 mg, 0,28 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se trató con reactivo de Dess-Martin (Omega, 242 mg, 0,56 mmol) y se agitó a t.a. durante 2 h. Después de completarse la oxidación (TLC, acetona/Hex 1:4) la mezcla de reacción se diluyó con disolución saturada de NaHCO₃ (20 ml) y Na₂S₂O₃ (disolución acuosa al 10%, 20 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x30 ml). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron con disolución saturada de NaHCO₃, salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron, se concentraron a vacío y se purificaron por cromatografía (SiO₂, acetona/hexanos 1:5) para dar el compuesto XXV (122 mg) en forma de un sólido incoloro.

Ejemplo XXVI

Preparación de un compuesto de fórmula XXVI

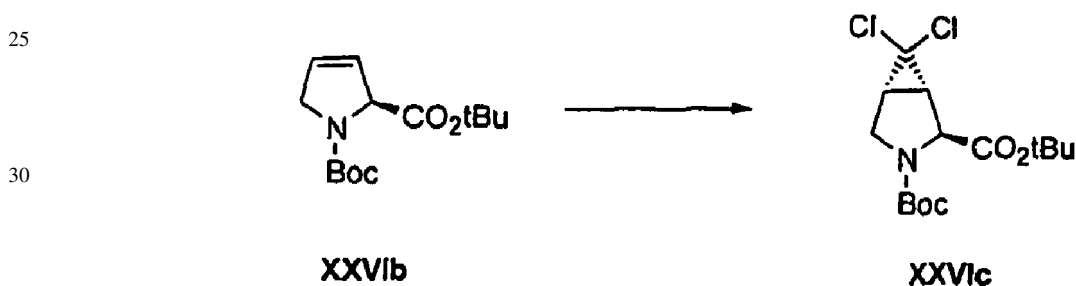


Etapa 1



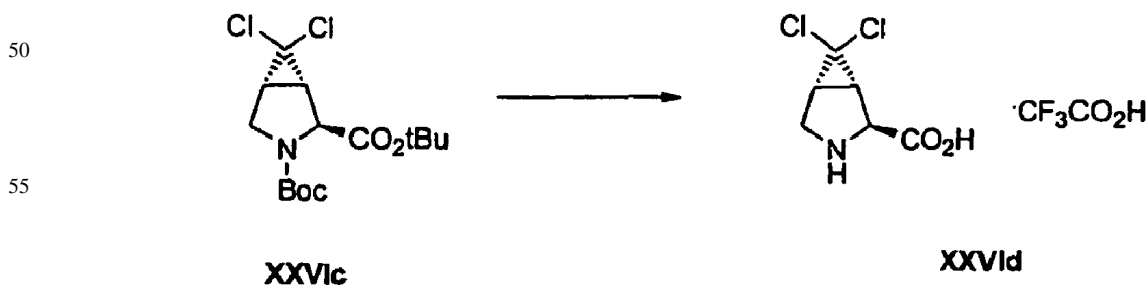
15 A una disolución agitada de *N*-Boc-3,4-deshidroprolina XXVIa (5,0 g, 23,5 mmol), dicarbonato de di-*tert*-butilo (7,5 g, 34,4 mmol) y 4-*N,N* dimetilaminopiridina (0,40 g, 3,33 mmol) en acetonitrilo (100 ml) a temperatura ambiente se añadió trietilamina (5,0 ml, 35,6 mmol). La disolución resultante se agitó a esta temperatura durante 18 h antes de concentrarla a vacío. El residuo marrón oscuro se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida eluyendo con EtOAc/hexano al 10-25% para dar el producto XXVIb en forma de un aceite amarillo pálido (5,29 g, 84%).

20 Etapa 2



35 A una solución agitada de deshidroprolina XXVIb (10,1 g, 37,4 mmol), cloruro benciltriethylamonio (1,60 g, 7,02 mmol) en cloroformo (120 ml) a temperatura ambiente, se añadió hidróxido sódico acuoso al 50% (120 g). Después de agitar enérgicamente a esta temperatura durante 24 h, la mezcla negra se diluyó con CH₂Cl₂ (200 ml) y éter dietílico (600 ml). Después de separar las capas, la disolución acuosa se extrajo con CH₂Cl₂/Et₂O (1:2, 3x600 ml). La disolución orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida usando EtOAc/hexano al 5-20% para proporcionar 9,34 g (71%) del compuesto XXVIc en forma de un sólido blanquecino.

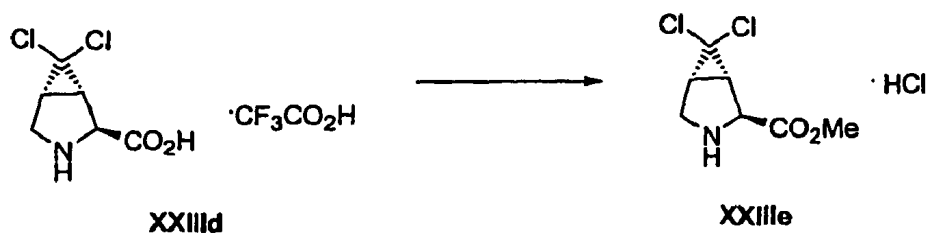
45 Etapa 3



60 La disolución del compuesto XXVIc (9,34 g, 26,5 mmol) en CH₂Cl₂ (25 ml) y CF₃CO₂H (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4,5 h antes de concentrarla a vacío para dar un residuo marrón que se usó en la etapa 4 sin más purificación.

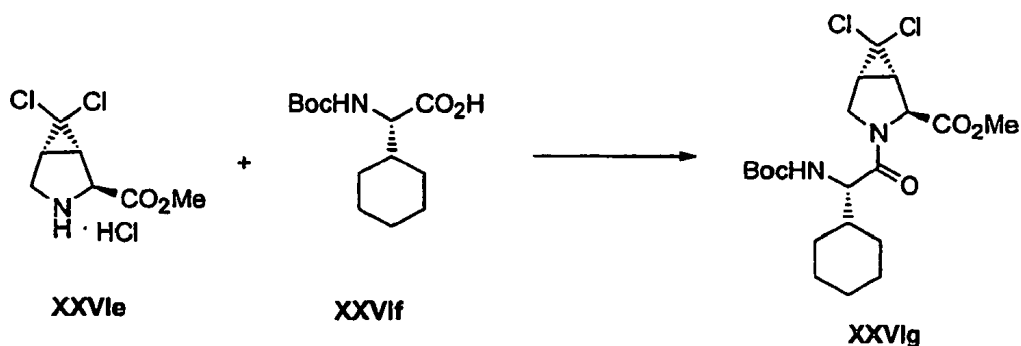
65

Etapa 4



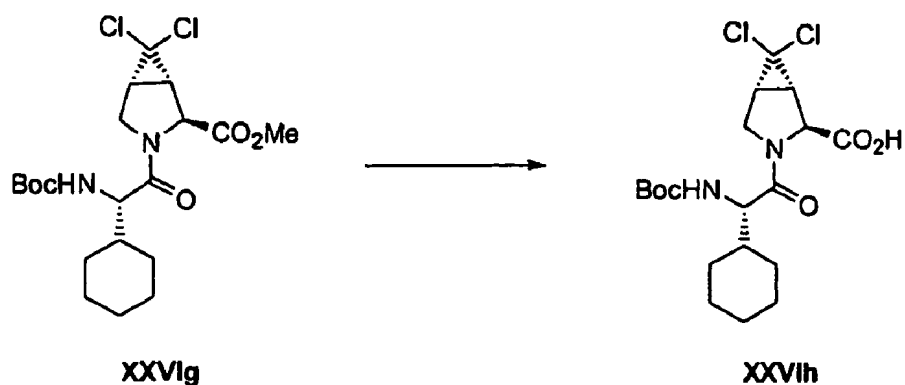
Se añadió ácido clorhídrico concentrado comercial (4,5 ml) a una disolución del residuo de la etapa 3 en metanol (70 ml) y la mezcla resultante se calentó a 65°C en un baño de aceite. Después de 18 h, la mezcla se concentró *a vacío* para dar un aceite marrón XXVIe, que se usó en la etapa 5 sin más purificación.

Etapa 5



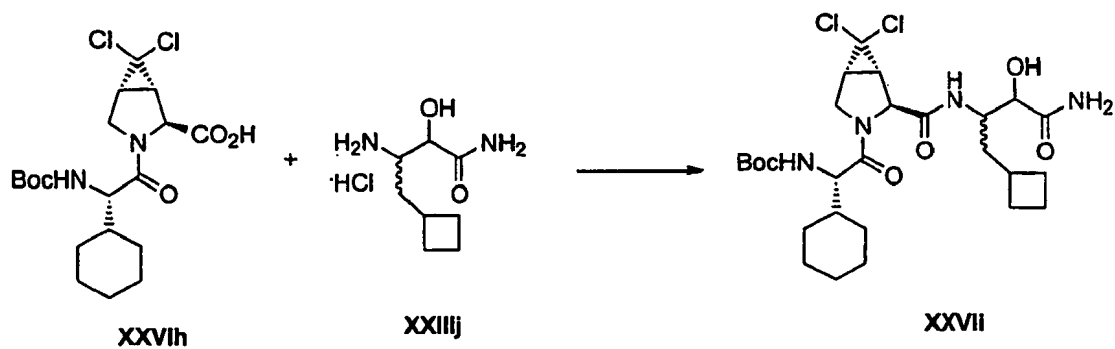
A una disolución agitada del éster de metilo de la prolina XXVIe de la etapa 4, N-Boc-ciclohexilglicina XXVIIf comercial (10,2 g, 40,0 mmol) y [hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio] (HATU) (16,0 g, 42,1 mmol) en DMF (200 ml) a 0°C se añadió diisopropiletilamina (18,0 ml, 104 mmol). Después de dejar calentar a temperatura ambiente con el baño de hielo durante una noche (18 h), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (600 ml), H₃PO₄ al 5% (150 ml) y salmuera (150 ml). La disolución orgánica se lavó con H₃PO₄ al 5% (150 ml) y disolución saturada de NaHCO₃ (2x200 ml) antes de secarla (MgSO₄), filtrarla y concentrarla a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida usando EtOAc/hexano al 5-20% para proporcionar 3,84 g (32%, 3 etapas) del compuesto XXVIg en forma de un sólido blanquecino.

Etapa 6



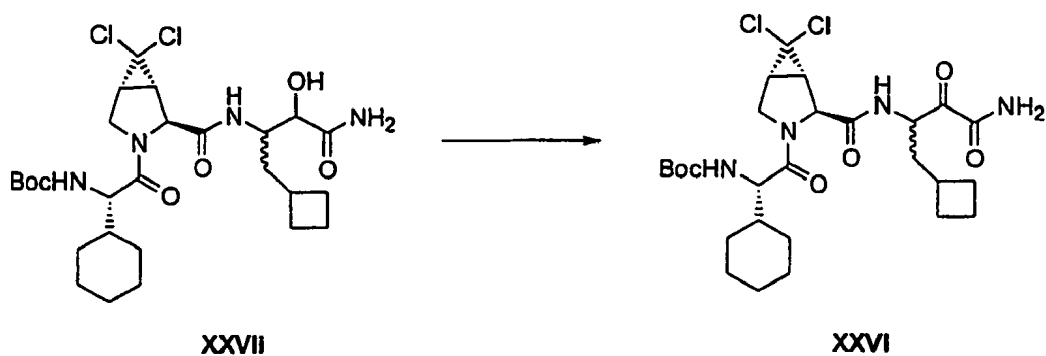
La disolución del éster de metilo XXVIg (5,87 g, 13,1 mmol) y LiOH (1,65 g, 39,3 mmol) en THF/MeOH/H₂O (1:1:1, 90 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se separaron el metanol y THF a presión reducida. La disolución acuosa se acidificó a pH~2 usando disolución acuosa de HCl 1 N (50 ml) y se saturó con cloruro sódico sólido antes de extraerla con EtOAc (3x150 ml). Las disoluciones orgánicas se combinaron, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío para dar un sólido blanco XXVIh (5,8 g, cuantitativo).

Etapa 7



El producto **XXIIIi** deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo **XXIII**, etapa 11.

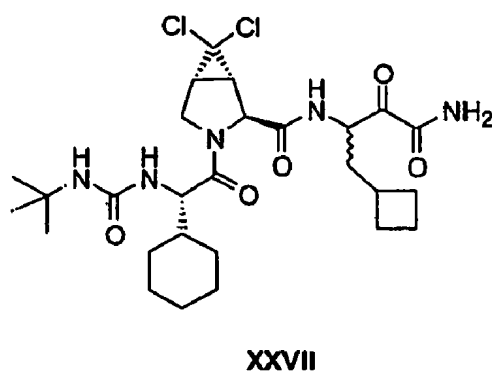
Etapa 8



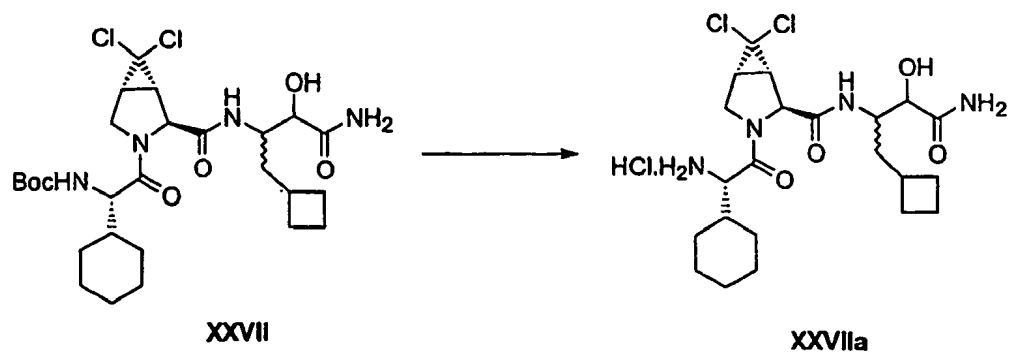
El producto **XXIV** deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo **XXIII**, etapa 12.

Ejemplo **XXVII**

*Preparación del compuesto de fórmula **XXVII***

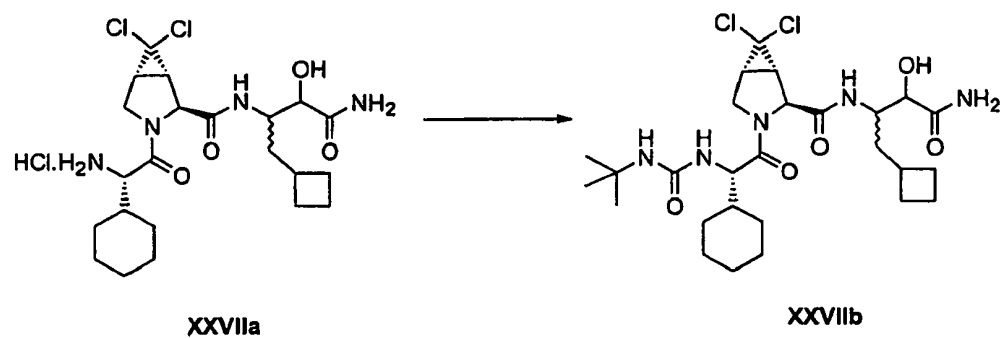


Etapa 1



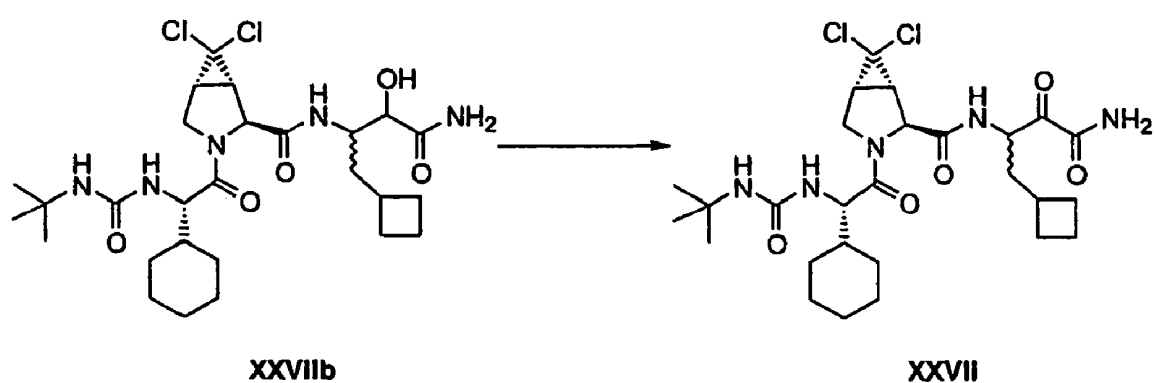
El producto XXVIIa deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIII, etapa 9.

Etapa 2



El producto XXVIIb deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIV, etapa 2.

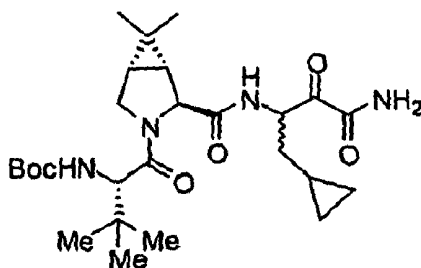
Etapa 3



El producto XXVII deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIII, etapa 12.

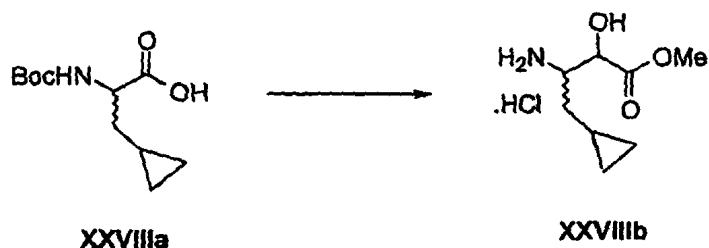
Ejemplo XXVIII

Preparación de un compuesto de fórmula XXVIII



XXVIII

Etapa 1

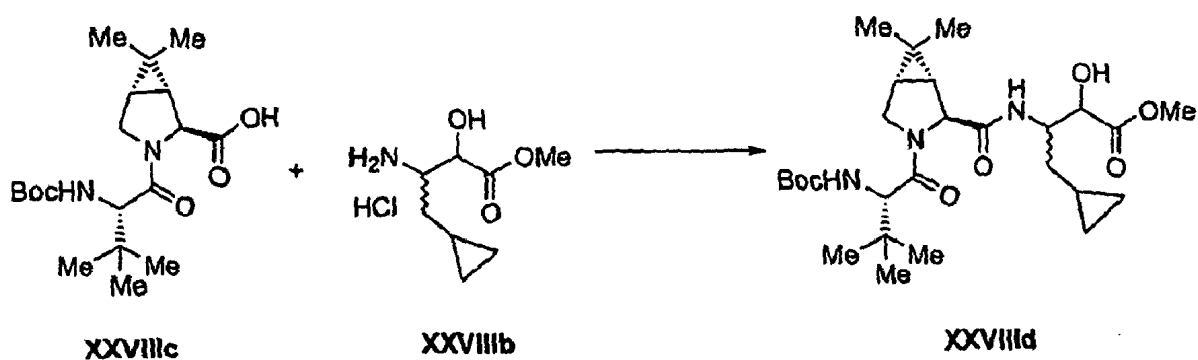


XXVIIIa

XXVIIIb

El producto intermedio XXVIIIb se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIII, etapas 3-6.

Etapa 2



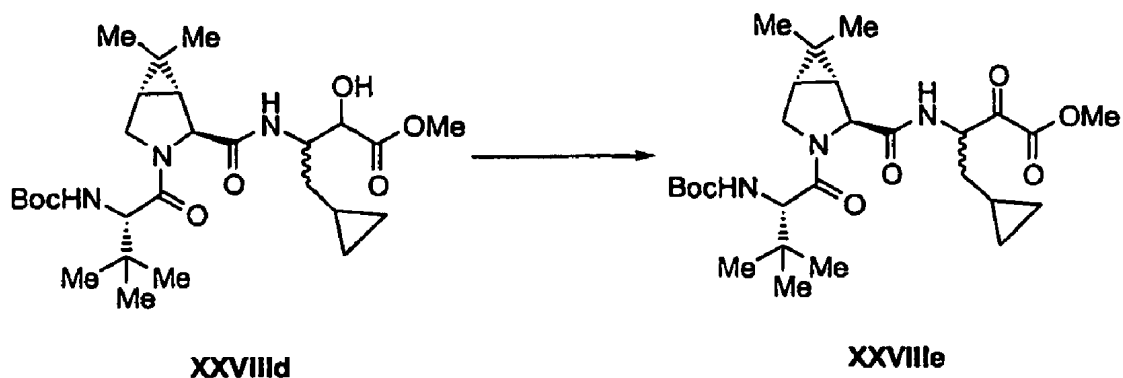
XXVIIIc

XXVIIIb

XXVIIIId

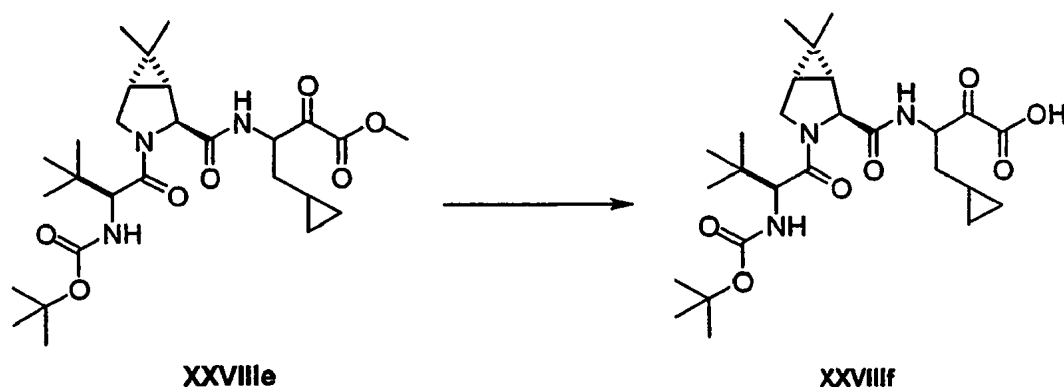
El ácido del ejemplo XXIV, etapa 2 (XXVIIIc) (0,7 g) se hizo reaccionar con el producto de la etapa 1 anterior (0,436 g), HATU (0,934 g) y DIPEA (1,64 ml) de la forma descrita previamente en el ejemplo IX, etapa 2a para proporcionar 0,66 g del producto deseado XXVIIIId.

Etapa 3



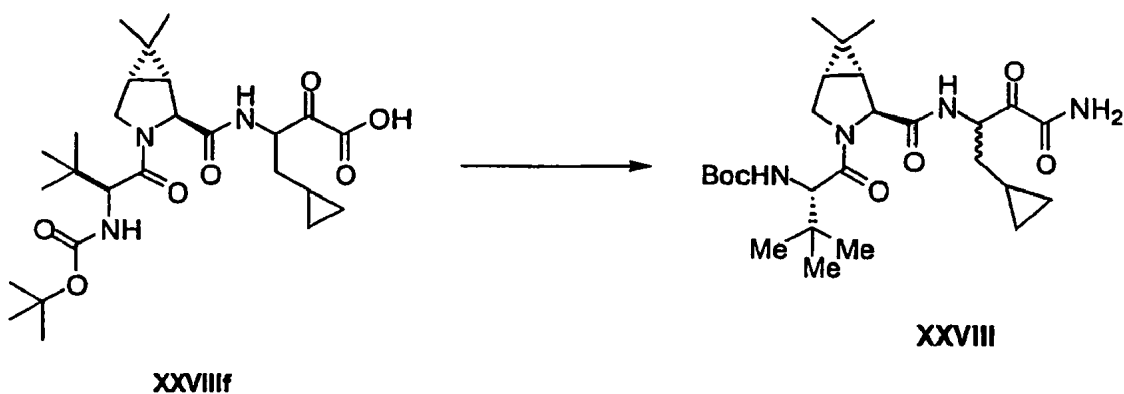
El producto de la etapa 2 (0,5 g) se hizo reaccionar con el reactivo de Dess-Martin (1 g) de la forma descrita previamente en el ejemplo XX, etapa 7. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc, hexano, al 40%, sílice) proporcionó 0,35 g de producto **XXVIIIe**. Espectro de masas (LCMS) 522 ($M+H^+$).

Etapa 4



Al producto de la etapa 4 (0,3 g) se añadió una disolución de $H_2O/MeOH$ 1/1 (20 ml) y $NaHCO_3$ sólido (242 mg, 5 equiv.). Después de agitar durante 18 h a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc y se separaron las capas. La capa acuosa se acidificó a pH 2 con HCl 1,0 N y se extrajo con EtOAc. La capa de EtOAc se lavó con salmuera, después se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar el producto **XXVIIIf** en forma de un polvo blanco (0,26 g). Espectro de masas (LCMS) 508 ($M+H^+$).

Etapa 5

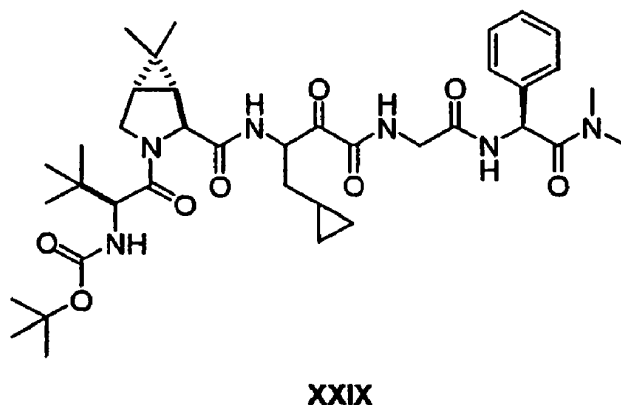


ES 2 344 890 T3

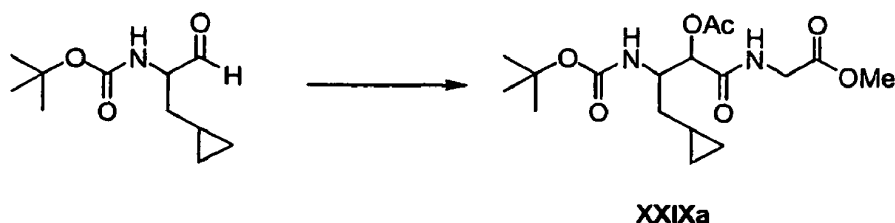
El producto de la etapa 5 (0,15 g) se disolvió en CH_2Cl_2 y se hizo reaccionar con HATU (0,137 g), NH_4Cl (0,08 g, 5 equiv.) y DIPEA (0,53 ml). Después de 2 horas a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con una disolución de ácido cítrico al 10%, después una disolución saturada de NaHCO_3 . La capa de EtOAc se lavó con salmuera, después se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a vacío para proporcionar una mezcla bruta. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetona, hexano, al 30%, sílice) proporcionó el producto deseado XXVIII (0,096 g). Espectro de masas (LCMS) 507 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ejemplo XXIX

Preparación de un compuesto de fórmula XXIX

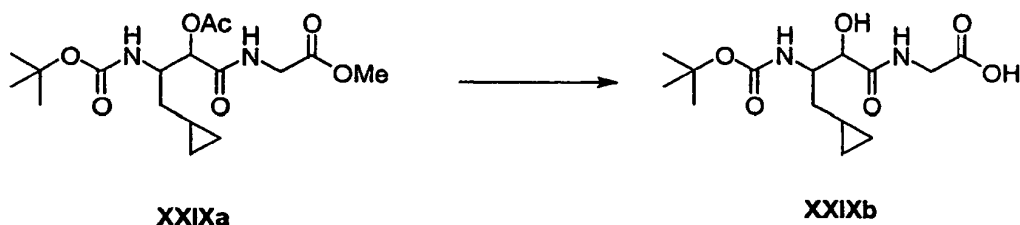


Etapas 1



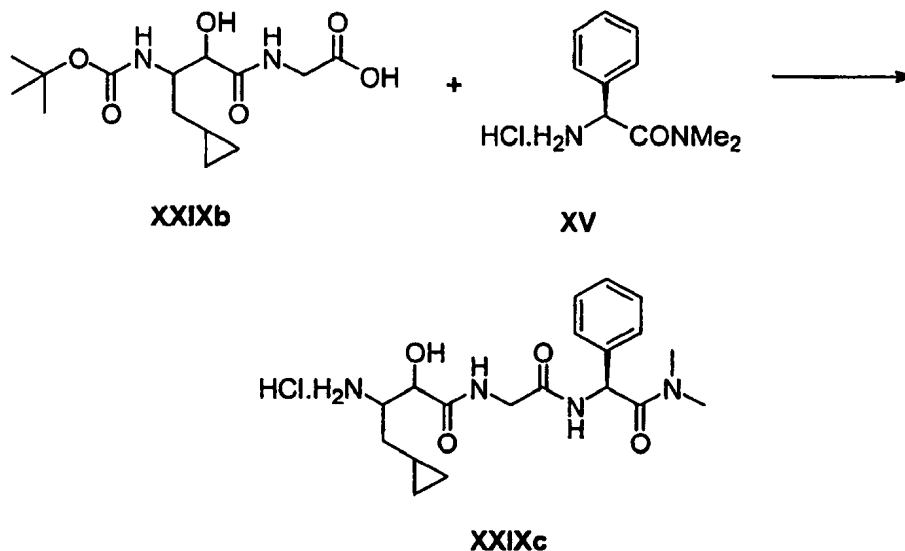
A una disolución a 0°C del aldehído de partida (4,0 g) en CH₂Cl₂ (75 ml) se añadió ácido acético (2,0 equiv., 2,15 ml) seguido de isocianoacetato de metilo (1,1 equiv., 1,9 ml). Después la reacción se calentó gradualmente a temperatura ambiente. Después de 18 horas (durante una noche), la reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃. La capa de EtOAc se lavó con salmuera, después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar una mezcla bruta. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc, hexano, de 30% a 40%, sílice) proporcionó el producto XXIXa (4,5 g).

Etapa 2



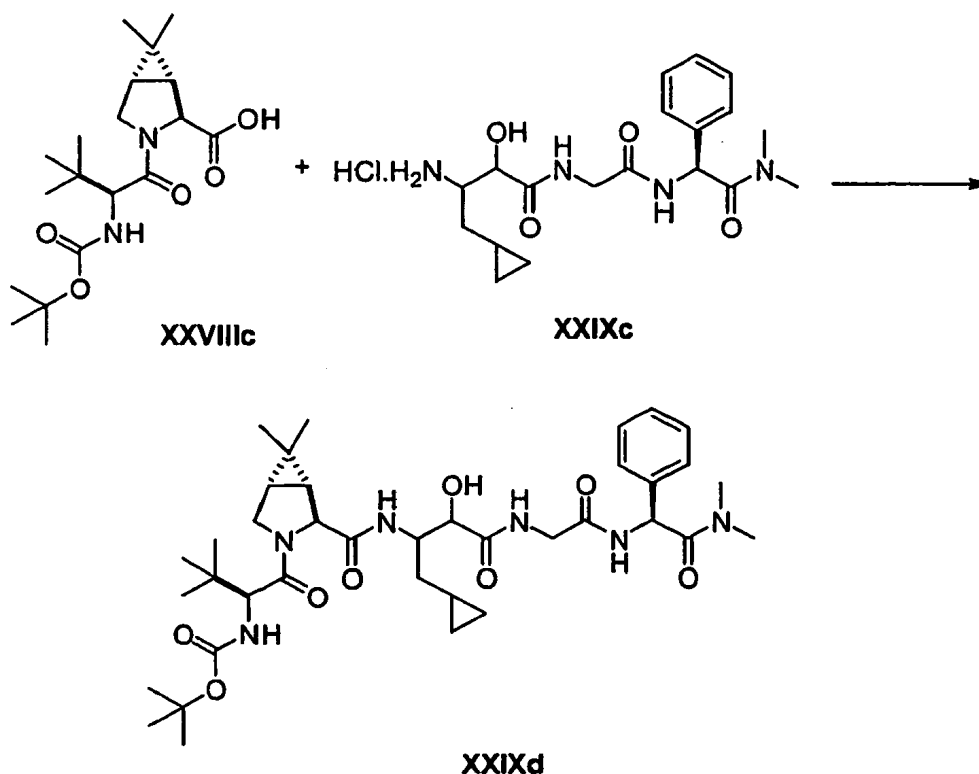
A una disolución a 0°C del compuesto XXIXa (4,4 g) en THF (100 ml) se añadieron 26 ml (2,2 equiv.) de una disolución de LiOH 1,0 N. La reacción se agitó a esta temperatura durante 2 horas y después se calentó a temperatura ambiente. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se acidificó a pH 2 con una disolución de HCl 1,0 N. Se añadió EtOAc y se separaron las capas. La capa de EtOAc se lavó con salmuera, después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionalar el producto XXIXb (3,7 g).

Etapa 3



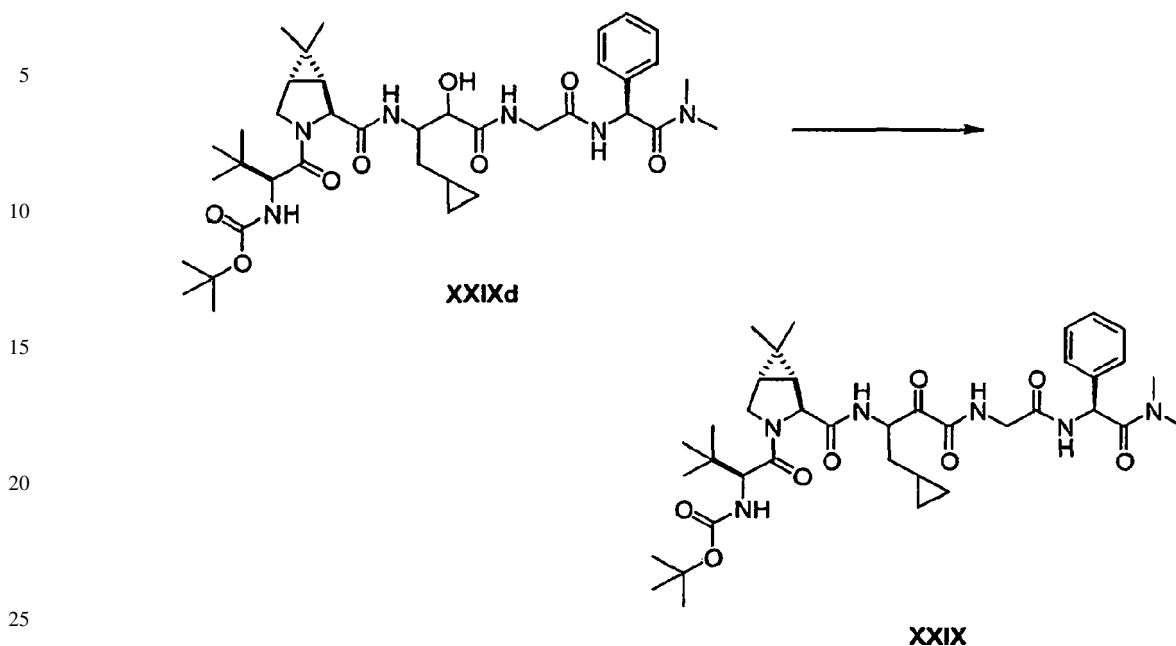
El ácido **XXIXb** se hizo reaccionar con la amina del ejemplo **XV** de la misma forma descrita previamente en el ejemplo **XXI**, etapa 4. El producto intermedio resultante después se trató con HCl de la misma forma descrita previamente en el ejemplo **XXIII**, etapa 9, para proporcionar el producto **XXIXc**.

Etapa 4



El ácido **XXVIIIc** (2,43 g) se disolvió en CH_2Cl_2 y se hizo reaccionar con la amina **XXIXc** (2,47 g), HATU (2,5 g) y DIPEA (5,8 ml) de la forma descrita previamente en el ejemplo **IX**, etapa 2a para proporcionar, después de purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (MeOH , CH_2Cl_2 , al 4%, sílice), el producto deseado **XXIXd** (4,35 g). Espectro de masas (LCMS) 727 ($\text{M}+\text{H}^+$).

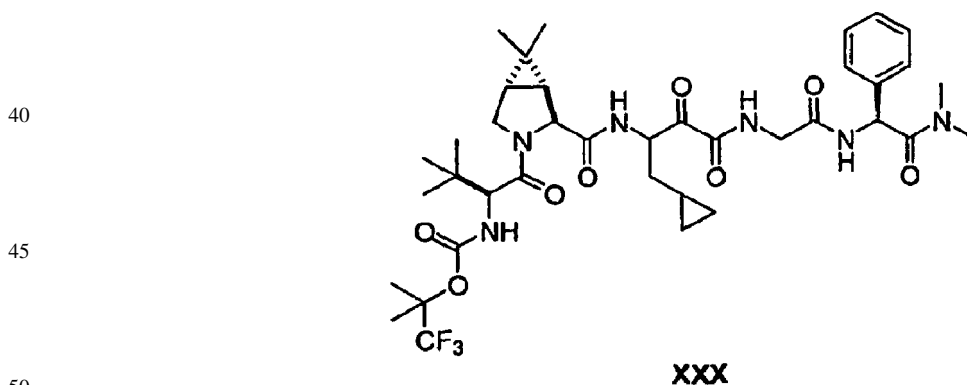
Etapa 5



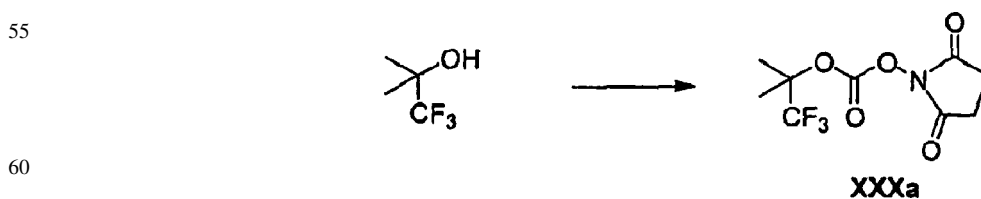
El producto de la etapa 4 (4,2 g) se hizo reaccionar con el reactivo de Dess-Martin (6,4 g) de la forma descrita previamente en el ejemplo preparativo XX, etapa 7. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 100%, sílice) proporcionó 3 g del producto final XXIX. Espectro de masas (LCMS) 725 (M+H⁺).

Ejemplo XXX

Preparación de un compuesto de fórmula XXX

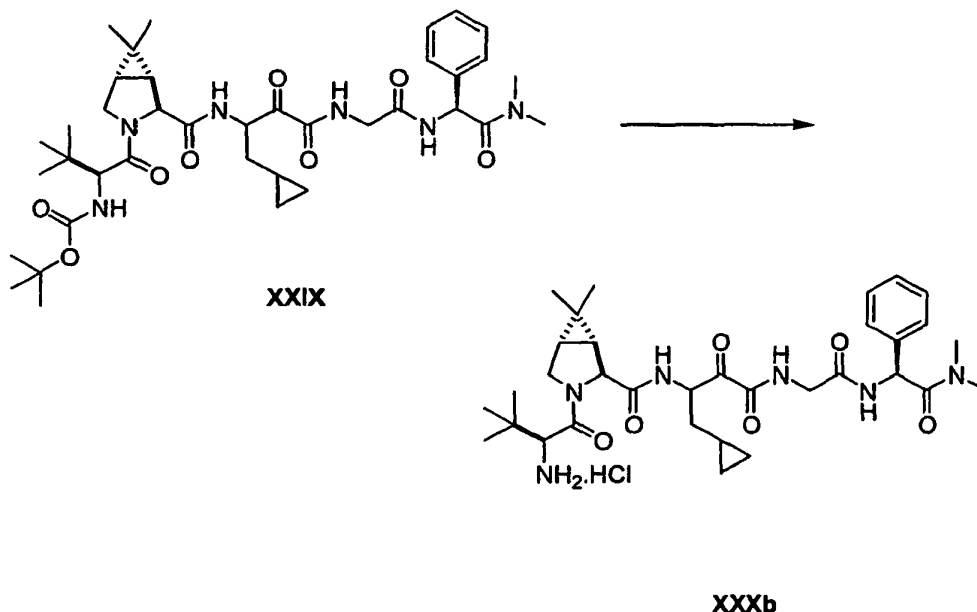


Etapa 1



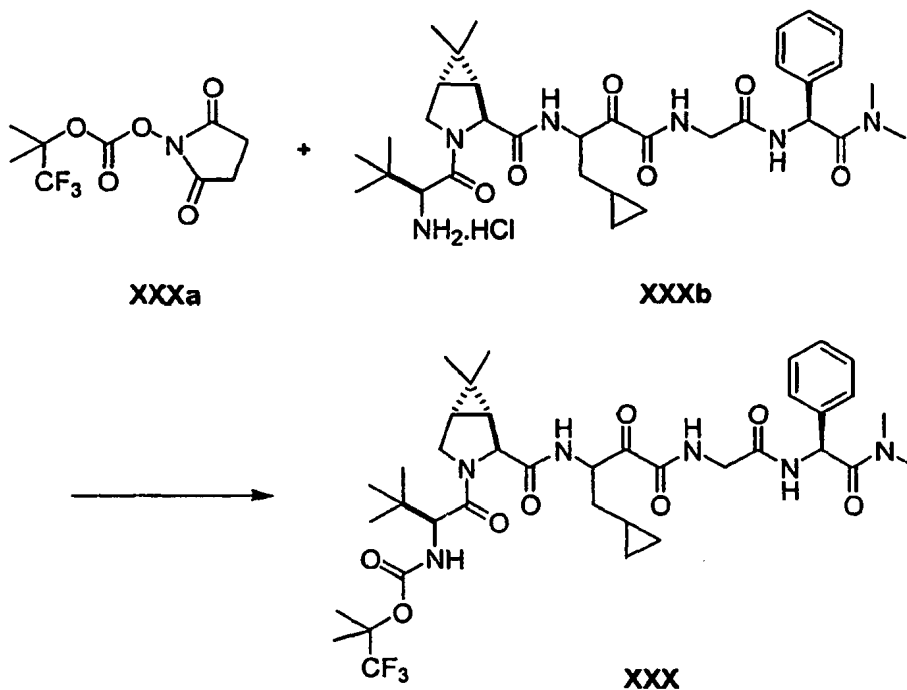
El alcohol 2-(trifluorometil)propan-2-ol (1,28 g) se hizo reaccionar con carbonato de N,N-disucciminidilo (3,84 g) y Et₃N (4,2 ml) en CH₃CN seco (50 ml) durante 18 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc (200 ml) y se filtró. El filtrado se lavó con NaHCO₃, salmuera, después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar una mezcla bruta. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetona, hexano, al 50%, sílice) proporcionó el producto deseado XXXa (0,3 g).

Etapa 2



El producto del ejemplo XXIX (0,3 g) se trató con 100 ml de HCl 4,0 N en dioxano. Después de 1 h, se añadieron 200 ml de Et₂O y el precipitado resultante se separó por filtración y se secó a vacío para proporcionar el producto XXXb (0,27 g) en forma de un polvo blanco. Espectro de masas (LCMS) 625 (M - HCl + H⁺).

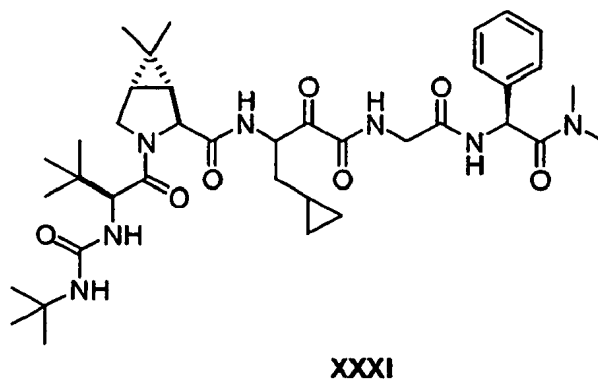
Etapa 3



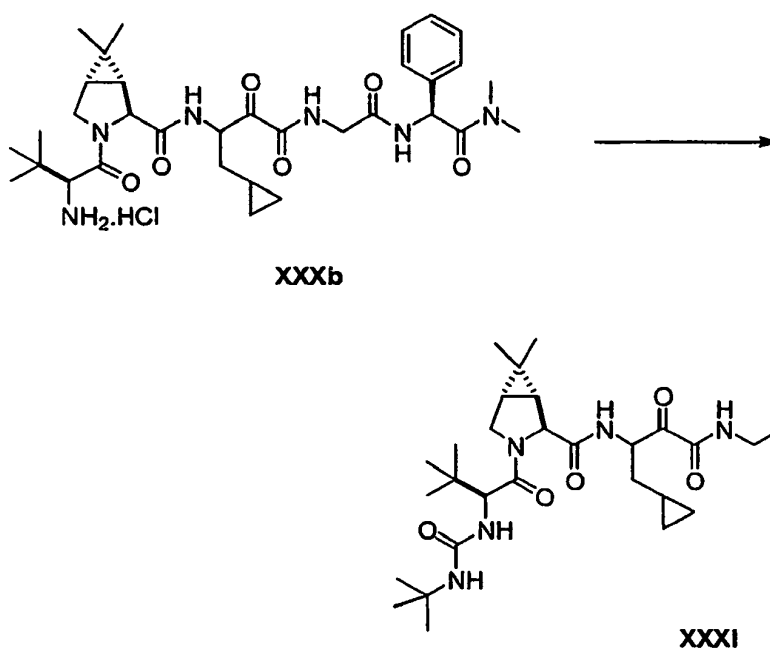
A una disolución a temperatura ambiente del compuesto XXXb (0,05 g) en CH₂Cl₂ (5 ml) se añadió DIPEA (0,040 ml), compuesto XXXa (1,5 equiv., 0,030 g), seguido de 1 cristal de DMAP. Después de 30 minutos, la reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con HCl 1,5 N, después NaHCO₃ y después salmuera. La capa de EtOAc se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar una mezcla bruta. La purificación por cromatografía preparativa (acetona, hexano, al 40%, sílice) proporcionó el producto deseado XXX (0,044 g). Espectro de masas (LCMS) 779 (M+H⁺).

Ejemplo XXXI

Preparación de un compuesto de fórmula XXXI



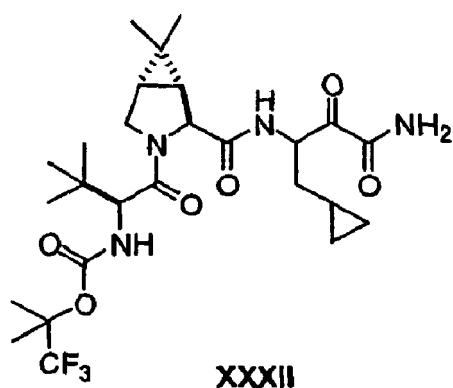
Etapa 1



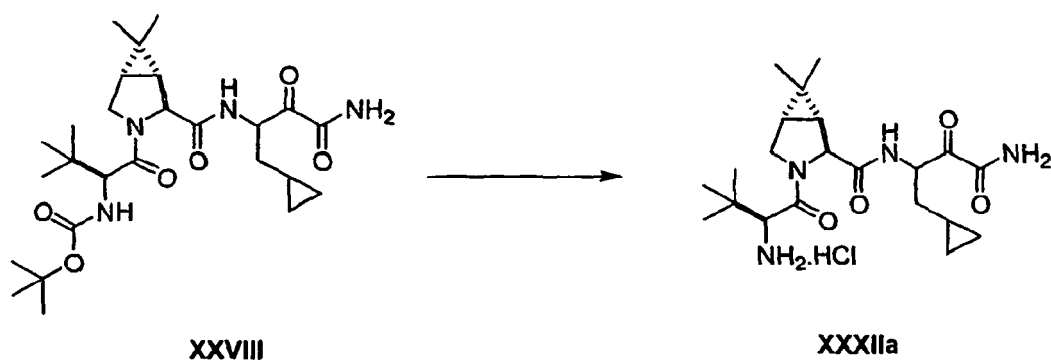
A una disolución del compuesto XXXb (0,05 g) en CH_2Cl_2 (5 ml) a temperatura ambiente se añadió DIPEA (0,040 ml) e isocianato de terc-butilo (1,2 equiv., 0,01 ml). Después de 18 h, la reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con HCl 1,5 N, NaHCO_3 y salmuera. La capa de EtOAc se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a vacío para proporcionar una mezcla bruta. La purificación por cromatografía preparativa (EtOAc al 100%, sílice) proporcionó el producto final XXXI (0,021 g). Espectro de masas (LCMS) 724 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ejemplo XXXII

Preparación de un compuesto de fórmula XXXII

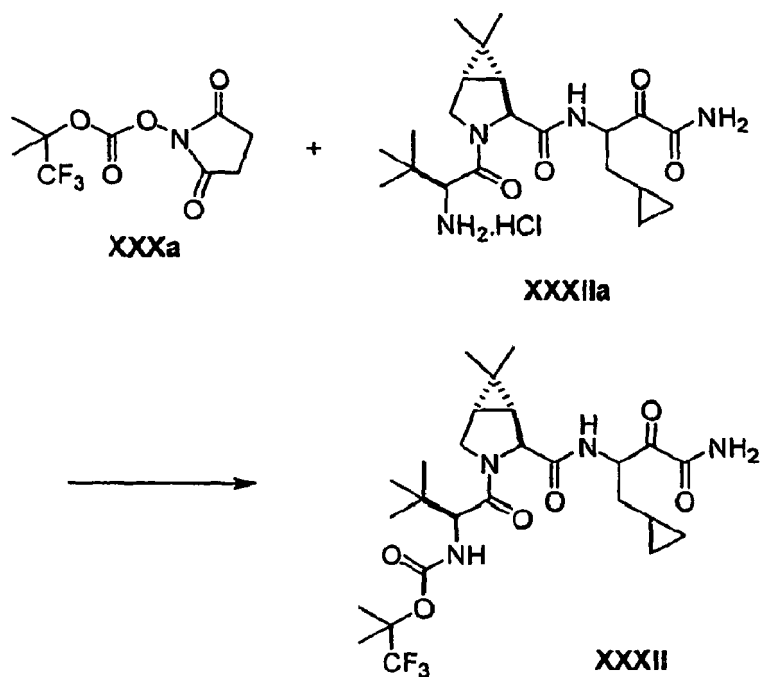


Etapa 1



El producto del ejemplo XXVIII se trató de la forma descrita previamente en el ejemplo preparativo XXX, etapa 2 para proporcionar el producto XXXIIa. Espectro de masas (LCMS) 407 ($M - HCl + H^+$).

Etapa 2

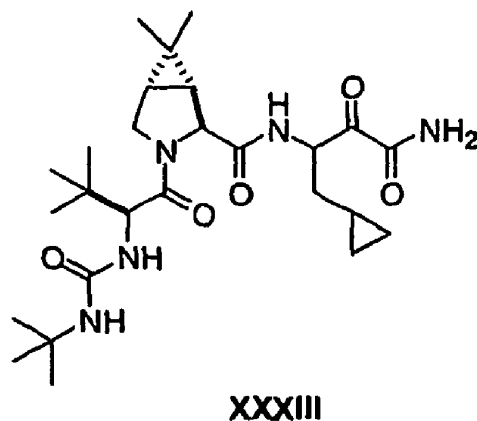


ES 2 344 890 T3

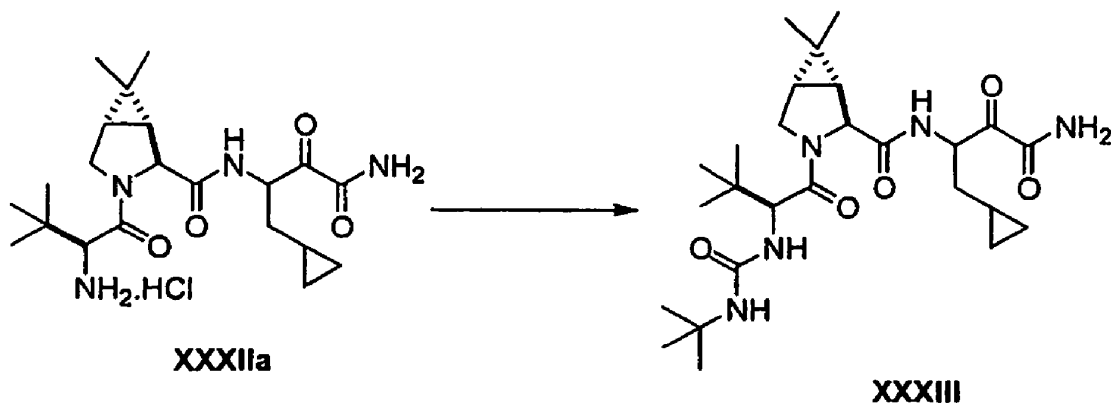
La amina XXXIIa se hizo reaccionar con el compuesto XXXa de la forma descrita previamente en el ejemplo preparativo XXX, etapa 3, para proporcionar el producto XXXII deseado. Espectro de masas (LCMS) 508 ($M+H^+$).

5 Ejemplo XXXIII

Preparación de un compuesto de fórmula XXXIII



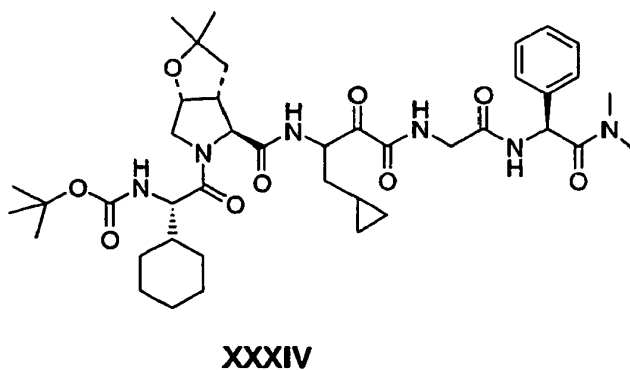
Etapa 1



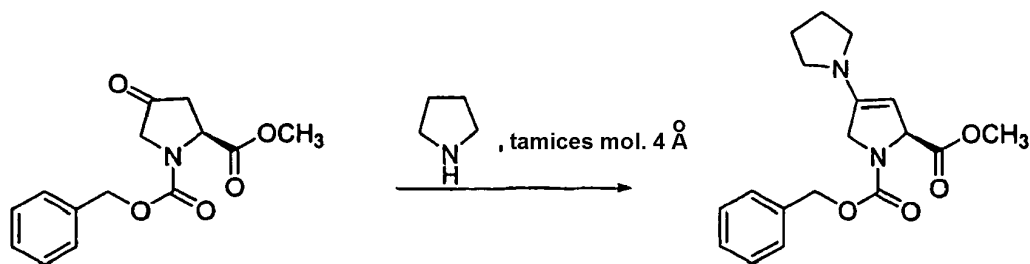
La amina XXXIIa se hizo reaccionar con isocianato de terc-butilo de la forma descrita previamente en el ejemplo XXXI, etapa 1, para proporcionar el producto XXXIII. Espectro de masas (LCMS) 561 ($M+H^+$).

Ejemplo XXXIV

Preparación de un compuesto de fórmula XXXIV

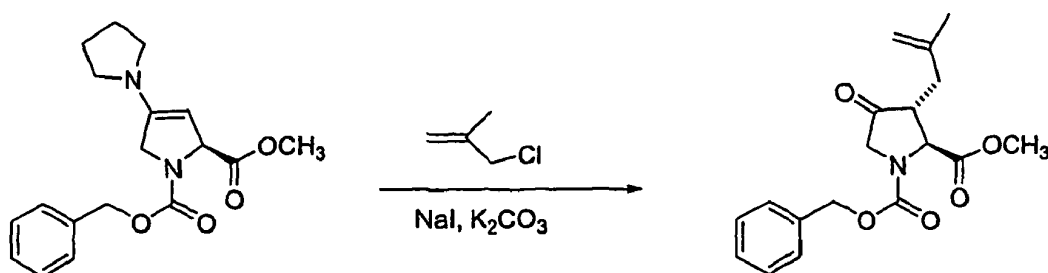


Etapa 1



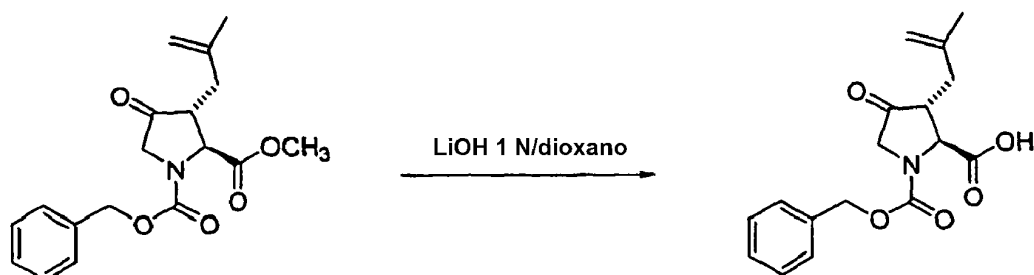
15 A la mezcla del éster (6,0 g) y tamices moleculares (5,2 g) en cloruro de metileno anhidro (35 ml) se añadió pirrolidina (5,7 ml, 66,36 mmol). La suspensión marrón resultante se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 durante 24 h, se filtró y se lavó con CH_3CN anhidro. Los filtrados combinados se concentraron para dar el producto deseado.

Etapa 2



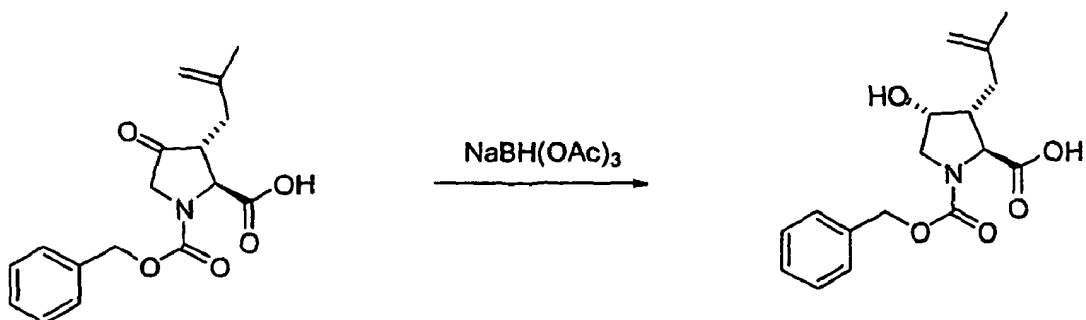
40 A una disolución del producto de la etapa precedente en CH_3CN (35 ml) se añadió K_2CO_3 anhidro, cloruro de metalilo (2,77 g, 30,5 mmol), NaI (1,07 g, 6,7 mmol). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 durante 24 h. Se añadieron 50 ml de agua enfriada con hielo seguido de disolución de $KHSO_4$ 2 N hasta que el pH era 1. Se añadió EtOAc (100 ml) y la mezcla se agitó durante 0,75 h. Se recogieron las capas orgánicas combinadas y se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, y se evaporaron para dar el producto deseado.

Etapa 3



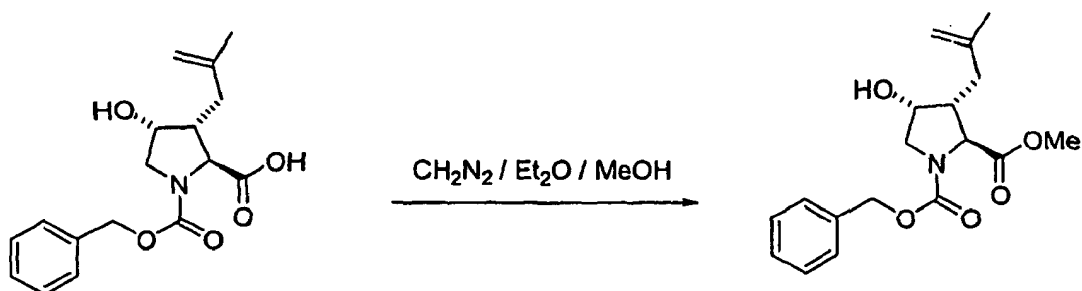
60 El producto de la etapa precedente (2,7 g, 8,16 mmol) se disolvió en dioxano (20 ml) y se trató con LiOH 1 N recién preparado (9 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 durante 20 h. La mezcla de reacción se recogió en EtOAc y se lavó con H_2O . Las fases acuosas combinadas se enfriaron a $0^\circ C$ y se acidificaron a pH 1,65 usando HCl 1 N. La mezcla turbia se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se concentraron para dar el ácido deseado (3,40 g).

Etapa 4



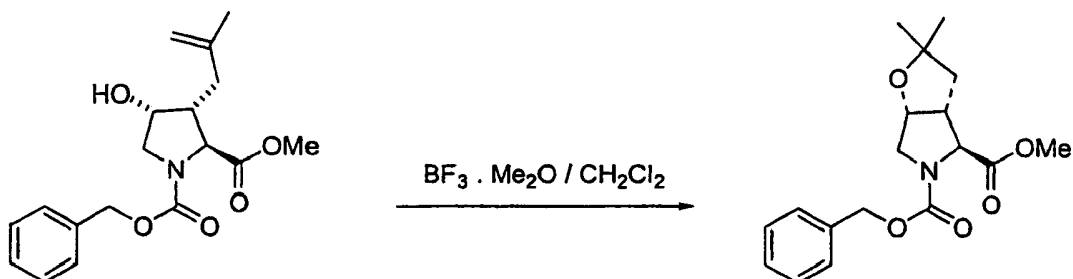
20 A una suspensión de NaBH(OAc)_3 (3,93 g, 18,5 mmol) en CH_2Cl_2 (55 ml) se añadió una disolución del producto de la etapa precedente en CH_2Cl_2 anhidro (20 ml) y ácido acético (2 ml). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Se añadió agua enfriada con hielo (100 ml) a la suspensión y se agitó durante 1/2 h. Se separó la capa orgánica, se filtró, se secó y se evaporó para dar el producto deseado.

Etapa 5



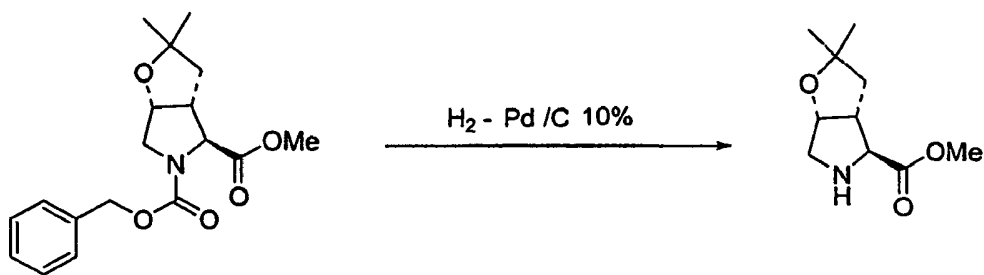
40 Una disolución del producto de la etapa precedente (1,9 g) en MeOH (40 ml) se trató con exceso de disolución de $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{Et}_2\text{O}$ y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad para dar un residuo bruto. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexano para proporcionar 1,07 g del producto puro deseado.

Etapa 6



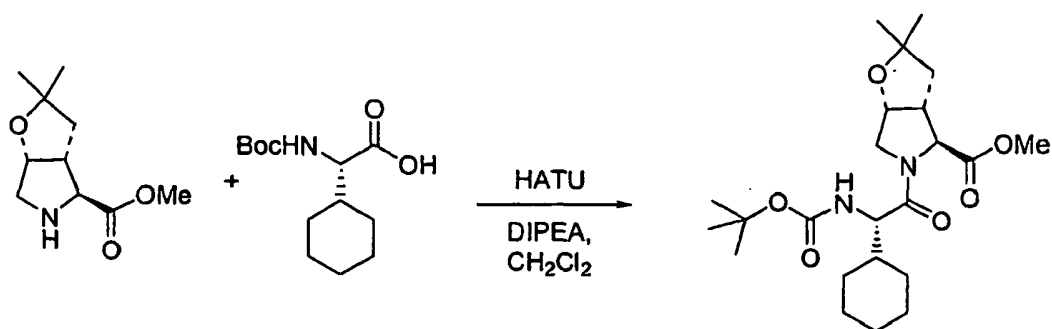
65 Una disolución del producto de la etapa precedente (1,36 g) en CH_2Cl_2 anhidro (40 ml) se trató con $\text{BF}_3 \cdot \text{Me}_2\text{O}$ (0,7 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h y se inactivó con disolución saturada de NaHCO_3 (30 ml) y se agitó durante 1/2 h. La capa orgánica se separó y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , y se concentraron para dar el residuo bruto. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de EtOAc/hexano para proporcionar 0,88 g del compuesto deseado.

Etapa 7



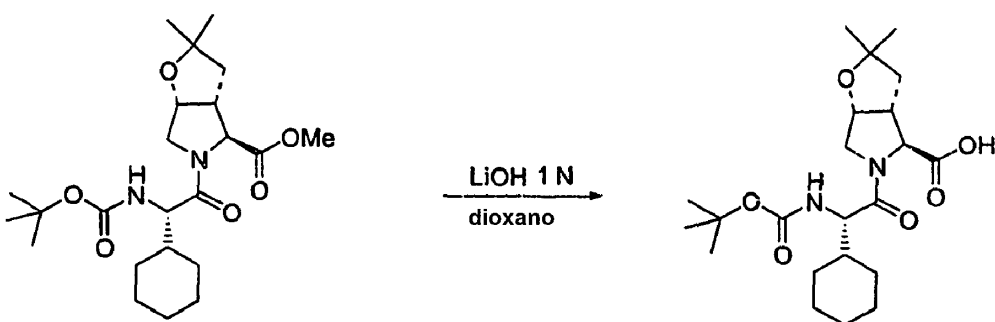
A una disolución del producto (0,92 g) de la etapa precedente en MeOH (30 ml) se añadió Pd/C al 10% (0,16 g) a temperatura ambiente y se hidrógeno a temperatura ambiente a 1 atm de presión. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h y se concentró hasta sequedad para dar el compuesto deseado.

Etapa 8



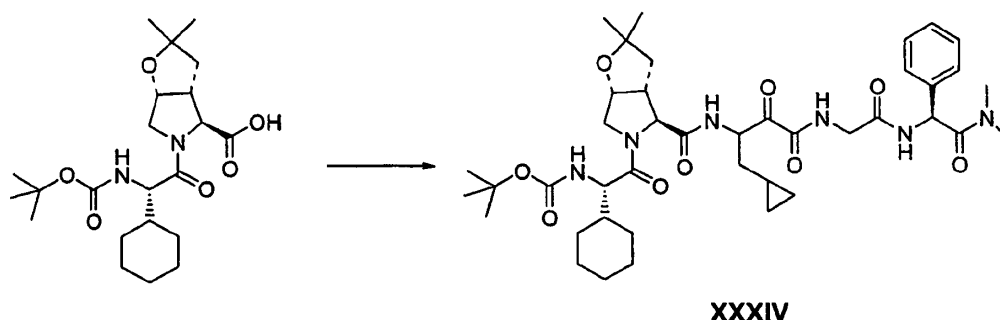
El producto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIII, etapa 10.

Etapa 9



El producto ácido deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIV, etapa 3.

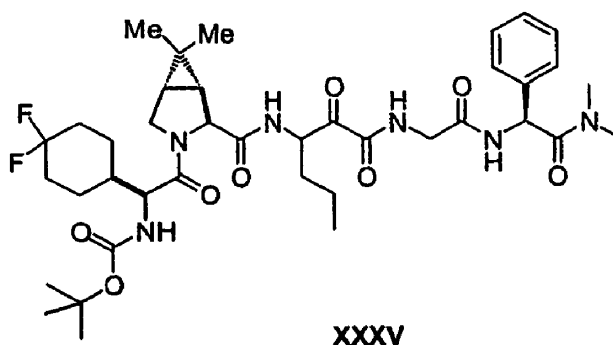
Etapa 10



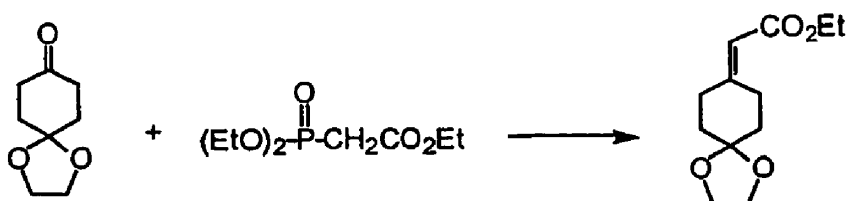
El producto deseado XXXIV se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIX, etapas 4-5.

Ejemplo XXXV

Preparación de un compuesto de fórmula XXXV

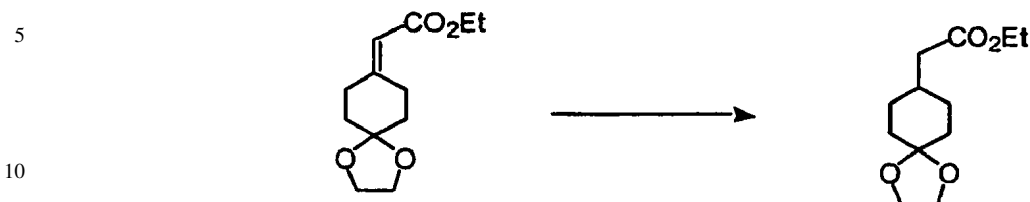


Etapa 1



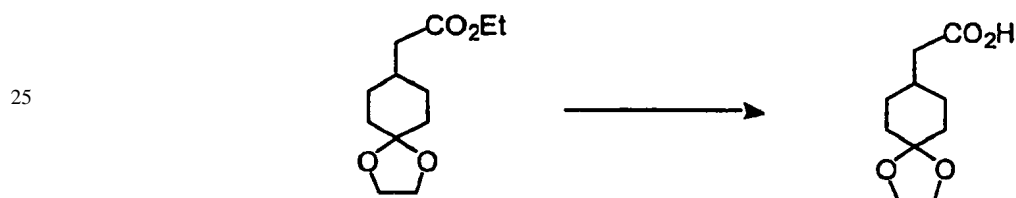
Una disolución de fosfonato de trietilo (44,8 g) en THF (30 ml) a 0°C se trató con una disolución 1 M (200 ml) de bis(trimetilsililamida) sódica en THF. La mezcla resultante se agitó a t.a. durante 0,5 h, y después se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota una disolución de etilenacetal de la 1,4-ciclohexanodiona (15,6 g) en THF (50 ml), y la disolución se agitó a t.a. durante 18 h. Después, la mezcla de reacción enfrió a 0°C, se trató con ácido cítrico acuoso frío, y la mezcla se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con disolución acuosa saturada de NaHCO₃, y después salmuera; y después se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de CH₂Cl₂/EtOAc para proporcionar el compuesto del título (21 g), 92% de rendimiento. Espectro de masas (FAB) 227,3 (M+H⁺).

Etapa 2



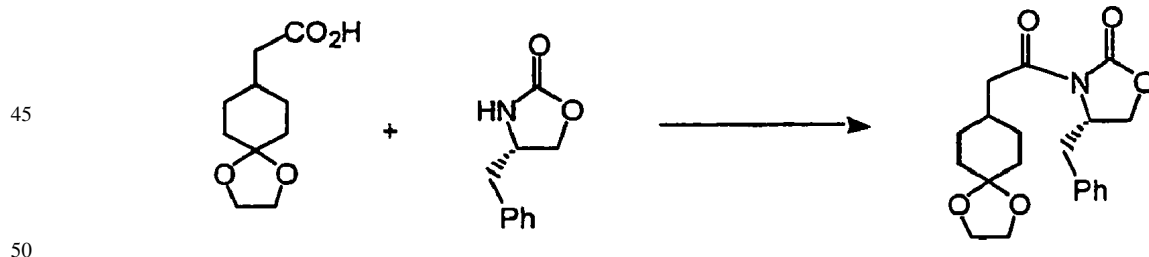
15 El producto de la etapa precedente (20 g) se disolvió en EtOH (150 ml) y se trató con Pd/C al 10% a 1 atm de hidrógeno durante 3 días. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (20,3 g), 100% de rendimiento. Espectro de masas (FAB) 229,2 (M+H⁺).

Etapa 3



35 El producto de la etapa precedente (20 g) se disolvió en MeOH (150 ml) y se trató con una disolución de LiOH (3,6 g) en agua (50 ml). La mezcla se agitó durante 18 horas y se concentró a vacío. El residuo se disolvió en agua fría (100 ml), la disolución se acidificó a pH 2-3 con HCl 5 N, y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. El extracto se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (17,1 g), 97% de rendimiento. Espectro de masas (FAB) 201,2 (M+H⁺).

Etapa 4



55 1. El producto de la etapa precedente (3,0 g) se disolvió en Et₂O (150 ml), se trató con Et₃N (2,1 ml), y la disolución enfrió a -78°C. Se añadió gota a gota cloruro de pivaloilo (1,85 ml) y después de 0,25 h adicionales agitando, la disolución se calentó a 0°C a lo largo de 0,75 h y después se enfrió otra vez a -78°C para proporcionar una disolución del anhídrido mixto para la reacción de la parte 2.

60 2. Una disolución de (S)-4-bencil-2-oxazolidinona (2,66 g) en THF (22 ml) se enfrió a -78°C, y se añadió gota a gota una disolución 1,6 M (9,38 ml) de n-butil-litio en hexano. Después de 0,33 h adicionales de agitación a esta temperatura, la disolución se transfirió mediante una cánula a la disolución fría de la parte 1. La mezcla se agitó a -78°C, después se calentó a 0°C y se agitó a esta temperatura durante 0,5 h. La capa orgánica se separó, la capa acuosa se extrajo con Et₂O, los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el filtrado se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de hexano/EtOAc (9:1) para proporcionar el compuesto del título (5,0 g), 93% de rendimiento. Espectro de masas (FAB) 360,4 (M+H⁺).

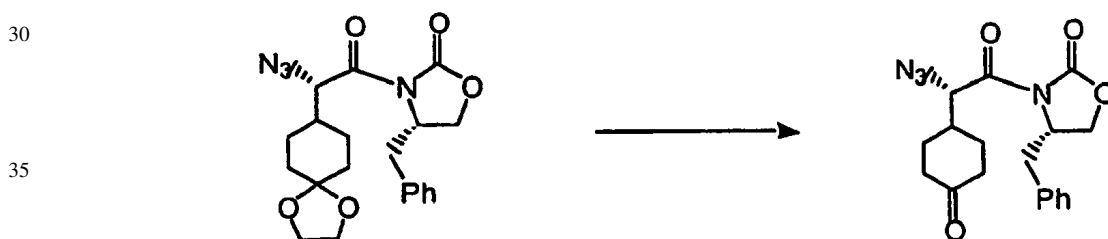
65

Etapa 5



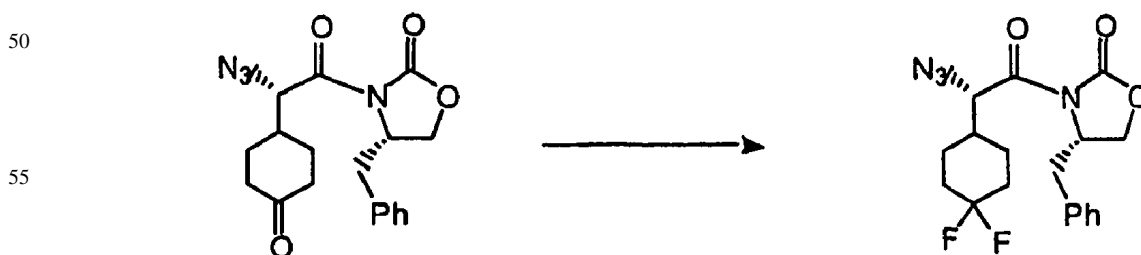
15 El producto de la etapa precedente (2,7 g) se disolvió en THF (25 ml), se enfrió a -78°C , se transfirió mediante una cánula a una disolución de bis(trimetilsilil)amiduro de potasio/tolueno 0,5 M (16,5 ml) en THF (25 ml) a -78°C , y la disolución resultante se agitó a -78°C durante 0,75 h. A esta disolución se añadió mediante una cánula una disolución de trisilil-azida (3,01 g) en THF (25 ml) previamente enfriada a -78°C . Después de 1,5 minutos, la reacción se inactivó con ácido acético (1,99 ml), la reacción se calentó a t.a., y después se agitó durante 16 horas. La reacción se diluyó con EtOAc (300 ml), y se lavó con NaCl acuoso al 5%. La fase acuosa se extrajo con EtOAc, las fases orgánicas combinadas se lavaron con disolución acuosa saturada de NaHCO_3 y después salmuera; y después se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con EtOAc/hexano (1:3) para proporcionar el compuesto del título (2,65 g), 88% de rendimiento.

Etapa 6



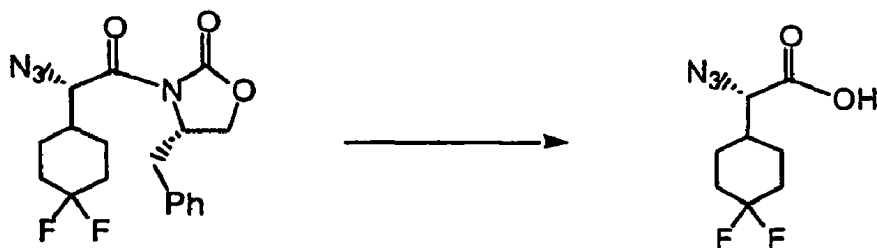
40 El producto de la etapa precedente (11,4 g) se disolvió en ácido fórmico al 95% (70 ml) y se calentó a 70°C durante 0,5 h mientras se agitaba. La disolución se evaporó a vacío y el residuo se recogió en EtOAc. La disolución se lavó con disolución acuosa saturada de NaHCO_3 , y después salmuera; después se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice para proporcionar el compuesto del título (8,2 g).

Etapa 7



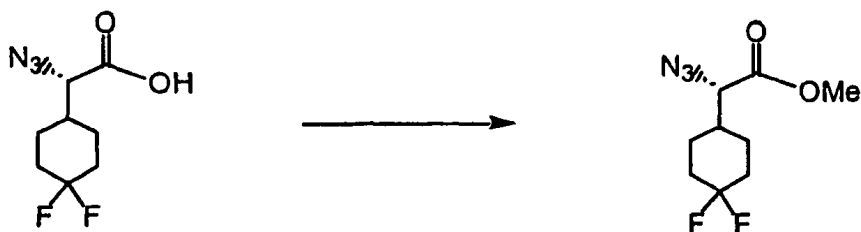
60 El producto de la etapa precedente (8,2 g) se disolvió en CH_2Cl_2 (16 ml) y se trató con trifluoruro de dietilaminoazufre (DAST, 7,00 ml) a t.a. durante 3 h. La reacción se vertió sobre hielo/agua (200 cc) y se extrajo con CH_2Cl_2 . El extracto se lavó con disolución acuosa saturada de NaHCO_3 , y después salmuera; y después se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con EtOAc/hexano (15:85) para proporcionar el compuesto del título (4,5 g), 52% de rendimiento.

Etapa 8



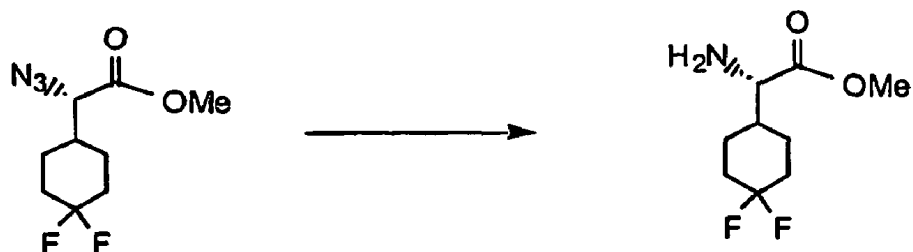
El producto de la etapa precedente (3,7 g) se disolvió en una mezcla de THF (150 ml) y agua (48 ml), se enfrió a 0°C, se trató con H₂O₂ al 30% (3,95 ml) y después con LiOH·H₂O (0,86 g). La mezcla se agitó durante 1 h a 0°C, después se inactivó con una disolución de Na₂SO₃ (5,6 g) en agua (30 ml), seguido de una disolución de NaHCO₃ 0,5 N (100 ml). La mezcla se concentró a vacío hasta 1/2 volumen, se diluyó con agua (hasta 500 ml), y se extrajo con CH₂Cl₂ (4 x 200 ml). La fase acuosa se acidificó a pH 1-2 con HCl 5 N y se extrajo con EtOAc (4 x 200 ml). El extracto se lavó con salmuera; después se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (1,95 g), 91% de rendimiento, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa 9



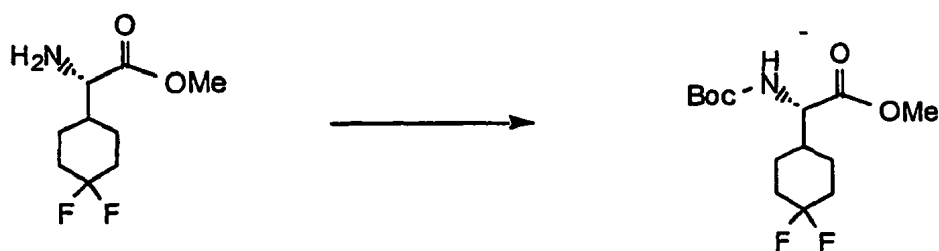
El producto del ejemplo precedente (2,6 g) se disolvió en Et₂O (50 ml) y se trató gota a gota con una disolución de CH₂N₂ en Et₂O hasta que la disolución permaneció amarilla. La disolución se agitó durante 18 h, después se evaporó a vacío para proporcionar el compuesto del título (2,8), que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa 10



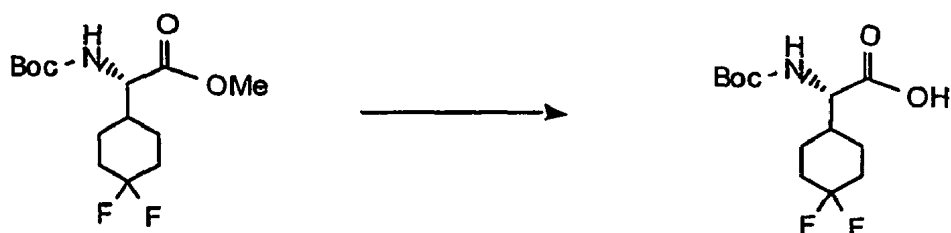
El producto de la etapa precedente (1,95 g) se disolvió en MeOH (150 ml), se trató con ácido fórmico (1,7 ml), después se trató con Pd/C al 10% (3,3 g, Degussa tipo E101) a 1 atm de hidrógeno durante 1,5 h. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (2,1 g) en forma de la sal de ácido fórmico, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa 11



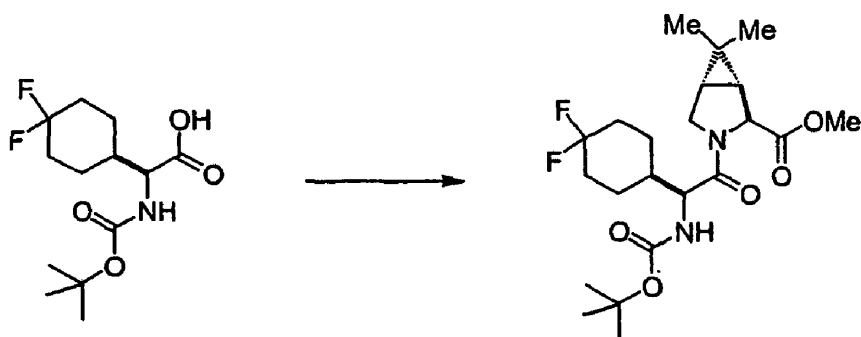
El producto de la etapa precedente (2,1 g) se disolvió en 1,4-dioxano (100 ml) y se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (1,9 g) seguido de diisopropiletilamina (2,9 ml). La disolución se agitó durante 18 horas y se concentró a vacío. El residuo se trató con KH_2PO_4 acuoso al 5% y la mezcla se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con salmuera; después se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$ para proporcionar el compuesto del título (2,5 g), 99% de rendimiento. Espectro de masas (FAB) 307,9 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Etapa 12

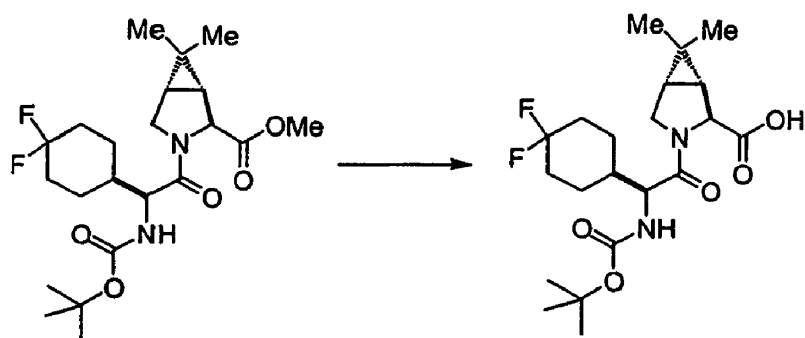


El producto de la etapa precedente (2,5 g) se disolvió en 1,4-dioxano (35 ml), se trató con LiOH acuoso 1 M (17 ml), y se agitó durante 2 h. La mezcla se inactivó con hielo/agua (125 cc), la mezcla se acidificó a pH 3-4 con HCl 3 N, y se extrajo con EtOAc. El extracto se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (2,3 g), 96% de rendimiento. Espectro de masas (FAB) 294,0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

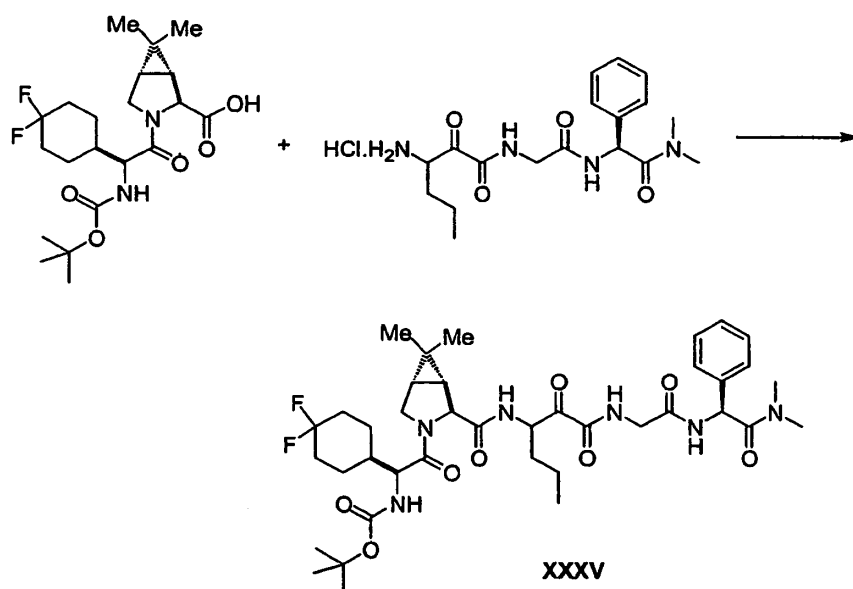
Etapa 13



El producto deseado se preparó de acuerdo con el procedimiento del ejemplo XXIII, etapa 10.



Etapa 15

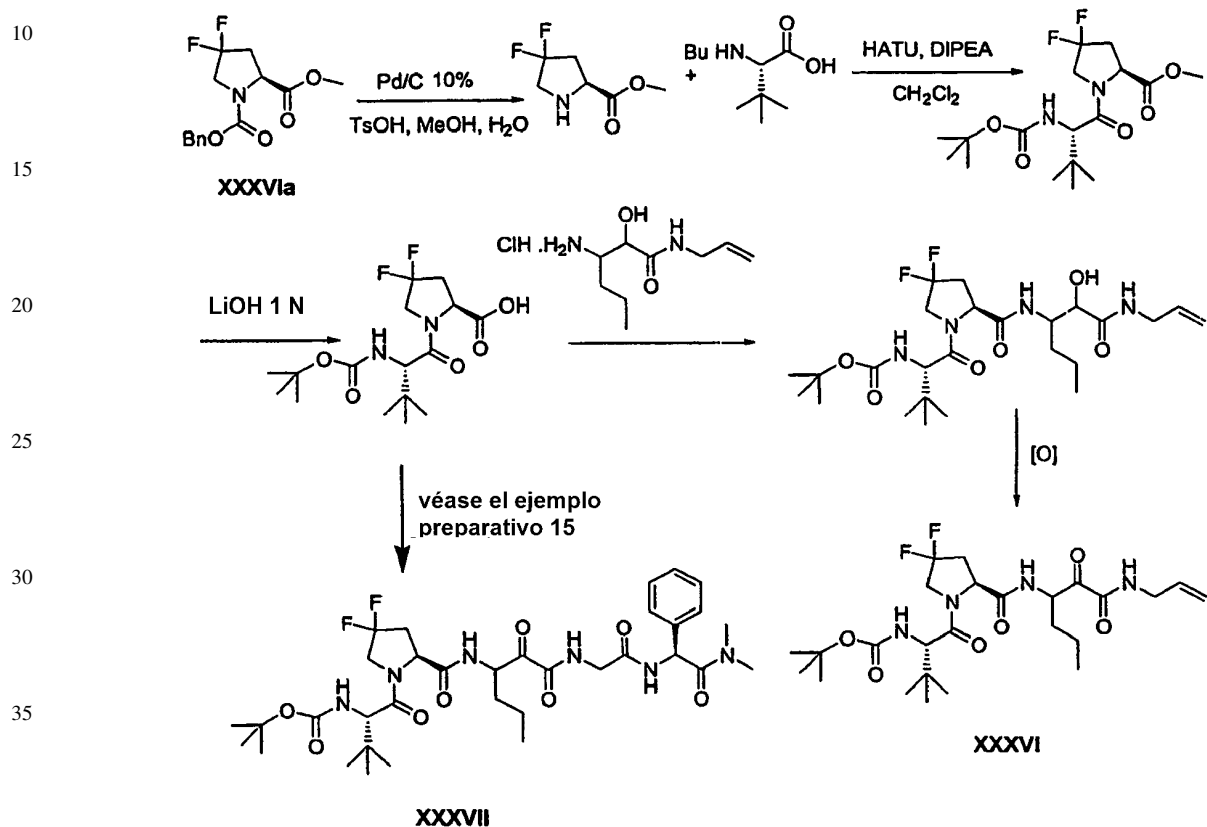


114

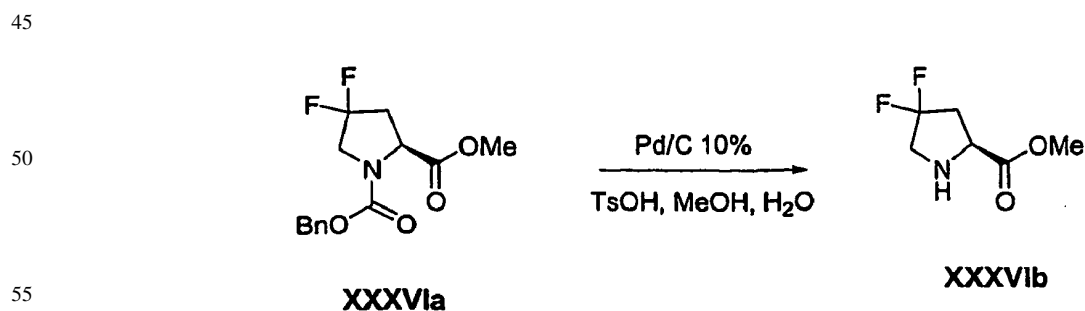
Ejemplo XXXVI

Preparación de compuestos de fórmulas XXXVI y XXXVIII

- 5 Los compuestos de fórmulas XXXVI y XXXVIII se prepararon de acuerdo con el siguiente esquema y usando los ejemplos preparativos 11 a 15 discutidos antes.



El compuesto de fórmula XXXVIb se preparó a partir de un compuesto de fórmula XXXVIa como sigue, mediante procedimientos conocidos:



- 60 A una disolución del compuesto XXXVIa (6,58 g, 22 mmol) en 100 ml de MeOH se añadió Pd/C al 10% (0,8 g) y ácido p-toluenosulfónico (4,2 g). La mezcla de reacción se sometió a hidrogenación a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH en exceso. Los filtrados combinados se concentraron a vacío para proporcionar el compuesto del título XXXVIb en forma de una goma. La conversión de XXXVIb en XXXVI y XXXVII seguía la ruta mostrada en el esquema anterior y de acuerdo con los ejemplos preparativos 11-15.

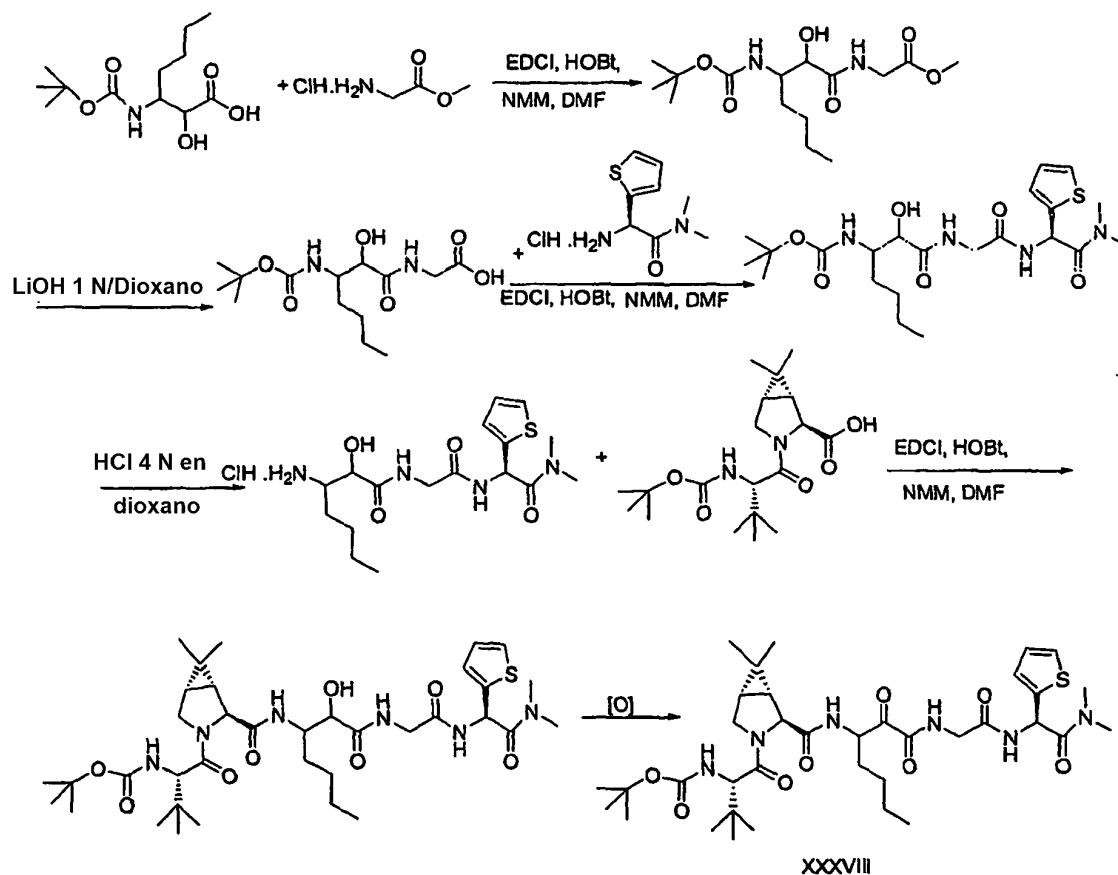
65

Ejemplo XXXVIII

Preparación de un compuesto de fórmula XXXVIII

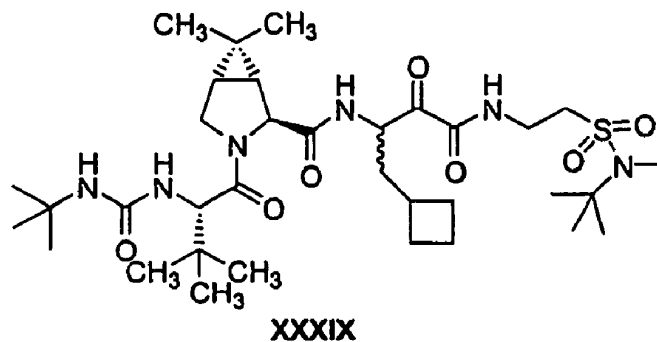
Se preparó un compuesto de fórmula XXXVIII usando el siguiente esquema y siguiendo los ejemplos preparativos 11 a 15 discutidos antes.

Se preparó un compuesto de fórmula XXXVIII usando el siguiente esquema y siguiendo los ejemplos preparativos 11 a 15 discutidos antes.



Ejemplo XXXIX

Síntesis del compuesto de fórmula XXXIX



Etapa 1



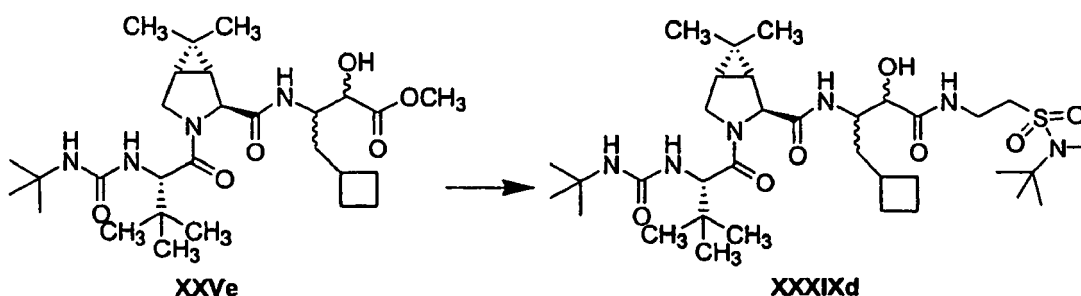
Una disolución del cloruro de sulfonilo de XXXIXa preparado por el procedimiento de H. MckIwain (*J. Chem. Soc.* 1941, 75) se añadió gota a gota a una mezcla de 1,1. equiv de t-butilmetilamina y trietilamina a -78°C y se agitó a t.a. durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se purificó por cromatografía (SiO_2 , Hex/acetona 4:1) para dar la sulfonamida XXXIXb en forma de un aceite incoloro.

Etapa 2



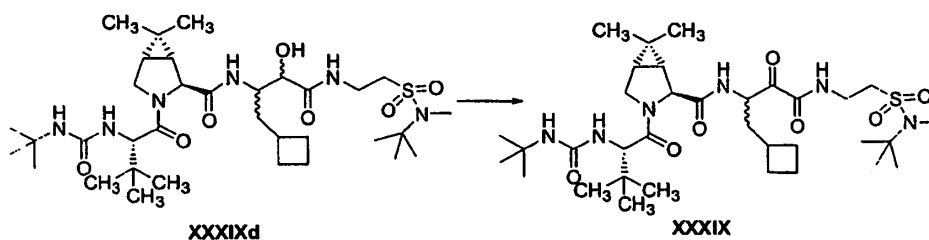
Una disolución de la amina protegida con Cbz XXXIXb se disolvió en metanol y se trató con Pd/C al 5% en moles (5% p/p) y se hidrogenó a $4,2 \text{ kg/cm}^2$. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de celita y se concentró a vacío para obtener la amina libre XXXIXc que solidificó al reposar.

Etapa 3



La hidroxisulfonamida XXXIXd se sintetizó de forma similar al procedimiento para la síntesis del compuesto XXVf excepto sustituyendo la amina XXVd por el compuesto XXXIXc. La mezcla de reacción bruta se usó directamente para la siguiente reacción.

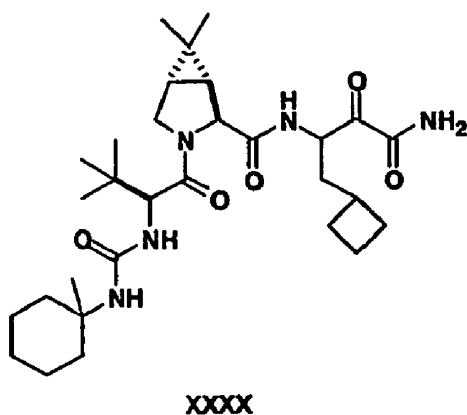
Etapa 4



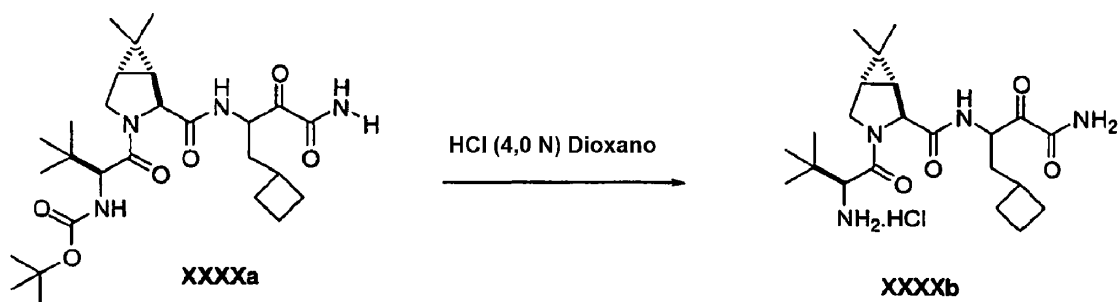
La hidroxiamida XXXIXd se oxidó al compuesto XXXIX usando el reactivo de Dess-Martin siguiendo el procedimiento para la síntesis de XXV (etapa 5). La mezcla bruta se purificó por cromatografía (SiO_2 , acetona/hexano 3:7) para obtener el compuesto XXXIX en forma de un sólido incoloro.

Ejemplo XXXX

Preparación del compuesto de fórmula XXXX

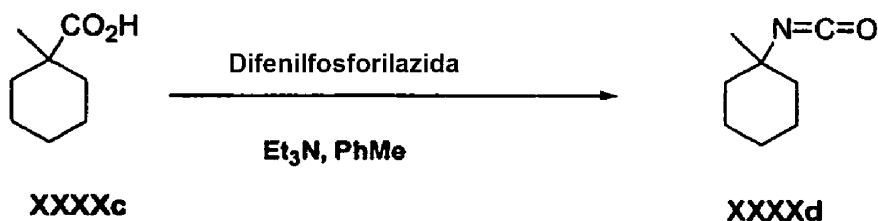


Etapa 1



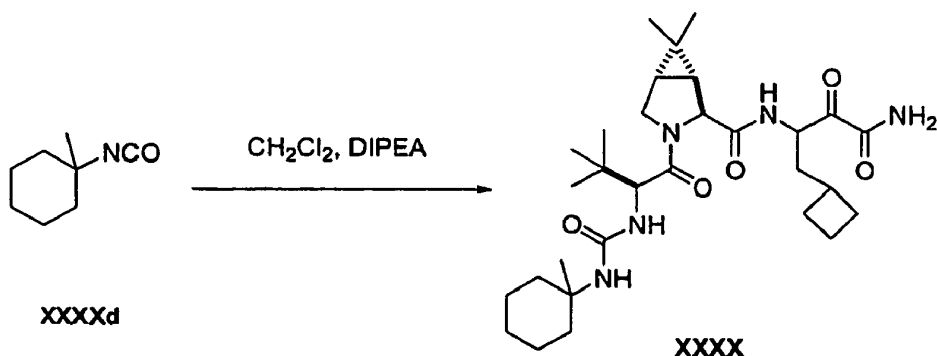
El compuesto XXXXa se hizo reaccionar de la forma descrita previamente en XXXII, etapa 1, para proporcionar el producto XXXXb de la etapa 1. Espectro de masas (LCMS) 421 ($M - \text{HCl} + \text{H}^+$).

Etapa 2



Se añadieron Et_3N (1,4 ml) y difenilfosforilazida (2,2 ml) a una disolución del ácido carboxílico XXXXc en tolueno (13 ml). La reacción se agitó a t.a. durante 30 min y después se mantuvo a reflujo durante una noche. Después de 18 h, la reacción enfrió a t.a. y el producto XXXXd de la etapa 2, se usó directamente en forma de una disolución 0,7 M en tolueno.

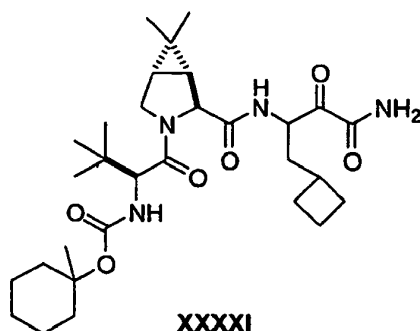
Etapa 3



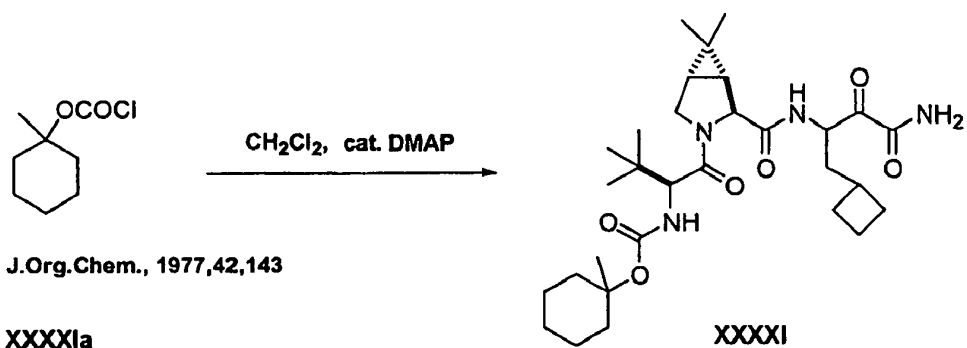
20 El compuesto XXXXb, producto de la etapa 1 del ejemplo preparativo XXXX se hizo reaccionar con el producto XXXXd de la etapa 2 del ejemplo preparativo XXXX de la forma descrita previamente en el ejemplo XXXIII para proporcionar el compuesto XXXX. Espectro de masas (LCMS) 560 ($M+H^+$).

Ejemplo XXXXI

Preparación del compuesto de fórmula XXXXI



Etapa 1

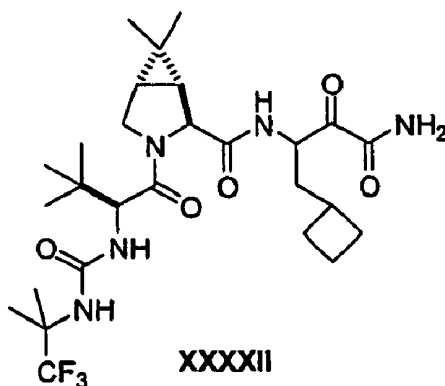


Preparado según *J.Org.Chem.*, 1977,42,143

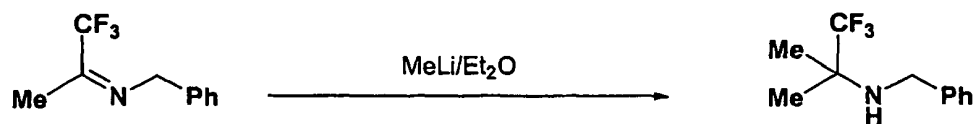
65 El compuesto XXXXb, producto de la etapa 1 del ejemplo preparativo XXXX se hizo reaccionar con el cloroformiato XXXXIa preparado según *J. Org. Chem.*, 1977, 42, 143, de la forma descrita previamente en el ejemplo 12 compuesto 4.1 para proporcionar el compuesto XXXXI. Espectro de masas (LCMS) 561 ($M+H^+$).

Ejemplo XXXXII

Preparación del compuesto de fórmula XXXXII



Etapa 1

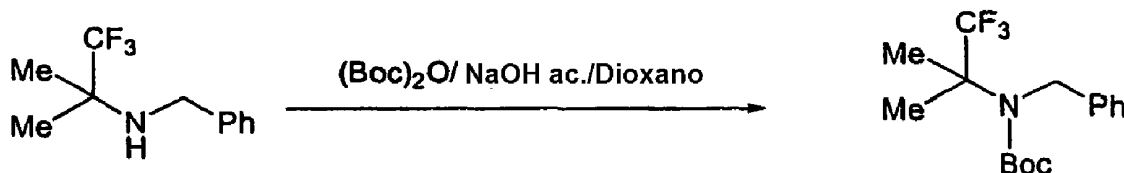


Preparado según J.Org.Chem., 1996 p 6567

XXXXIIa**XXXXIIb**

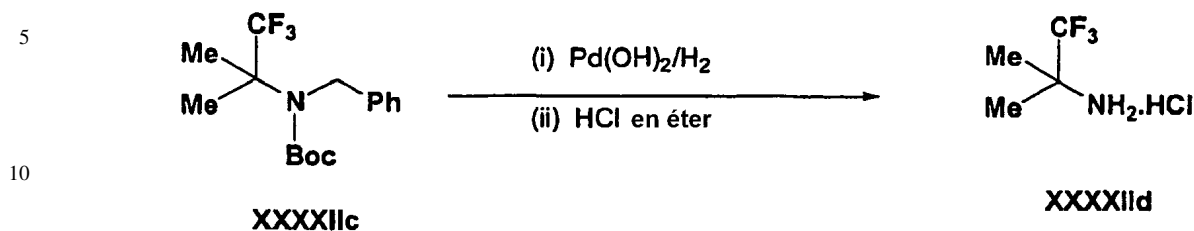
A una disolución agitada y enfriada (baño de acetona/hielo seco) de la imina XXXXIIa de partida (3,679 g) en éter dietílico (50 ml) se añadió metil-litio 1,6 M en éter dietílico (12,6 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente a lo largo de 2 h. Se añadió disolución saturada de NaHCO_3 y después de agitar durante -30 min se separó la fase orgánica. Después se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró hasta sequedad a vacío. El producto bruto se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo en n-hexano al 2%) para proporcionar el producto XXXXIIb deseado (0,3 g).

Etapa 2

**XXXXIIb****XXXXIIc**

A una disolución agitada y enfriada (baño de hielo) del compuesto XXXXIIb, el producto de la etapa 1 (0,3 g), se añadió NaOH 1,0 N (1,38 ml) seguido de $(\text{Boc})_2\text{O}$. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante -20 h, después de lo cual se distribuyó entre acetato de etilo (50 ml) y agua (10 ml). La fase de acetato de etilo se separó, se lavó con salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La evaporación a vacío hasta sequedad proporcionó el derivado NBoc XXXXIIc (0,660 g), que se usó sin más purificación en la siguiente etapa.

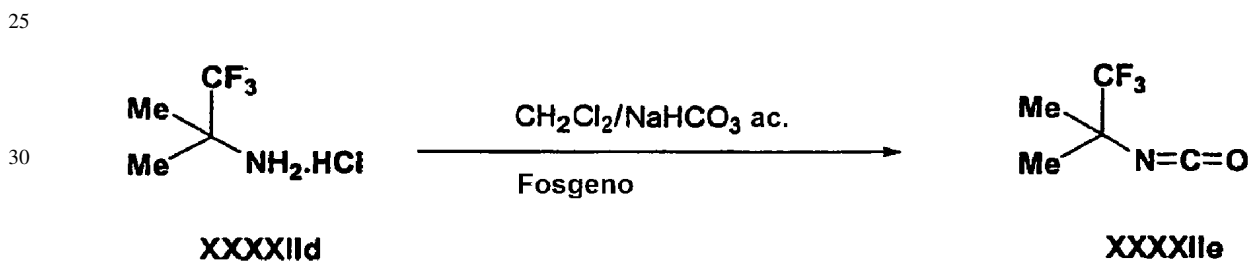
Etapa 3



15 Una disolución del producto XXXXIIC de la etapa 2 en metanol (10 ml) se hidrogenó en presencia de Pd(OH)₂ hasta que la cromatografía en capa fina mostró la ausencia de material de partida. Se separó el Pd(OH)₂ por filtración y se lavó con metanol. Los filtrados y lavados combinados se concentraron hasta sequedad a vacío para proporcionar un sólido que se disolvió en metanol y se trató con HCl 1,0 N en éter dietílico. Después de -2 h la mezcla de reacción se evaporó a sequedad a vacío para proporcionar el hidrocloreto de la amina deseada XXXXIId en forma de un sólido blanco (0,2 g).

20

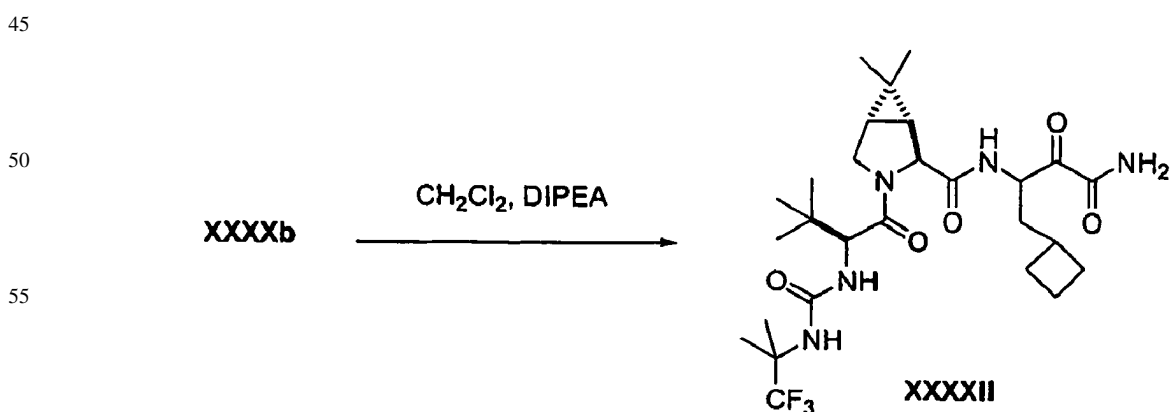
Etapa 4



35 A una disolución agitada y enfriada (baño de hielo) del compuesto XXXXIId, el producto de la etapa C (0,1 g) en CH₂Cl₂ (6 ml) se añadió disolución saturada de NaHCO₃ (4 ml) seguido de fosgeno (0,64 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 h, y después a temperatura ambiente durante 1 h. Se separó la fase orgánica, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró hasta sequedad a vacío para proporcionar el isocianato XXXXIIE deseado (0,0611 g).

40

Etapa 5

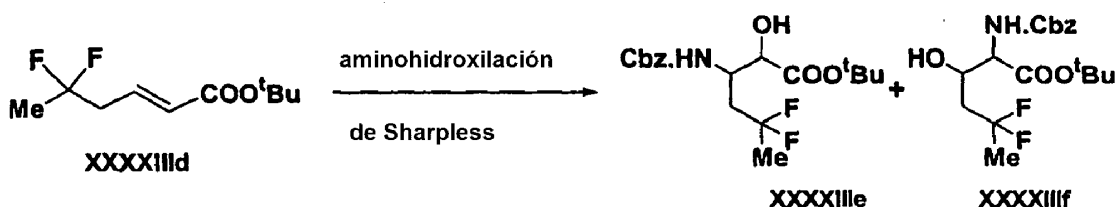


65 El compuesto XXXXIIE, producto de la etapa 5, se hizo reaccionar con el compuesto XXXXb del ejemplo preparativo XXXX de la forma descrita previamente en el ejemplo XXXXIII para proporcionar el compuesto XXXXII. Espectro de masas (LCMS) 574 (M+H⁺).

A una disolución del compuesto XXXXIIIc, el producto de la etapa 2 (4 g), en éter dietílico seco (150 ml) se añadió con enfriamiento (baño de hielo) EtMgCl (28 ml). La mezcla de reacción se agitó en el baño de enfriamiento durante -6 h, después de lo cual se vertió en disolución acuosa saturada de NH₄Cl enfriando con hielo. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml) y se trató con reactivo de Dess-Martin (15,8 g). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, se añadió Ph₃P=CHCOO^tBu (10,54 g). La agitación se continuó durante -20 h, se añadió acetato de etilo (-200 ml) seguido de una mezcla de disolución saturada de Na₂S₂O₃ y disolución saturada de NaHCO₃ (200 ml; 1/1) y se agitó durante - 10 min. La capa orgánica se separó y se lavó sucesivamente con disolución saturada de NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica lavada se secó sobre MgSO₄ anhidro y se evaporó hasta sequedad a vacío para proporcionar el producto bruto deseado.

La reacción anterior se repitió usando el producto de la etapa 2 (10,6 g). Los productos brutos finales de las dos reacciones se combinaron y se sometieron a purificación por cromatografía en gel de sílice (CH_2Cl_2 en n-hexano al 10%) para proporcionar el producto XXXXIII d (7,93 g; 57%).

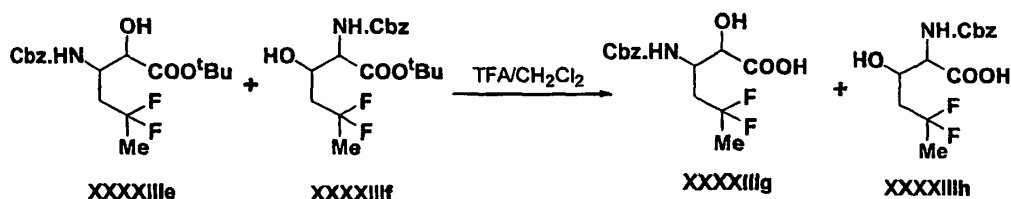
Etapas 4



Se disolvió carbamato de bencilo (8,92 g) en alcohol n-propílico (79 ml). A la disolución resultante se añadió, con agitación, una disolución recién preparada de NaOH (2,33 g) en agua (145 ml), seguido de hipoclorito de terc-butilo (6,57 ml). A la mezcla resultante se añadió (DHQ)₂PHAL (0,742 g) disuelto en alcohol n-propílico (66 ml) seguido del compuesto XXXXIIIId (19,05 mmol). Después se añadió el catalizador de osmio, K₂OsO₂(OH)₂ y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h.

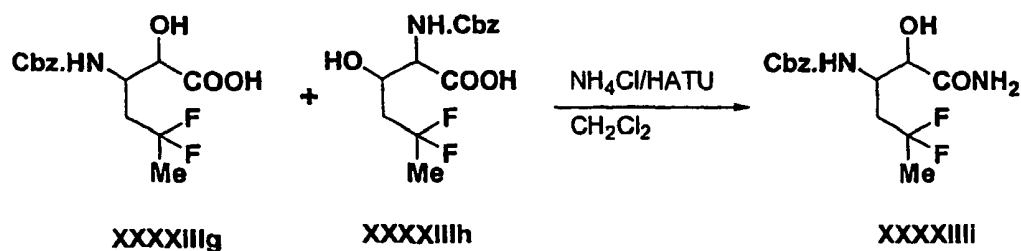
La reacción anterior se repitió usando el compuesto XXXXIII_d (19,36 mmol). Se combinaron las dos reacciones seguido de dilución con acetato de etilo (500 ml). La mezcla se agitó con agua (100 ml), la fase orgánica se separó y se lavó con agua, salmuera y finalmente se secó sobre MgSO₄ anhidro. La evaporación a vacío proporcionó el producto bruto que se cromatografió sobre gel de sílice (acetato de etilo en n-hexano al 10%-20%) para proporcionar el producto puro deseado (3 g) en forma de una mezcla de los compuestos XXXXIII_e y XXXXIII_f.

Etapas 5



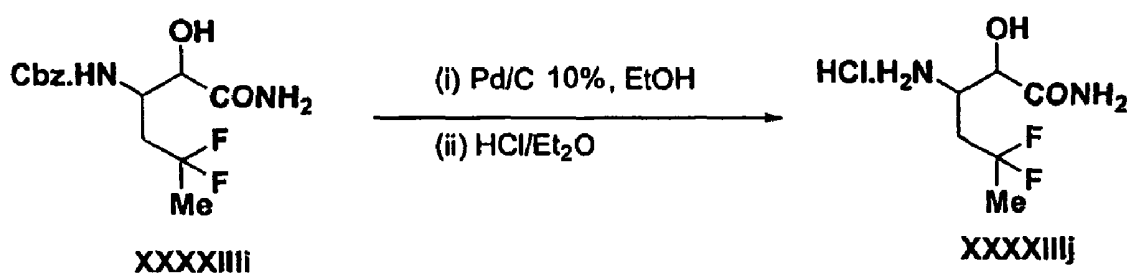
Una solución agitada de los compuestos XXXXIII_f y XXXXIII_e, el producto de la etapa 4, en CH₂Cl₂ (50 ml) se trató con ácido trifluoroacético (50 ml). Después de 4 h, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad a vacío. El residuo se disolvió en disolución acuosa de Na₂CO₃ al 10%, la disolución se lavó con éter dietílico y la fase acuosa se acidificó con H₂SO₄ 2 M a pH -1,5. La extracción de la disolución ácida con acetato de etilo seguido de secado sobre MgSO₄ anhidro y evaporación a vacío proporcionó el producto deseado en forma de una mezcla de compuestos XXXXIII_g y XXXXIII_h (2,6 g).

Etapa 6



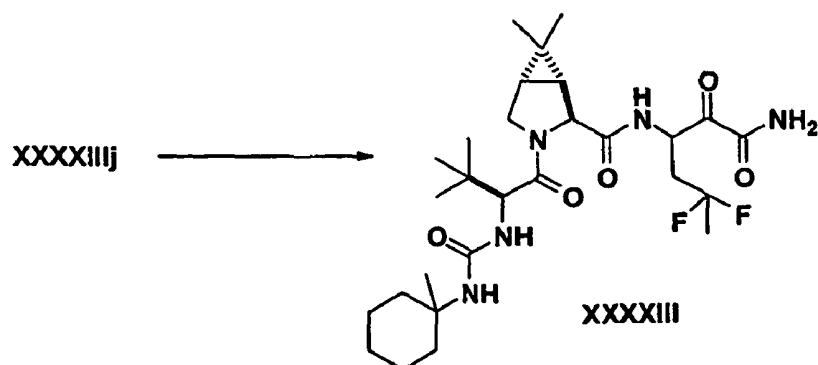
A una disolución del producto de la etapa 5 (1 g) en CH_2Cl_2 (50 ml) se añadió HATU (1,43 g), NH_4Cl (0,842 g) y DMSO (5,59 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante -20 h, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con disolución saturada de NaHCO_3 y salmuera. La fase orgánica después se secó sobre MgSO_4 anhidro y se concentró hasta sequedad a vacío para proporcionar el producto bruto. La cromatografía en gel de sílice (n-hexano en acetato de etilo al 10%) proporcionó en una de las fracciones el producto XXXXIIIi puro deseado (0,205 g).

Etapa 7



A una disolución del compuesto XXXXIIIi, el producto de la etapa 6, (0,205 g) en etanol (15 ml) se añadió el catalizador Pd/C al 10%. La suspensión resultante se hidrogenó hasta que la cromatografía en capa fina indicó el consumo completo del material de partida (-3 h). El catalizador se separó por filtración y se lavó con etanol. El filtrado y los lavados combinados se evaporaron a vacío hasta sequedad para proporcionar el producto deseado XXXXIIIj (0,164 g).

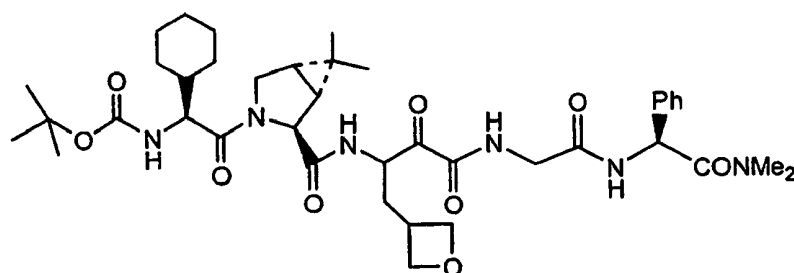
Etapa 8



El compuesto XXXXIIIj se convirtió en el compuesto XXXXIII siguiendo el procedimiento similar a los ejemplos XXVIII y XXXIII.

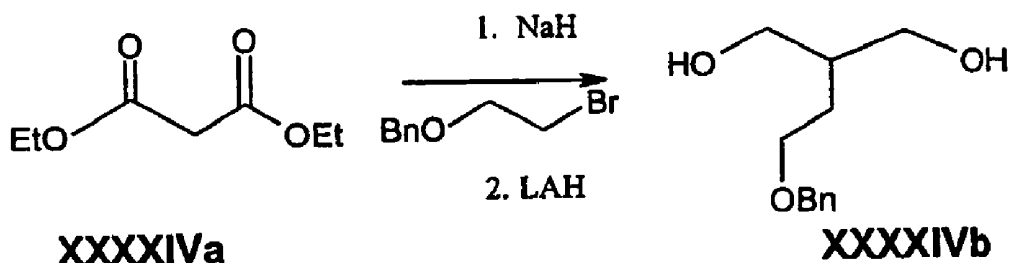
Ejemplo XXXXIV

Preparación del compuesto de fórmula XXXXIV



XXXXIV

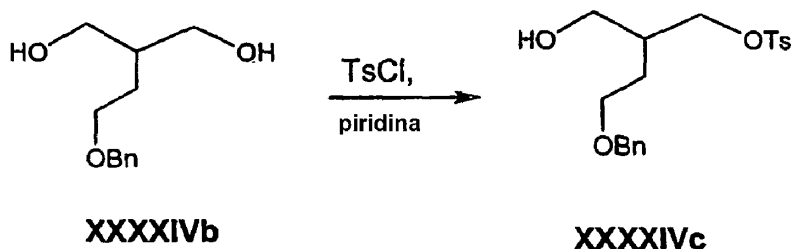
Etapa 1



Se añadió malonato de etilo XXXXIVa (5,4 ml; 36 mmol) a una suspensión de NaH (1,44 g de una dispersión al 60% en aceite mineral; 0,9 eq.) en tetrahidrofurano anhidro (THF; 60 ml) a 0°C, en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió éter de bencilo y 2-bromoetilo (8,5 ml; 40 mmol) antes de calentar a reflujo la reacción durante un periodo de 24 h. Después de enfriar, la reacción se repartió entre EtOAc y HCl diluido (aprox. 1 M). Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄) y se concentró para dar un residuo.

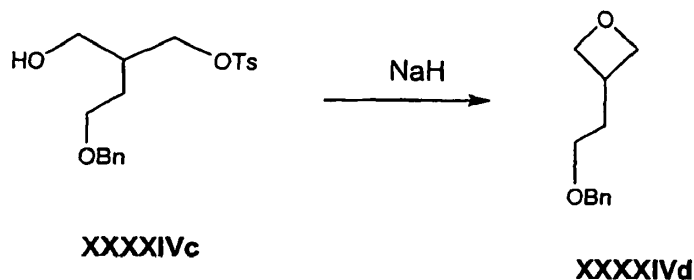
El residuo antes mencionado se disolvió en THF anhidro (100 ml) y se añadió una disolución de hidruro de litio y aluminio (LAH; 66 ml de una disolución 1,0 M) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante un periodo de 4 h y se añadió EtOAc seguido de HCl diluido. Se separó la capa orgánica, se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró. El producto de reacción bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano (70:30) como eluyente para proporcionar el diol XXXXIVb (3,59 g) deseado, en forma de un aceite incoloro.

Etapa 2



Se añadió cloruro de p-toluenosulfonilo (1,12 g; 5,9 mmol) al diol XXXXIVb (1,00 g; 4,9 mmol) en una mezcla de diclorometano (15 ml) y piridina (1,18 ml; 14,6 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche (aproximadamente 16 h). La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y disolución acuosa diluida de HCl. La fase orgánica se separó, se lavó con disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano (30:70) como eluyente para proporcionar i) el ditosilato (0,291 g), seguido de ii) el monotosilato XXXXIVc deseado (1,02 g) y iii) diol recuperado (0,27 g).

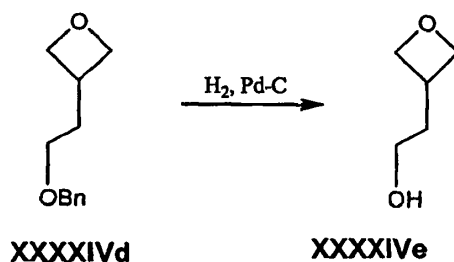
Etapa 3



15 El monotosilato XXXXIVc (1,0 g; 2,8 mmol) en dimetilformamida anhidra (DMF; 3 ml) se añadió a una suspensión de NaH (0,333 g de una dispersión al 60% en aceite mineral; 8,3 mmol) en DMF (13 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante un periodo de 3 h. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró para proporcionar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano (1:5) como eluyente para proporcionar el oxetano XXXXIVd deseado (0,37 g) en forma de un aceite incoloro.

20

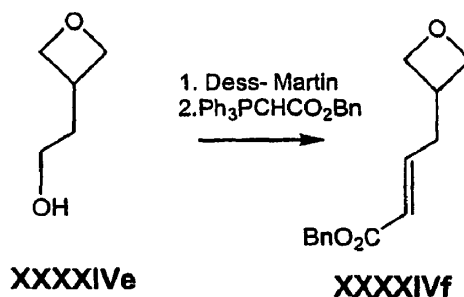
Etapa 4



Una suspensión de Pd-C al 10% (0,10 g) y el éter de bencilo XXXXIVd (0,33 g) en metanol (10 ml) se puso en una atmósfera de hidrógeno (balón) durante un periodo de 1 h. La mezcla de reacción se filtró por una almohadilla de celita y el sólido se lavó bien con metanol. Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida para proporcionar el alcohol XXXXIVe (0,17 g) en forma de un aceite incoloro usado en posteriores procedimientos sin purificación.

40

Etapa 5

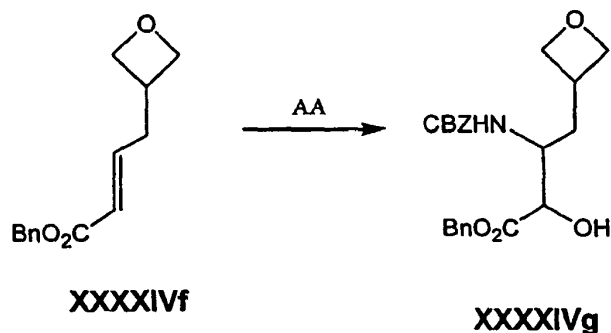


Se añadió peryodinano de Dess-Martin (0,658 g; 0,16 mmol) a una disolución del alcohol XXXXIVe (0,144 g; 1,4 mmol) en diclorometano (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante un periodo de 1 h, antes de añadir el fosforano (0,637 g; 0,16 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó durante un periodo de aproximadamente 16 h, después se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano 1:5 para proporcionar el éster XXXXIVf (0,131 g) en forma de un aceite incoloro.

60

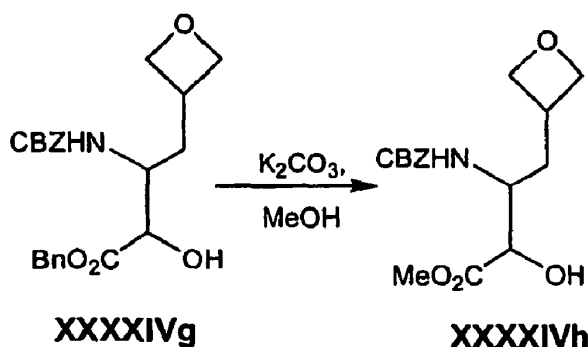
65

Etapa 6



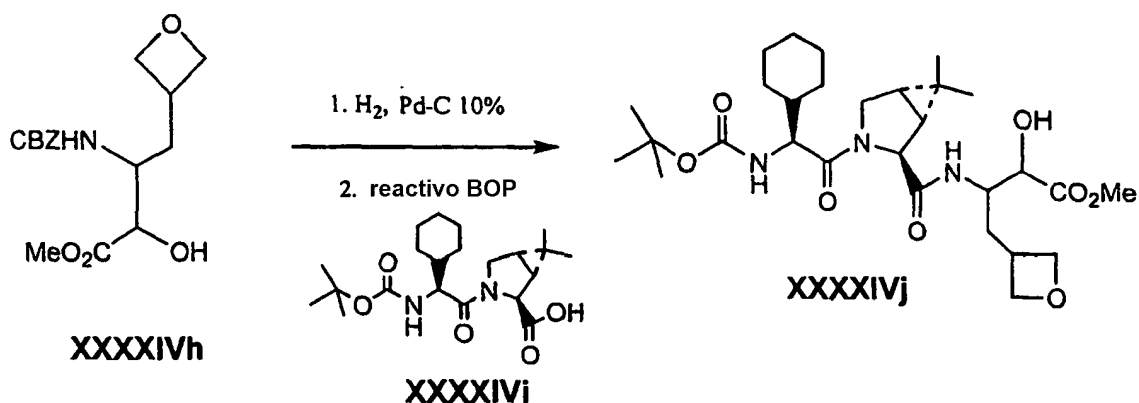
Se disolvió carbamato de bencilo (0,657 g; 4,3 mmol) en n-propanol (6 ml). Se añadió hidróxido sódico acuoso (0,171 g; 4,3 mmol, en 11 ml de agua) seguido de hipoclorito de terc-butilo (0,49 ml; aproximadamente 4,3 mmol) y una disolución de (DHQ)₂PHAL (0,056 g) en n-propanol (5 ml). La mezcla resultante se puso en un baño de agua y se agitó durante 5 min, antes de añadir la olefina XXXXIVf (0,326 g; 1,4 mmol) seguido de osmiato de potasio dihidrato (0,021 g). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 3 h y se añadió a EtOAc. La capa acuosa se separó y se lavó con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano (7:3) como eluyente para dar el alfa-hidroxiéster XXXXIVg (0,367 g), que contenía aprox. 20% del beta-hidroxiéster no deseado.

Etapa 7



Se añadió carbonato de potasio (0,100 g) a una disolución en metanol (30 ml) de aprox. 2 g del éster de bencilo XXXXIVg (contaminado con una pequeña cantidad del carbamato de bencilo). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y después se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexanos (7:3) para proporcionar el éster XXXXIVh (1,02 g).

Etapa 8

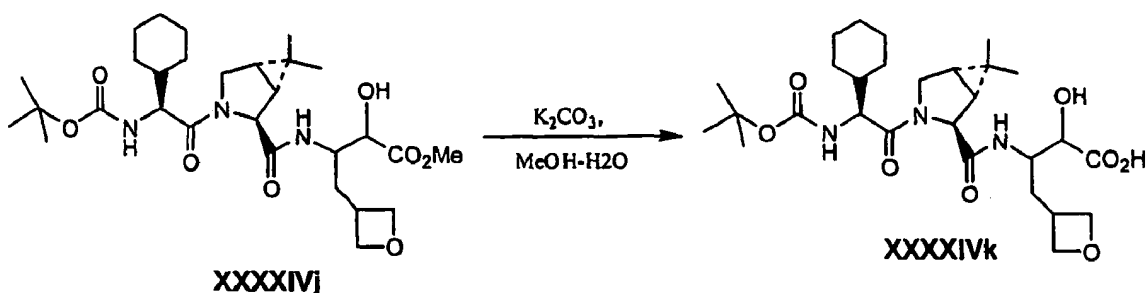


ES 2 344 890 T3

Una suspensión de Pd-C al 10% (0,030 g) y el carbamato de bencilo XXXXIVh (0,090 g) en metanol (5 ml) se puso en una atmósfera de hidrógeno (balón) durante un periodo de 1 h. La reacción se filtró por una almohadilla de celita y el sólido se lavó bien con metanol. Los filtrados combinados se filtraron a presión reducida para dar la amina intermedia (0,050 g) que se usó inmediatamente.

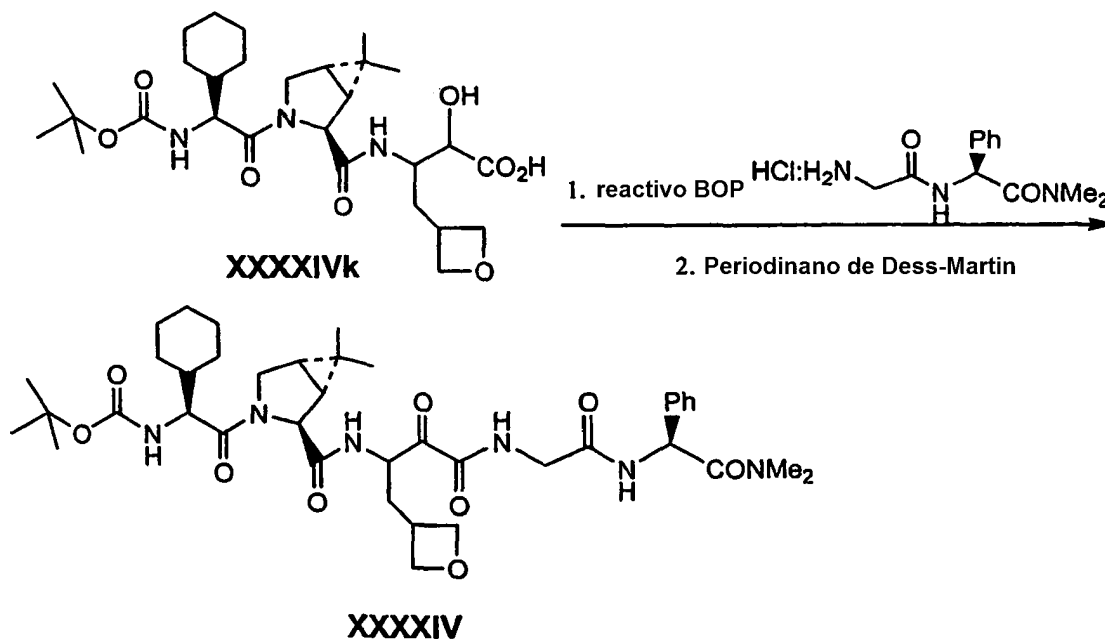
Se añadieron el reactivo BOP (0,131 g; 0,31 mmol) seguido de trietilamina (0,130 ml; 0,93 mmol) a una mezcla de la amina (0,050 g; 0,28 mmol) y el ácido carboxílico XXXXIVi (0,121 g; 0,31 mmol) en diclorometano (3 ml) y la mezcla resultante se agitó durante un periodo de 4 h y se repartió entre HCl ac. dil. (aprox. 1 M) y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc como eluyente para proporcionar el éster de metilo XXXXIVj (0,107 g) en forma de un sólido blanco.

Etapa 9



Se añadió carbonato de potasio (0,054 g; 0,39 mmol) al éster XXXXIVj (0,107 g; 0,19 mmol) en una mezcla de metanol (3 ml) y agua (1 ml) y la reacción resultante se agitó durante un periodo de 16 h y se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó y se concentró para dar el ácido XXXXIVk (0,099 g).

Etapa 10



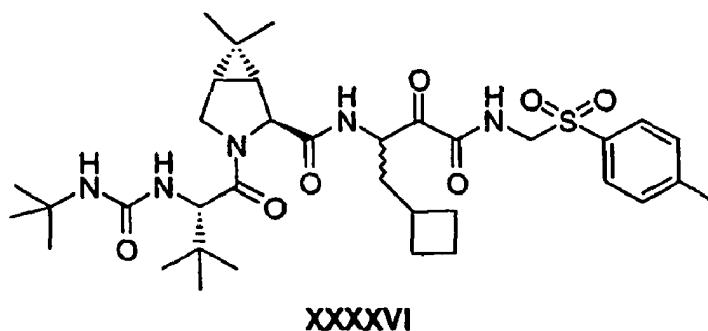
Se añadió trietilamina (0,035 ml; 0,25 mmol) a una mezcla del ácido carboxílico XXXXIVk (0,041 g; 0,08 mmol), la sal de hidrocloreuro (0,023 g; 0,08 mmol) y el reactivo BOP (0,037 g; 0,08 mmol) en diclorometano (3 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante un periodo de 4 h. La reacción se repartió entre EtOAc y HCl ac. diluido (1 M). La fase orgánica se separó, se lavó con disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó y se concentró a presión reducida.

ES 2 344 890 T3

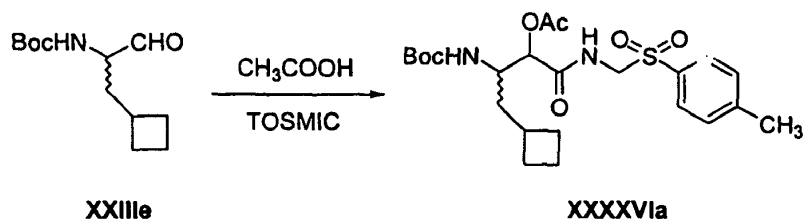
Se añadieron el residuo del procedimiento anterior en diclorometano (3 ml) y reactivo peryodinano de Dess-Martin (0,065 g; 0,15 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se repartió entre sulfito sódico acuoso al 5%, disolución ac. sat. de bicarbonato de sodio, agua, se secó y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando CH_2Cl_2 ;MeOH; 20:1 como eluyente para proporcionar la alfa-cetoamida XXXXIV (0,021 g). FABMS: MH^+ , 767,4.

Ejemplo XXXXVI

Preparación del compuesto de fórmula XXXXVI



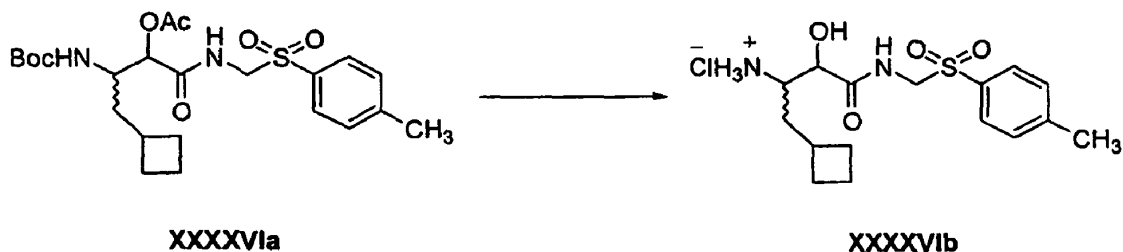
Etapa 1



Una disolución del aldehído XXIIIe (0,626 g, 2,75 mmol), TOSMIC (1,63 g, 8,27 mmol) y CH_3COOH (0,48 ml, 8,27 mmol) en CH_2Cl_2 seco (15 ml) se agitó a t.a. durante 36 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se purificó por cromatografía (SiO_2 , EtOAc/Hex 2:3) para dar 0,90 g (68%) del compuesto XXXXVIa en forma de un sólido incoloro.

MS (ES) m/z , intensidad relativa 965 [$(2\text{M}+1)^+$, 30], 483 [$(\text{M}+1)^+$, 53], 427 (60), 383 (100), 365 (71), 272 (64).

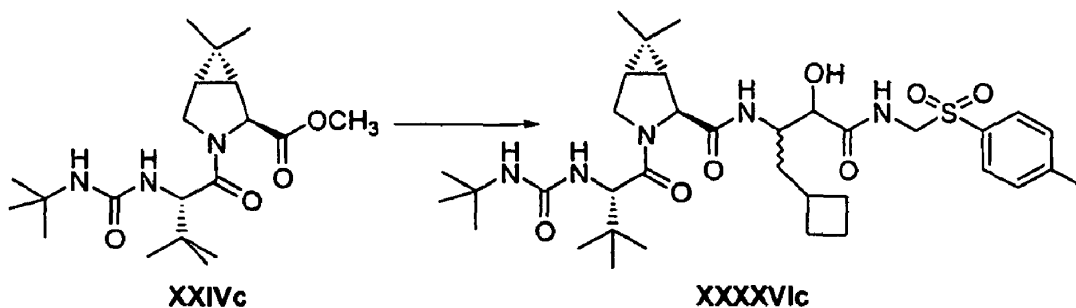
Etapa 2



Una disolución del compuesto XXXXVIa (0,9 g, 1,86 mmol) en HCl (30 ml, 6 M en CH_3OH , preparado por adición de cloruro de acetilo a CH_3OH a 0°C) se agitó a t.a. durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se usó como estaba en la siguiente etapa de reacción.

MS (ES) m/z , intensidad relativa 681 [$(2\text{M}+1)^+$, 26], 341 [$(\text{M}+1)^+$, 100], 180 (40).

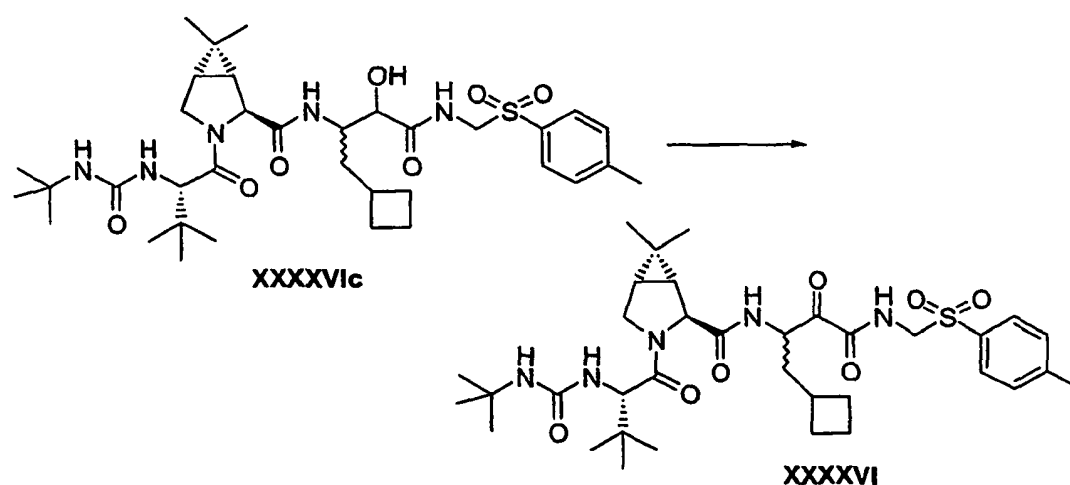
Etapa 3



La síntesis del compuesto **XXXXVIc** se llevó a cabo usando el compuesto **XXIVc** (134 mg, 0,36 mmol), y la amina **XXXVIb** (120 mg, 0,32 mmol) siguiendo el procedimiento descrito para el ejemplo **XXIV** a partir de la Etapa 3 para dar el producto **XXXXVIc** que se usó para la posterior oxidación sin purificar.

MS (ES) m/z , intensidad relativa 690 [(M+1)⁺, 100], 591 (27), 537 (18), 513 (27), 478 (63), 438 (18), 414 (60), 268 (27).

Etapa 4



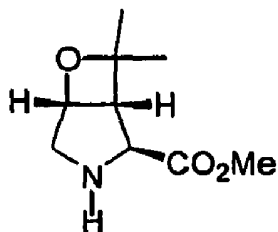
La síntesis del compuesto **XXXXVI** se llevó a cabo por oxidación usando el alcohol **XXXXVIc** (219 mg, 0,32 mmol), EDCI (609 mg, 3,2 mmol) y Cl_2CHCOOH (131 ml, 1,59 mmol) siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo **XXIV**, etapa 4, y se purificó por cromatografía (SiO_2 , acetona/hexanos 3:7) para dar el producto **XXXXVI** (117 mg, 53% a lo largo de las 2 etapas) en forma de un sólido incoloro.

MS (ES) m/z , intensidad relativa 688 [(M+1)⁺, 32], 589 (81), 476 (100).

Síntesis de productos intermedios

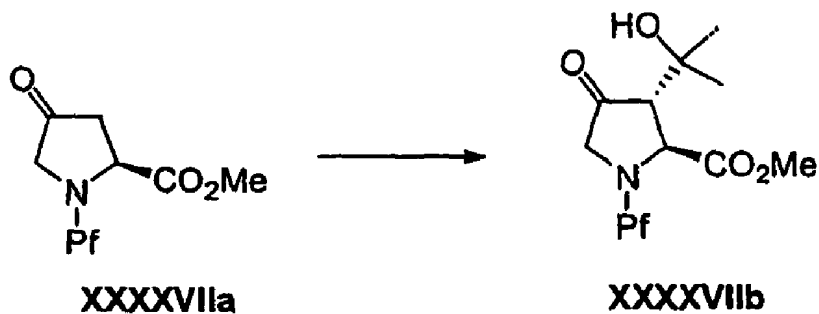
Ejemplo XXXXVII

5 Preparación del producto intermedio de fórmula XXXXVII



XXXXVII

Etapa 1

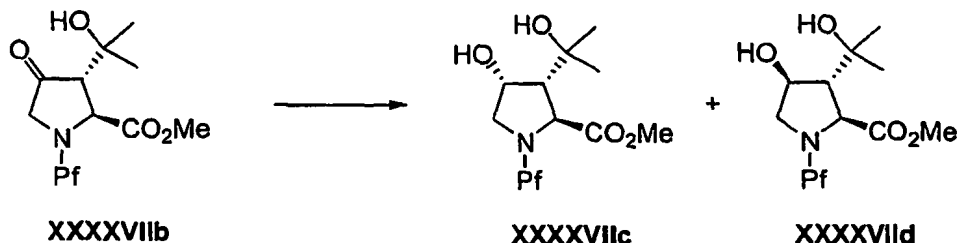


XXXXVIIa

XXXXVIIb

A la disolución de la cetona XXXXVIIa (4,93 g, 12,8 mmol) en THF anhidro (100 ml) a -78°C se añadió una disolución de hexametildisilazida de litio (LiHMDS) (17,0 ml, 17,0 mmol). La disolución resultante se agitó a esta temperatura durante 1 h antes de añadir una disolución de acetona (1,51 ml, 20,5 mmol) y $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (2,60 ml, 20,5 mmol) en THF (15 ml). Después de agitar durante otras 4 h, se añadió H_3PO_4 al 5% (20 ml) seguido de disolución saturada de cloruro amónico (200 ml) y éter dietílico (200 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con éter dietílico (2 X 200 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida con EtOAc/hexano al 20-50% para dar 1,84 g del compuesto XXXXVIIb (33%) y 3,26 g del material de partida XXXXVIIa.

Etapa 2



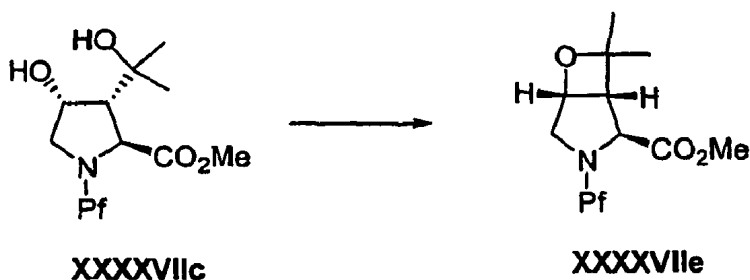
XXXXVIIb

XXXXVIIc

XXXXVIIId

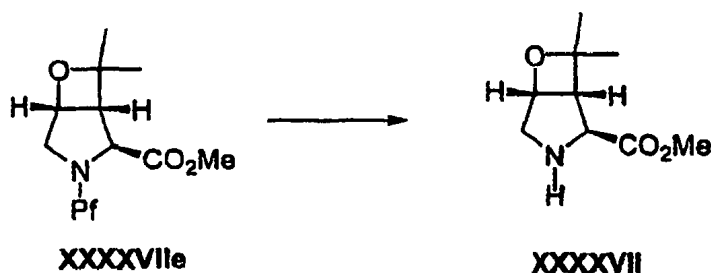
A la disolución de la cetona XXXXVIIb (0,94 g, 2,13 mmol) en THF anhidro (20 ml) a -78°C se añadió una disolución de LiAlH_4 en THF (2,6 ml, 2,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 40 min antes de añadir una disolución de KHSO_4 (1,0 M, 16 ml). La mezcla se dejó calentar a t.a. y se le añadió EtOAc (100 ml) y agua (50 ml). Después, se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 50 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida con EtOAc/hexano al 30-100% para dar 0,49 g del compuesto XXXXVIIc (52%) y 0,18 g (19%) del compuesto XXXXVIIId.

Etapa 3



La disolución del compuesto XXXXVIIc (103 mg, 0,232 mmol), trifenilfosfina (120 mg, 0,456 mmol) y azodicarboxilato de dietilo (0,055 ml, 0,349 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (5 ml) se agitó a t.a. durante 18 h. Después de concentrar a vacío, la mezcla se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida usando EtOAc/hexano al 10-30% para dar 24 mg (24%) del compuesto XXXXVIIe.

Etapa 4

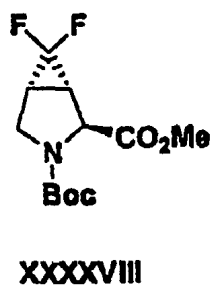


La disolución del compuesto XXXXVIIe en EtOH se hidrogenó a t.a. en el catalizador de Pd-C al 10% al compuesto XXXXVII.

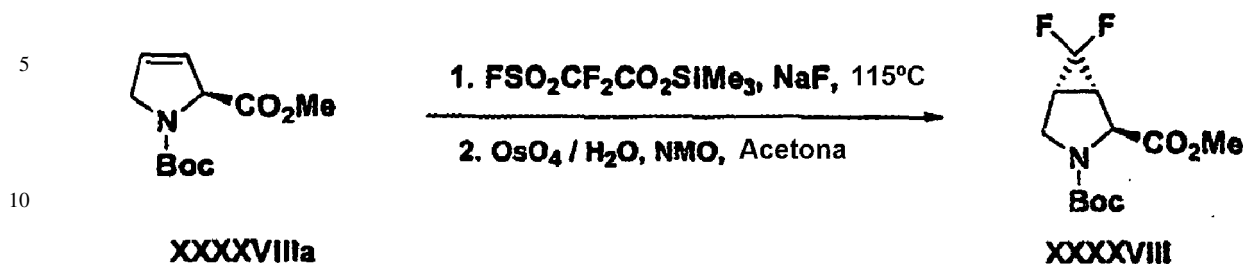
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios XXXXVII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo XXXXVIII

Preparación de los productos intermedios de fórmula XXXXVIII



Etapa 1



15 A 5 g (22 mmol) del éster de metilo de la N-Boc-deshidroprolina XXXXVIIIa se añadieron 25 mg de NaF y 2 g de tolueno. A 110°C, se añadieron mediante jeringuilla 1,6 equiv (35 mmol, 8,75 g) de fluorosulfonildifluoroacetato de TMS (TFDA) en 1 h. Después de 2 h, la reacción enfrió a t.a. A la mezcla se añadió NMO (6,8 g, 50 mmol), acetona (50 ml), H₂O (25 ml) y OsO₄ (0,015 M en H₂O, 1% en moles, 0,44 mmol, 28 ml). La reacción se agitó durante una noche a t.a., después se diluyó con EtOAc y se lavó con H₂O y salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta sequedad. La purificación por cromatografía en columna (10 EtOAc, hexano, sílice) proporcionó el producto XXXXVIII (0,76 g).

20 Se sintetizaron una serie de inhibidores usando el producto intermedio XXXXVIII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

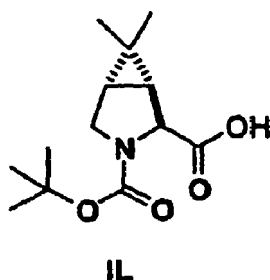
25

Ejemplo IL

Preparación del producto intermedio de fórmula IL

30

35



40

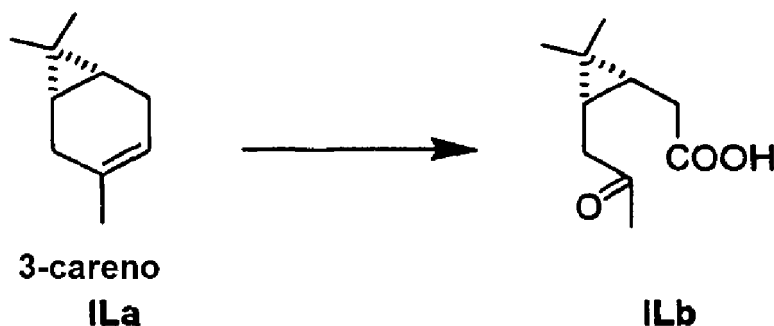
Etapa 1

45

Ácido (1R,3S)-2,2-dimetil-3-(2-oxopropil)-ciclopropano-acético

50

55



60

65

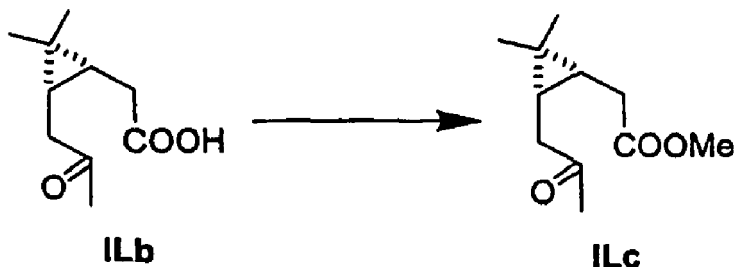
Una mezcla de 0,55 litros de *tert*-butanol, 1,1 litros de agua, 100 ml de 3-careno ILa (Aldrich Chemical Co.) y 490 g de NaIO₄, se trató con 2,2 g de cloruro de rutenio hidratado. La mezcla agitada enérgicamente se calentó y enfrió alternativamente durante 2 h para mantener una temperatura de 35-40°C. La mezcla agitada enérgicamente se calentó y enfrió alternativamente durante 1 h para mantener una temperatura de 40-50°C. La mezcla agitada enérgicamente después se calentó durante otra 1/2 h para mantener una temperatura de 50-55°C. Después la mezcla se enfrió a 30°C, se filtró en un embudo Buchner, y los precipitados se lavaron con 700 ml de éter iso-propílico. La parte acuosa del filtrado se extrajo con 900 ml de EtOAc-hexano (2:1) y el extracto se combinó con la parte de éter del filtrado.

ES 2 344 890 T3

Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 300 ml de NaCl acuoso al 20%, después se extrajeron con una disolución de 36 g de NaOH en 2,2 litros de agua. El extracto acuoso enfriado se acidificó con 100 ml de HCl 12 N y se extrajo con Et₂O (3 x 800 ml). El extracto se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se evaporó a vacío para dar el compuesto del título ILb 98 g (88%) en forma de una goma. RMN H¹ (CDCl₃) δ 2,39 (m, 2), 2,28 (m, 2), 2,19 (s, 3), 1,1,12 (s, 3), 0,90 (m, 2), 0,63 (s, 3).

Etapa 2

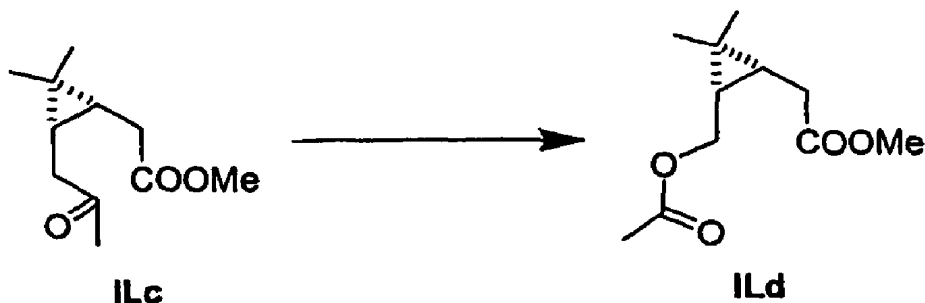
(1R,3S)-2,2-dimetil-3-(2-oxopropil)ciclopropanoacetato de metilo



Una disolución de 98 g del compuesto ILb, el producto de la etapa precedente y 0,55 litros de DMF se trató con 98 g de Cs₂CO₃. La mezcla se agitó durante 10 minutos, se añadieron 41,5 ml de MeI y la mezcla se agitó a 40°C durante 1 h. La mezcla se enfrió y se filtró en un embudo Buchner. El filtrado se inactivó con 2,5 litros de NaCl acuoso al 18%, se separó la capa orgánica y la disolución acuosa se extrajo con Et₂O-hexano (1:1; 2 x 1 litro). La capa orgánica y los extractos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y evaporaron a vacío para dar el compuesto del título ILc como 91 g (86%) de aceite espeso. RMN H¹ (CDCl₃) δ 3,67 (s, 3), 2,3 (m, 4), 2,17 (s, 3), 1,12 (s, 3), 0,97 (m, 2), 0,91 (s, 3).

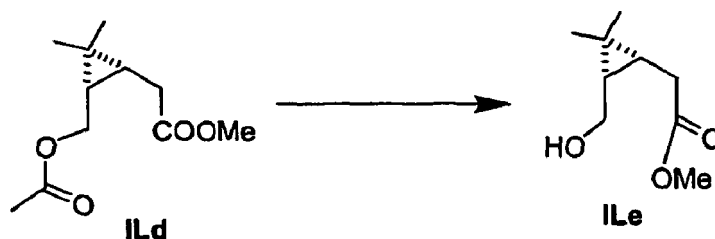
Etapa 3

(1R,3S)-3-(acetoximetil)-2,2-dimetilciclopropano-acetato de metilo



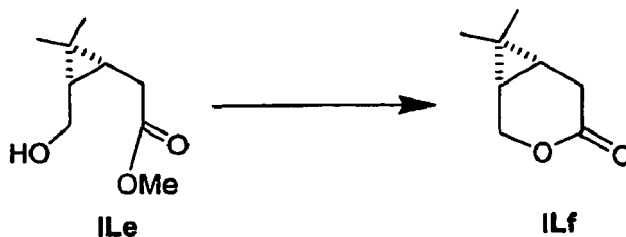
Una disolución del compuesto ILc, 91 g del producto de la etapa precedente, y 0,7 litros de 1,1,2-tricloroetano se trató con 165 g de ácido m-cloroperbenzoico al 70%. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se calentó con un baño de aceite para mantener una temperatura de reacción de 65-70°C durante 1 h, y después se calentó a 75°C durante 1 h más. La mezcla se enfrió, se filtró en un embudo Buchner y la torta de filtración se lavó con tricloroetano reciente. El filtrado y los lavados combinados se concentraron a vacío hasta 0,5 litros, y el residuo se diluyó con 2,5 litros de hexano-Et₂O (3:1). La disolución orgánica se lavó repetidamente con una disolución de K₂CO₃ acuoso al 3,5%-salmuera (3:1; 8 x 0,9 litros), después con salmuera, después se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío para dar el compuesto del título ILd como 98 g (100%) de aceite espeso. RMN H¹ (CDCl₃) δ 4,1-3,9 (m, 2), 3,68 (s, 3), 2,34 (d, 2), 2,04 (s, 3), 1,12 (s, 3), 1,04 (m, 2), 1,00 (s, 3).

Etapa 4

(1R,3S)-3-(hidroximetil)-2,2-dimetilciclopropanoacetato de metilo

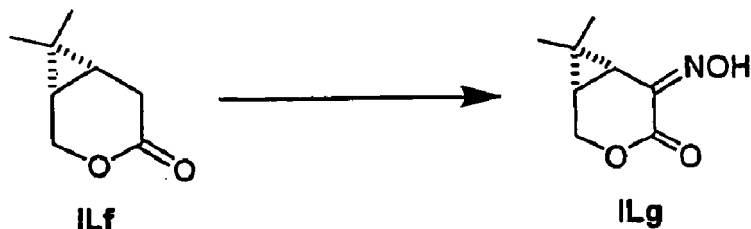
Una disolución de 98 g del compuesto **ILd**, del producto de la etapa precedente, y 1 litro de metanol se trató con 19 g de K_2CO_3 , y la mezcla se agitó a 30°C durante 1 h. La mezcla se concentró a vacío para separar 0,6 litros de metanol, el residuo se inactivó con KH_2PO_4 acuoso al 10% frío, y la mezcla se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con salmuera, se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío para dar 70 g (89%) del compuesto del título **ILe** en forma de una goma. RMN H^1 ($CDCl_3$) δ 3,80 (q, 1), 3,73 (s, 3), 3,52 (m, 1), 2,68 (d de d, 1), 2,23 (d de d, 1), 1,09 (s, 3), 1,1-0,9 (m, 2), 0,98 (s, 3).

Etapa 5

(1S,6R)-7,7-dimetil-3-oxabicyclo[4.1.0]heptan-4-ona

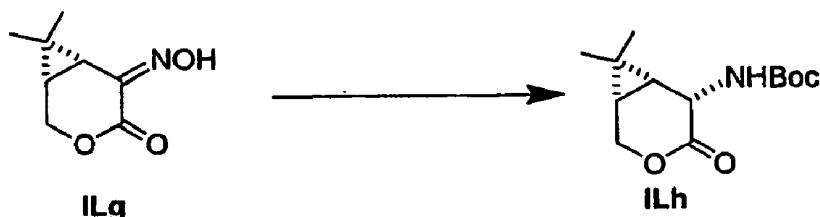
Una disolución de 70 g del compuesto **ILe**, el producto de la etapa precedente y 1,1 litros de xilenos se trató con 30,8 g de DBU. La disolución se calentó a un reflujo suave durante 18 h, mientras se separaba el metanol del destilado. La disolución se enfrió, se lavó con HCl 1 N frío y después con salmuera; se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío. El residuo se cromatografió en 600 g de gel de sílice usando un gradiente de CH_2Cl_2 a EtOAc- CH_2Cl_2 1:10 para obtener el compuesto del título **ILf** como 54 g (94%) de aceite. RMN H^1 ($CDCl_3$) δ 4,71 (d de d, 1), 4,04 (d de d, 1), 2,75 (d de d, 1), 2,16 (d de d, 1), 1,16 (s, 3), 1,25 (m, 1), 1,12 (s, 3).

Etapa 6

(1S,6R,5E)-7,7-dimetil-3-oxabicyclo[4.1.0]heptano-4,5-diona, 5-oxima

Una disolución de 42 g del producto de la etapa precedente **ILf** y 300 ml de tolueno anhidro se trató con 102 ml de nitrito de *terc*-butilo al 90%. La mezcla agitada se calentó y enfrió alternativamente según fuera necesario, mientras se añadían 45 g de *terc*-butóxido de potasio en 6 porciones a lo largo de 20 minutos a 30-35°C. Después se añadieron 180 ml de metanol anhidro, la temperatura se elevó a 40°C y se continuó agitando a 40°C durante 2,5 h. La mezcla se enfrió, se inactivó con una disolución fría de 1,1 litros de HCl acuoso al 10% y 20 ml 12 N, después se extrajo con EtOAc-tolueno (3:1). Los extractos se lavaron con $NaHCO_3$ acuoso al 5% y después salmuera; se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtraron y evaporaron a vacío. El residuo (25 g) se cromatografió en 150 g de gel de sílice usando un gradiente de CH_2Cl_2 a EtOAc- CH_2Cl_2 35:65 para obtener 15 g (29%) el compuesto del título **ILg** en forma de un aceite. RMN H^1 ($CDCl_3$) δ 4,82 (d de d, 1), 4,55 (d de d, 1), 2,40 (d, 1), 1,49 (m, 1), 1,27 (s, 3), 1,18 (s, 3).

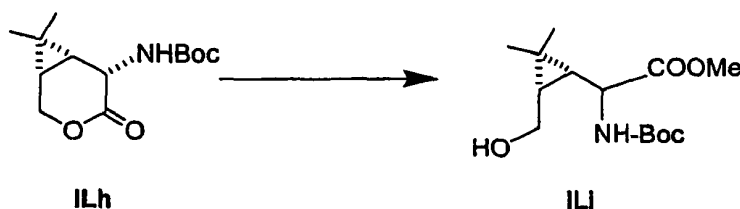
Etapa 7



Una disolución de 18 g del producto de la etapa precedente ILg y 400 ml de EtOAc se trató con 32 g de dicarbonato de di-*tert*-butilo (Boc_2O) y 2,0 g de Pd sobre carbón al 10%. La mezcla se hidrogenó a 2,5 atm durante 18 h, se filtró y el filtrado se evaporó para dar 36 g del compuesto del título mezclado con Boc_2O , que se llevó directamente a la siguiente etapa. Se cromatografió una porción para obtener el compuesto ILh como el compuesto del título puro: RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7,28 (d, NH), 4,76-4,64 (m, 2), 4,44 (d, 1), 1,40 (s, 9), 1,24 (m, 1), 1,11 (m, 2), 1,07 (s, 3), 0,99 (s, 3).

Etapa 8

(1R,3S)-alfa(*S*)-[[*(1,1*-dimetiloxi)carbonil]amino]-3-(hidroximetil)-2,2-dimetilciclopropanoacetato de metilo

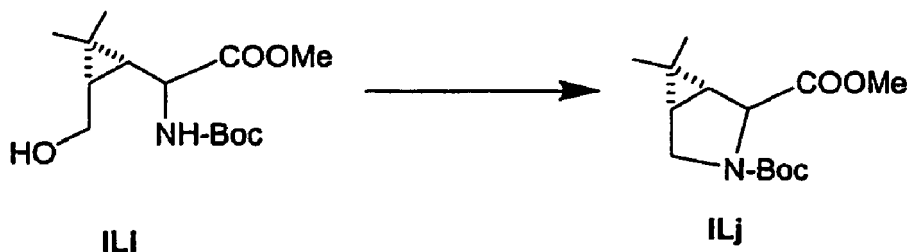


Una disolución de 35 g del compuesto ILh, la mezcla de productos de la etapa precedente, y 350 ml de metanol anhidro se trató con 12 g de K_2CO_3 anhidro finamente triturado. La mezcla se agitó enérgicamente durante 2 h, se concentró a vacío con un baño a 25°C y después se inactivó con 0,6 litros de KH_2PO_4 acuoso al 10%. La disolución se extrajo con EtOAc-hexano (95:5; 2 x 200 ml), los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se evaporó a vacío para dar 22 g (70%) de el compuesto del título ILi, en forma de una mezcla gomosa de los dos epímeros en una relación α -*S*/ α -*R* de 8:2, que no había que separar para el propósito presente. Se cromatografió una porción con Et_2O -hexano (60:40) para obtener el epímero α -*S* del compuesto del título puro: RMN ^1H (CDCl_3) δ 5,2 (s ancho, 1), 4,05 (s ancho, 1), 3,81 (m, 1), 3,76 (s, 3), 3,65 (m, 1), 1,43 (s, 9), 1,14 (s, 3), 1,06 (s, 3), 1,05 (m, 1), 0,86 (m, 1). Rotación óptica: $[\alpha]_D^{25} - 62,9^\circ$ ($c=1$, MeOH). Análisis elemental: teórico C 58,52, H 8,77, N 4,87; encontrado C 58,48, H 8,75, N 5,10.

La elución posterior proporcionó el epímero α -*R* del compuesto del título: RMN ^1H (CDCl_3) δ 4,95 (d ancho, 1), 4,03 (m, 1), 3,82 (m, 1), 3,78 (s, 3), 3,71 (m, 1), 1,44 (s, 9), 1,13 (m, 1), 1,10 (s, 3), 1,08 (s, 3), 0,86 (m, 1). Rotación óptica: $[\alpha]_D^{25} - 32,8^\circ$ ($c=1$, MeOH). Análisis elemental: teórico C 58,52, H 8,77, N 4,87; encontrado C 58,46, H 8,69, N 4,74.

Etapa 9

Éster de 3-(1,1-dimetiletilo) y 2-metilo del ácido (1*R*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexano-2(*s*),3-dicarboxílico



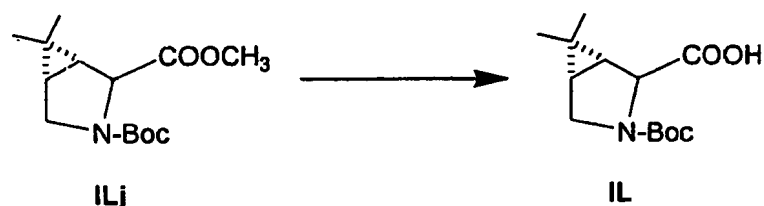
ES 2 344 890 T3

Una disolución de 21,6 g trifenilfosfina y 250 ml de THF anhidro se enfrió a -10°C y se trató gota a gota con 16,2 g de azodicarboxilato de diisopropilo mientras la temperatura de la reacción subía hasta $+5^{\circ}\text{C}$. Después de 5 minutos de agitación adicional, la mezcla se trató con una disolución de 19,7 g de la mezcla de producto ILi de la etapa precedente en 35 ml de THF. Después de 10 minutos de agitación adicional, la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h, se enfrió y se evaporó a vacío. El residuo se transfirió a un embudo de separación con un total de 450 ml de metanol-agua (1:1), y la mezcla de 2 fases se extrajo con hexano (7 x 225 ml). Los extractos combinados se lavaron con 20 ml de metanol-agua (1:1) y después salmuera; se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y el filtrado se evaporó a vacío. El residuo se recogió en 400 ml de hexano, se filtró con succión a través de una almohadilla de 30 g de gel de sílice, y la almohadilla de sílice se eluyó con 210 ml adicionales de EtOAc-hexano (1:9). Los filtrados combinados se evaporaron *a vacío* para dar 12,8 g (69%) del compuesto del título ILj en forma de una mezcla gomosa de 2 epímeros, contaminada con una pequeña cantidad de hidrazinadicarboxilato de diisopropilo, pero adecuado para las reacciones posteriores.

El epímero S puro de la etapa precedente se trató de la misma forma para proporcionar el epímero S puro del compuesto del título. RMN H^1 (CDCl_3) δ 4,21 y 4,09 (s+s, 1), 3,75 (s, 3), 3,65 (m, 1), 3,41 (m, 1), 1,44 y 1,39 (s+s, 9), 1,38 (m, 2), 1,03 (s, 3), 0,98 y 0,97 (s+s, 3). Análisis elemental: teórico C 62,43, H 8,61, N 5,20; encontrado C 61,82, H 8,67, N 5,15.

El epímero R de la etapa precedente se trató de la misma forma para proporcionar el epímero R del compuesto del título: RMN H^1 (CDCl_3) δ 4,49 y 4,30 (d+d, 1), 3,62 (s, 3), 3,59 (m, 1), 3,42 (m, 1), 1,65 (m, 1), 1,45 y 1,39 (s+s, 9), 1,36 (m, 1), 1,10 (s, 3), 0,99 (s, 3).

Etapa 10

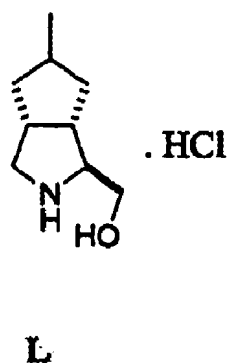


Una disolución de 14,5 g de la mezcla de productos ILj de la etapa precedente y 270 ml de 1,4-dioxano se trató con 135 ml de LiOH acuoso 1 M y la mezcla se calentó a 80°C durante 4 h. La mezcla se enfrió, se concentró a vacío hasta la mitad de volumen, se diluyó con 200 ml de agua, y se extrajo con hexano. La capa acuosa se enfrió y se trató con una disolución de 9 ml de HCl 12 N en 50 ml de KH_2PO_4 acuoso al 10%, y después se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y el filtrado se evaporó a vacío para dar el compuesto del título IL como 10,8 g (78%) de goma, >90% química y diastereoisómericamente puro por PMR, y adecuado para la síntesis posterior: RMN H^1 (CDCl_3) δ 4,20 y 4,11 (s+s, 1), 3,62 (m, 1), 3,44 (m, 1), 1,68 y 1,45 (d+desconocido, 1), 1,46 y 1,40 (s+s, 9), 1,45 (m oculto en 1,46, 1), 1,07 (s+s, $\square\square=2$ Hz, 3), 0,99 y 0,95 (s+s, 3).

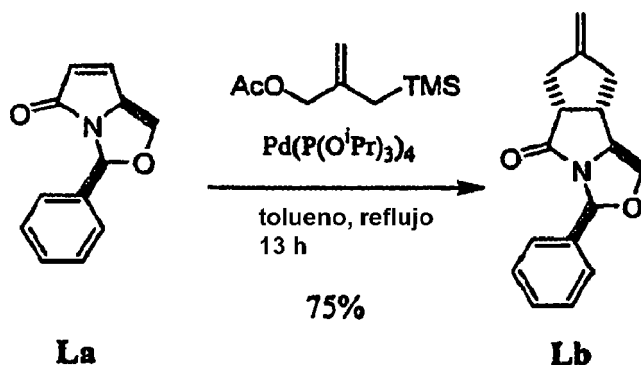
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios IL siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo L

Preparación del producto intermedio de fórmula L

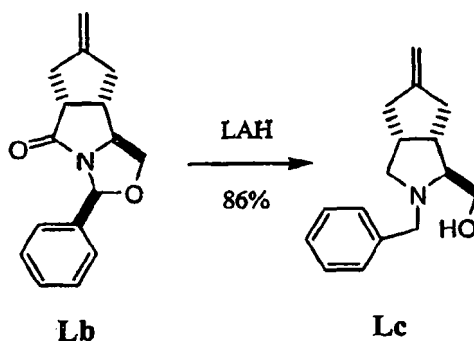


Etapa 1



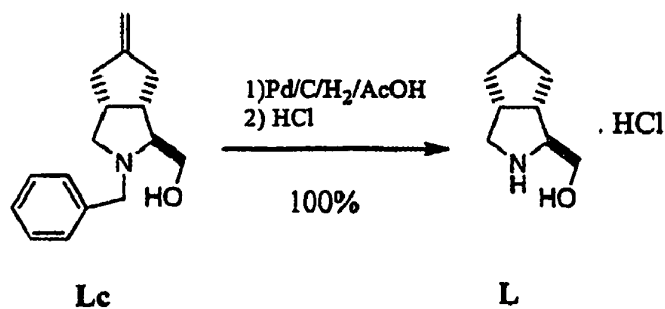
A una mezcla del compuesto La (10,0 g, 50,0 mmol), acetato de 2-[(trimetilsilil)metil]-2-propanen-1-ilo (22,0 g, 118 mmol) y triisopropilfosfito (18,6 g, 89,2 mmol) en tolueno (50 ml) se añadió acetato de paladio(II) (2,5 g, 11 mmol) con agitación a temperatura ambiente en atmósfera de Ar. Se calentó a 120°C (baño de aceite) durante 13 h. El enfriamiento a temperatura ambiente seguido de cromatografía ultrarrápida (CH_2Cl_2 : hexano = 4:1) proporcionó 9,55 g de compuesto Lb (75%). $[\alpha]^{25} = +132^\circ$ (CHCl_3). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$ (MH⁺): 256,1338; Encontrado: 256,1340.

Etapa 2



A una disolución del compuesto Lb (2 g, 7,8 mmol) en THF anhidro (50 ml) se añadió LAH (1,13 g, 28,9 mmol) en pequeñas porciones a 0°C. La mezcla después se mantuvo a reflujo durante 6 h antes de enfriar a 0°C. Se añadieron a la reacción con cuidado 2 ml de H_2O , 2 ml de NaOH al 15% y 6 ml de H_2O . El sólido se separó por filtración y el filtrado concentrado se cromatografió (MeOH en CH_2Cl_2 al 2%) para dar 1,33 g del compuesto Lc (70%). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}$ (MH⁺): 244,1701; Encontrado: 244,1697.

Etapa 3

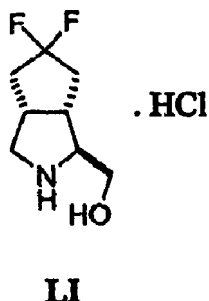


Una mezcla del compuesto Lc (1,33 g, 5,46 mmol) y Pd sobre carbón al 10% (1,3 g) en ácido acético (20 ml) se hidrogenó a 4,3 kg/cm² durante 3 días. El catalizador se separó por filtración y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se disolvió en 20 ml de HCl 4 N en dioxano y la disolución se evaporó hasta sequedad. Se obtuvieron 1,04 g (100%) del compuesto L como una mezcla 1:1 de los dos epímeros HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}$ (MH⁺): 156,1388; Encontrado: 156,1390.

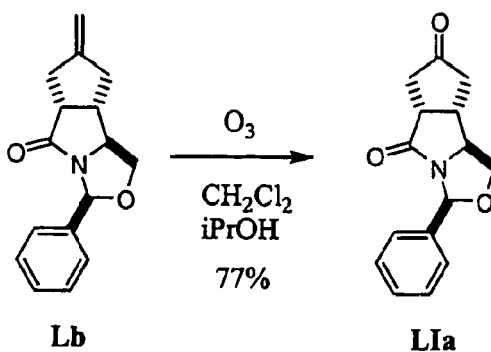
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios L siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

5 Ejemplo LI

Preparación del producto intermedio de fórmula LI

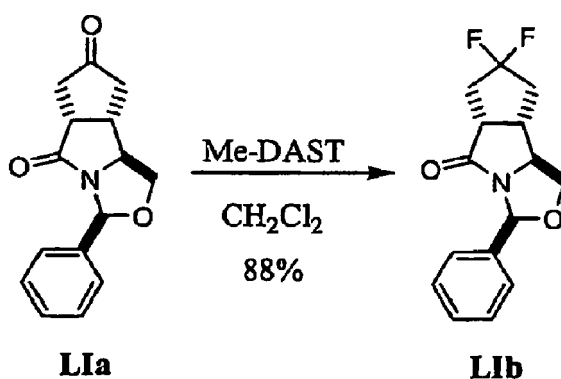


Etapa 1



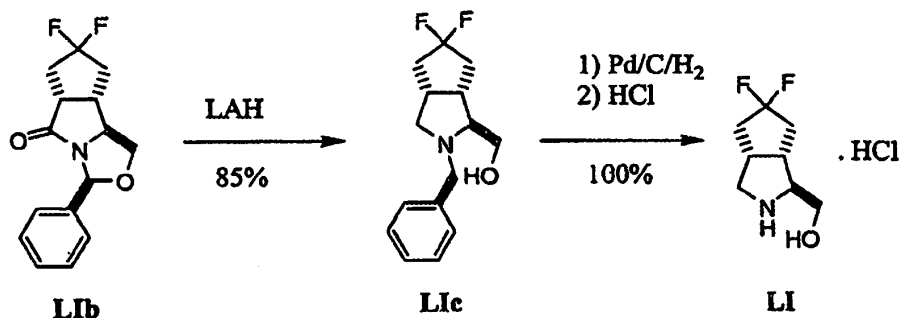
El compuesto Lb (2,6 g, 10,2 mmol) en una mezcla de CH₂Cl₂ (30 ml) y iPrOH (10 ml) se ozonizó a -78°C hasta que persistió un color azulado (aproximadamente 40 minutos). Se añadió sulfuro de dimetilo (10 ml) y la disolución se agitó a temperatura ambiente a lo largo de una noche. El disolvente se separó a vacío y el residuo se repartió entre agua y EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (MeOH en CH₂Cl₂ al 2%) proporcionó 2,32 g del compuesto Lla (77%). MS (MH⁺, FAB) = 257.

Etapa 2



A una disolución del compuesto Lla (0,86 g, 3,35 mmol) en CH₂Cl₂ seco (30 ml) se añadió trifluoruro de dimetilaminoazufre (metil-DAST, 2,23 g, 16,8 mmol) a temperatura ambiente. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Se añadió con cuidado a una mezcla de hielo y disolución saturada de NaHCO₃ y se extrajo con EtOAc. La disolución de EtOAc se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se cromatografió (MeOH en CH₂Cl₂ al 0,8%) para dar el compuesto Llb (0,82 g, 88%). HRMS (FAB) Calculado para C₁₅H₁₈NO₂F₂ (MH⁺): 280,1149; Encontrado: 280,1152.

Etapa 3

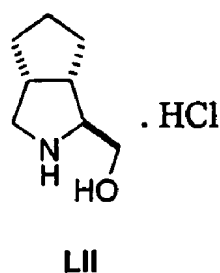


Siguiendo los mismos procedimientos descritos para la preparación del compuesto L, desde Lb a L, 0,44 g de Lb proporcionaron 0,31 g de LI (92% en 2 etapas). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NOF}_2$ (MH⁺): 178,1043; Encontrado: 178,1042.

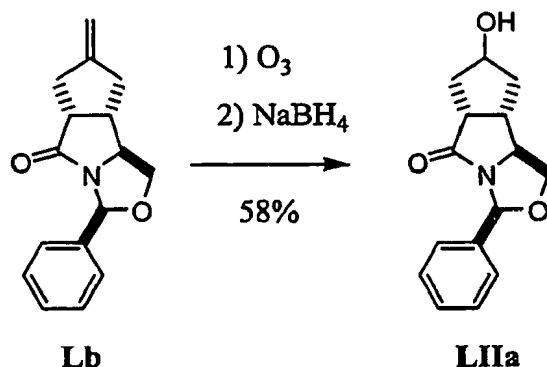
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LI siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LII

Preparación del producto intermedio de fórmula LII

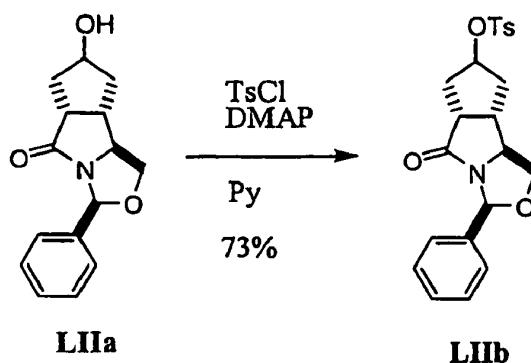


Etapa 1



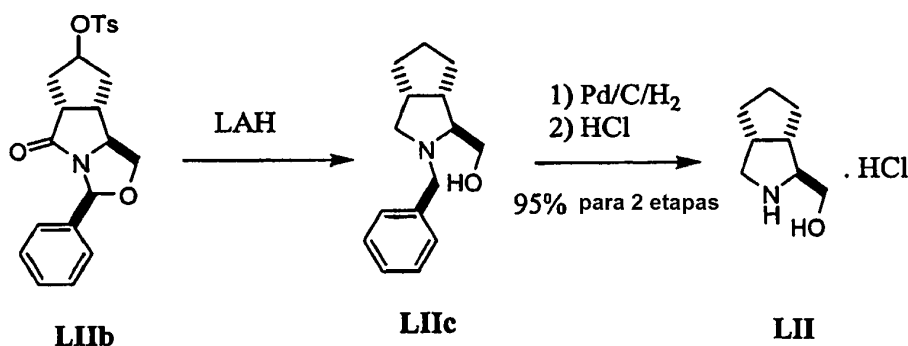
El compuesto Lb (3,74 g, 14,7 mmol) en CH_2Cl_2 (30 ml) se ozonizó a -78°C hasta que persistió un color azulado (aproximadamente 60 minutos). Se purgó con N_2 durante 5 min, y se añadió a una disolución fría de NaBH_4 (4,44 g, 117 mmol) en 50 ml de EtOH/ H_2O (1:1). Se agitó durante 12 h a t.a. y después se extrajo 2 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se cromatografió (MeOH en CH_2Cl_2 al 2%) para dar el compuesto LIIa (2,19 g, 58%). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NO}_3$ (MH⁺): 260,1287; Encontrado: 260,1283.

Etapa 2



A una disolución del compuesto LIIa (2,18 g, 8,40 mmol) en piridina seca (50 ml) se añadieron cloruro de toluenosulfonilo (3,2 g, 16,8 mmol) y N,N-dimetilaminopiridina (1,03 g, 8,40 mmol). Se agitó a t.a. durante 3 días y se concentró a vacío. El residuo se repartió entre ácido cítrico al 3% y EtOAc. La capa orgánica se lavó con ácido cítrico al 3% otra vez, seguido de salmuera. Después de separar el disolvente, el residuo se cromatografió para proporcionar el compuesto LIIb (2,54 g, 73%). HRMS (FAB) Calculado para $C_{22}H_{24}SNO_5$ (MH⁺): 414,1375; Encontrado: 414,1378.

Etapa 3

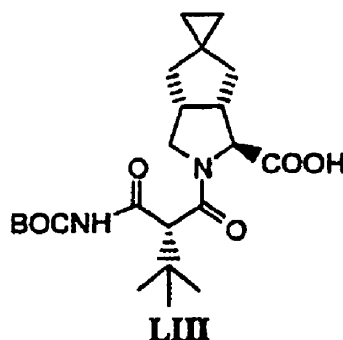


Siguiendo los mismos procedimientos descritos para la preparación del compuesto L, desde Lb a L, 2,53 g de LIIb proporcionaron 1,03 g de LII (95% en 2 etapas). HRMS (FAB) Calculado para $C_8H_{16}NO$ (MH⁺): 142,1232; Encontrado: 142,1233.

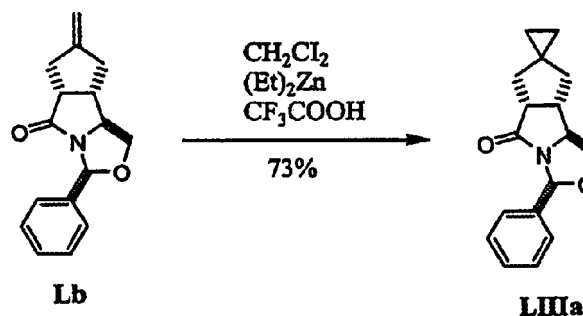
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LIII

Preparación del producto intermedio de fórmula LIII

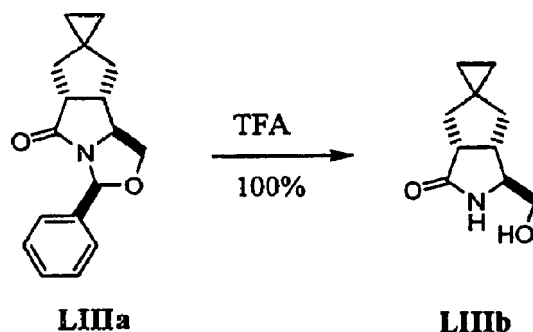


Etapa 1



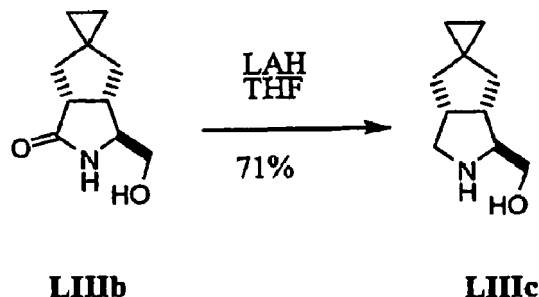
A 7,84 mmol de dietil-cinc (1 N en hexano) en CH_2Cl_2 seco (30 ml) se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (0,893 g, 7,84 mmol) a 0°C . Tras agitar durante 20 min adicionales, se añadió diyodometano (2,10 g, 7,84 mmol) seguido del compuesto Lb (1 g, 3,92 mmol) en 5 ml de CH_2Cl_2 en 20 min. Se quitó el baño de hielo y la mezcla se agitó a t.a. durante 14 h. La reacción se inactivó con disolución saturada de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc. La disolución de EtOAc se lavó con disolución saturada de Na_2SO_4 , seguido de salmuera y se concentró a vacío. El residuo se cromatografió para proporcionar el compuesto LIIIa (4,61 g, 73%). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NO}_2$ (MH⁺): 270,1494; Encontrado: 270,1497.

Etapa 2



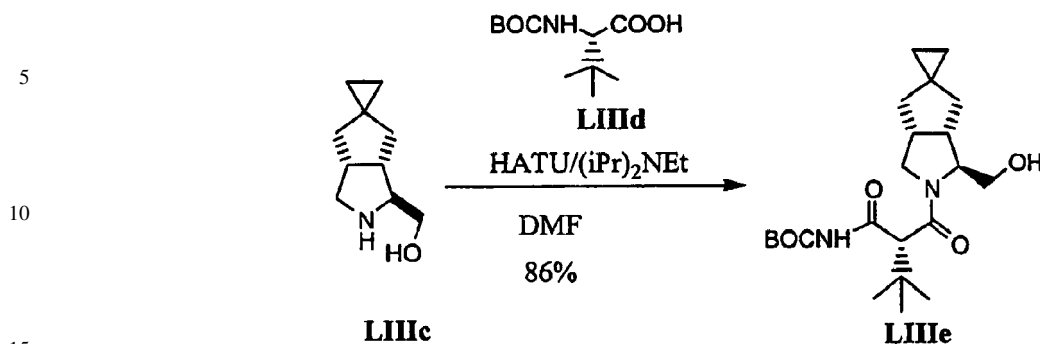
Se añadió ácido trifluoroacético (TFA, 10 ml) a una disolución del compuesto LIIIa (4,6 g, 17,1 mmol) en THF (20 ml) y H_2O (20 ml) a t.a. Después de agitar durante una noche, se separaron los disolventes a vacío. El residuo se repartió entre disolución saturada de NaHCO_3 y EtOAc. La fase acuosa se volvió a extraer con EtOAc 5 veces. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se cromatografió para proporcionar el compuesto LIIIb (3,1 g, 100%). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{NO}_2$ (MH⁺): 182,1181; Encontrado: 180,1182.

Etapa 3



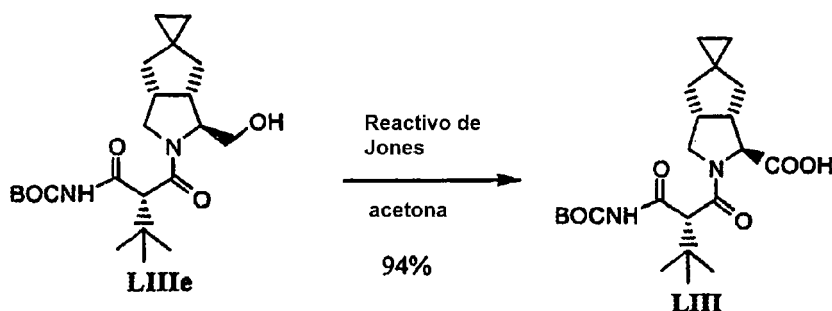
Se añadió LAH (1,76 g, 46,3 mmol) al compuesto LIIIb en THF seco (50 ml) en porciones pequeñas a 0°C . La mezcla después se mantuvo a reflujo durante 6 h antes de enfriar a 0°C . Se añadieron a la reacción con cuidado 2 ml de H_2O , 2 ml de NaOH al 15% y 6 ml de H_2O . El sólido se separó por filtración y el filtrado concentrado se cromatografió (MeOH en CH_2Cl_2 al 30% con NH_4OH al 1%) para dar 0,39 g del compuesto LIIIc (71%). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{NO}$ (MH⁺): 168,1388; Encontrado: 168,1389.

Etapa 4



A una mezcla del compuesto LIIIc (0,5 g, 2,99 mmol), LIIId (0,69 g, 2,99 mmol) y HATU (1,14 g, 3 mmol) en DMF seca (20 ml) se añadió N, N-diisopropiletilamina (1 ml, 5,89 mmol) a 0°C. Se agitó a t.a. durante 3 h. La mezcla de reacción se repartió entre H₂O y EtOAc. La capa orgánica se lavó sucesivamente con ácido cítrico al 3%, disolución saturada de NaHSO₄ y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto LIIIe (0,978 g, 86%) así obtenido era suficientemente puro para la siguiente etapa. HRMS (FAB) Calculado para C₂₁H₃₇N₂O₄ (MH⁺): 381,2910; Encontrado: 381,2749.

Etapa 5

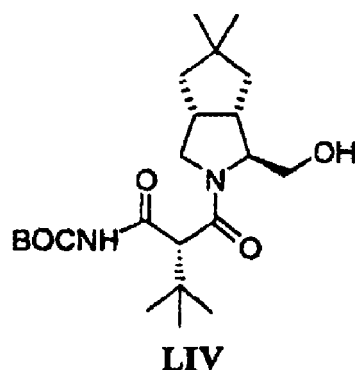


A una disolución del compuesto LIIIe (0,49 g, 1,29 mmol) en acetona (20 ml) se añadió reactivo de Jones (2 ml de disolución 2,5 M, 5 mmol) a 0°C. Se agitó a 0°C durante 20 min, después a t.a. durante 30 h. A esta mezcla se añadieron sucesivamente EtOAc (50 ml), Na₂SO₄ anhidro (3 g), celita (2 g) e iPrOH (1 ml). Se agitó enérgicamente durante 20 min. El sólido se separó por filtración. El filtrado se lavó con ácido cítrico al 3%, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. El residuo se cromatografió (MeOH en CH₂Cl₂ al 3%, ácido acético al 0,5%) para proporcionar LIII (0,48 g, 94%). HRMS (FAB) Calculado para C₂₁H₃₅N₂O₅ (MH⁺): 395,2546; Encontrado: 395,2543.

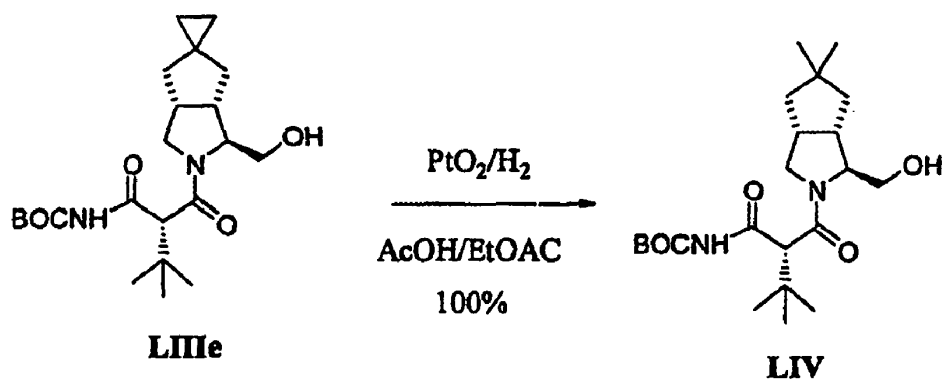
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LIII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LIV

Preparación del producto intermedio de fórmula LIV



Etapa 1

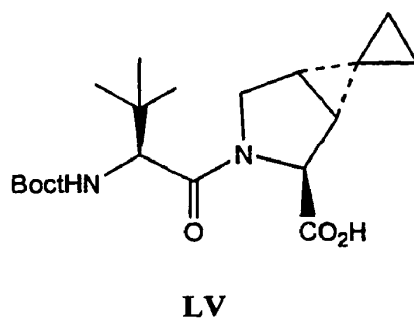


El compuesto LIIIe (0,41 g, 1,08 mmol) en una mezcla de disolventes de AcOH (10 ml) y EtOAc (20 ml) que contenía PtO_2 (1 g) se hidrogenó a 1 atm de H_2 durante 3 h. El catalizador se separó por filtración y el filtrado se concentró a vacío para proporcionar el compuesto LIV (0,41 g, 100%). HRMS (FAB) Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_5$ (MH⁺): 383,2910; Encontrado: 383,2906.

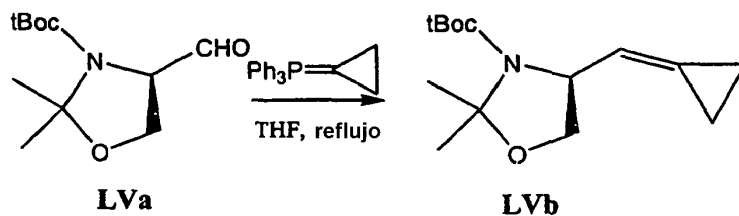
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LIV siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LV

Preparación del producto intermedio de fórmula LV

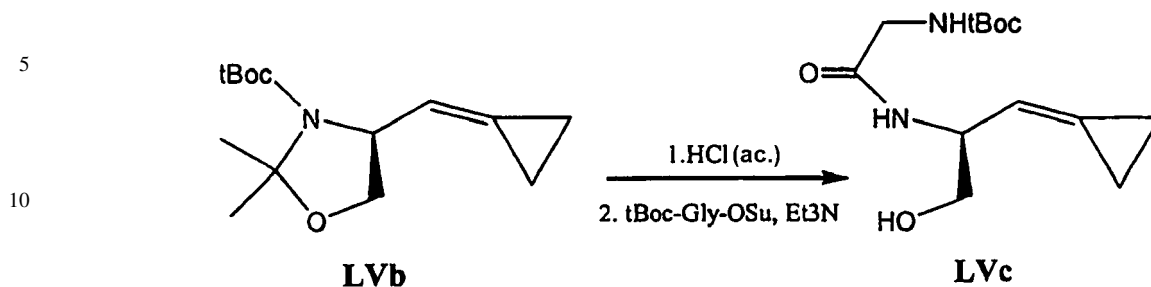


Etapa 1



Se añadió bis(trimetilsilil)amiduro potásico (158 ml de una disolución 0,5 M en tolueno; 79 mmol) a una suspensión agitada de bromuro de ciclopropiltrifenilfosfonio (33,12 g; 86,4 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (130 ml) y la mezcla naranja resultante se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante un periodo de 1 h, antes de añadir el aldehído LVa (9,68 g; 42,2 mmol) en THF (8 ml). La reacción después se mantuvo a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante un periodo de 2 h. Después de enfriar, se añadieron metanol, éter dietílico y sal de Rochelle. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó y se concentró a presión reducida. El producto de reacción bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc-hexano (1:99) a EtOAc-hexano (5:95) para proporcionar el alqueno LVb (8,47 g) en forma de un aceite amarillo.

Etapa 2

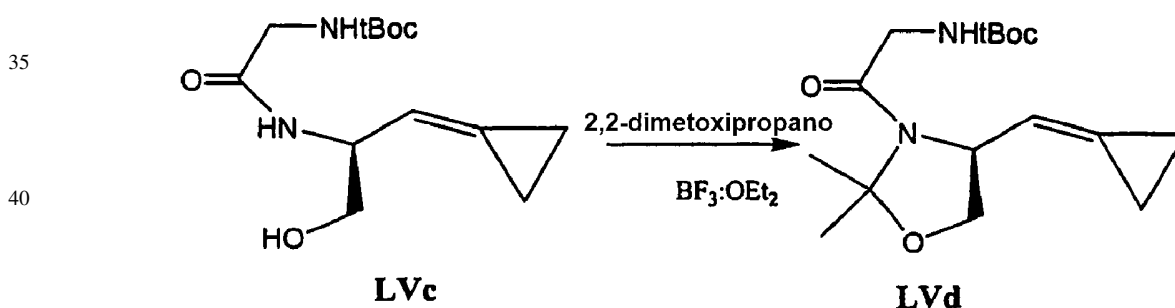


15 Una disolución de HCl 1 M en MeOH/MeOAc se preparó añadiendo gota a gota 14,2 ml de cloruro de acetilo en metanol frío y diluyendo la disolución resultante hasta 200 ml a temperatura ambiente.

20 El carbamato LVb (9,49 g; 37,5 mmol) se disolvió en metanol (12 ml) y se añadió a HCl 1 M en MeOH/MeOAc (150 ml) mientras se enfriaba en un baño de hielo. La mezcla resultante se mantuvo a esta temperatura durante 1 h, después se quitó el baño de hielo y se continuó agitando durante una noche a temperatura ambiente. Los productos volátiles se separaron a presión reducida para dar un aceite amarillo que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

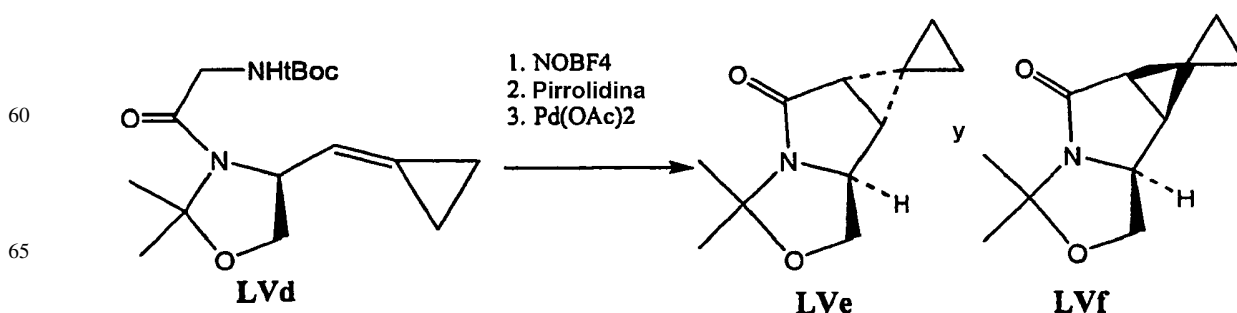
25 El aceite amarillo se disolvió en una mezcla de THF (30 ml) y MeOH (20 ml) y se trató con trietilamina (15 ml; 108 mmol) hasta que la disolución tenía un pH=9-10. Después de ponerla en un baño de hielo, la mezcla se trató con N-Boc-Gly-OSu (11,22 g; 41 mmol). Se quitó el baño de hielo y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los productos volátiles se separaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando metanol (1-3%) en diclorometano proporcionando la amida deseada LVc (9,09 g).

Etapa 3



45 El alcohol LVc (9,09 g; 33,6 mmol) se disolvió en acetona (118,5 ml) y se trató con 2,2-dimetoxipropano (37,4 ml; 304 mmol) y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,32 ml; 2,6 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante un periodo de 5,5 h. La disolución de la reacción se trató con unas gotas de trietilamina y los productos volátiles se separaron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc en hexanos al 5-25% para proporcionar el N,O-acetal LVd (8,85 g).

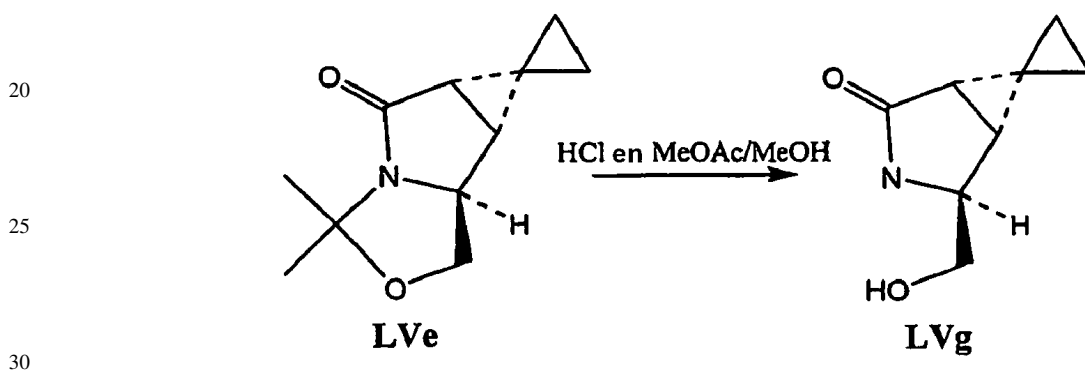
Etapa 4



El carbamato LVd (8,81 g; 28,4 mmol) se disolvió en acetonitrilo (45 ml) y la disolución se enfrió a -40°C en atmósfera de nitrógeno. Se añadieron piridina (6,9 ml; 85,3 mmol) seguido de tetrafluoroborato de nitroso (6,63 g; 56,8 mmol) y la mezcla de reacción resultante se mantuvo por debajo de 0°C hasta que la TLC que no quedaba material de partida (aprox. 2,25 h). Se añadió pirrolidina (20 ml; 240 mmol), se quitó el baño de enfriamiento y la agitación se continuó a temperatura ambiente durante 1 h y después se separaron los productos volátiles a presión reducida. El residuo se pasó rápidamente por una almohadilla de gel de sílice para proporcionar un aceite amarillo.

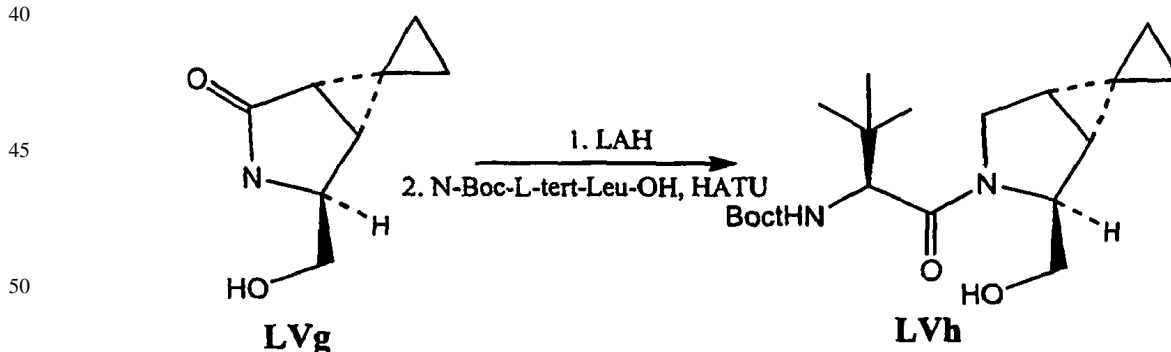
El aceite amarillo se disolvió en benceno anhidro (220 ml) y se añadió acetato de paladio (0,317 g; 1,41 mmol) antes de calentar la mezcla resultante a reflujo, en atmósfera de nitrógeno durante un periodo de 1,5 h. Después de enfriar, los productos volátiles se separaron a presión reducida y el residuo oscuro se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc-hexano (1:4) para proporcionar i) la trans-pirrolidinona LVe (1,94 g) seguido de ii) la cis-pirrolidinona LVf (1,97 g).

Etapa 5



Se añadió HCl 1 M en MeOAc/MeOH (10 ml) recién preparado (como se ha descrito antes) al N,O-acetal LVe y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se separó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando MeOH en diclorometano al 0-4% como eluyente para proporcionar el alcohol LVg deseado (1,42 g), un aceite amarillo.

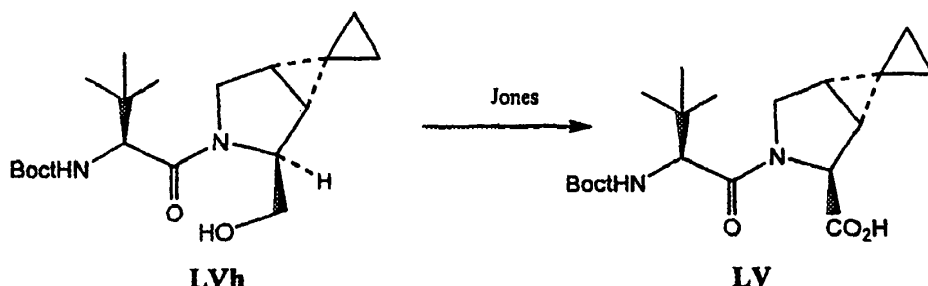
Etapa 6



A una disolución de la lactama LVg (1,29 g; 8,44 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (55 ml) se añadió hidruro de litio y aluminio (2,40 g; 63,2 mmol) y la mezcla resultante se mantuvo a reflujo durante 8 h. Después de enfriar, se añadieron agua, seguido de NaOH ac. al 15% y la mezcla resultante se filtró a través de celita, y el sólido se lavó bien con THF y MeOH. El disolvente se separó a presión reducida y el residuo se volvió a disolver en diclorometano, se secó y se concentró a presión reducida para proporcionar la pirrolidina, usada sin purificación.

Se añadió base de Hunigs (4,5 ml; 25,8 mmol) a una mezcla de N-Boc-L-terc-Leu-OH (1,76 g; 7,6 mmol), la pirrolidina bruta y HATU (2,89 g; 7,6 mmol) en diclorometano anhidro (50 ml) a -60°C, en atmósfera de nitrógeno. La reacción resultante se dejó llegar a temperatura ambiente lentamente, durante una noche. Se añadió EtOAc y la disolución amarilla se lavó con disolución acuosa diluida de HCl, disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico, agua y salmuera. La capa orgánica se secó y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexanos (1:3) para dar la amina LVh deseada (2,00 g).

Etapa 7

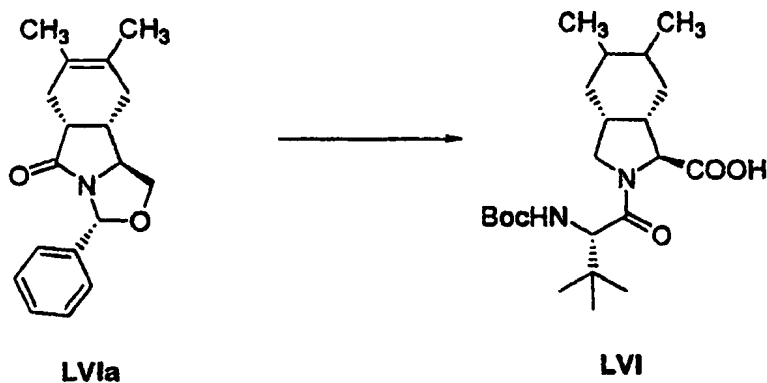


El alcohol LVh (2,00 g; 5,67 mmol) se disolvió en acetona (116 ml) y se enfrió en un baño de hielo durante 10 min. Esta disolución después se añadió al reactivo de Jones enfriado (14,2 ml; aprox. 2 mmol/ ml) y la mezcla resultante se agitó a 5°C durante 0,5 h y se quitó el baño de enfriamiento. La reacción se agitó durante 2 h adicionales a temperatura ambiente, antes de añadir sulfato sódico (28,54 g), celita (15 g) en EtOAc (100 ml). Se añadió isopropanol (15 ml) después de 1 min y después se agitó durante 10 min adicionales y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida, proporcionando un aceite marrón que se disolvió en EtOAc. Esta disolución se lavó con agua, ácido cítrico ac. al 3%, salmuera, se secó y se concentró para proporcionar el ácido carboxílico LV deseado (1,64 g) en forma de un sólido blanco.

NOTA: Alternativamente, el ácido XXIVc, el ácido XXVIg y el compuesto XXVIIc, se podían sintetizar siguiendo el procedimiento mencionado antes con buenos rendimientos. Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LV siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LVI

Preparación del producto intermedio de fórmula LVI

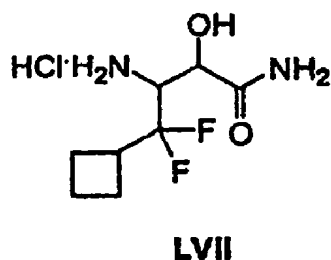


La síntesis del compuesto LVla se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito por Bailey, J. H.; Cherry, D.T.; Crapnell, K.M.; Moloney, M.G.; Shim, S.B.; Bamford, M.J.; Lamont, R.B., *Tetrahedron* (1997), 53, 11731. Este se convirtió en LVI de forma similar al procedimiento para LIII (de la etapa 2 a la etapa 5).

Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LVI siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LVII

Preparación del producto intermedio de fórmula LVII

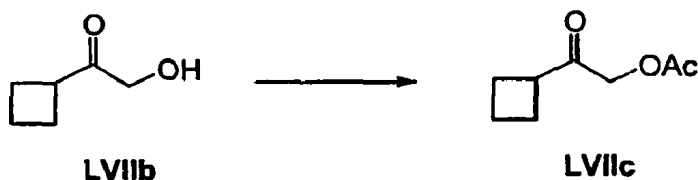


Etapa 1



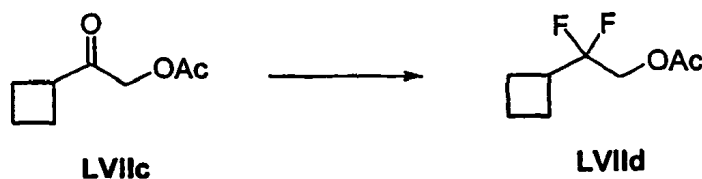
30 A la disolución agitada de TFA (22,6 ml, 305 mmol), agua (120 ml) y [bis(trifluoroacetoxi)yodo]benceno (131 g, 305 mmol) en acetonitrilo (600 ml) se añadió la ciclobutilmetilcetona LVIIa (15,0 g, 153 mmol). La disolución resultante se calentó a reflujo y se agitó durante 4 h. El acetonitrilo se separó a vacío. Se añadió agua (120 ml) y la mezcla se extrajo con éter dietílico (2 X 500 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida con Et_2O /hexano al 30% para dar 8,82 g del compuesto LVIIb (51%).

Etapa 2



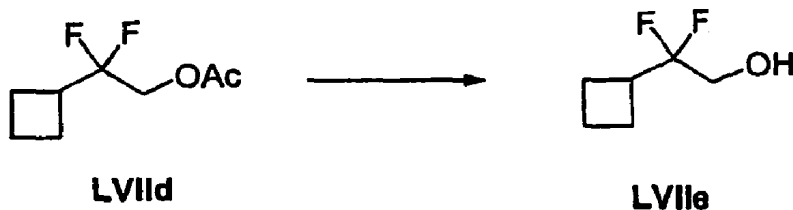
50 A la disolución del compuesto LVIIb (1,4 g, 12,3 mmol), anhídrido acético (1,3 ml, 13,5 mmol) y trietilamina (3,4 ml, 24,5 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se añadió DMAP (0,67 g, 5,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 4 h antes de añadir H_3PO_4 al 5% (50 ml). Después de separar las capas, la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 X 50 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a vacío hasta 2,0 g de producto LVIIc bruto.

Etapa 3



65 La mezcla del compuesto LVIIc (1,9 g, 12,2 mmol) y DAST (trifluoruro de dietilaminoazufre, 3,0 ml, 22,3 mmol) se calentó a 50°C y se agitó durante 2 h. Después la mezcla se vertió lentamente en hielo-agua (50 ml), y se extrajo con éter dietílico (3 X 50 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida con Et_2O /hexano al 10-40% para dar 0,62 g del compuesto LVIIId (29%) y 0,68 g del material de partida LVIIc.

Etapa 4



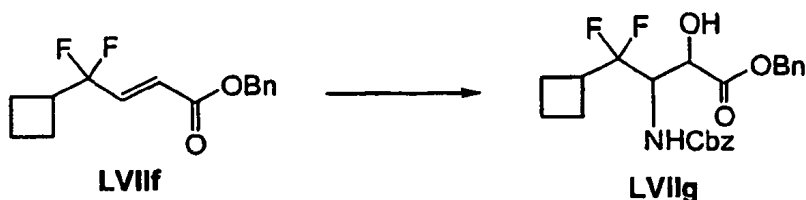
La mezcla del compuesto LVIIId (3,10 g, 17,4 mmol) e hidróxido de litio (0,84 g, 34,8 mmol) en agua (10 ml) se agitó enérgicamente a t.a. durante 6 h antes de diluirla con agua (50 ml) y se extrajo con éter dietílico (3 X 60 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron con cuidado a vacío para dar el compuesto LVIIe, 2,68 g de producto bruto.

Etapa 5



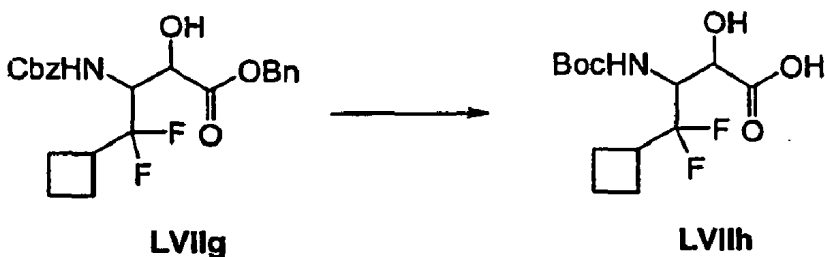
La disolución del compuesto LVIIe y reactivo de Dess-Martin en CH_2Cl_2 se agitó a t.a. durante 1 h antes de añadir $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Bn}$ y la agitación se continuó durante otras 20 h. Se añadió éter dietílico seguido de disolución saturada de NaS_2O_3 y disolución saturada de NaHCO_3 . Después de agitar durante 15 min, se separaron las capas. La disolución orgánica se lavó con disolución saturada de NaHCO_3 y salmuera, se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto LVIIIf deseado.

Etapa 6



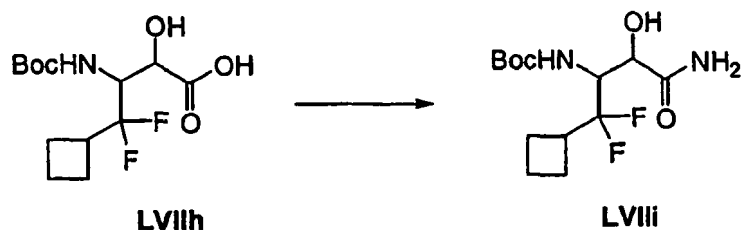
El compuesto LVIIIg se preparó como se ha descrito antes (etapa 4, ejemplo XXXXIII) con las cantidades adecuadas de reactivos.

Etapa 7



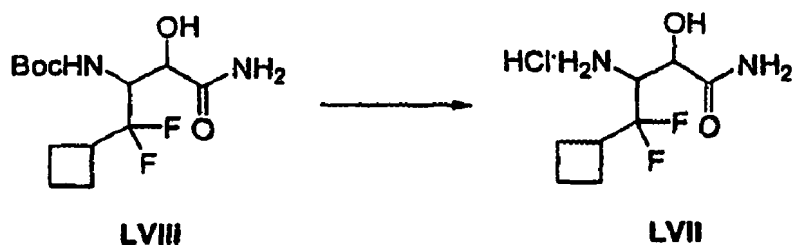
La hidrogenación catalítica del compuesto LVIIIf con Pd/C al 10% en MeOH seguido de tratamiento con Boc_2O en $\text{NaHCO}_3/\text{THF}/\text{agua}$ proporcionó el compuesto LVIIIf.

Etapa 8



La conversión del compuesto LVIIh en el compuesto LVIII sigue los procedimientos descritos previamente (etapa 5, ejemplo XXVIII).

Etapa 9

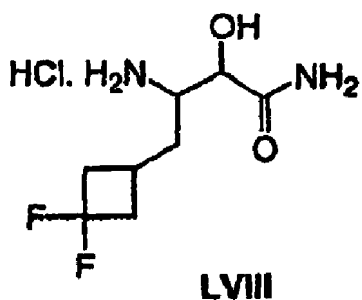


La conversión del compuesto LVIII en el compuesto LVII sigue los procedimientos descritos previamente (etapa 9, ejemplo XXIII).

Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LVII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LVIII

Preparación del producto intermedio de fórmula LVIII

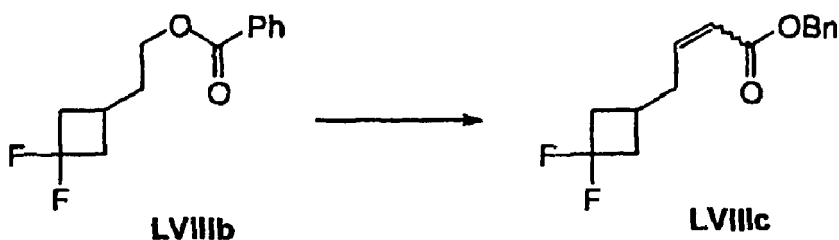


Etapa 1



A una disolución del compuesto LVIIIa [para la preparación del compuesto LVIIIa véase J. Ramnauth y E. Lee-Ruff, *Can. J. Chem.*, 2001, 79, 114-120] (3 g) en diclorometano (75 ml) se añadió DAST (trifluoruro de dietilaminoazufre, 9,1 ml) lentamente y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se vertió lentamente en hielo/disolución saturada de bicarbonato sódico (100/200 ml) con agitación. Se añadieron 200 ml de diclorometano y la capa orgánica se separó y se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico fría, salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. La purificación en cromatografía (EtOAc/hexanos 5/95) proporcionó 2,59 g del compuesto LVIIIb.

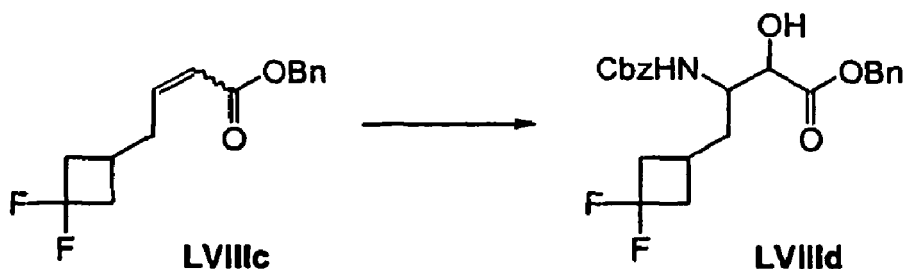
Etapa 2



El compuesto LVIIIb (3,42 g) se disolvió en THF/MeOH (1/1, 50 ml). A este se añadió una disolución de carbonato de potasio (1,97 g) en agua (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y después se almacenó en el refrigerador (-10°C) durante una noche. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente a lo largo de 3 h, cuando la TLC indicó el consumo completo del compuesto LVIIIb. Se añadió salmuera (100 ml) a la mezcla de reacción y se extrajo con éter dietílico (3 100 ml). Las capas de éter se combinaron, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para proporcionar un residuo (2,77 g) que se procesó sin más purificación.

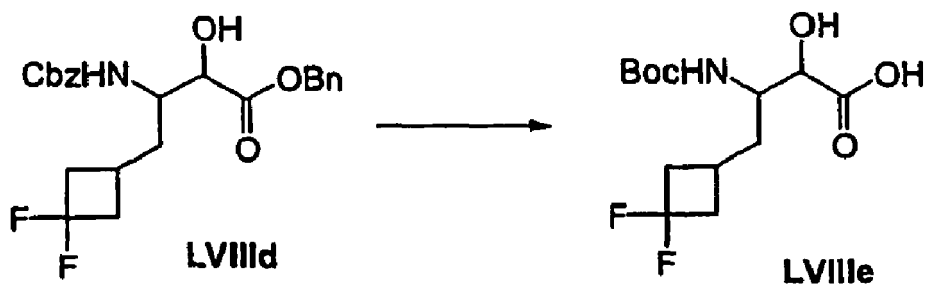
El residuo así obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 /DMSO (6/1, 140 ml). A esta disolución se añadió (trifenilfosforaniliden)acetato de bencilo (11,7 g) y después peryodinato de Dess-Martin (12,09 g, en 3 porciones iguales) con cuidado. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se inactivó con disolución de bicarbonato sódico fría (200 ml) y se diluyó con CH_2Cl_2 (100 ml). La capa de CH_2Cl_2 se separó y se lavó con disolución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10% (125 ml), disolución de NaHCO_3 (125 ml), agua (125 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando CH_2Cl_2 /hexanos 50/50 para proporcionar el compuesto requerido, LVIIIc (2,25 g).

Etapa 3



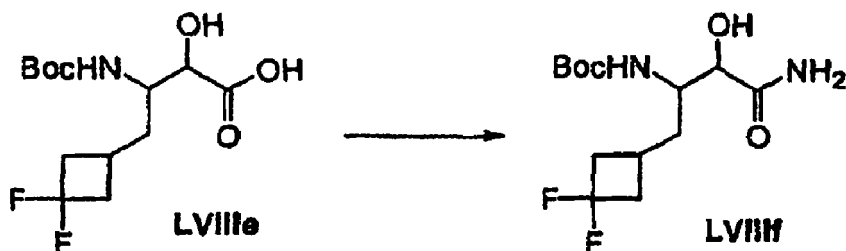
El compuesto LVIIId se preparó como se ha descrito antes (etapa 4, ejemplo XXXXIII) con las cantidades de reactivos adecuadas.

Etapa 4



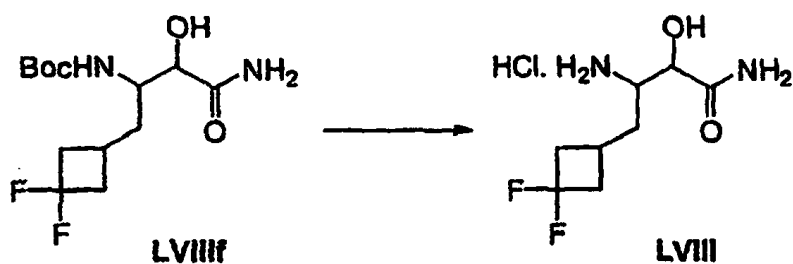
La hidrogenación catalítica del compuesto **LVIIIId** con Pd/C al 10% en MeOH seguido de tratamiento con Boc_2O en $\text{NaHCO}_3/\text{THF}/\text{agua}$ proporcionó el compuesto **LVIIIe**.

Etapa 5



La conversión del compuesto **LVIIIe** en el compuesto **LVIIIIf** sigue los procedimientos descritos previamente (etapa 5, ejemplo XXVIII).

Etapa 6

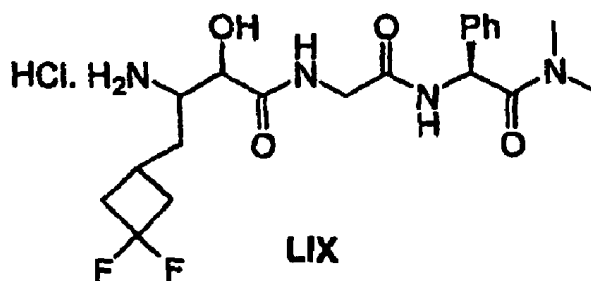


La conversión del compuesto **LVIIIIf** en el compuesto **LVIIIf** sigue los procedimientos descritos previamente (etapa 9, ejemplo XXIII).

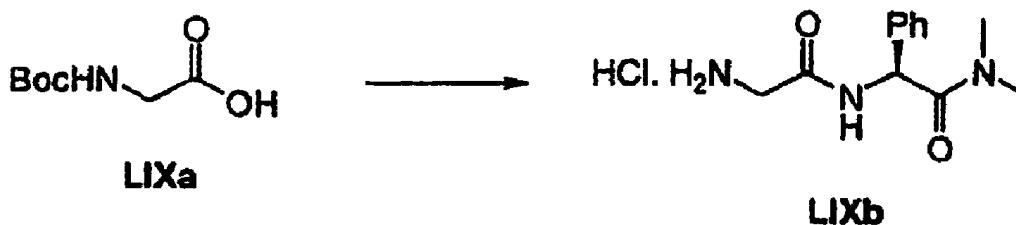
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios **LVIIIf** siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LIX

Preparación del producto intermedio de fórmula LIX

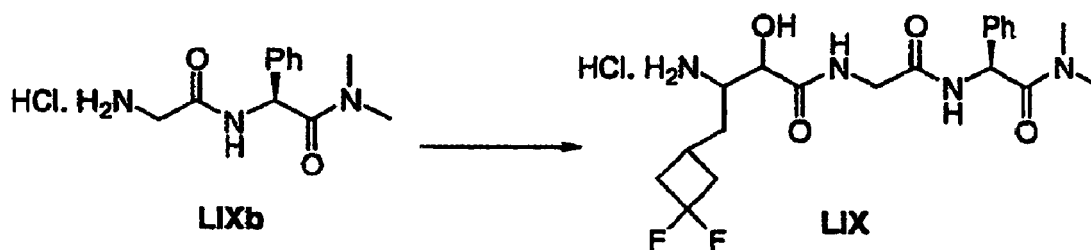


Etapa 1



La glicina protegida con N-Boc LIXa disponible en el comercio se hizo reaccionar con la amina XV del ejemplo XV de la forma descrita previamente en el ejemplo XXI, etapa 4. El producto intermedio resultante después se trató con HCl de la misma forma descrita previamente en el ejemplo XXIII, etapa 9, para proporcionar el producto LIXb.

Etapa 2

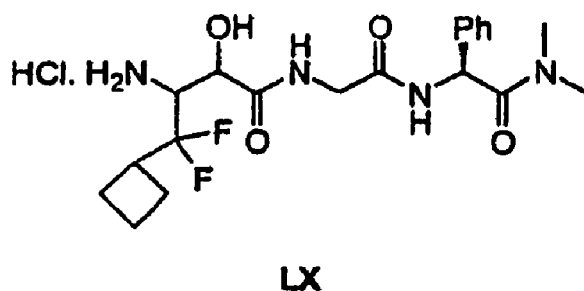


El ácido LVIIIe (de antes) se puede hacer reaccionar con el compuesto LIXb de la forma descrita previamente en el ejemplo XXI, etapa 4. El producto intermedio resultante después se puede tratar con HCl de la misma forma descrita previamente en el ejemplo XXIII, etapa 9, para proporcionar el producto LIX.

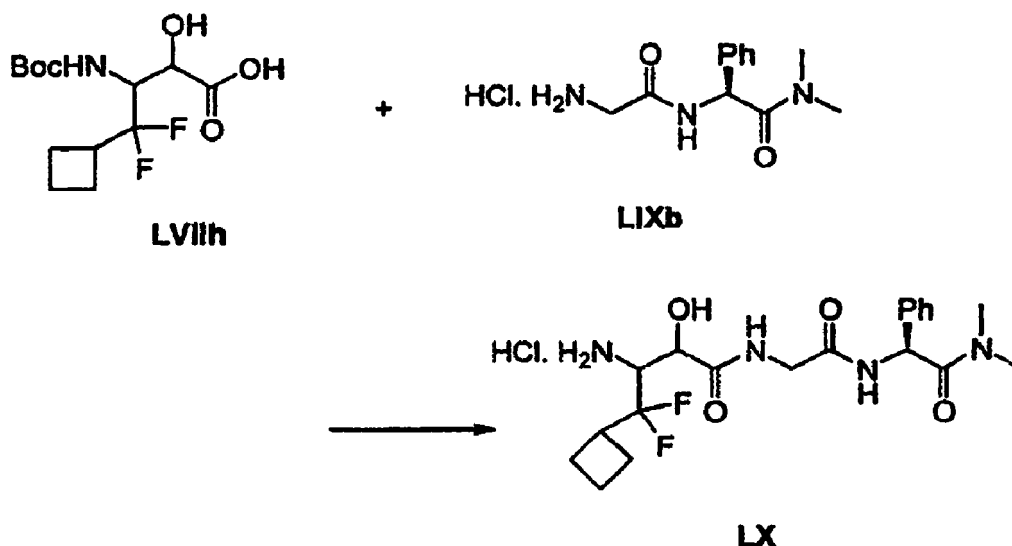
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LIX siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LX

Preparación del producto intermedio de fórmula LX



Etapa 1

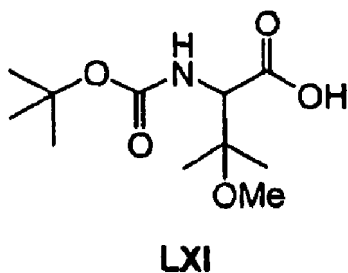


El ácido LVIIIh (de antes) se hizo reaccionar con el compuesto LIXb de la forma descrita previamente en el ejemplo XXI, etapa 4. El producto intermedio resultante después se trató con HCl de la misma forma descrita previamente en el ejemplo XXIII, etapa 9, para proporcionar el producto LX.

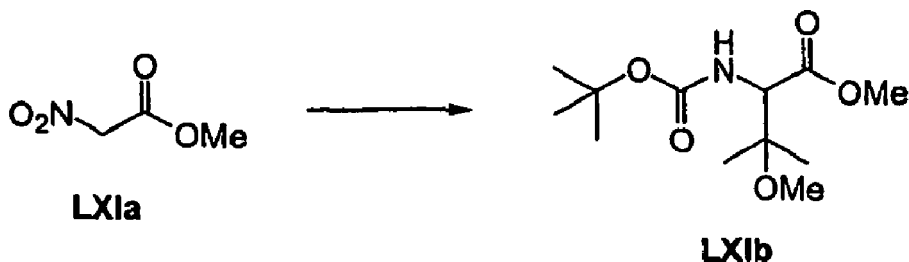
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LIX siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LXI

Preparación del producto intermedio de fórmula LXI



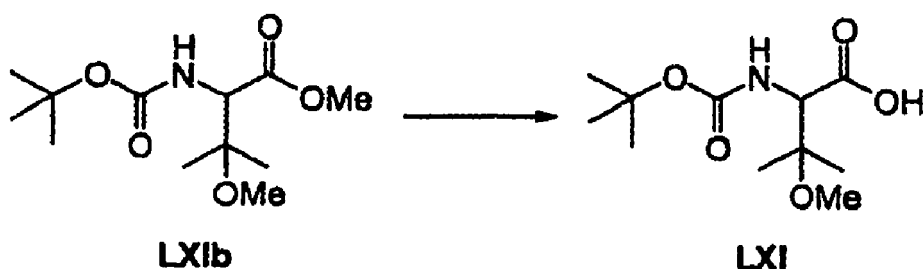
Etapa 1



A una disolución del nitroacetato de metilo LXIa (3 g) en benceno (15 ml) se añadió dimetoxipropano (6,2 ml) y anhídrido acético (4,87 ml). La mezcla se mantuvo a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se concentró. Se volvió a someter a las condiciones anteriores. El residuo después de concentrar se recogió en EtOAc (100 ml) y se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico fría (3 x 75 ml), salmuera (100 ml), se secó (Na₂SO₄) y se concentró.

El residuo de antes se recogió en MeOH (150 ml). Se añadieron Boc₂O (6 g) y Pd/C al 10% (150 mg) y la mezcla se hidrogenó usando un balón cargado de hidrógeno. Después de 24 horas, se añadió más Pd/C al 10% y se repitió el procedimiento. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de celita, se concentró y se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc/hexanos de 5/95 a 10/90 para proporcionar 2,2 g del compuesto LXIb.

Etapa 2

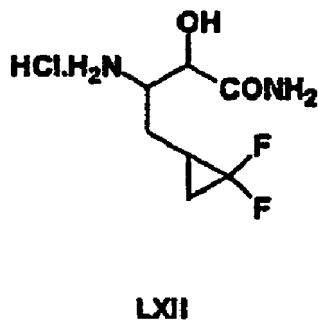


El compuesto LXIb se preparó a partir del compuesto LXI con rendimiento cuantitativo usando procedimientos descritos antes para la conversión del compuesto XXVIg en el XXVIh (véase el ejemplo XXVI).

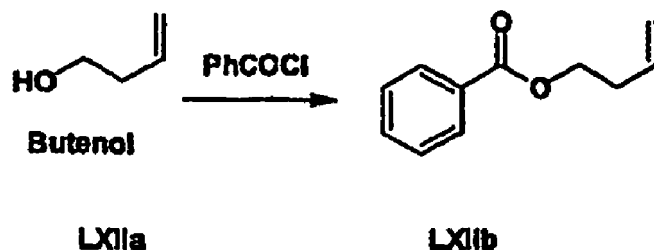
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando los productos intermedios LVIII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LXII

Preparación del producto intermedio de fórmula LXII

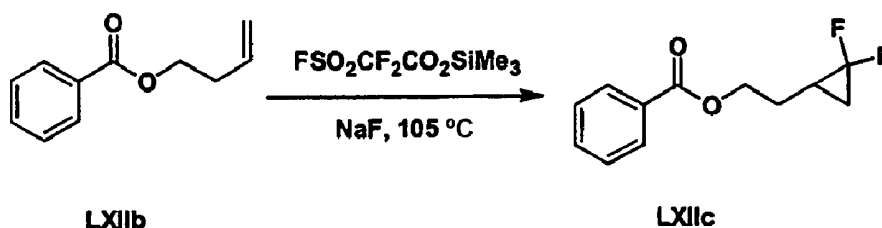


Etapa 1



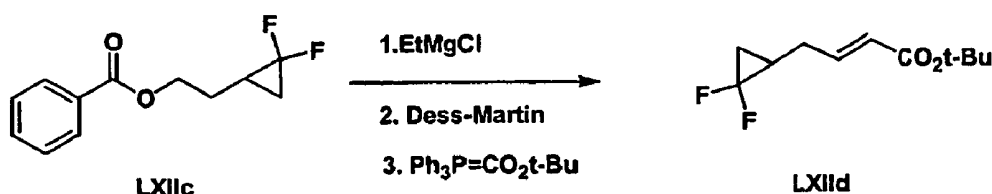
El butenol LXIIa se hizo reaccionar de la forma descrita previamente en el ejemplo preparativo XXXXIII, etapa 1, para proporcionar el producto LXIib.

Etapa 2



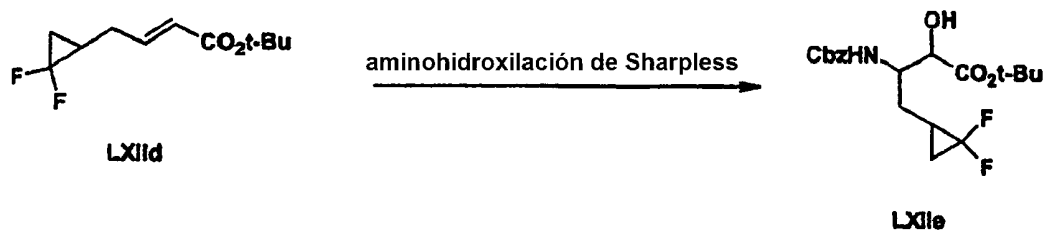
A 5,3 g (30 mmol) del producto LXIib de la etapa 1, se añadieron 25 mg de NaF. A 110°C, se añadieron mediante jeringuilla-bomba 1,6 equiv (48 mmol, 12 g) de fluorosulfonildifluoroacetato de TMS (TFDA) en 2 h. Después de 2 h, la reacción enfrió a t.a. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc, hexano, al 3%, sílice) proporcionó LXIic, el producto de la etapa 2, (4,93 g).

Etapa 3



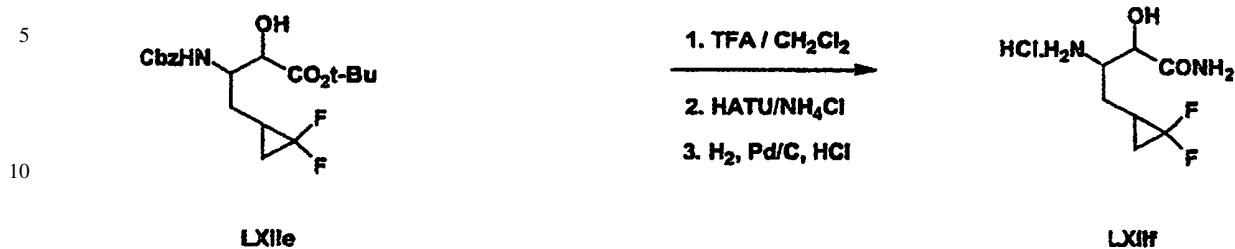
El producto de la etapa 2, LXIc (1 g), se trató de la forma descrita previamente en la etapa 3 del ejemplo preparativo XXXXIII para proporcionar LXIId, el producto de la etapa 3 (0,89 g).

Etapa 4



El producto de la etapa 3, LXIId (3,2 g), se trató de la forma descrita previamente en la etapa 4 del ejemplo preparativo XXXXIII para proporcionar el producto LXIle (1,4 g).

Etapa 5

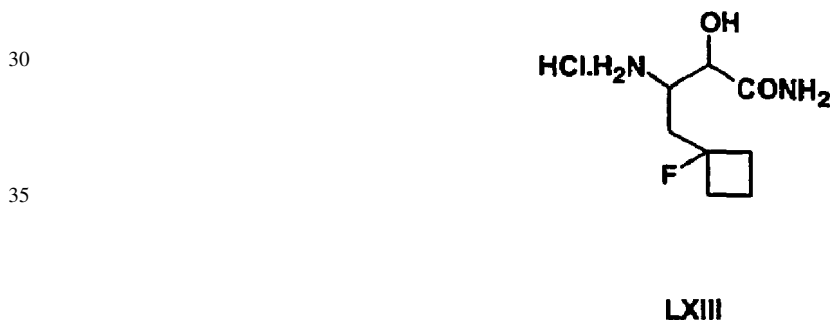


15 El producto de la etapa 4, LXIle (0,54 g), se trató de la forma descrita previamente en la etapa 5, después la etapa 6 y finalmente la etapa 7 del ejemplo preparativo XXXXIII, para proporcionar el producto LXIIf (0,24 g).

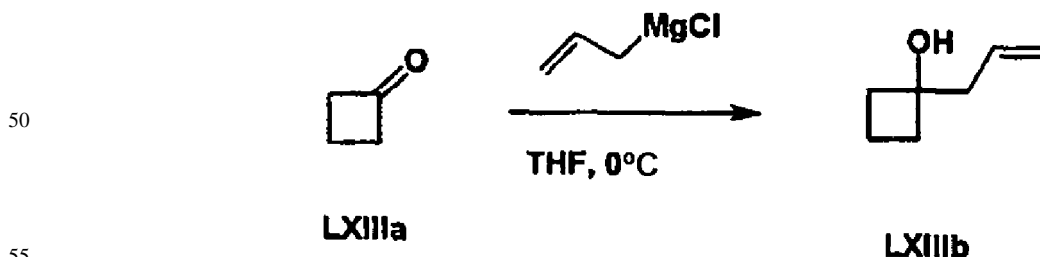
20 Se sintetizaron una serie de inhibidores usando el producto intermedio LXII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LXIII

25 *Preparación del producto intermedio de fórmula LXIII*

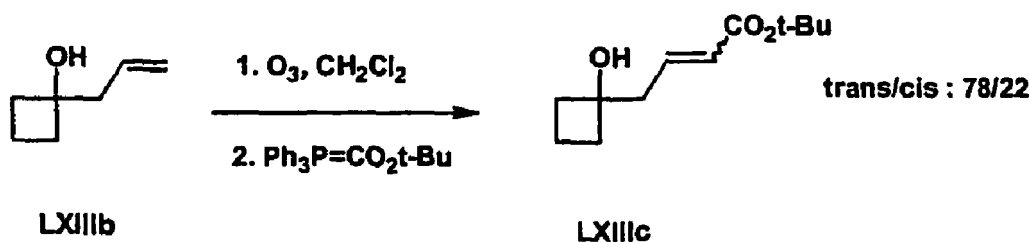


Etapa 1



60 A una disolución de ciclobutanona a -78°C (15 g, 214 mmol) en THF (100 ml) se añadió gota a gota cloruro de alilmagnesio (2,0 M en THF, 1,1 equiv, 118 ml). Después de 1 h, la reacción se paró por adición de hielo HCl 1,0 N (100 ml). La mezcla se diluyó con acetato de etilo (~200 ml) y la fase orgánica se separó; se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro. La concentración a vacío y purificación por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo en n-hexano al 10%) proporcionó el compuesto LXIIIb (21 g).

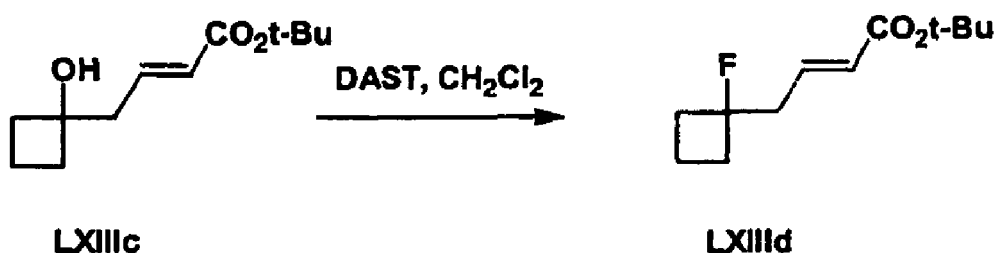
Etapa 2



En una disolución del producto de la etapa 1, LXIIIb (11,2 g), a -78°C en CH_2Cl_2 (200 ml) se burbujeó ozono hasta que se observó un color azul persistente (después de 1 h). Se paró el ozono y se hizo un barrido con N_2 en la mezcla de reacción durante 10 minutos. Se añadió Me_2S (10 equiv., 7,3 ml) y la reacción se calentó gradualmente a temperatura ambiente durante una noche.

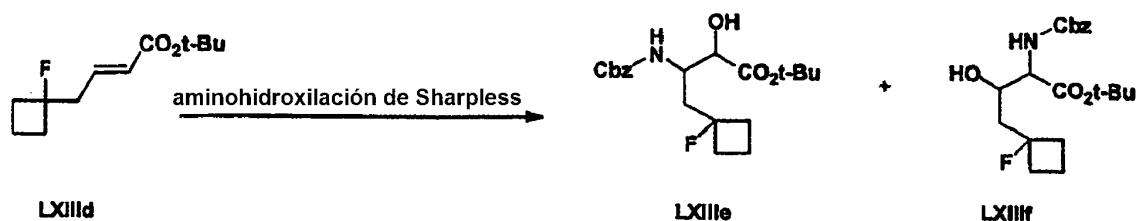
Después de 18 h, se añadió $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{t-Bu}$ (40 g). La agitación se continuó durante 24 h. La evaporación a vacío proporcionó el producto bruto que se cromatografió sobre gel de sílice (acetato de etilo en n-hexano al 10%) para proporcionar el producto LXIIIc como una mezcla de isómeros (6,65 g de isómero trans) y (1,9 g de la olefina cis).

Etapa 3



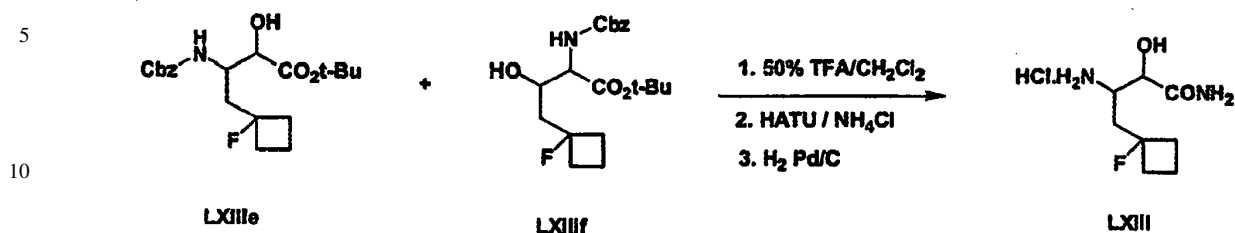
A una disolución a 0°C del producto de la etapa 2, LXIIId (0,21 g), en CH_2Cl_2 (3 ml) se añadió DAST (1,1 equiv., 0,135 ml). Después de 15 minutos, la reacción se paró por la adición de una disolución saturada fría de Na_2CO_3 (150 ml). La mezcla se diluyó con acetato de etilo (~10 ml) y después de agitar durante 30 min se separó la fase orgánica; se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO_4 anhidro. La concentración a vacío y purificación por cromatografía sobre gel de sílice (CH_2Cl_2 en n-hexano de 5% a 10%) proporcionó el compuesto LXIIId (0,1 g; 47%).

Etapa 4



El producto de la etapa 3, LXIIId (3,5 g) se trató de la forma descrita previamente en la etapa 4 del ejemplo preparativo XXXXIII para proporcionar los productos LXIIIe y LXIIIf como una mezcla (3,25 g).

Etapa 5

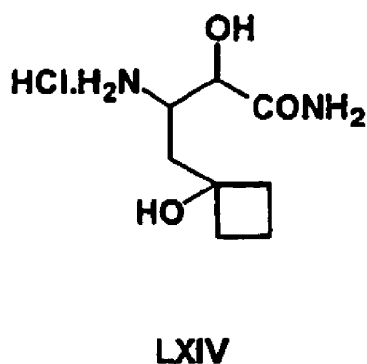


Los productos de la etapa 4 (LXIIIe+LXIII f) (2,3 g) se trataron de la forma descrita previamente en la etapa 5, después la etapa 6 y finalmente la etapa 7 del ejemplo preparativo XXXXIII, para proporcionar el producto LXIII (0,47 g).

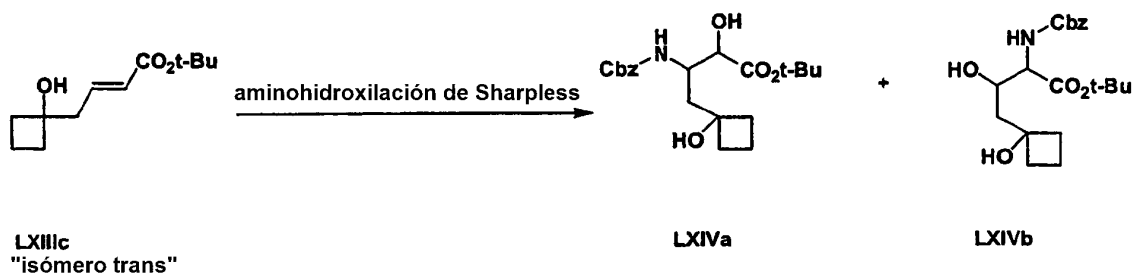
Se sintetizaron una serie de inhibidores usando el producto intermedio LXII siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Ejemplo LXIV

Preparación del producto intermedio de fórmula LXIV



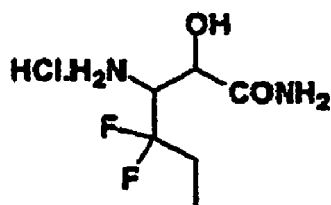
Etapa 1



El producto LXIIIc (1,36 g) se trató de la forma descrita previamente en la etapa 4 del ejemplo preparativo XXX-XIII para proporcionar los productos LXIVa y LXIVb como una mezcla (1,3 g).

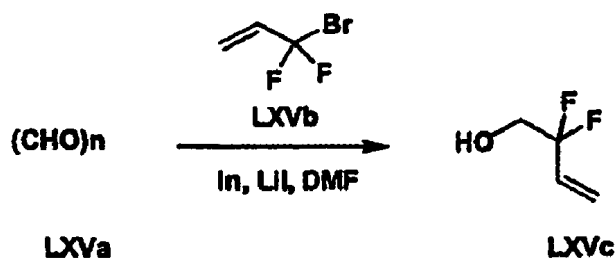
Ejemplo LXV

Preparación del producto intermedio de fórmula LXV



LXV

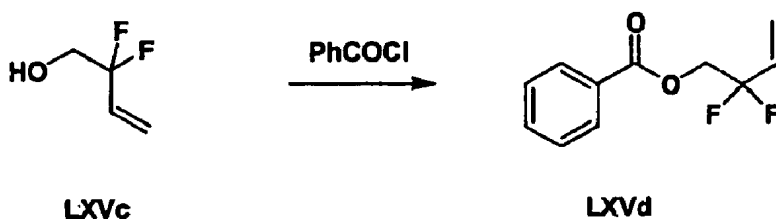
Etapa 1



A una disolución a temperatura ambiente del paraformaldehído LXVa (12 g, 400 mmol) y 1-bromo-1,1-difluorop-2-eno LXVb (6,3 g, 40 mmol) en DMF (100 ml) se añadió In(0) (6,5 g, 57 mmol) y LiI (0,4 g, 3 mmol). La suspensión resultante se agitó a t.a. durante 48 h. Después de 48 h, la reacción se filtró a través de una almohadilla de celita. El filtrado se diluyó con EtOAc (250 ml) y se lavó con H₂O (3 veces) y después salmuera.

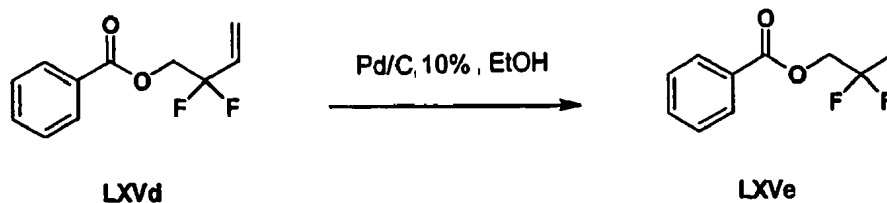
La fase orgánica se separó y finalmente se secó sobre MgSO₄ anhidro. La evaporación a vacío proporcionó el producto LXVc, que se usó como estaba directamente en la siguiente etapa.

Etapa 2



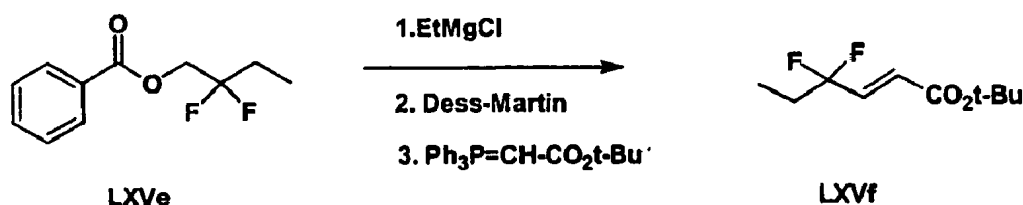
El producto de la etapa 1, LXVc (4 g, 37 mmol) se hizo reaccionar de la forma descrita previamente en el ejemplo preparativo XXXXIII etapa 1, para proporcionar después de purificar por cromatografía sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ en n-hexano de 10% a 50%) el producto LXVd (4,3 g).

Etapa 3



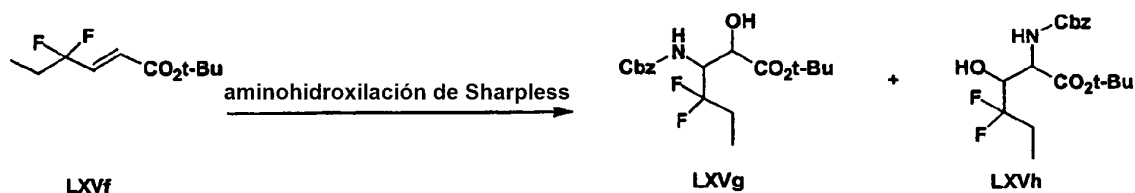
A una disolución del producto de la etapa 2, LXVd (3,8 g) en etanol (30 ml) se añadió el catalizador Pd/C al 10% (0,76 g). La suspensión resultante se hidrogenó hasta que el análisis por RMN indicó el consumo completo del material de partida (~4 h). El catalizador se separó por filtración a través de una almohadilla de celita y se lavó con etanol. El filtrado y los lavados combinados se evaporaron a vacío hasta sequedad para proporcionar el producto deseado LXVe (3,8 g).

Etapa 4



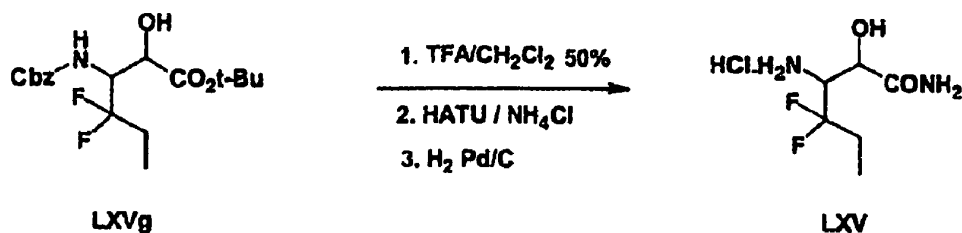
El producto de la etapa 3, LXVe (3,4 g), se trató de la forma descrita previamente en la etapa 3 del ejemplo preparativo XXXXIII para proporcionar el producto LXVf (2,5 g).

Etapa 5



El producto de la etapa 4, LXVf (2 g) se trató de la forma descrita previamente en la etapa 4 del ejemplo preparativo XXXXIII para proporcionar después de purificar por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc en n-hexano al 30%) los compuestos LXVg (0,27 g) y LXVh (0,26 g).

Etapa 6



El producto de la etapa 5, LXVg (0,17 g), se trató de la forma descrita previamente en la etapa 5, después la etapa 6 y finalmente la etapa 7 del ejemplo preparativo XXXXIII, para proporcionar el producto LXV (0,025 g).

Se sintetizaron una serie de inhibidores usando el producto intermedio LXV siguiendo los procedimientos señalados para los ejemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX y XXXX.

Separación de diastereoisómeros: Los diastereoisómeros procedentes del centro α de la cetoamida se separaron usando cromatografía (SiO_2) o HPLC (columna diol YMC) con hexano/ CH_2Cl_2 /isopropanol/ CH_3CN = 85/7,5/6,5/1 como disolvente, como conocen los expertos en la materia.

Ensayo de la actividad inhibidora de la proteasa del VHC

Ensayo espectrofotométrico: Se llevó a cabo el ensayo espectrofotométrico para la serina proteasa del VHC de 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 por referencia. Este ensayo basado en la proteólisis de sustratos éster cromógenos es adecuado para el seguimiento continuo de la actividad de la proteasa NS3 del VHC. Los sustratos se obtuvieron del lado P de la secuencia de unión de NS5A-NS5B (Ac-DTEDVVX(Nva), en la que X = A o P) cuyos grupos carboxilo C-terminales se esterificaron con 1 de 4 alcoholes cromóforos diferentes (3- ó 4-nitrofenol, 7-hidroxi-4-metil-cumarina o 4-fenilazofenol). A continuación se presentan las síntesis, caracterización y aplicación de estos nuevos sustratos éster espectrofotométricos al cribado de alta capacidad y evaluación cinética detallada de los inhibidores de la proteasa NS3 del VHC.

Materiales y métodos:

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

Preparación de la enzima: La proteasa NS3/NS4A del VHC heterodimérica recombinante (cepa 1a) se preparó usando los procedimientos descritos previamente (D. L. Sali *et al.*, *Biochemistry*, 37 (1998) 3392-3401). Las concentraciones de proteínas se determinaron por el método del colorante Biorad usando patrones de proteasa del VHC recombinantes previamente cuantificados por análisis de aminoácidos. Antes de iniciar el ensayo, el tampón de almacenamiento de la enzima (fosfato sódico 50 mM pH 8,0, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, maltósido de laurilo al 0,05% y DTT 10 mM) se intercambió por el tampón de ensayo (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, maltósido de laurilo al 0,05%, EDTA 5 μM y DTT 5 μM) usando una columna preempaquetada Bio-Spin P-6 Biorad.

Síntesis y purificación del sustrato: La síntesis de los sustratos se hizo como describen R. Zhang *et al.* (véase antes) y se inició por el anclaje de Fmoc-Nva-OH a la resina de cloruro de 2-clorotritilo usando un protocolo estándar (K. Barlos *et al.*, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 37 (1991), 513-520). Posteriormente se ensamblaron los péptidos usando la química de Fmoc, sea de forma manual o en un sintetizador de péptidos automático ABI modelo 431. Los fragmentos de péptido N-acetilados y completamente protegidos se escindieron de la resina mediante ácido acético al 10% (HOAc) y trifluoroetanol al 10% (TFE) en diclorometano (DCM) durante 30 min, o mediante ácido trifluoroacético al 2% (TFA) en DCM durante 10 min. El filtrado y lavado de DCM combinados se evaporaron azeotrópicamente (o se extrajeron repetidamente con disolución de Na_2CO_3) para separar el ácido usado en la escisión. La fase de DCM se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó.

Los sustratos éster se ensamblaron usando procedimientos estándar de acoplamiento de ácido-alcohol (K. Holmberg *et al.*, *Acta Chem. Scand.*, B33 (1979) 410-412). Los fragmentos de péptidos se disolvieron en piridina anhidra (30-60 mg/ml) a la que se añadieron 10 equivalentes molares de cromóforo y una cantidad catalítica (0,1 eq.) de ácido paratoluenosulfónico (pTSA). Se añadió diclohexilcarbodiimida (DCC, 3 eq.) para iniciar las reacciones de acoplamiento. La formación de producto se siguió por HPLC y se encontró que se había completado después de 12-72 horas de reacción a temperatura ambiente. El disolvente piridina se evaporó a vacío y después se separó por evaporación azeotrópica con tolueno. El éster peptídico se desprotegió con TFA al 95% en DCM durante 2 horas y se extrajo 3 veces con éter dietílico anhidro para eliminar el exceso de cromóforo. El sustrato desprotegido se purificó por HPLC de fase inversa en una columna C3 o C8 con gradiente de acetonitrilo de 30% a 60% (usando 6 volúmenes de columna). El rendimiento global después de la purificación por HPLC era aproximadamente 20-30%. La masa molecular se confirmó por espectroscopía de masas de ionización por electropulverización. Los sustratos se almacenaron en forma de polvo seco con desecación.

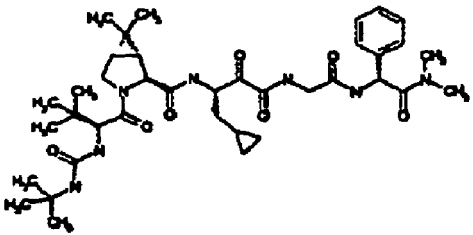
Espetros de los sustratos y productos: Los espectros de los sustratos y los correspondientes productos cromóforos se obtuvieron en el tampón de ensayo a pH 6,5. Los coeficientes de extinción se determinaron a la longitud de onda óptima fuera del máximo en cubetas de 1 cm (340 nm para 3-Np y HMC, 370 nm para PAP y 400 nm para 4-Np) usando diluciones múltiples. La longitud de onda óptima fuera del máximo se definió como aquella longitud de onda que da la diferencia de fracción máxima de la absorbancia entre sustrato y producto (DO producto - DO sustrato)/DO sustrato).

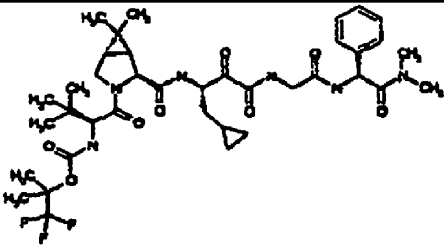
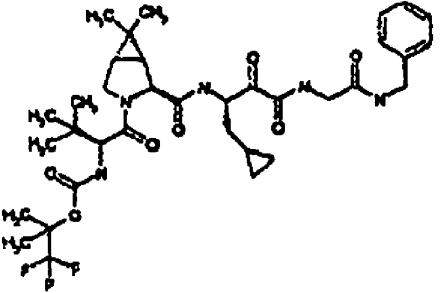
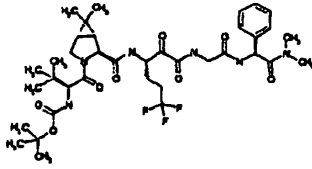
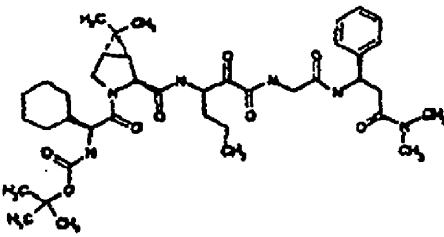
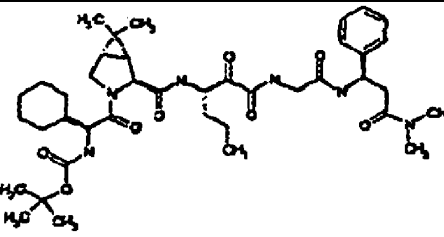
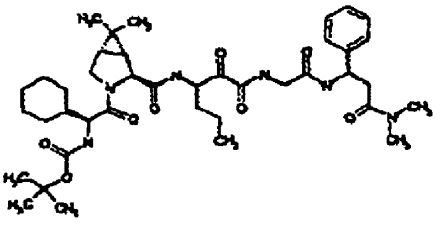
Ensayo de la proteasa: Los ensayos de la proteasa del VHC se llevaron a cabo a 30°C usando una mezcla de reacción de 200 μ l en una placa de microvaloración de 96 pocillos. Las condiciones del tampón de ensayo (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol al 10%, maltósido de laurilo al 0,05%, EDTA 5 μ M y DTT 5 μ M) se optimizaron para el heterodímero NS3/NS4A (D. L. Sali *et al.*, véase antes)). Típicamente, se pusieron en los pocillos 150 μ l de mezclas de tampón, sustrato e inhibidor (concentración final de DMSO $\leq$ 4% v/v) y se dejó preincubar a 30°C durante aproximadamente 3 minutos. Después se usaron 50 μ l de proteasa precalentada (12 nM, 30°C) en tampón de ensayo, para iniciar la reacción (volumen final 200 μ l). Se siguió en las placas a lo largo de la duración del ensayo (60 minutos) el cambio de absorbancia a la longitud de onda adecuada (340 nm para 3-Np y HMC, 370 nm para PAP, y 400 nm para 4-Np) usando un lector de placa de microvaloración Spectromax Plus equipado con un monocromador (se pueden obtener resultados aceptables con lectores de placa que usan filtros con corte de exclusión). La escisión proteolítica de la unión éster entre el Nva y el cromóforo se siguió a la longitud de onda adecuada frente a un blanco no enzimático como control para la hidrólisis no enzimática. La evaluación de los parámetros cinéticos del sustrato se llevó a cabo a lo largo de un intervalo de concentración del sustrato de 30 veces ($\sim$ 6-200 μ M). Las velocidades iniciales se determinaron usando regresión lineal y se obtuvieron constantes cinéticas mediante el ajuste de los datos a la ecuación de Michaelis-Menten usando análisis de regresión no lineal (Mac Curve Fit 1,1, K. Raner). El número de recuperaciones (k_{cat}) se calculó suponiendo que la enzima era totalmente activa.

Evaluación de los 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 la enzima y el sustrato, mediante representación de v_o/v_i frente a la concentración de inhibidor ($[I]_o$) de acuerdo con la ecuación de Michaelis-Menten reordenada para las cinéticas de inhibición competitivas: $v_o/v_i = 1 + [I]_o / (K_i^* (1 + [S]_o / K_m))$, en la que v_o es la velocidad inicial no inhibida, v_i es la velocidad inicial en presencia de inhibidor a cualquier concentración dada de inhibidor ($[I]_o$) y $[S]_o$ es la concentración de sustrato usada. Los datos resultantes se ajustaron usando regresión lineal y se usó la pendiente resultante, $1/(K_i^*(1+[S]_o/K_m))$, para calcular el valor de K_i^* .

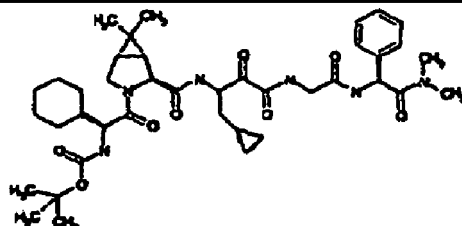
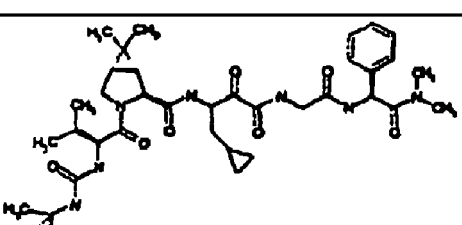
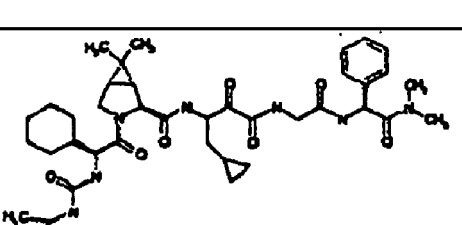
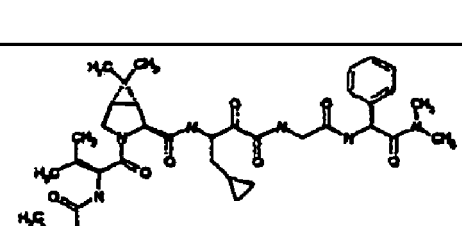
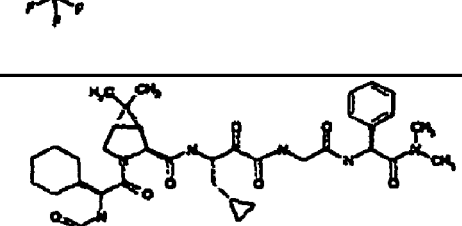
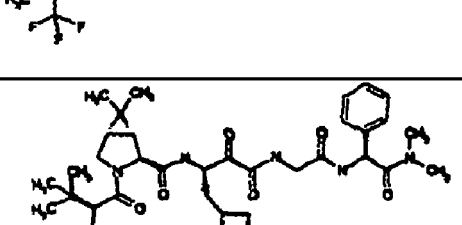
Los valores de K_i^* para los diferentes compuestos de la presente invención, se dan en la tabla 1, en la que los compuestos se han ordenado en el orden de intervalo de los valores de K_i^* . A partir de estos resultados de ensayo, será evidente para el experto en la técnica, que los compuestos de la invención tienen una utilidad excelente como inhibidores de la serina proteasa NS3.

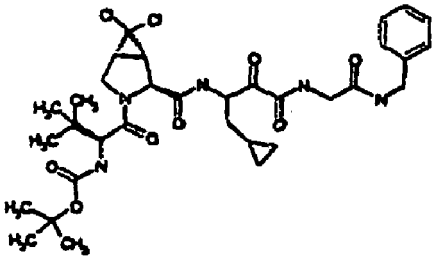
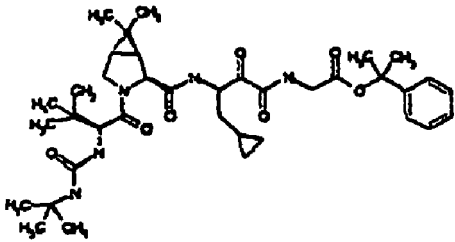
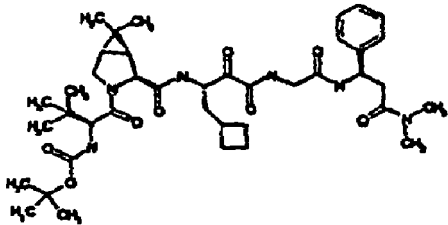
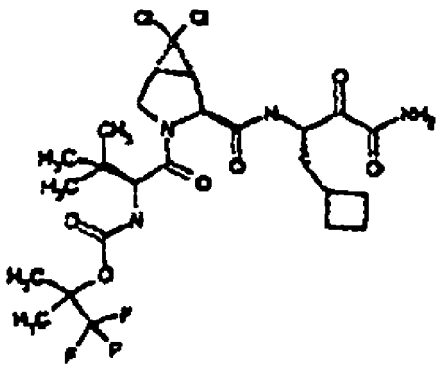
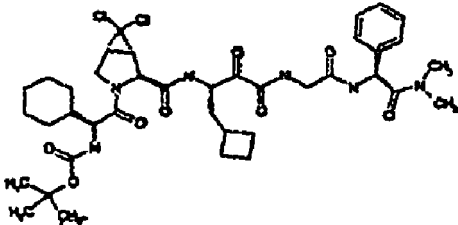
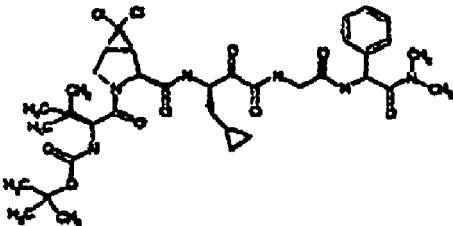
TABLA 1

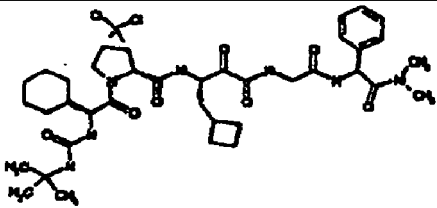
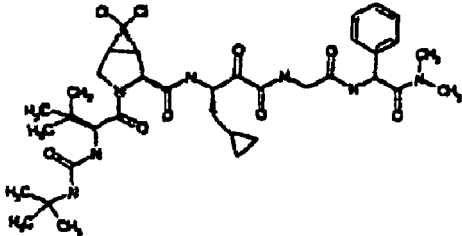
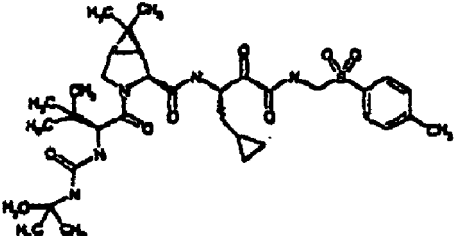
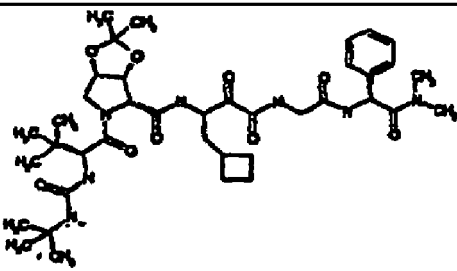
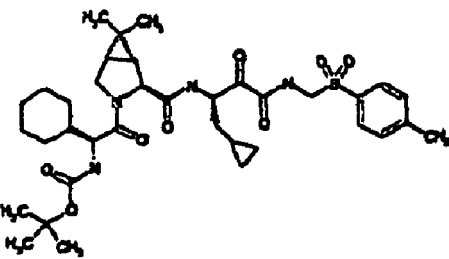
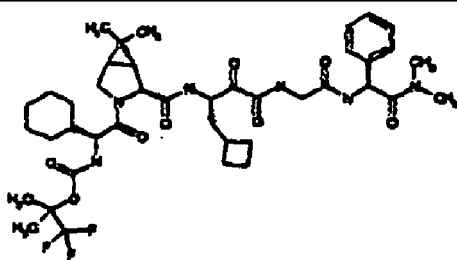
ESTRUCTURA	PM	K_i^* (nM)
	723,92	A

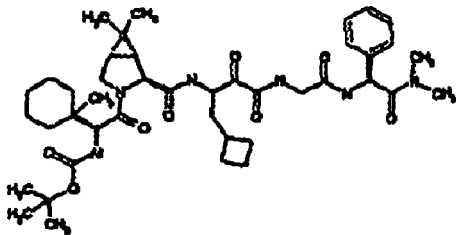
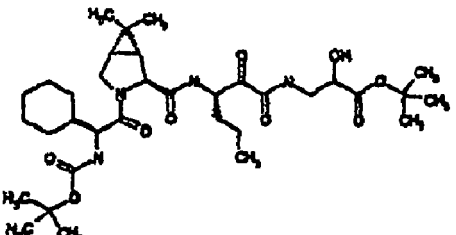
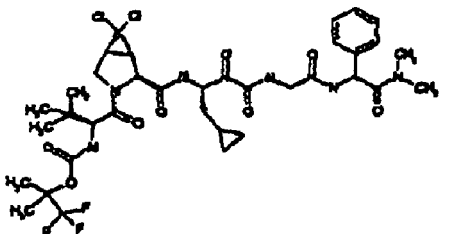
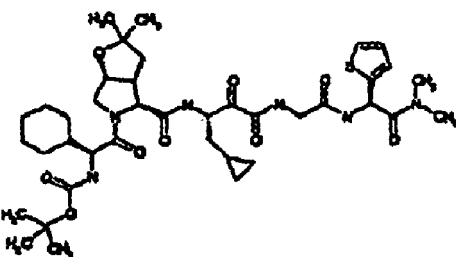
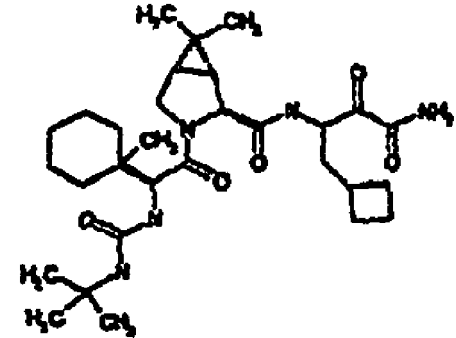
5		778,88	A
10			
15		707,80	A
20			
25		766,87	A
30			
35		752,96	A
40			
45		752,96	A
50			
55		752,96	A
60			

ES 2 344 890 T3

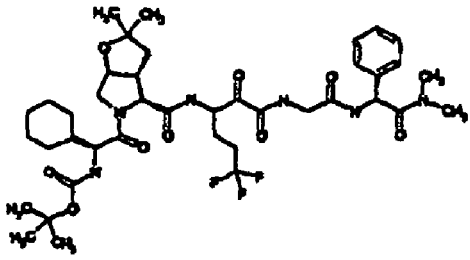
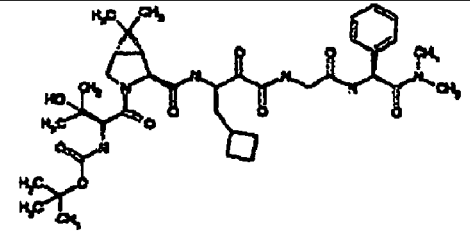
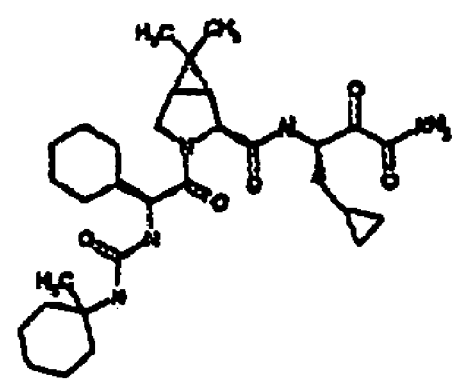
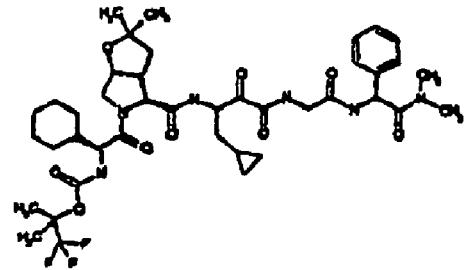
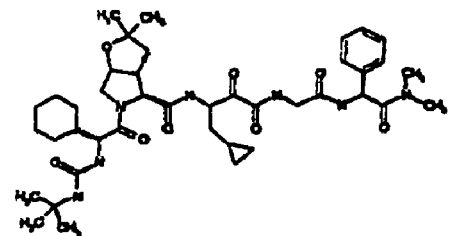
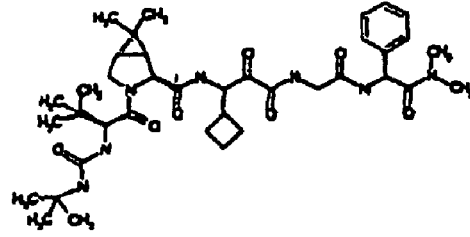
5		750,94	A
10			
15		709,89	A
20			
25		749,96	A
30			
35		764,85	A
40			
45		804,92	A
50			
55		737,95	A
60			
65			

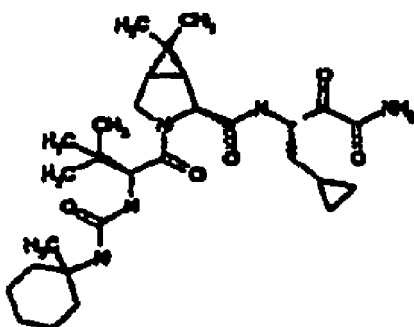
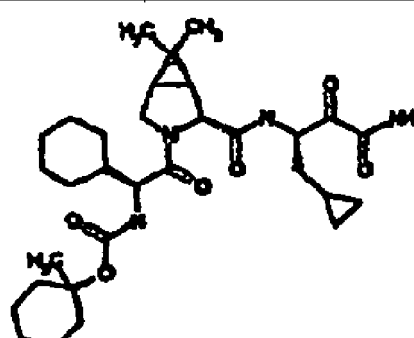
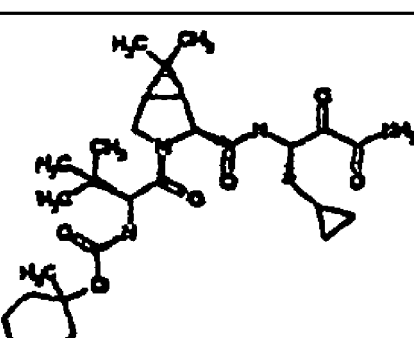
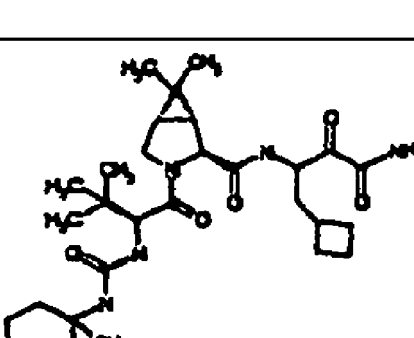
5		694,66	A
10			
15		681,88	A
20			
25		752,96	A
30			
35		615,48	A
40			
45			
50		805,81	A
55			
60		765,74	A
65			

5		804,82	A
10		764,76	A
15		673,88	A
20		769,95	A
25		700,90	A
30		818,94	A

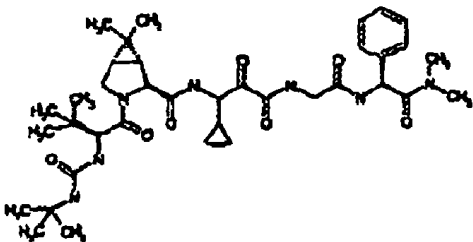
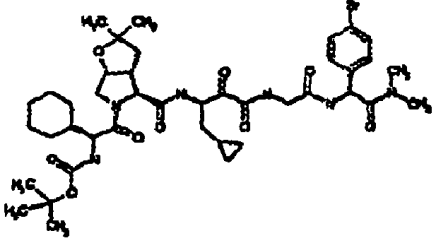
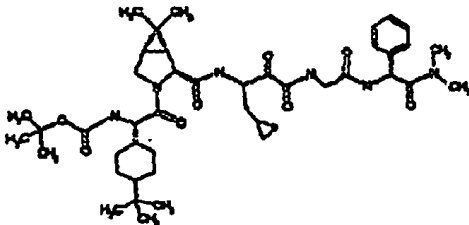
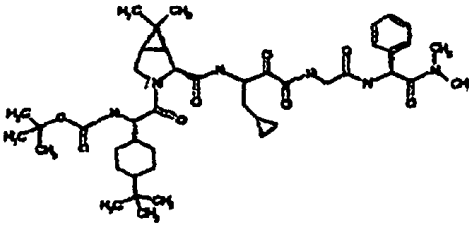
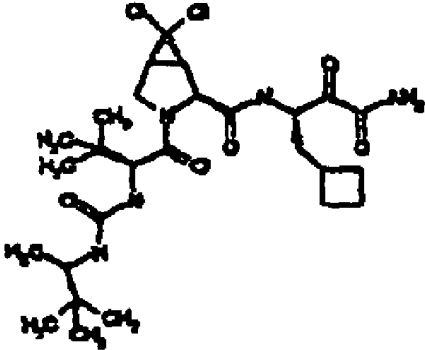
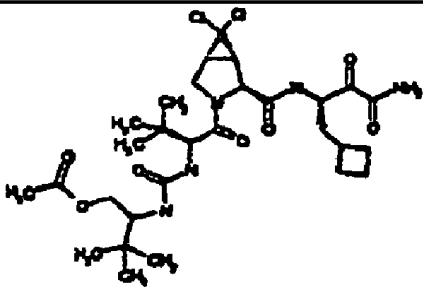
5		779,00	A
10			
15		664,85	A
20			
25		819,71	A
30			
35		787,00	A
40			
45		559,76	A
50			
55			
60			
65			

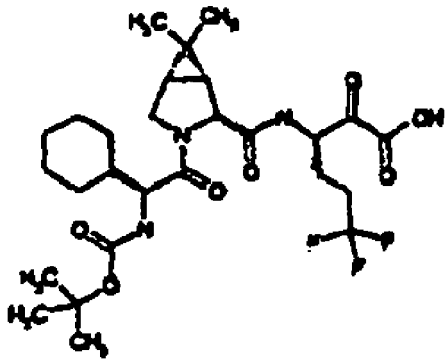
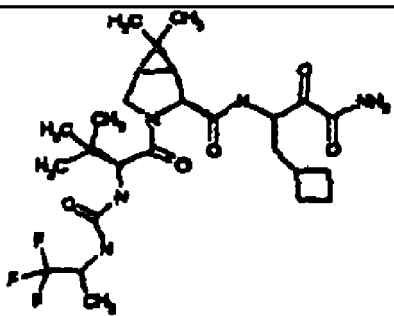
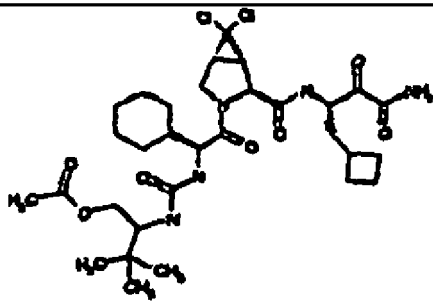
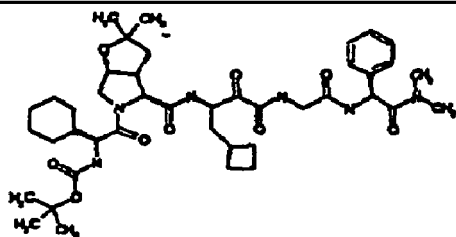
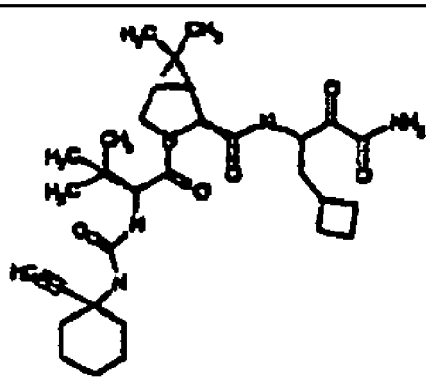
ES 2 344 890 T3

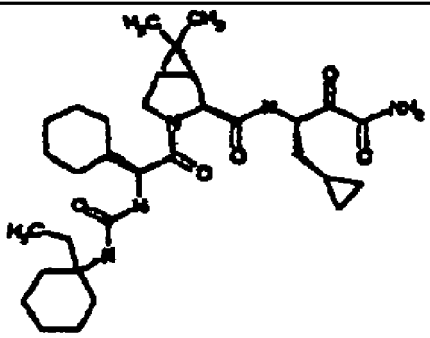
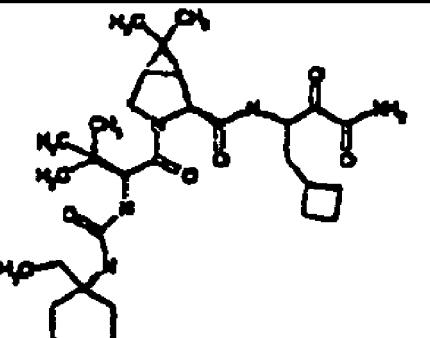
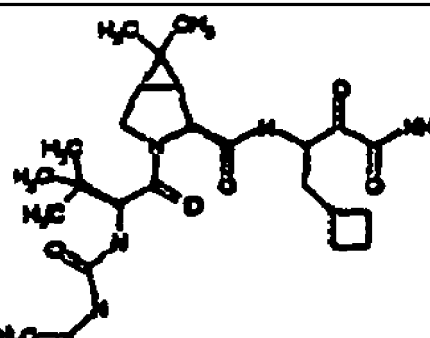
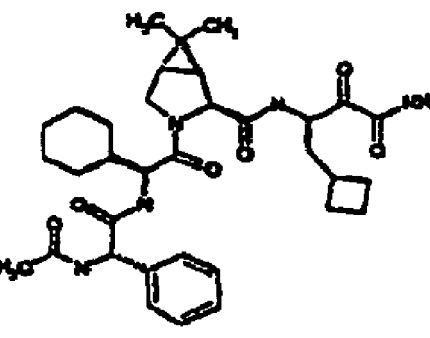
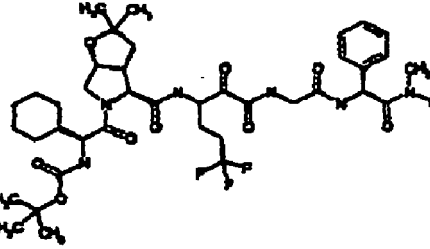
5		822,93	A
10			
15		740,91	A
20			
25		571,77	A
30			
35			
40		834,94	A
45			
50		779,99	A
55			
60		723,92	A
65			

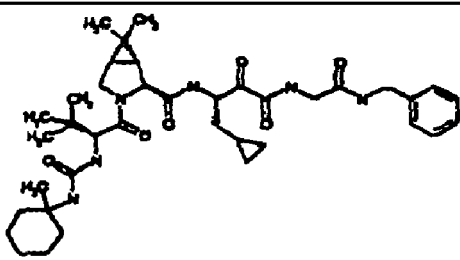
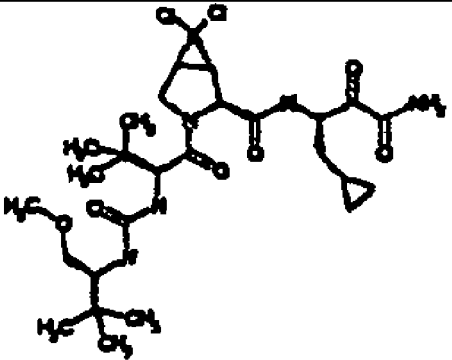
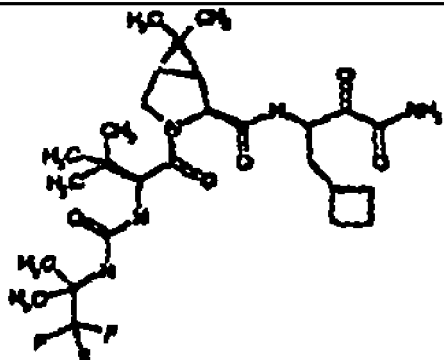
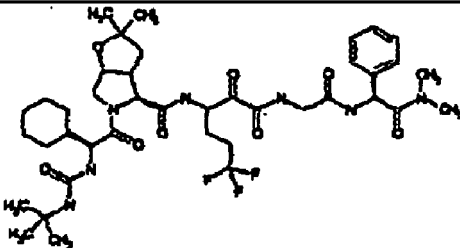
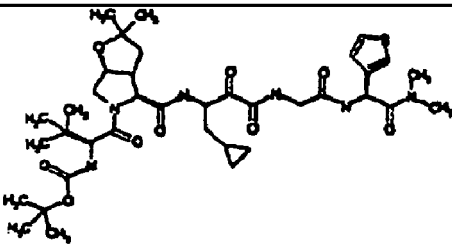
5		545,73	A
10			
15			
20		572,75	A
25			
30			
35		546,71	A
40			
45			
50		559,76	A
55			
60			
65			

ES 2 344 890 T3

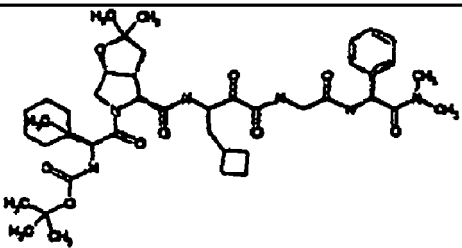
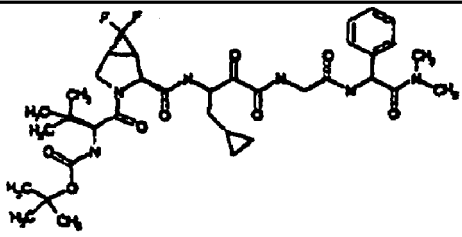
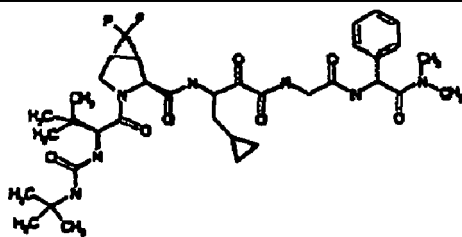
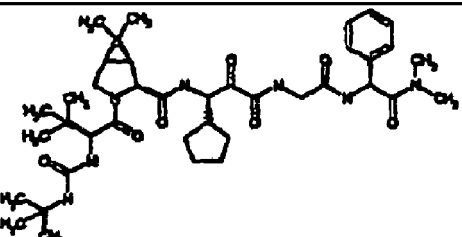
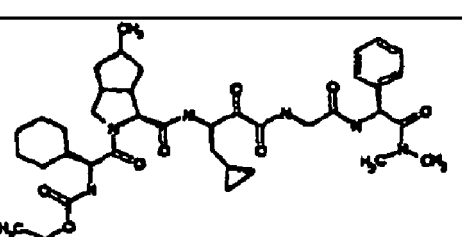
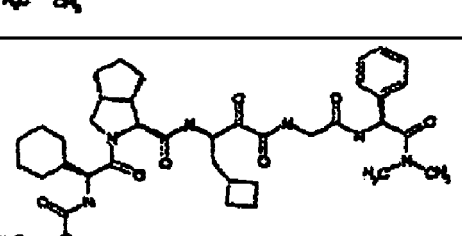
5		709,89	A
10			
15		859,87	A
20			
25		807,05	A
30			
35		807,05	A
40			
45		588,58	A
50			
55		648,82	A
60			
65			

5		575,63	A
10			
15			
20		559,63	A
25			
30		872,66	A
35			
40			
45		796,00	A
50			
55		569,75	A
60			
65			

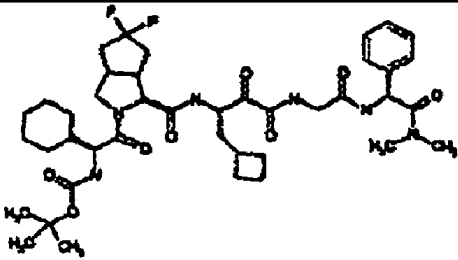
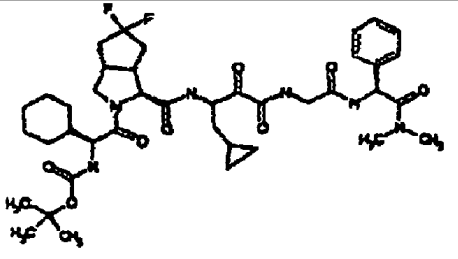
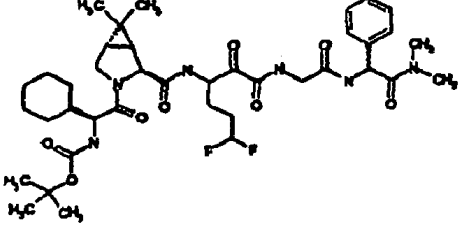
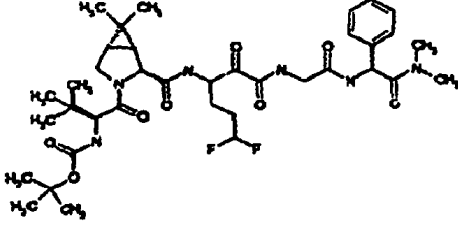
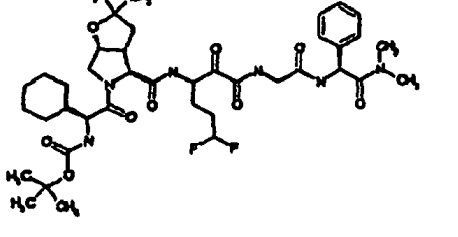
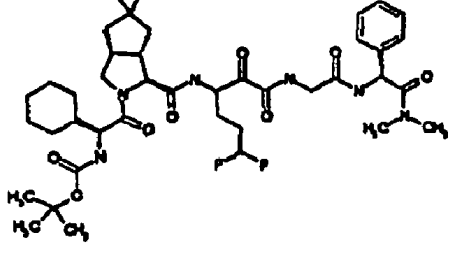
5		585,79	A
10			
15		573,78	A
20			
25			
30		537,68	A
35			
40			
45		621,78	A
50			
55			
60		822,93	A
65			

5		692,91	A
10			
15		604,58	A
20			
25			
30		573,66	A
35			
40			
45		821,95	A
50			
55		760,98	A
60			
65			

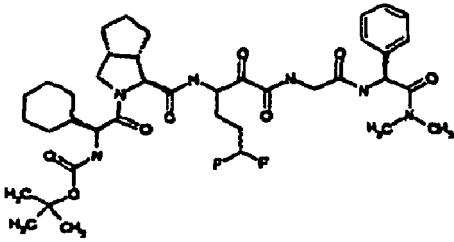
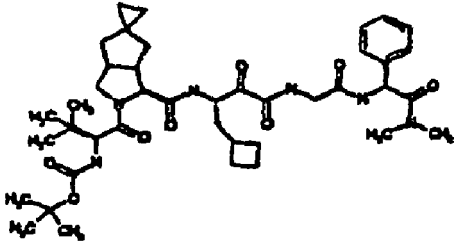
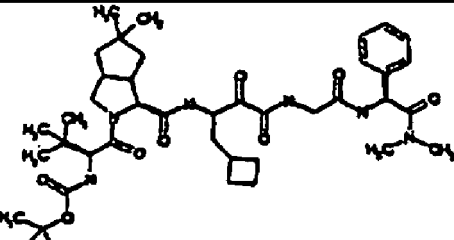
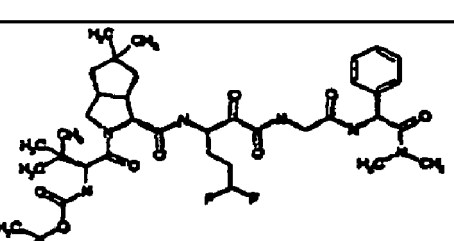
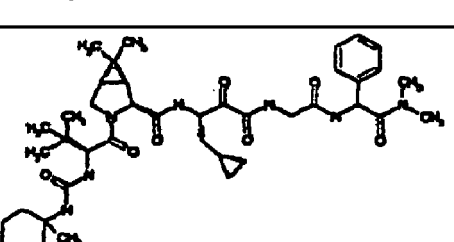
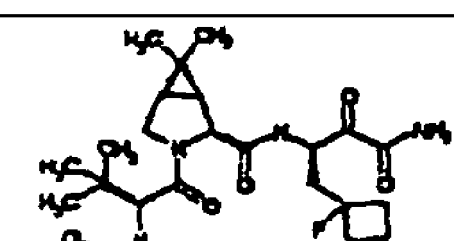
ES 2 344 890 T3

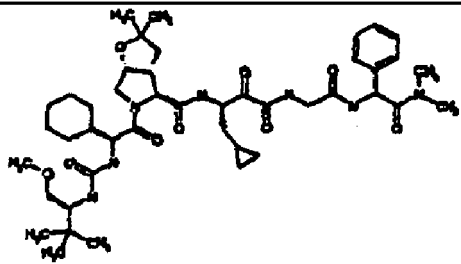
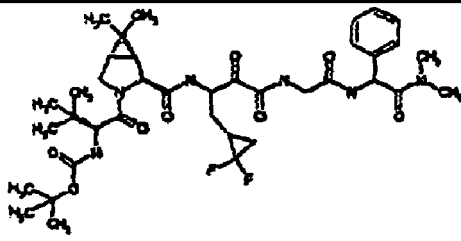
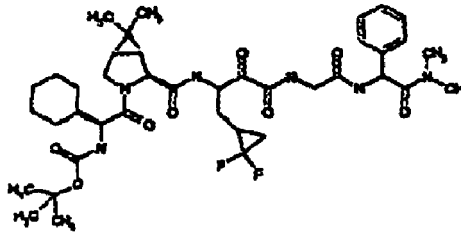
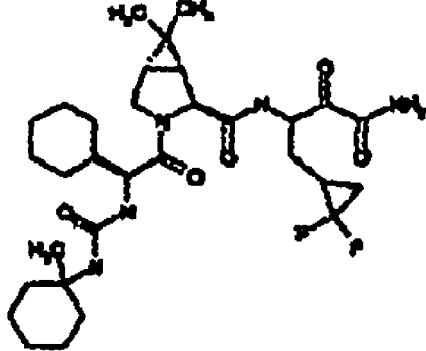
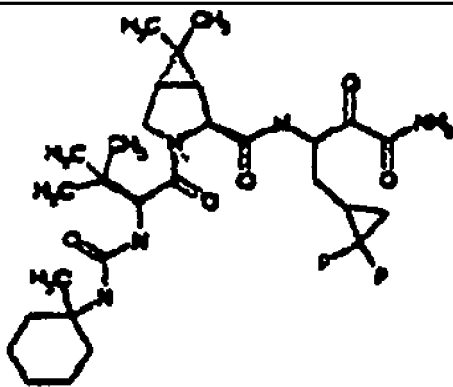
5		809,02	A
10			
15		732,83	A
20			
25		731,85	A
30			
35		737,85	A
40			
45		764,97	A
50			
55		764,97	A
60			

ES 2 344 890 T3

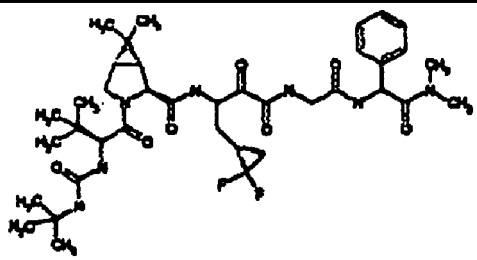
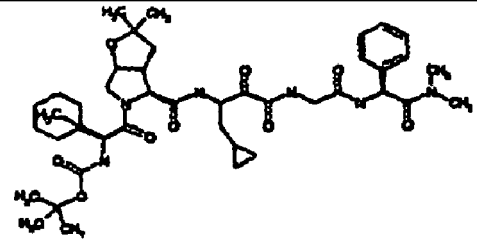
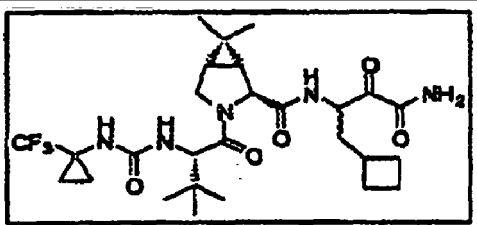
5		800,95	A
10			
15		786,92	A
20			
25		774,91	A
30			
35		748,8 8	A
40			
45		804,94	A
50			
55		810,89	A
60			

ES 2 344 890 T3

5		774,91	A
10		764,97	A
15		766,99	A
20		776,93	A
25		763,99	A
30		577,75	A

5		838,07	A
10			
15		760,89	A
20			
25		786,92	A
30			
35		607,75	A
40			
45		581,71	A
50			
55			
60			

ES 2 344 890 T3

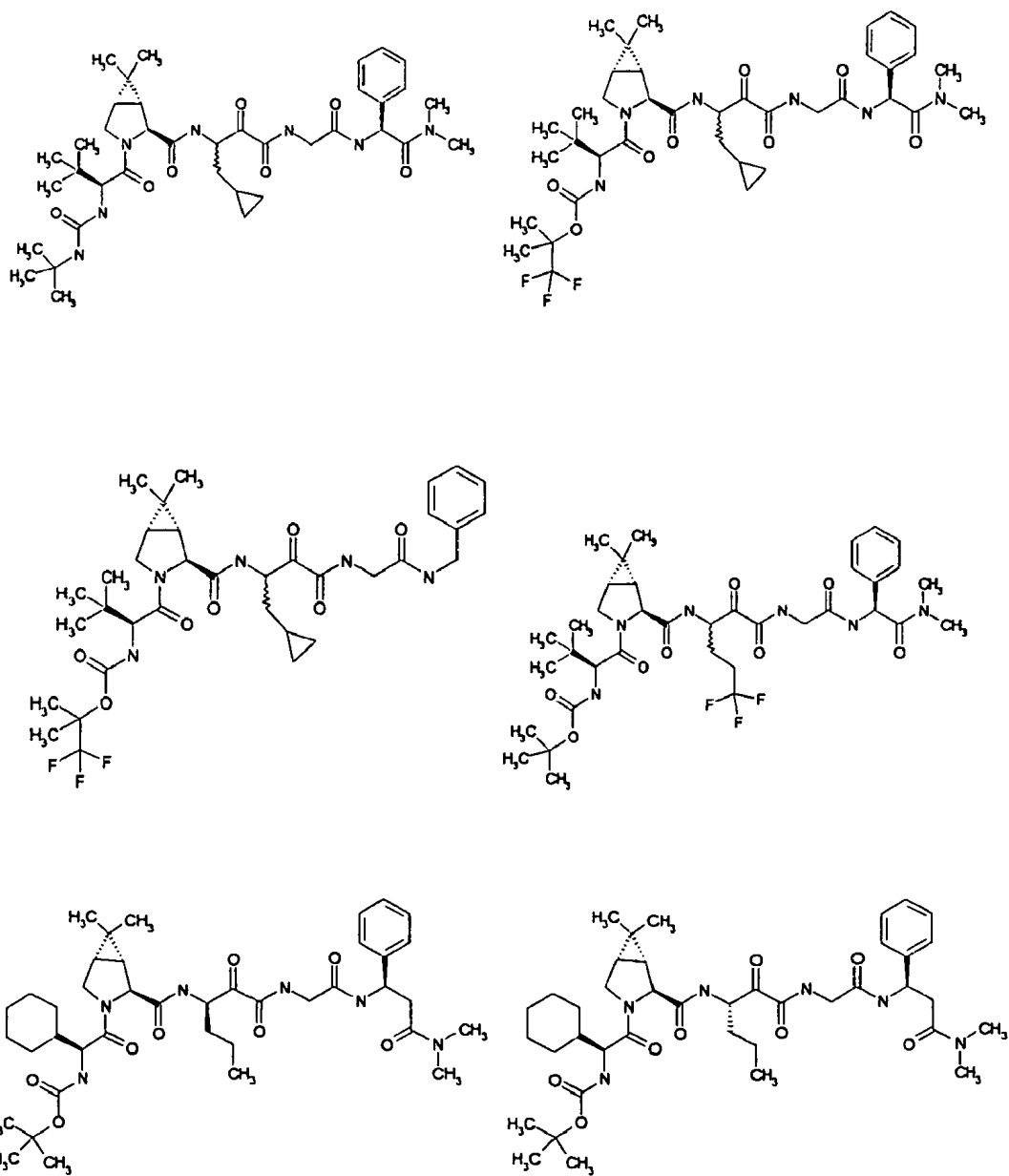
	759,90	A
	795,00	A
	571,63	A

Intervalo de K_i^* de ensayo continuo de VHC:

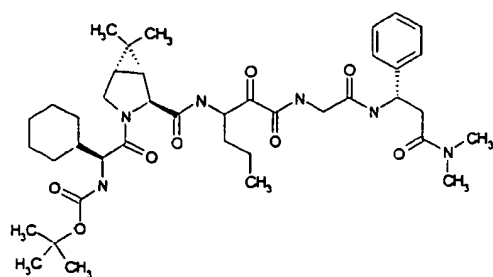
Categoría A =1-100 nM; Categoría B =101-1.000 nM; Categoría C >1000 nM.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que presenta actividad inhibidora de la proteasa del VHC, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros o racematos de dicho compuesto, o sales o solvatos de dicho compuesto farmacéuticamente aceptables, seleccionándose dicho compuesto de las estructuras listadas a continuación:

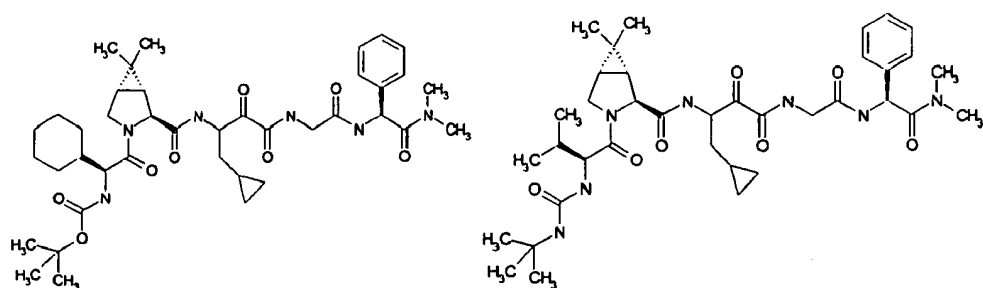


5



10

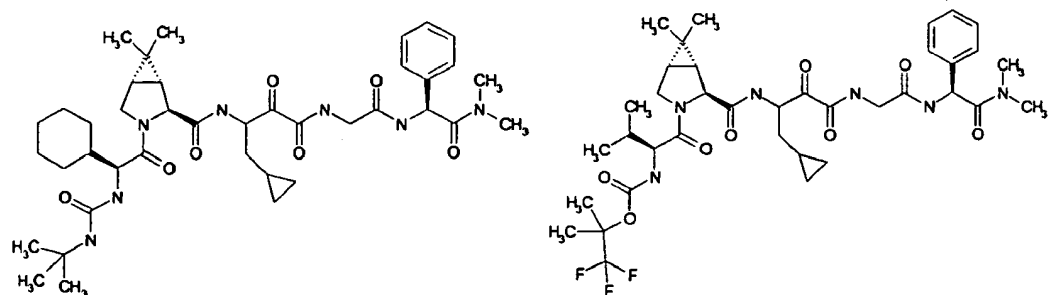
15



20

25

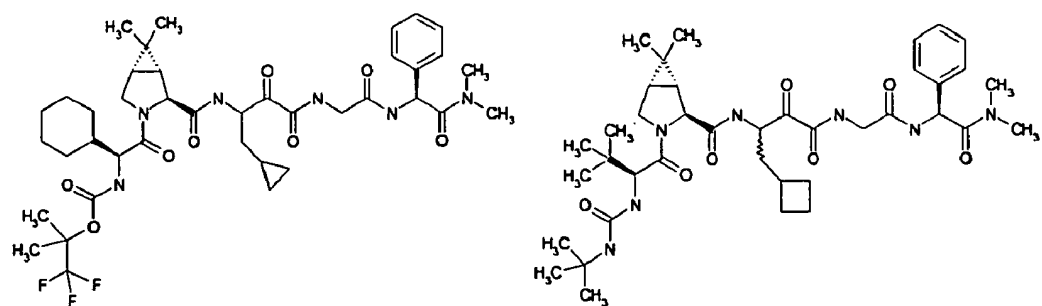
30



35

40

45



50

55

60

65

5

10

15

20

25

30

35

40

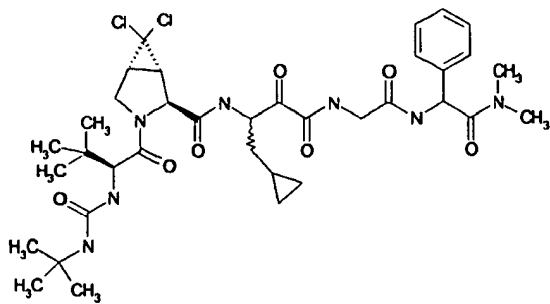
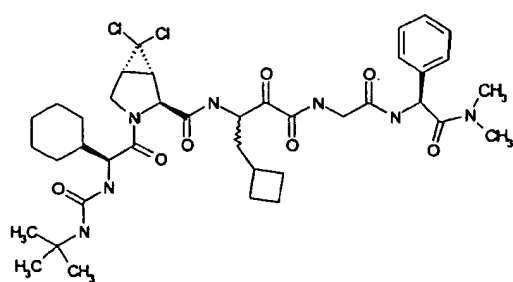
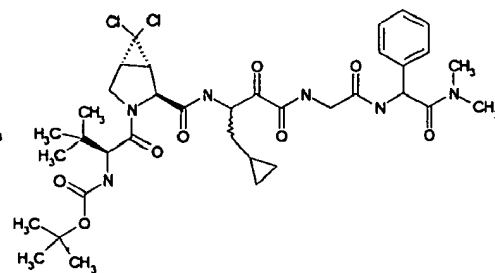
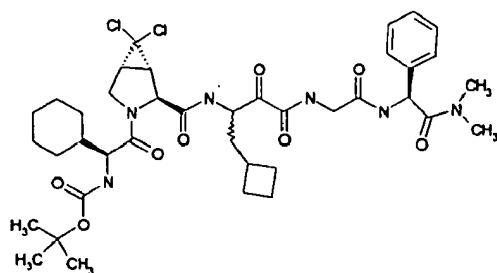
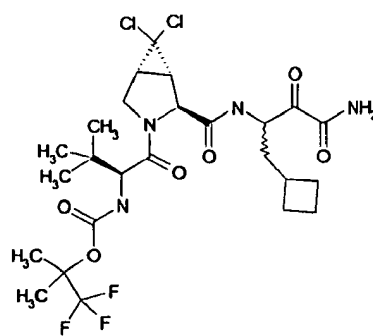
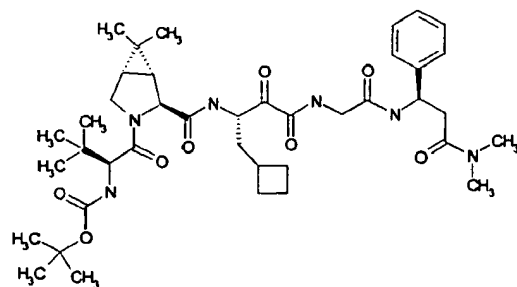
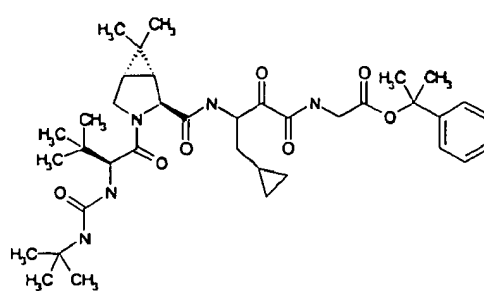
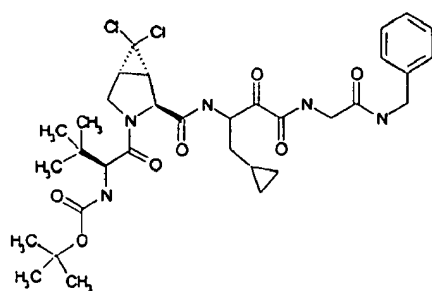
45

50

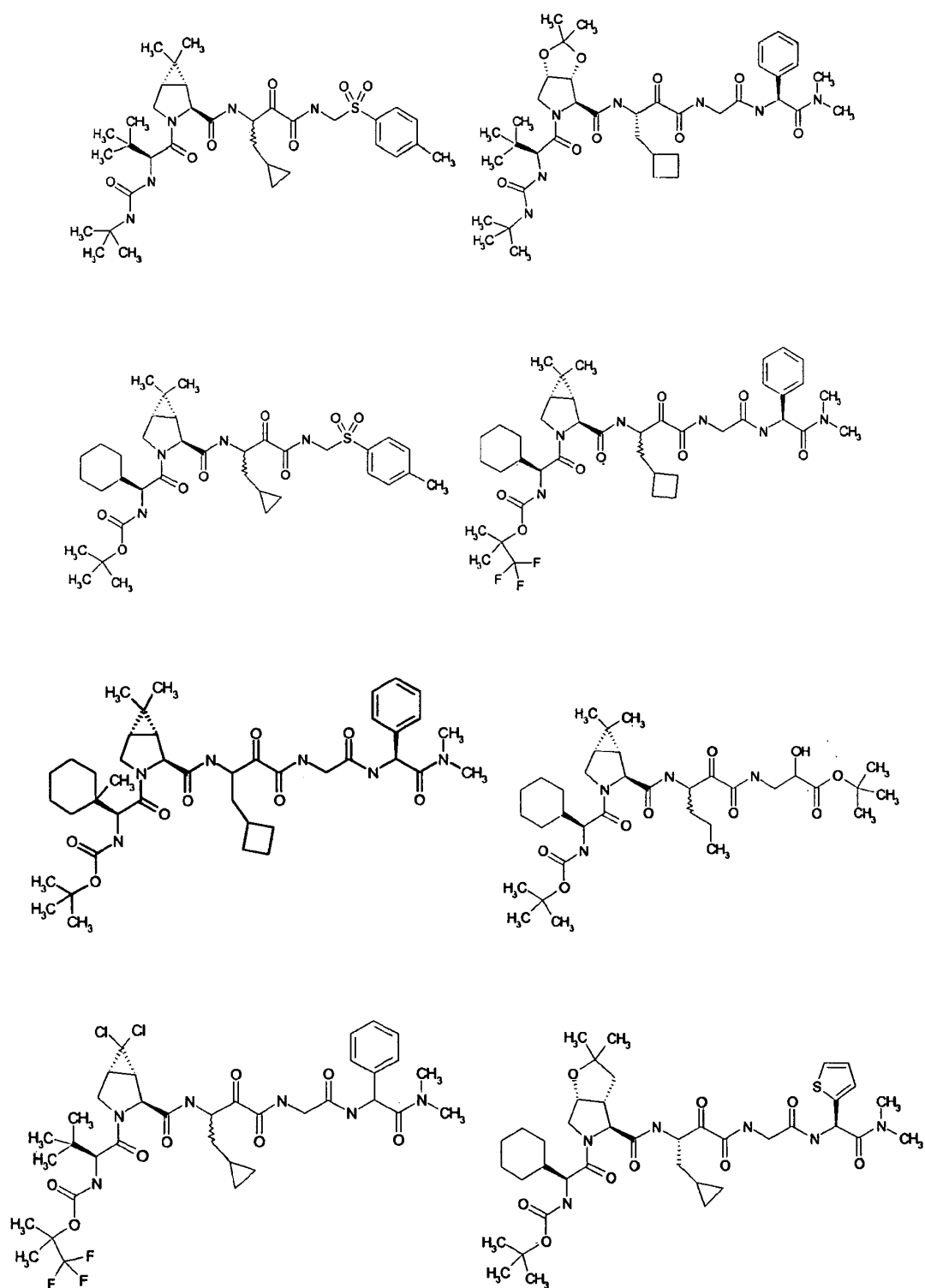
55

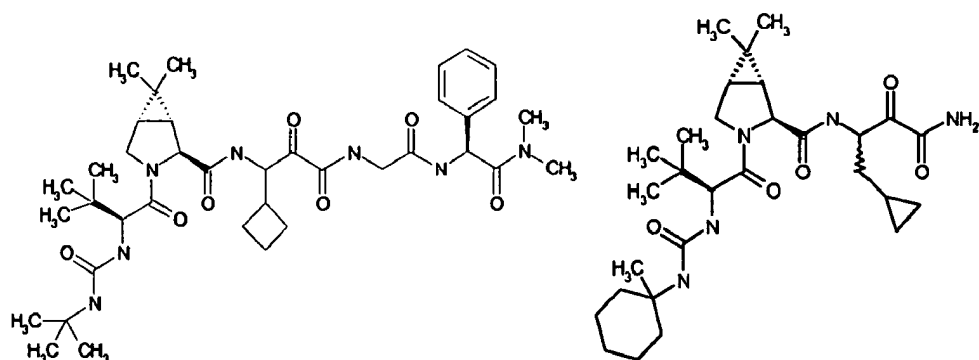
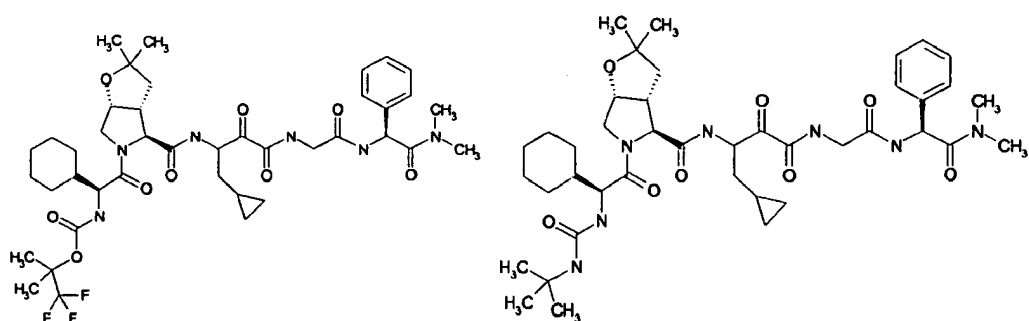
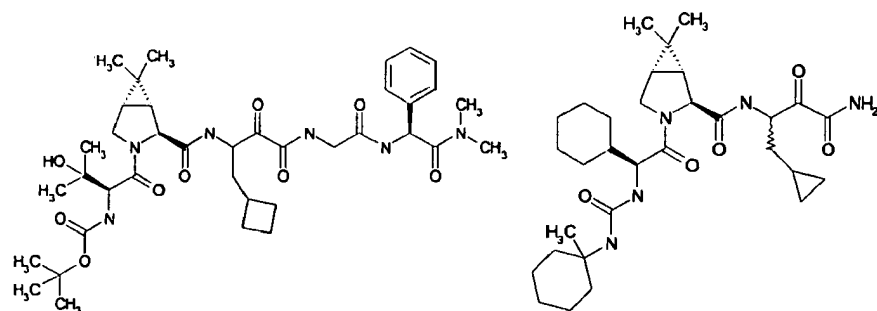
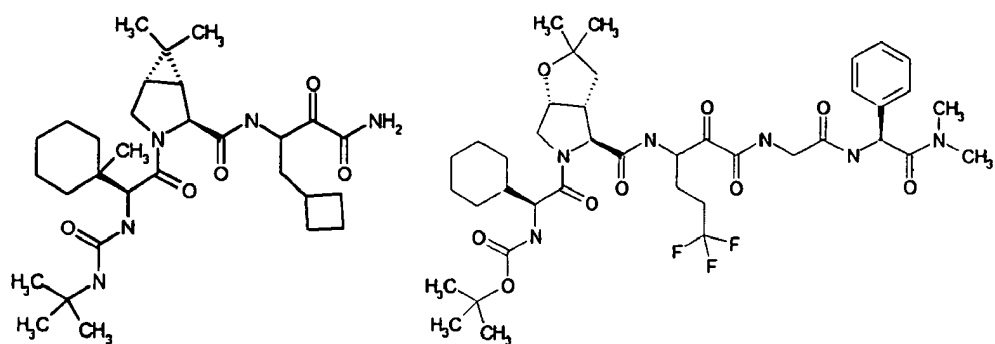
60

65

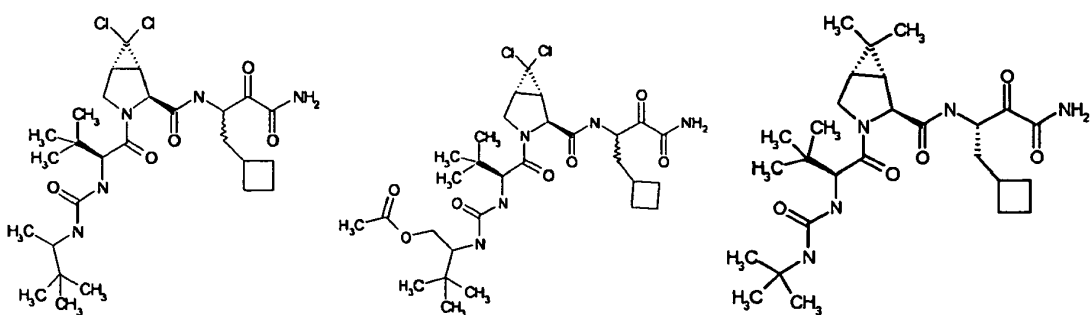
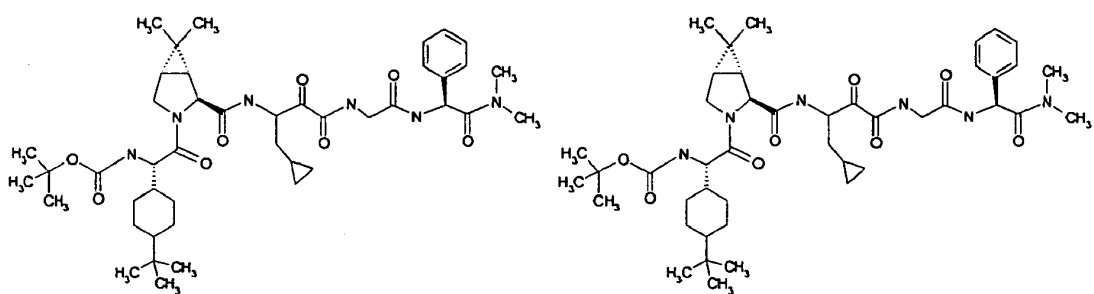
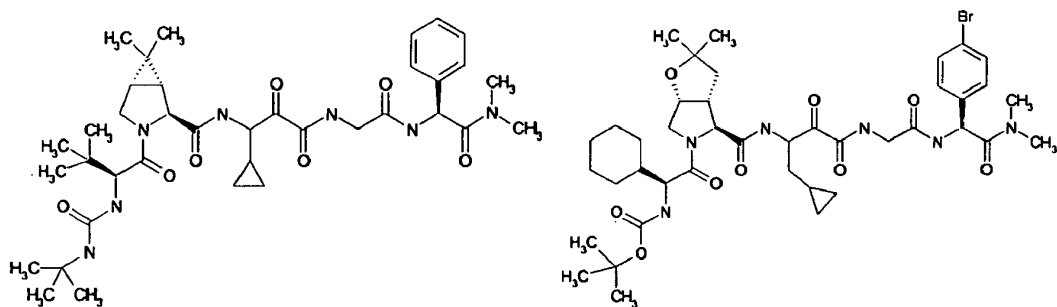
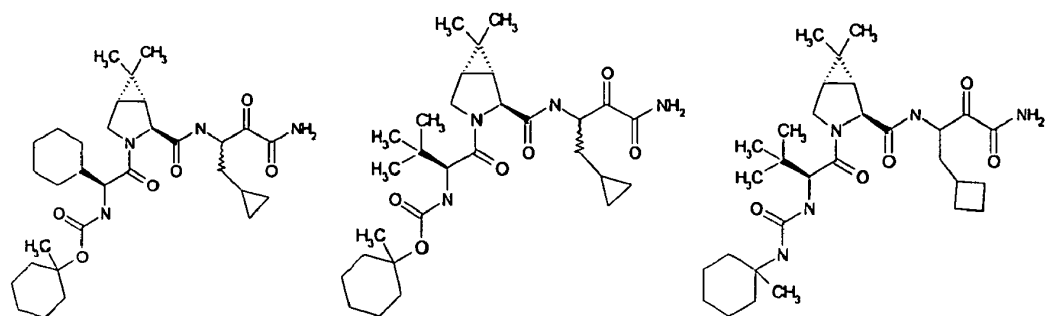


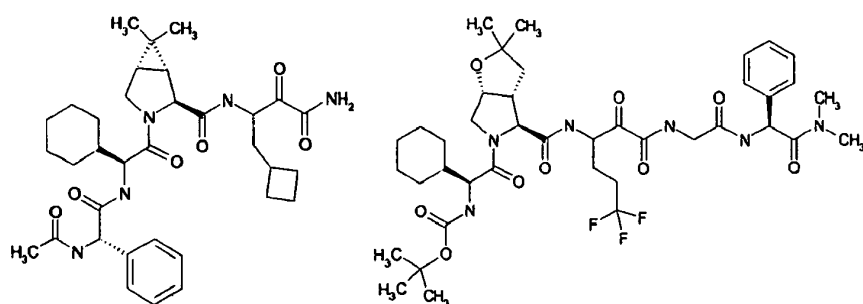
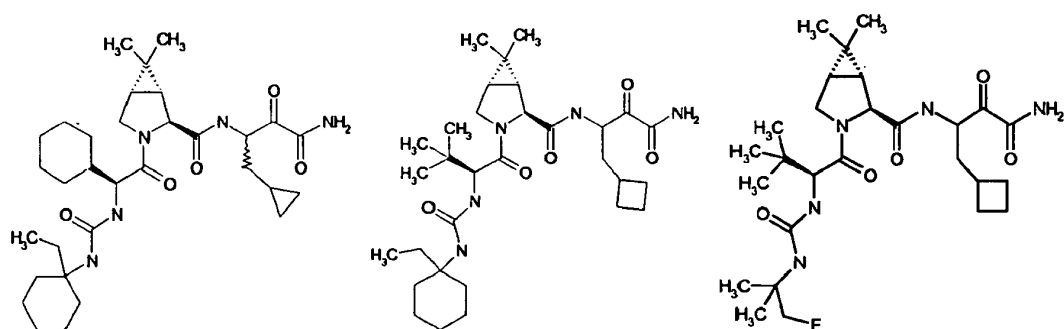
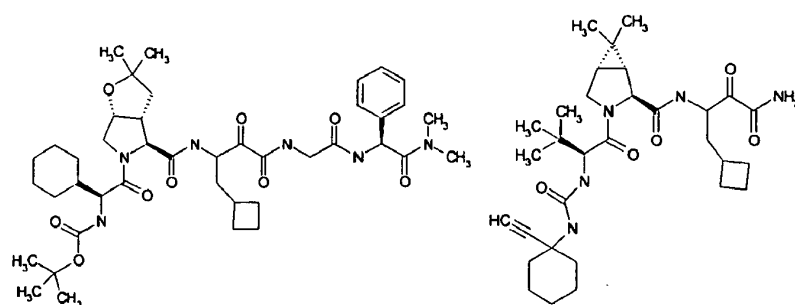
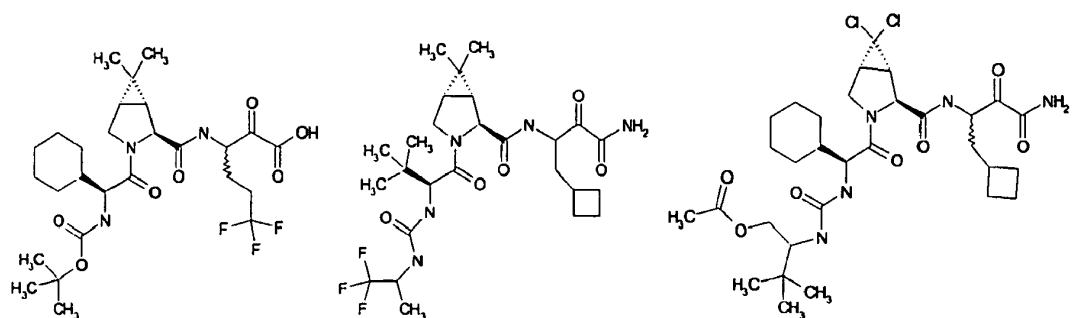
ES 2 344 890 T3

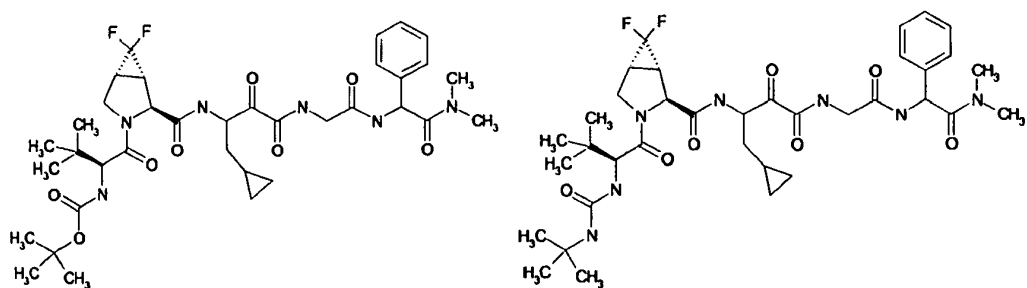
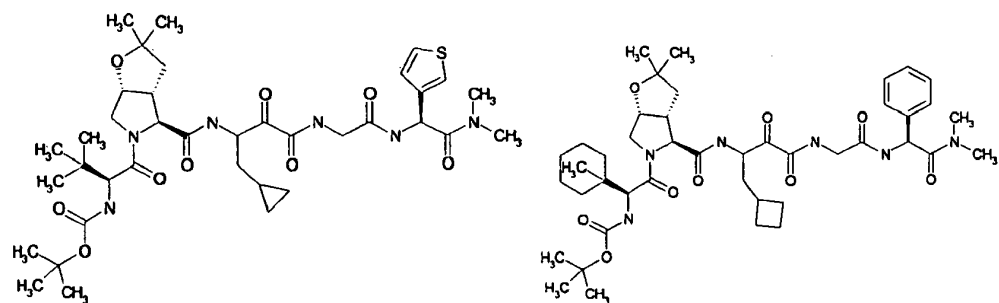
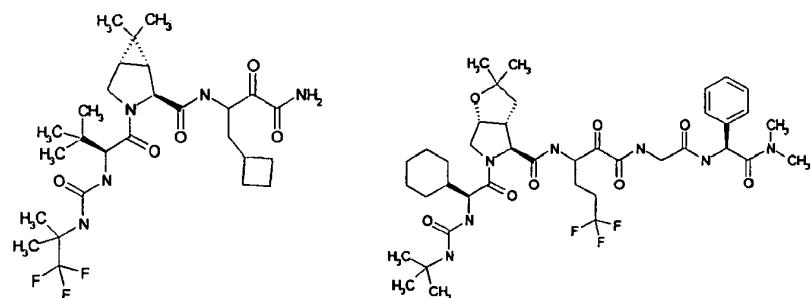
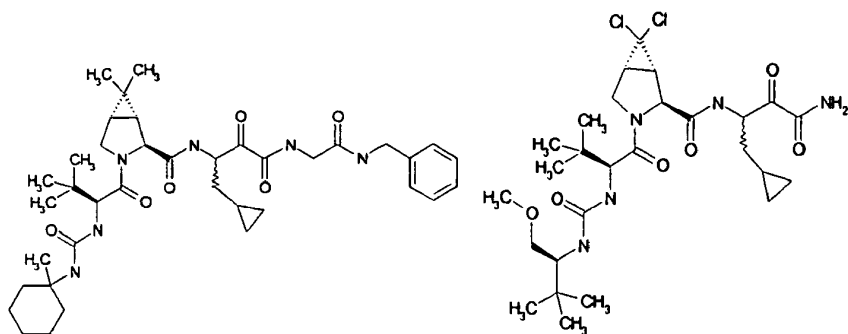


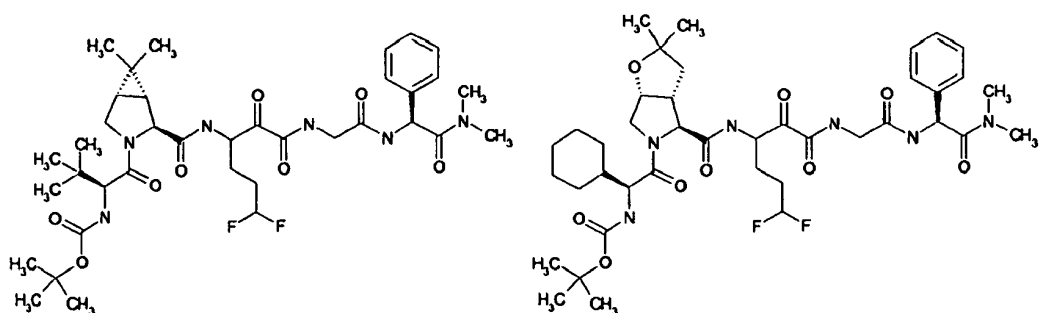
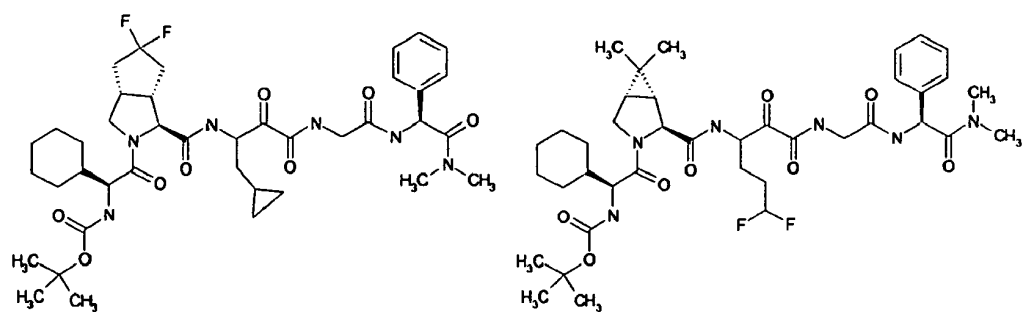
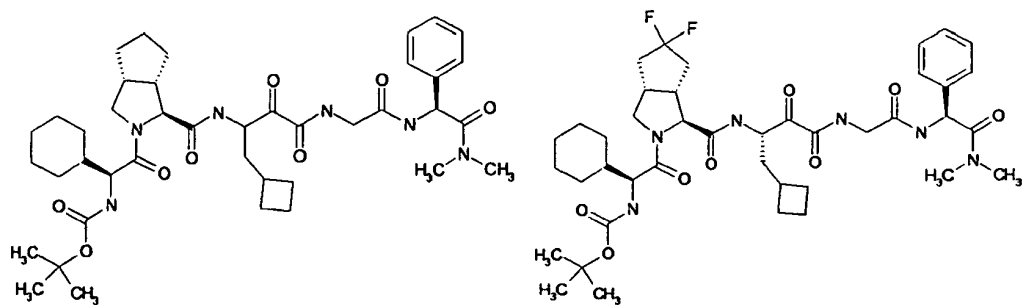
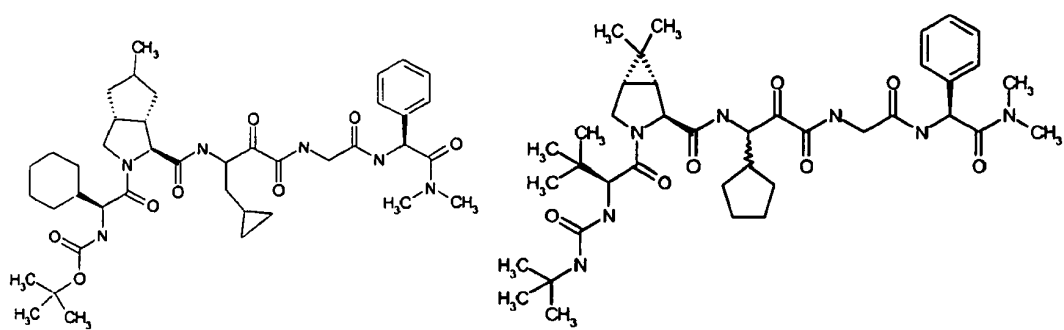


ES 2 344 890 T3

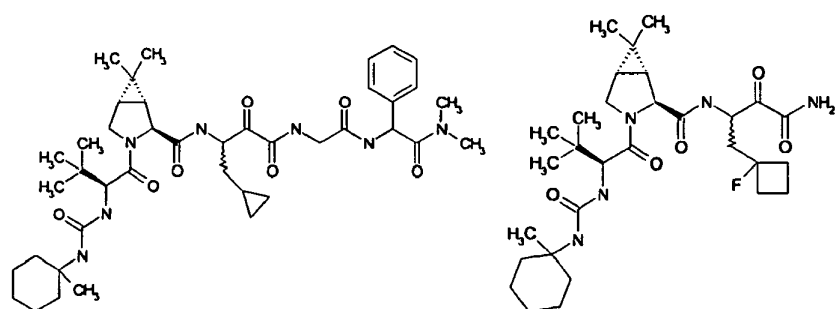
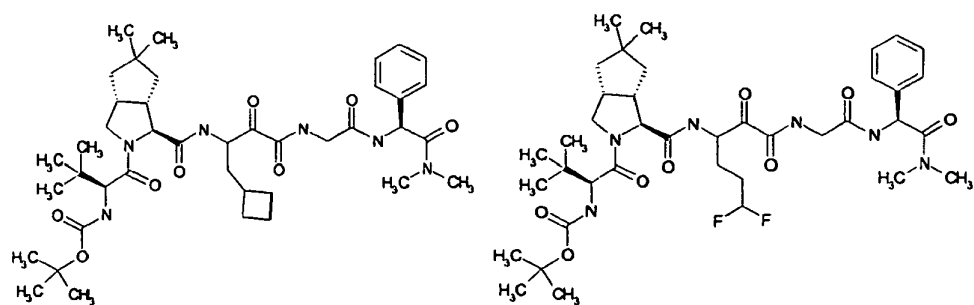
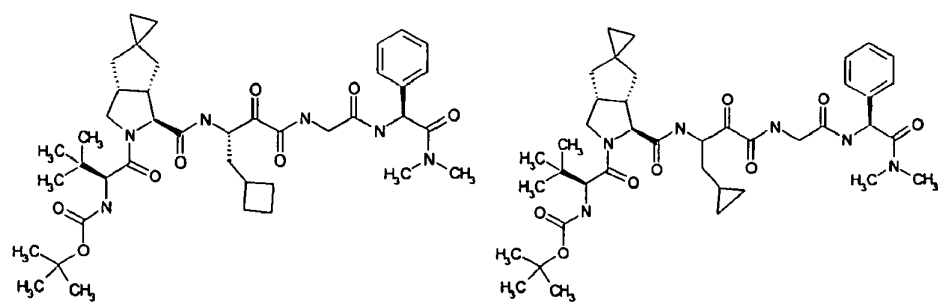
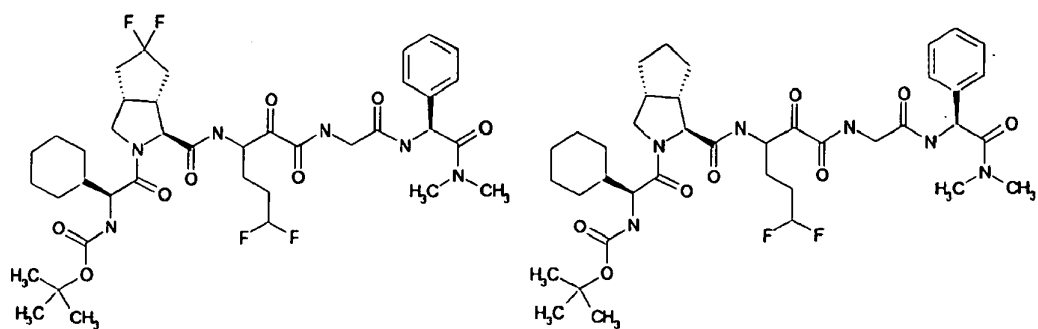








ES 2 344 890 T3



5

10

15

20

25

30

35

40

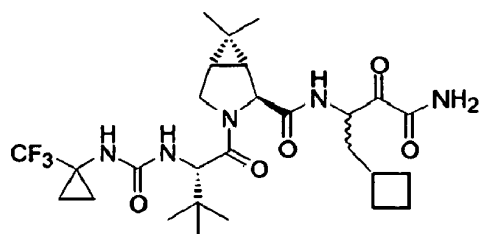
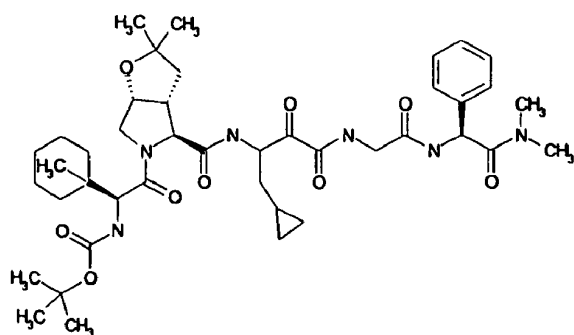
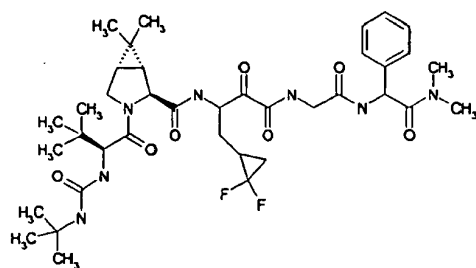
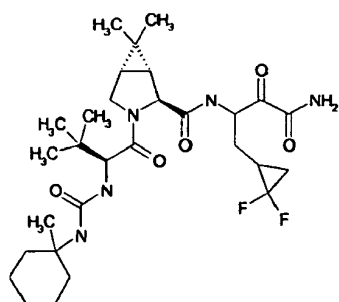
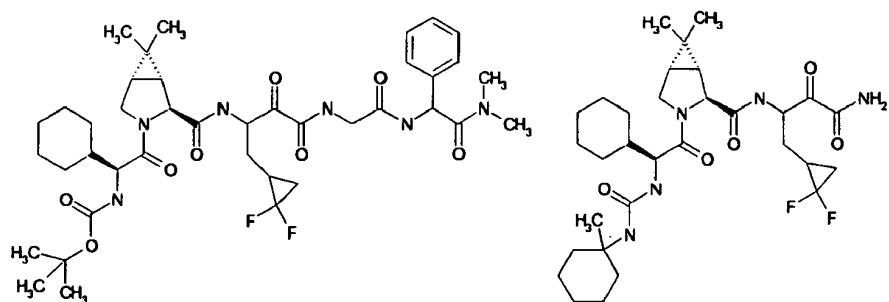
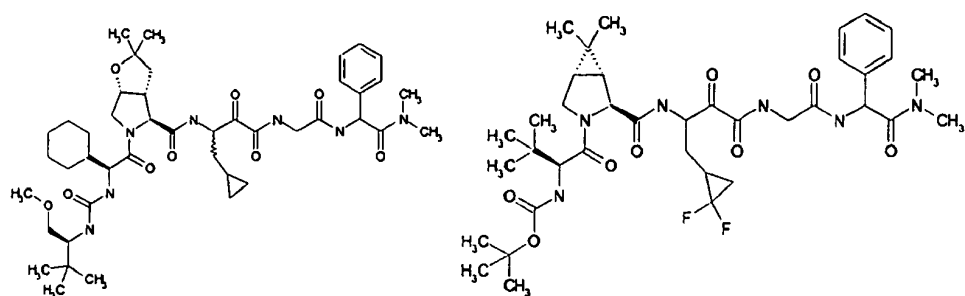
45

50

55

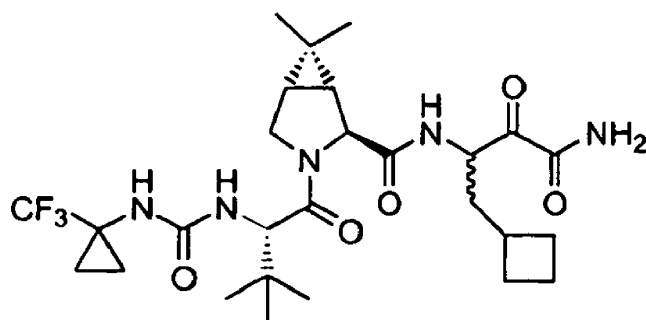
60

65

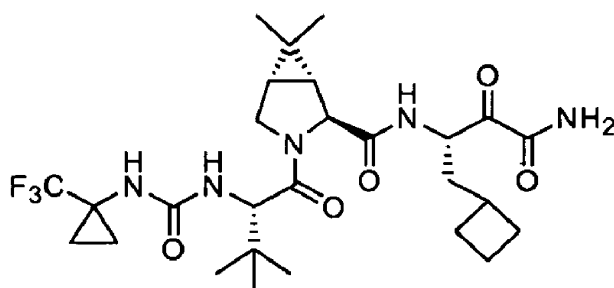


y

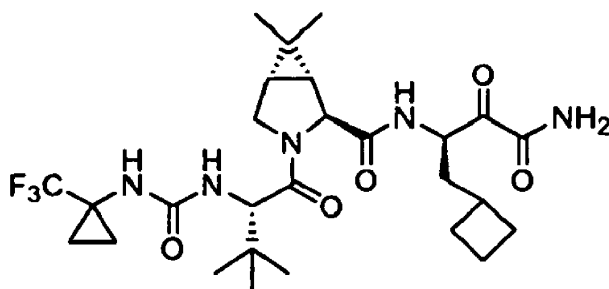
2. Un compuesto de la reivindicación 1, o enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros o racematos de dicho compuesto, o sales o solvatos de dicho compuesto farmacéuticamente aceptables, siendo dicho compuesto el compuesto de la estructura mostrada continuación:



3. Un compuesto de la reivindicación 2, que tiene la fórmula mostrada a continuación:



4. Un compuesto de la reivindicación 2, que tiene la fórmula mostrada a continuación:



5. Una composición farmacéutica que comprende como un principio activo al menos un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para usar en el tratamiento de trastornos asociados con el VHC.

7. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, que además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, que además contiene al menos un agente antivírico.

9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, que además también contiene un interferón o conjugado de PEG-interferón alfa.

10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que dicho agente antivírico es la ribavirina y dicho interferón es el interferón α .

11. El uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para fabricar un medicamento para tratar trastornos asociados con el VHC.

12. El uso de la reivindicación 11, en el que dicho medicamento es para la administración oral o subcutánea.

13. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para tratar trastornos asociados con el VHC.

14. Un método de preparación de una composición farmacéutica para tratar los trastornos asociados con el VHC, comprendiendo dicho método poner en contacto íntimo al menos un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. Un método para modular la actividad de la proteasa del virus de la hepatitis C (VHC), que comprende poner en contacto la proteasa del VHC con uno o más compuestos de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho método es distinto de un método para el tratamiento mediante terapia del cuerpo humano o animal.

16. El uso de uno o más compuestos de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para fabricar un medicamento para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de la hepatitis C.

17. El método de la reivindicación 15, en el que la proteasa del VHC es la proteasa NS3/NS4a.

18. El uso de la reivindicación 16, en el que el compuesto o los compuestos son inhibidores de la proteasa NS3/NS4a del VHC.

19. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de la hepatitis C.

20. Un método para modular el procesamiento del polipéptido del virus de la hepatitis C (VHC), que comprende poner en contacto una composición que contiene el polipéptido del VHC en condiciones en las que el polipéptido es procesado con uno o más compuestos de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho método es distinto de un método para el tratamiento mediante terapia del cuerpo humano o animal.

21. El uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la fabricación de una composición para usar en una terapia de combinación para tratar trastornos asociados con el virus de la hepatitis C (VHC), comprendiendo dicha terapia de combinación administrar (i) dicho compuesto y (ii) un interferón.

22. El uso de la reivindicación 21, en el que dicho interferón es el interferón alfa o interferón pegilado.

23. El uso de la reivindicación 21 o reivindicación 22, en el que dicha terapia de combinación comprende administrar una composición de la reivindicación 5.

24. El uso de la reivindicación 21 o reivindicación 22, en el que dicha terapia de combinación comprende administrar un compuesto de la reivindicación 2.

25. El uso de la reivindicación 21 o reivindicación 22, en el que dicha terapia de combinación comprende administrar un compuesto de la reivindicación 3 o reivindicación 4.

26. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 25, en el que dicha terapia de combinación comprende la administración oral o subcutánea.