



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 494**

51 Int. Cl.:

C07K 5/08 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07864438 .2**

96 Fecha de presentación : **15.11.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2086980**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.08.2009**

54

Título: **Péptidos macrocíclicos como inhibidores de la hepatitis C.**

30

Prioridad: **16.11.2006 US 866125 P**
14.11.2007 US 939768

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.04.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.04.2011

73

Titular/es: **BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY**
Route 206 and Province Line Road
Princeton, New Jersey 08543-4000, US

72

Inventor/es: **Wang, Alan Xiangdong;**
Zheng, Barbara Zhizhen;
D'Andrea, Stanley;
Meanwell, Nicholas A. y
Scola, Paul Michael

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 357 494 T3

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

DESCRIPCIÓN

La presente divulgación se dirige, en general, a compuestos antivirales, y más específicamente se dirige a compuestos que inhiben la función de la proteasa NS3 (también denominada en el presente documento como "serina proteasa") codificada por el virus de la hepatitis C (VHC), composiciones que comprenden dichos compuestos y procedimientos para inhibir la función de la proteasa NS3.

El VHC es un importante patógeno humano que infecta a unos 170 millones de personas en todo el mundo (aproximadamente cinco veces el número de infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1). Una fracción sustancial de estos individuos infectados por el VHC desarrolla una enfermedad hepática progresiva grave, incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular.

En la actualidad, la terapia más eficaz contra el VHC emplea una combinación de interferón alfa y ribavirina, conduciendo a una eficacia sustancial en el 40% de los pacientes. No obstante, los resultados clínicos demuestran que el interferón alfa pegilado es superior al interferón alfa no modificado como monoterapia. No obstante, incluso con pautas terapéuticas experimentales que conllevan combinaciones de interferón alfa pegilado y ribavirina, una fracción sustancial de pacientes no experimenta una reducción sostenida en la carga viral. Así, existe la necesidad clara y no satisfecha de desarrollar procedimientos terapéuticos eficaces para el tratamiento de infección por VHC.

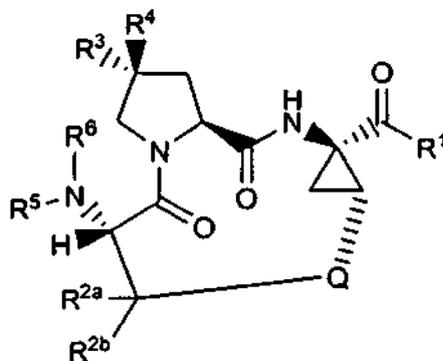
El VHC es un virus de ARN de polaridad positiva. En base a la comparación de la secuencia de aminoácidos deducida y a la extensa similitud en la región sin traducir 5', el VHC se ha clasificado como un género separado en la familia de Flaviviridae. Todos los miembros de la familia Flaviviridae presentan viriones encapsulados que contienen un genoma de ARN de polaridad positiva que codifica todas las proteínas específicas del virus conocidas mediante traducción de un marco de lectura abierto, ininterrumpido y único.

Dentro de la secuencia de nucleótidos y aminoácidos codificados en todo el genoma del VHC se encuentra una considerable heterogeneidad. Se han caracterizado al menos seis genotipos principales y se han descrito más de 50 subtipos. Los genotipos principales del VHC se diferencian en su distribución en todo el mundo y la significación clínica de la heterogeneidad genética del VHC sigue siendo difícil de conseguir a pesar de numerosos estudios del efecto positivo de genotipos sobre la patogénesis y el tratamiento.

El genoma de ARN monocatenario de VHC tiene una longitud de aproximadamente 9500 nucleótidos y tiene un único marco de lectura abierto (ORF) que codifica una única poliproteína grande de aproximadamente 3000 aminoácidos. En las células infectadas, esta poliproteína es escindida en múltiples sitios por proteasas celulares y víricas para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso del VHC, la generación de proteínas no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) es llevada a cabo por dos proteasas víricas. La primera se escinde en la unión NS2-NS3; la segunda es una serina proteasa contenida dentro de la región N-terminal de NS3 y media todas las escisiones subsiguientes cadena abajo de NS3, tanto es cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para los sitios restantes NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B. La proteína NS4A parece servir para múltiples funciones, actuando como un cofactor para la proteasa NS3 y posiblemente ayudando en la localización de membrana de NS3 y otros componentes de la replicasa viral. La formación del complejo de la proteína NS3 con NS4A es esencial para procesar eficazmente poliproteínas, potenciando la escisión proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también muestra actividades de nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN que está implicada en la replicación del VHC. El documento US 2005/070955 describe compuestos macrocíclicos que son útiles como inhibidores de la proteasa del virus de la hepatitis C.

La presente divulgación proporciona compuestos peptídicos que pueden inhibir el funcionamiento de la proteasa NS3, por ejemplo en combinación con la proteasa NS4A. Además, la presente divulgación describe la administración de terapia de combinación a un paciente por la cual puede administrarse un compuesto de acuerdo con la presente divulgación, que sea eficaz inhibiendo la proteasa NS3 del VHC, con uno o dos compuestos adicionales que tengan actividad contra el VHC.

En un primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I)



(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en la que

R^1 se selecciona de alcoxi, hidroxilo y $-NHSO_2R^7$;

5 R^{2a} y R^{2b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;

R^3 se selecciona de alqueno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterocicilalquilo;

R^4 es $-OR^8$;

R^5 se selecciona de hidrógeno, alquilo y cicloalquilo;

10 R^6 se selecciona de hidrógeno, alquilo, alcoxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, ariloxycarbonilo, cicloalquiloxycarbonilo, dialquilaminocarbonilo, haloalcoxicarbonilo, haloalquilo, haloalquilcarbonilo, heterociciloxycarbonilo y (NR^aR^b) sulfonilo;

15 R^7 se selecciona de alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, heterociclilo, heterocicilcarbonilo y $-NR^aR^b$; estando el cicloalquilo y la parte cicloalquilo del (cicloalquil)alquilo opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alqueno, alcoxi, alcoxialquilo, alquilo, arilalquilo, arilcarbonilo, ciano, cicloalqueno, (cicloalquil)alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y (NR^eR^f) carbonilo; y en el que R^a y R^b se seleccionan independientemente de hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalquilo, heterociclilo y heterocicilalquilo; y en el que R^e y R^f se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; estando el arilo, la parte arilo del arilalquilo y el heterociclilo opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de alcoxi, alquilo y halo; y

20 R^8 se selecciona de alcoxialquilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquilcarbonilo, haloalcoxi-alquilo, haloalquilo, (NR^cR^d) carbonilo y $-P(O)(OR^1)_2$; estando R^c y R^d seleccionados independientemente de hidrógeno, alquilo y arilalquilo; o R^c y R^d , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cinco o seis miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, NR^x y S; donde R^x se selecciona de hidrógeno y alquilo; y donde R^1 se selecciona de hidrógeno y alquilo; y

25 Q es una cadena C_{3-9} saturada o insaturada, que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de O, $S(O)_m$ y NR^9 , donde m es 0, 1 ó 2 y R^9 se selecciona de hidrógeno, alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterocicilcarbonilo.

En una primera realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^1 es $-NHSO_2R^7$.

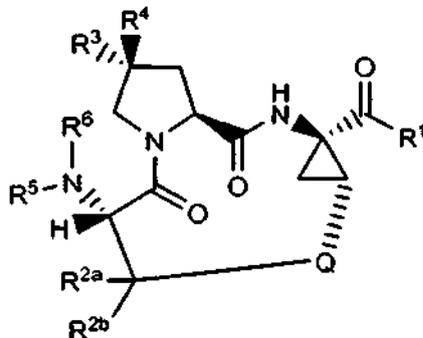
35 En una segunda realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^7 es cicloalquilo.

En una tercera realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^{2a} y R^{2b} son hidrógeno.

En una cuarta realización del primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula

(I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que Q es una cadena C₅₋₇ insaturada que no contiene ningún heteroátomo. En una quinta realización Q es una cadena C₆ insaturada que no contiene ningún heteroátomo.

En un segundo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (II):



(II),

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en la que

R¹ es -NHSO₂R⁷;

R^{2a} y R^{2b} son hidrógeno;

R³ se selecciona de alquenoilo, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;

10 R⁴ es -OR⁸;

R⁵ es hidrógeno.

R⁶ es alcoxycarbonilo;

R⁷ se selecciona de alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, heterociclilo, heterocicilcarbonilo y -NR^aR^b; seleccionándose R^a y R^b independientemente de hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;

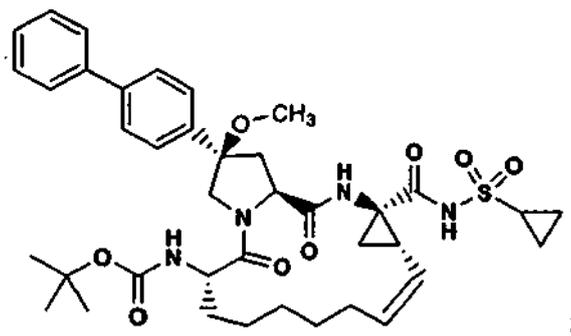
15 R⁸ se selecciona de alcoxialquilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquilcarbonilo, haloalcoxi-alquilo, haloalquilo, (NR^cR^d)carbonilo y -P(O)(OR')₂; estando R^c y R^d seleccionados independientemente de hidrógeno, alquilo y arilalquilo; o R^c y R^d, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cinco o seis miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, NR^x y S; donde R^x se selecciona de hidrógeno y alquilo; y donde R' se selecciona de hidrógeno y alquilo; y

20 Q es una cadena C₃₋₉ saturada o insaturada, que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de O, S(O)_m y NR⁹, donde m es 0, 1 ó 2 y R⁹ se selecciona de hidrógeno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterocicilcarbonilo.

25 En una primera realización del segundo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R⁷ es cicloalquilo.

30 En una segunda realización del segundo aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que Q es una cadena C₆ insaturada que no contiene ningún heteroátomo.

En un tercer aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto que es



o una sal farmacéuticamente aceptables del mismo.

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

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

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

En un quinto aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente. Dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del quinto aspecto, el procedimiento comprende además administrar al menos un compuesto adicional que tenga actividad contra el VHC antes de, después de o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una segunda realización, al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina. En una tercera realización el interferón se selecciona de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A e interferón linfoblastoide tau.

En una cuarta realización del quinto aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente. Dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un compuesto adicional que tenga actividad contra el VHC antes de, después de, o simultáneamente con, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de una respuesta de linfocitos T auxiliares tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, imiqimod, ribavirina, un inhibidor de la inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

En una quinta realización del quinto aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente. Dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un compuesto adicional que tenga actividad contra el VHC, antes de, después de, o simultáneamente con, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que al menos uno de los compuestos adicionales es eficaz para inhibir la función de una diana seleccionada de metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del

VHC, proteína NS5A del VHC y IMPDH para el tratamiento de una infección por el VHC.

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

10 En un séptimo aspecto la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un procedimiento para tratar una infección por VHC en un paciente. Dicho procedimiento comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno, dos, tres, cuatro o cinco compuestos adicionales que tengan actividad contra VHC antes de, después de, o simultáneamente con, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del séptimo aspecto, el procedimiento comprende tres o cuatro compuestos adicionales que tengan actividad contra el VHC. En una segunda realización del séptimo aspecto el procedimiento comprende administrar uno o más compuestos adicionales que tengan actividad contra VHC.

Otros aspectos de la presente realización pueden incluir combinaciones adecuadas de realizaciones reveladas en el presente documento.

20 Se pueden encontrar aún otros aspectos y realizaciones en la descripción proporcionada en el presente documento.

La descripción de la presente realización en el presente documento se interpretaría de forma congruente con las leyes y principios de la formación de enlaces químicos. En algunos casos puede ser necesario retirar un átomo de hidrógeno con el fin de acomodar un sustituyente en cualquier localización dada.

25 Se entenderá que los compuestos comprendidos por la presente realización son aquellos que son adecuadamente estables para usar como un agente farmacéutico.

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

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

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

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

35 El término "alcoxicarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo.

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

El término "alquilamino," tal como se usa en el presente documento, se refiere a -NHR, donde R es un grupo alquilo.

40 El término "alquilaminocarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilamino unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo.

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

45 El término "alquilsulfonilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido a un resto molecular parental mediante un grupo sulfonilo.

El término "amino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a -NH₂.

El término "aminocarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo amino unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo.

50 El término "arilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo o un sistema de anillo bicíclico condensado en el que uno o ambos de los anillos es un grupo fenilo. Los sistemas de anillo bicíclico condensado están constituidos por un grupo fenilo condensado con un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros. Los grupos arilo de la presente divulgación pueden estar unidos al resto molecular principal a través de cualquier átomo de carbono sustituible en el grupo. Ejemplos representativos de

- 5 grupos arilo incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, indanilo, indenilo, naftilo, fenilo y tetrahidronaftilo. Los grupos arilo de la presente divulgación pueden estar opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alqueno, alcoxi, alcoxycarbonilo, alquilo, un segundo grupo arilo, arilalquilo, ariloxi, ciano, cianoalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heterociclilo, heterociclicilalquilo, nitro y oxo; donde el segundo grupo arilo, la parte arilo del arilalquilo y el ariloxi, el heterociclilo y la parte heterociclilo del heterociclicilalquilo pueden estar adicionalmente opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alqueno, alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo, nitro y oxo.
- 10 El término "arilalquilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos arilo. El término "arilcarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo unido a un resto molecular principal mediante un grupo carbonilo.
- El término "ariloxi," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo unido al resto molecular principal a través de un átomo de oxígeno.
- 15 El término "ariloxicarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo ariloxi unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo.
- El término "arilsulfonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo unido a un resto molecular principal mediante un grupo sulfonilo.
- El término "carbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)-$. El término "ciano", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-CN$.
- 20 El término "cianoalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos ciano. El término "cicloalqueno", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico no aromático, parcialmente saturado que tiene de tres a catorce átomos de carbono y ningún heteroátomo. Ejemplos representativos de grupos cicloalqueno incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, ciclohexenilo, octahidronaftalenilo y norbornilenilo. El término "cicloalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo hidrocarburo saturado monocíclico, bicíclico o tricíclico que tiene de tres a catorce átomos de carbono y ningún heteroátomo. Ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no están limitados a, ciclopropilo, ciclopentilo, biciclo[3.1.1]heptilo y adamantilo.
- 25 El término "(cicloalquil)alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos, o tres grupos cicloalquilo.
- 30 El término "cicloalquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo unido al grupo molecular parental a través de un grupo carbonilo.
- El término "cicloalquiloxi", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo unido al resto molecular principal a través de un átomo de oxígeno.
- 35 El término "cicloalquiloxicarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquiloxi unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo.
- El término "dialquilamino," tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-NR_2$, donde cada grupo R es un grupo alquilo. Los dos grupos R pueden ser iguales o diferentes.
- 40 El término "dialquilaminocarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo dialquilamino unido al grupo molecular parental a través de un grupo carbonilo.
- El término "dialquilaminocarbonilalquilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos o tres grupos dialquilaminocarbonilo.
- Los términos "halo" y "halógeno," tal como se usa en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br, o I.
- 45 El término "haloalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilo unido al resto molecular parental a través de un átomo de oxígeno.
- El término "haloalcoxialquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos, o tres grupos haloalcoxi.
- El término "haloalcoxycarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalcoxi unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo.
- 50 El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno, dos, tres o cuatro átomos de halógeno. El término "haloalquilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo haloalquilo unido al grupo molecular parental a través de un grupo carbonilo.
- El término "heterociclilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo de cinco, seis o siete

miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de cinco miembros tiene de cero a dos enlaces dobles y los anillo de seis y siete miembros tienen de cero a tres enlaces dobles. El término "heterociclilo" incluye también grupos bicíclicos en los que el anillo heterociclilo está condensado con un anillo carbocíclico aromático o no aromático u otro grupo heterociclilo monocíclico de cuatro a siete miembros, preferentemente de cuatro a seis miembros. Los grupos heterociclilo de la presente divulgación pueden estar unidos a un resto molecular progenitor mediante un átomo de carbono o un átomo de nitrógeno del grupo. Ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, pero sin limitarse a, benzotienilo, furilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, oxazolilo, piperazinilo, piperidinilo, pirazolilo, piridinilo, pirrolidinilo, pirrolopiridinilo, pirrolilo, tiazolilo, tienilo y tiomorfolinilo. Los grupos heterociclilo de la presente divulgación pueden estar opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alqueno, alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, arilo, arilalquilo, ariloxi, ciano, cianoalquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, un segundo grupo heterociclilo, heterociclilalquilo, nitro y oxo; donde el segundo grupo arilo, la parte arilo del arilalquilo y el ariloxi, el segundo heterociclilo y la parte heterociclilo del heterociclilalquilo pueden estar adicionalmente opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alqueno, alcoxi, alquilo, ciano, halo, haloalcoxi, haloalquilo, nitro y oxo.

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

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

El término "heterocicliloxi," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclilo unido a un resto molecular principal mediante un átomo de oxígeno.

El término "heterocicliloxicarbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterocicliloxi unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo. El término "hidroxilo", como se usa en el presente documento, se refiere a -OH. El término "nitro", tal como se usa en el presente documento, se refiere a -NO₂.

El término "-NR^aR^b," tal como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^a y R^b, que están unidos a un resto molecular parental a través de un átomo de nitrógeno. R^a y R^b se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;

El término "(NR^aR^b)sulfonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -NR^aR^b unido al resto molecular principal a través de un grupo sulfonilo.

El término "-NR^eR^f," tal como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^e y R^f, que están unidos al resto molecular principal a través de un átomo de nitrógeno. R^e y R^f se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; donde el arilo, la parte arilo del arilalquilo y el heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de alcoxi, alquilo y halo.

El término "(NR^eR^f)carbonilo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo -NR^eR^f unido al resto molecular principal a través de un grupo carbonilo. El término "oxo," tal como se usa en el presente documento, se refiere a =O. El término "sulfonilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a SO₂.

Los compuestos de la presente divulgación pueden existir como profármacos. El término "profármaco", tal como se usa en el presente documento, representa compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* en los compuestos principales por hidrólisis en la sangre. Los profármacos de la presente divulgación incluyen ésteres de grupos hidroxilo en la molécula principal, ésteres de grupos carboxi en la molécula principal y amidas de aminas de la molécula principal.

Los compuestos de la presente discusión pueden existir como sales farmacéuticamente aceptables. El término "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, representa sales o formas iónicas bipolares de los compuestos de la presente divulgación que son solubles o dispersables en agua o aceite, que son, dentro del ámbito de un juicio médico cabal, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del paciente sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable, y son eficaces para su uso deseado. Las sales pueden prepararse durante el aislamiento final y purificación de los compuestos o de un modo aparte haciendo reaccionar una funcionalidad básica adecuada con un ácido adecuado. Las sales de adición representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canfosulfonato; digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, mesitilenosulfonato, metanosulfonato, naftilenosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluenosulfonato y undecanoato. Ejemplos de ácidos que se pueden usar para formar sales de adición farmacéuticamente aceptables

incluyen ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, maleico, succínico y cítrico.

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

Tal como se usa en el presente documento, el término "contra la actividad del VHC" significa que el compuesto es eficaz para tratar el virus VHC.

El término "compuestos de la divulgación" y las expresiones equivalentes significan que abarcan compuestos de fórmula (I), y enantiómeros, diastereómeros y sales de los mismos farmacéuticamente aceptables. De modo similar, las referencias a intermedios significan que abarcan sus sales donde el contexto así lo permite.

El término "paciente" incluye seres humanos y otros animales.

El término "composición farmacéutica" significa una composición que comprende un compuesto de la divulgación en combinación con al menos un vehículo farmacéutico adicional, es decir, coadyuvante, excipiente o vehículo, tal como diluyentes, agentes conservantes, cargas, agentes reguladores de flujo, agentes disgregantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes suspensores, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes dispersantes, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y de las formas posológicas. Pueden usarse, por ejemplo, los ingredientes que se enumeran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, EEUU (1999).

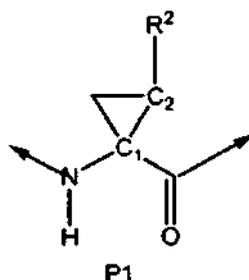
La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas posológicas que son, dentro del ámbito de un juicio médico cabal, adecuados para usar en contacto con los tejidos de pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación proporcional a una relación razonable entre beneficio y riesgo.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad total de cada componente activo que sea suficiente para mostrar un beneficio del paciente significativo, por ejemplo, una reducción sostenida de la carga vírica. Cuando se aplica a un principio activo individual, administrado solo, el término se refiere a ese ingrediente solo. Cuando se aplican a una combinación, los términos se refieren a cantidades combinadas de los ingredientes activos que dan como resultado el efecto terapéutico, tanto si se administran en combinación, en serie o simultáneamente.

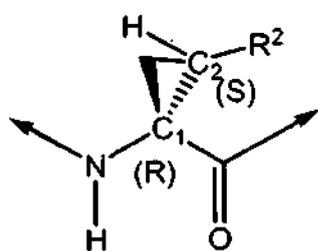
Los términos "trato" y "tratar" se refieren a: (i) prevenir que una enfermedad, trastorno o afección tenga lugar en un paciente, que puede estar predispuesto a la enfermedad, trastorno y/o afección, pero que todavía no se ha diagnosticado que la tenga; (ii) inhibir la enfermedad, trastorno o afección, es decir, detener su desarrollo; y/o (iii) aliviar la enfermedad, trastorno o condición, es decir, provocar la regresión de la enfermedad, trastorno o afección.

Cuando se usan en compuestos que se mencionan en la presente divulgación, las denominaciones P1', P1, P2, P2*, P3 y P4, tal como se usan en el presente documento, cartografían las posiciones relativas de los restos de aminoácidos de unión de un inhibidor de proteasa referentes a la unión de un sustrato de escisión de un péptido natural. La escisión tiene lugar en el sustrato natural entre P1 y P1' donde las posiciones no preferenciales de los aminoácidos mencionados comienzan por el extremo terminal C del sitio de escisión natural del péptido y se extienden hacia el extremo N, mientras que las posiciones preferenciales dimanan del extremo terminal N de la designación del sitio de escisión y se extienden hacia el extremo C. Por ejemplo, P1' se refiere a la primera posición alejada del extremo a la derecha del extremo C terminal del sitio de escisión (es decir, primera posición del extremo N terminal); mientras que P1 comienza la numeración desde el lado izquierdo del sitio de escisión del extremo C terminal, P2: segunda posición desde el extremo C, etc.). (véase Berger A. y Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), [B257](#), 249-264).

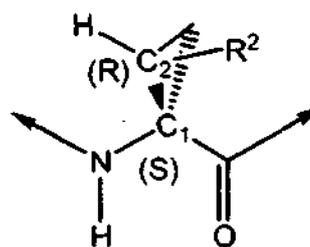
Existen centros asimétricos en los compuestos de la presente divulgación. Por ejemplo, los compuestos pueden incluir un elemento ciclopropil P1 de fórmula



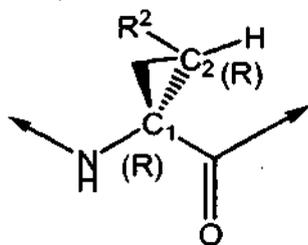
en la que C_1 y C_2 cada una representan un átomo de carbono asimétrico en las posiciones 1 y 2 del anillo ciclopropílico.



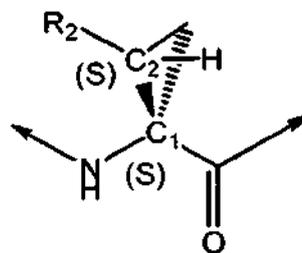
(1R,2S)
 R^2 es syn a carbonilo



(1R,2R)
 R^2 es syn a carbonilo



(1R,2R)
 R^2 es syn a amida



(1S,2SR)
 R^2 es syn a amida

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

10 Ciertos compuestos de la presente discusión pueden existir también en formas conformacionales estables diferentes que pueden ser separables. La asimetría torsional debida a rotación restringida sobre un enlace individual asimétrico, por ejemplo debido a su impedimento estérico o tensión de anillo, puede permitir la separación de conformadores diferentes. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y mezclas de los mismos.

Ciertos compuestos de la presente discusión pueden existir en forma híbrida y la presente divulgación incluye cada forma híbrida de estos compuestos y mezclas de los mismos.

15 Cuando sea posible que, para usar en terapia, se puedan administrar cantidades terapéuticamente efectivas de un compuesto de fórmula (I), así como que sales farmacéuticamente aceptables de las mismas se puedan administrar como el material en bruto, es posible presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica. De acuerdo con ello, la discusión proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas, que incluyen cantidades terapéuticamente efectivas de compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de

fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son como se describen anteriormente. El/los vehículo(s), diluyente(s), o excipiente(s) deben ser aceptables en el sentido de que sean compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la discusión se proporciona un procedimiento para la preparación de una formulación farmacéutica incluyendo mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en formas monodosis que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por monodosis. En una monoterapia para la prevención y tratamiento de enfermedad mediada por VHC son típicos niveles de dosis que varían de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 250 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal por día, con preferencia de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos de la divulgación. Habitualmente, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se administrarán desde aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces al día o de forma alternativa, en forma de infusión continua. Dicha administración puede usarse como terapia crónica o aguda. La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales vehículo para producir una única forma farmacéutica variará dependiendo de la afección que se esté tratando, de la gravedad de la afección, del tiempo de administración, la vía de administración, la velocidad de excreción del compuesto usado, la duración del tratamiento y la edad, sexo, peso y afección del paciente. Las formulaciones monodosis son las que contienen una dosis o subdosis diaria, tal como se indica anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas de un principio activo. Generalmente, el tratamiento se inicia con dosis pequeñas sustancialmente por debajo de la dosis óptima del compuesto. Después, la dosis se aumenta en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias dadas. En general, el compuesto se administra, de la forma más deseable a un nivel de concentración que generalmente conseguirá resultados antiviralmente eficaces sin provocar efectos secundarios dañinos ni perjudiciales.

Cuando las composiciones de esta divulgación comprenden una combinación de un compuesto de la divulgación y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional habitualmente están presentes a niveles de dosis de aproximadamente 10 a 150%, y más preferentemente entre aproximadamente 10 y 80% de la dosis que normalmente se administra en una pauta de monoterapia.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo por la vía oral (incluyendo la bucal o la sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual, o transdérmica), vaginal, o parenteral (incluyendo inyecciones o infusiones subcutáneas, intracutáneas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales, intravenosas, o intradérmicas). Tales formulaciones se pueden preparar por cualquier procedimiento conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo por unión en asociación el ingrediente activo con el/los vehículo(s) o excipiente(s).

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

Por ejemplo, para administración oral en la forma de un comprimido o una cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable no tóxico, oral tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se prepararon moliendo el compuesto a un tamaño fino adecuado y mezclando con un vehículo farmacéutico molido de forma similar tal como un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También puede estar presente agente aromatizante, conservante, dispersante y colorante.

Las cápsulas se hacen preparando una mezcla en polvo, como se describe anteriormente y cubiertas de gelatina formadas cargadas. Se pueden añadir agentes deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de carga. Un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio, o carbonato de sodio puede también añadirse para incrementar la disponibilidad del medicamento cuando la cápsula es ingerida.

Además, cuando se desee o sea necesario, también pueden incorporarse aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados a la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, goma de tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregadores incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana, y similares. Los comprimidos se formularon, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o soldando con fusión incompleta, añadiendo un lubricante y disgregante, y prensando en comprimidos. Se preparó una mezcla en polvo mezclando el compuesto, molido adecuadamente, con un diluyente o base como se describe anteriormente, y opcionalmente, con un ligando tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina, o polivinilpirrolidina, un retardante de solución tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo se puede granular por humectación con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábiga, o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a pasar a través de un tamiz. Como una alternativa para granular, la mezcla en polvo puede hacerse

- 5 pasar por la máquina compresora y el resultado son postas formadas imperfectamente rotas en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se adhieran al comprimido formando moldes por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco, o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime después en comprimidos. Los compuestos de la presente divulgación se pueden combinar también con un vehículo inerte que fluye libre y se pueden comprimir en comprimidos directamente sin ir a través de las etapas de granulación o formación de postas. Se pueden proporcionar un revestimiento protector transparente u opaco constituido por un revestimiento sellante de goma laca, un revestimiento de azúcar o de material polimérico, y un revestimiento pulido de cera. Se pueden añadir tintes a estos recubrimientos para distinguir dosificaciones unitarias diferentes.
- 10 Los fluidos orales tales como una solución, jarabes y elixires se pueden preparar en forma de dosificación unitaria tal que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que se prepararon elixires por el uso de un vehículo no tóxico. Se pueden añadir también solubilizadores y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivo aromático tal como aceite de menta o edulcorantes naturales, o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.
- 15 Donde sea apropiado, se pueden encapsular las formulaciones de dosificación unitaria para administración. La formulación se pueden preparar también para prolongar o mantener la liberación como por ejemplo revistiendo o incrustando material en forma de partículas en polímeros, ceras, o similares.
- 20 Los compuestos de fórmula (I), y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden administrar también en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas se pueden formar a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina, o fosfatidilcolinas.
- 25 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden administrar también por el uso de anticuerpos monoclonales como transportadores individuales a los que están acopladas las moléculas de compuestos. Los compuestos pueden estar acoplados también con polímeros solubles como transportadores de fármacos marcables como objetivos. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidafenol, polihidroxietilaspirtamidafenol, o polietileno oxidopoliilisina sustituida con residuos de palitoilo. Además, los compuestos pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles en lograr liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos, y copolímeros de bloque de hidrogeles reticulados o anfipáticos.
- 30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos que se desea que permanezcan en contacto íntimo con la epidermis de un receptor durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede administrar a partir del parche por iontoforesis como se describe generalmente en Pharmaceutical Research, 3 (6), 318 (1986).
- 35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.
- 40 Para tratamientos del ojo o de otros tejidos externos, por ejemplo boca y piel, las formulaciones se aplican preferentemente como una pomada o crema tópica. Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo se puede usar bien con una base parafínica o bien con una base de pomada mezclable en agua. Alternativamente, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de aceite-en-agua o con una base de agua-en-aceite.
- 45 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas para el ojo incluyen gotas oculares en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso.
- Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica en la boca incluyen tabletas, pastillas y enjuagues bucales.
- Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal pueden presentarse como supositorios o como enemas.
- 50 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal en la que el vehículo es sólido incluyen un polvo basto que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micrómetros que se administra en la forma en la que se inhala el rafe, es decir mediante inhalación rápida por las vías nasales a partir de un contenedor del polvo que se sujeta próximo a la nariz. Las formulaciones adecuadas en las que el excipiente es un líquido, para administración como una pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas o soluciones aceitosas del ingrediente activo.
- 55 Las formulaciones adaptadas para administración por inhalación incluyen espolvoreados o neblinas de partículas finas, que se pueden generar por medio de diversos tipos de aerosoles, nebulizadores, o insufladores presurizados en dosis medidas.

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

5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que vuelven a la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes en suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitaria o de multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Se pueden preparar soluciones y suspensiones de inyección extemporáneas a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

10 Debería entenderse que además de los ingredientes mencionados en particular anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que se han considerado para el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos adecuados para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

15 La Tabla 1 a continuación enumera algunos ejemplos ilustrativos de compuestos que se pueden administrar con los compuestos de esta divulgación. Los compuestos de la divulgación se pueden administrar con otros compuestos con actividad contra el VHC en terapia de combinación, bien de forma conjunta o por separado o combinando los compuestos para formar una composición.

Tabla 1

<i>Nombre comercial</i>	<i>Clase fisiológica</i>	<i>Tipo de inhibidor o diana</i>	<i>Compañía suministradora</i>
NIM811		Inhibidor de ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Inmunomodulador	Sciclone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista de TLR9	Coley
Batabulin (T67)	Anticanceroso	Inhibidor de β -tubulina Francisco,	Tularik Inc., South San CA
ISIS 14803	Antiviral	Antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Phamaceuticals Inc., New York, NY
Summetrel	Antiviral	Antiviral	Endo Pharmaceutical s Holdings Inc., Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	Antiviral	Inhibidor del VHC	Achillion / Gilead
Compuestos de pirazolopirimidina y sales de WO-2005047288 26 mayo 2005	Antiviral	Inhibidores del VHC	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirina	Antiviral	Inhibidor de IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Merimepodip (VX-497)	Antiviral Cambridge,	Inhibidor de IMPDH	Vertex Pharmaceutical s Inc., MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antiviral	Anticuerpo monoclonal	XTL Biophamaceuti cals Ltd., Rehovot, Israel
Telaprevir (VX-950, LY- 570310)	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa NS3	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly y Co. Inc., Indianapolis, IN

<i>Nombre comercial</i>	<i>Clase fisiológica</i>	<i>Tipo de inhibidor o diana</i>	<i>Compañía suministradora</i>
HCV-796	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Wyeth / Viropharma
NM-283	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Idenix / Novartis
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Gene Labs / Novartis
GL-60667	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	GeneLabs / Novartis
2'C MeA	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Gilead
PSI6130	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Roche
R1626	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Roche
2'C Metil adenosina	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Merck
JTK-003	Antiviral	Inhibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokio, Japón
Levovirina	Antiviral	Ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
Ribavirina	Antiviral	Ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidina	Antiviral	Profármaco de ribavirina	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Heptazyme	Antiviral	Ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
SCH 501034	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Schering Plough
Zadazim	Inmunomodulador	Inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Ceplene	Inmunomodulador	Inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
CellCept	Inmunosupresor	IgG inmunosupresora de VHC	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Civacir	Inmunosupresor	IgG inmunosupresora de VHC	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL
Albuferon - α	Interferón	Albúmina IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferón	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA

<i>Nombre comercial</i>	<i>Clase fisiológica</i>	<i>Tipo de inhibidor o diana</i>	<i>Compañía suministradora</i>
Omega IFN	Interferón	JFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β y EMZ701	Interferón	IFN- β y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Inc., Ontario, Canada
Rebif	Interferón	IFN- β 1a	Serono, Ginebra, Suiza
Roferon A	Interferón	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Intrón A	Interferón	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Intrón A y Zadaxin	Interferón	IFN- α 2b/ α 1-timosina	RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Rebetron	Interferón	IFN- α 2b / ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferón	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, CA
Interferon- β	Interferón	Interferón- β -1a	Serono
Multiferon	Interferón	IFN de acción prolongada	Viragen / Valentis
Wellferon	Interferón	IFN- α 1 linfoblastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, Reino Unido
Omniferon	Interferón	IFN- α natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferón	IFN- α 2a pegilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Pegasys y Ceplene	Interferón	IFN- α 2a PEGilado/inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Pegasys y Ribavirina	Interferón	IFN- α 3a PEGilado/ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
PEG-Intrón	Interferón	IFN- α 2b PEGilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intrón / ribavirina	Interferón	IFN- α 2b PEGilado/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Protección hepática	Antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Protección hepática	Inhibidor de caspasa	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA

Nombre comercial	Clase fisiológica	Tipo de inhibidor o diana	Compañía suministradora
ITMN-191 (R-7237)	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Genelabs
ANA-971	Antiviral	Agonista de TLR-7	Anadys
TMC-465350	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Medivir/ Tibotec

Los compuestos de la divulgación pueden usarse también como reactivos de laboratorio. Los compuestos pueden ser una contribución decisiva para proporcionar herramientas de investigación para diseñar ensayos de replicación del virus, validación de sistemas de ensayo en animales y estudios de biología estructural para potenciar más el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad por VHC. Además, los compuestos de la presente divulgación son útiles para establecer o determinar el sitio de unión de otros compuestos antivirales, por ejemplo, por inhibición competitiva.

Los compuestos de esta divulgación también pueden ser útiles para tratar o prevenir contaminación viral de materiales y por tanto reducir el riesgo de infección viral de laboratorio o personal médico o pacientes que entren en contacto con tales materiales, por ejemplo, sangre, tejidos, instrumental y prendas quirúrgicas, instrumental y prendas de laboratorio, y aparatos y materiales para la extracción o transfusión de sangre.

La presente divulgación pretende incluir compuestos que tienen la fórmula (I) cuando se preparan por procedimientos de síntesis o por procedimientos metabólicos que incluyen los que se producen en el cuerpo humano o animal (*in vivo*) o procedimientos que se producen *in vitro*.

Las abreviaturas químicas usadas comúnmente para identificar compuestos químicos divulgados en el presente documento incluyen Bn: bencilo; Boc: terc-butiloxicarbonilo {Me₃COC(O)}; BSA: albúmina sérica bovina; CDI: carbonildiimidazol; DBU: 1,8-diazabicyclo [5.4.0]-undec-7-eno; CH₂Cl₂=DCM: cloruro de metileno; TBME: éter metil *terc*-butílico; DEAD: azodicarboxilato de dietilo; DIAD: azodicarboxilato de diisopropilo; DIEA: diisopropiletilamina; DIPEA: diisopropiletilamina; 4-DMAP: 4-dimetil-aminopiridina; DCC: 1,3-diciclohexilcarbodiimida; DMF: dimetilformamida; DMSO: dimetilsulfóxido; DPPA: azida de difenilfosforilo; Et: etilo; EtOH: etanol; EtOAc: acetato de etilo; Et₂O: éter dietílico; catalizador de Grubb: dicloruro de bis(triciclohexilfosfina)bencilideno rutenio (IV); catalizador de Grubb de segunda generación: dicloruro de triciclohexilfosfina[1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-4,5-dihidroimidazol-2-iliden][bencilideno]rutenio (IV); HATU: hexafluorofosfato de [O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio]; HBTU: hexafluorofosfato de [O-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio]; HOBT, 1-hidroxibenzotriazol; HOAT, 1-hidroxil-7-azabenzotriazol; HPLC: cromatografía líquida de alta resolución; EM: espectrometría de masas; Me: metilo; MeOH: metanol; NMM: N-metilmorfolina; NMP: N-metilpirrolidina; Pr: propilo; PPA: poli(ácido fosfórico); TBAF: fluoruro de tetra-n-butilamonio; 1,2-DCE o DCE: 1,2-dicloroetano; TFA: ácido trifluoroacético; THF: tetrahidrofurano.

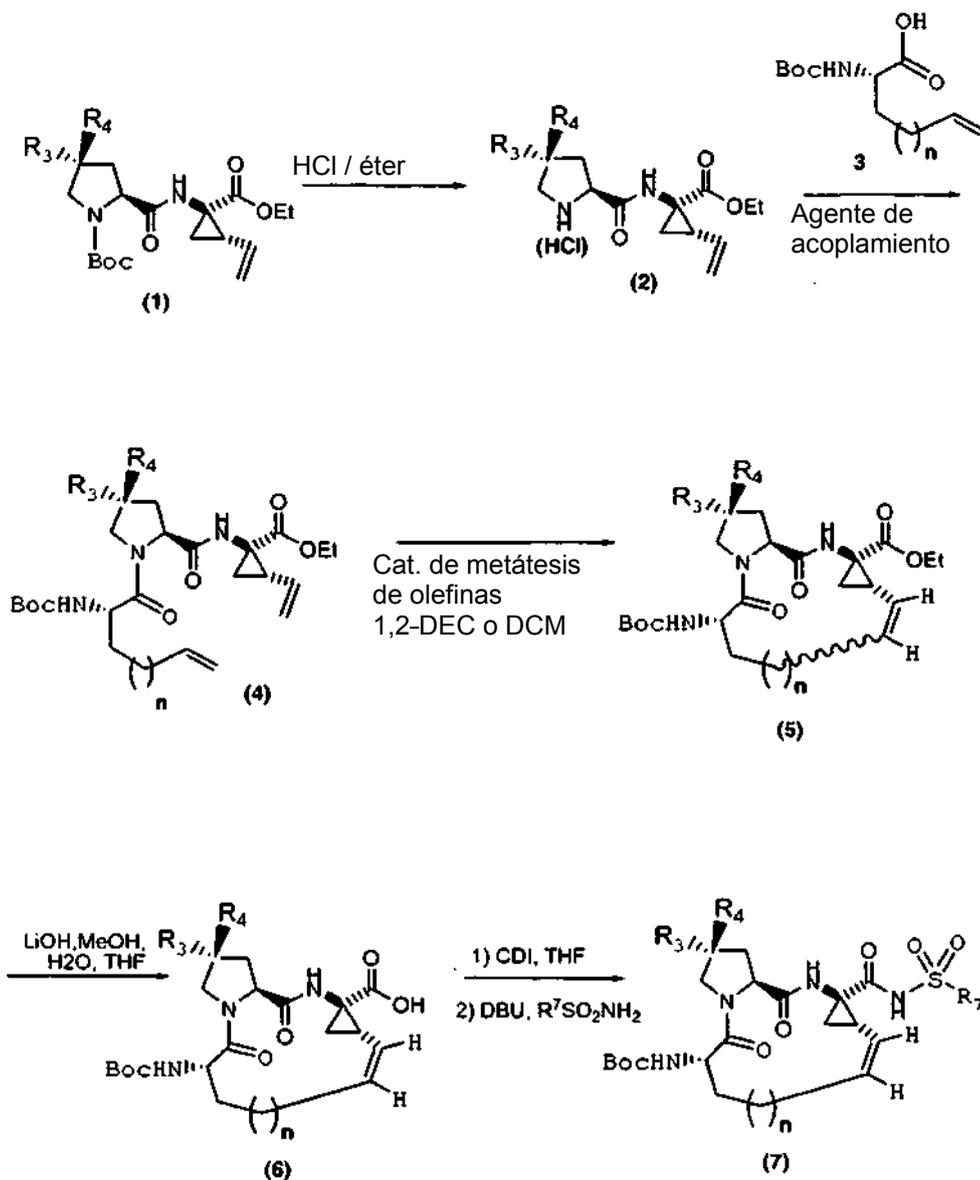
Los materiales de partida útiles para sintetizar los compuestos de la presente discusión son conocidos por los expertos en la técnica y pueden elaborarse fácilmente o están disponibles comercialmente.

Los siguientes procedimientos expuestos más adelante se proporcionan para propósitos ilustrativos y no se desea que limiten el alcance de las reivindicaciones. Se reconocerá que puede ser necesario preparar un compuesto tal en el que un grupo funcional esté protegido usando un grupo protector convencional después para retirar el grupo protector para proporcionar un compuesto de la presente divulgación. Los detalles que conciernen al uso de grupos protectores de acuerdo con la presente divulgación se conocen por aquellos expertos en la técnica.

Como se muestra en el Esquema 1, los intermedios de la presente invención tales como el dipéptido 1, se pueden usar para la preparación de compuestos de fórmula (I). En la primera etapa de este proceso, se desprotege el nitrógeno protegido con Boc de 1 usando un ácido tal como HCl en un disolvente tal como éter, proporcionando la amina libre 2 correspondiente. La amina 2 se puede acoplar seguidamente a un aminoácido 3 usando un agente de acoplamiento tal como HATU en un disolvente tal como diclorometano proporcionando el tripéptido intermedio 4. Se apreciará que en algunos casos, intermedios como 3 están disponibles de forma comercial y como alternativa, tales compuestos se pueden preparar de forma racémica o quiral por procedimientos conocidos en la técnica. Una transformación clave en la construcción de compuestos de fórmula (I) es el proceso de microciclación en el que intermedios de estructura general 4 se convierten en intermedios de estructura general 5. En el ejemplo general citado, la conversión del intermedio 4 a 5 se puede efectuar por una reacción de metátesis de olefinas intramolecular. Esta clase de reacción está bien documentada en la técnica y como tal, se han desarrollado y están

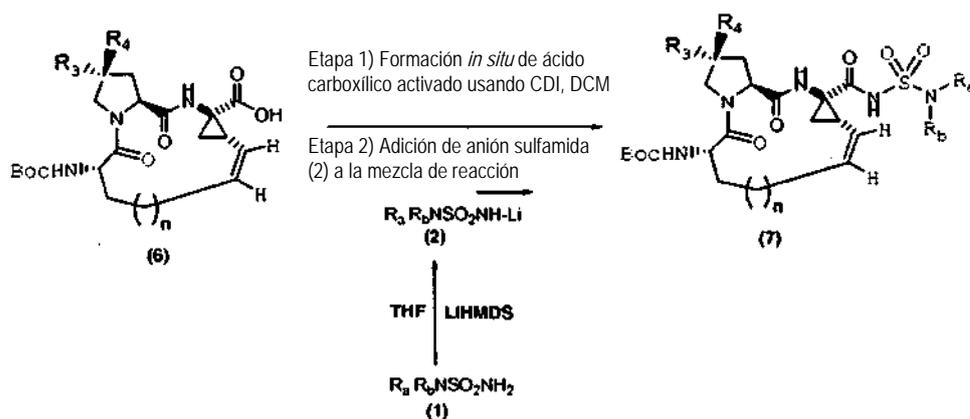
5 disponibles comercialmente una serie de catalizadores de metátesis de olefinas. Por ejemplo, la conversión del dieno **4** al macrociclo **5** se podría efectuar por tratamiento de **4** con una cantidad suficiente de catalizador de metátesis de olefinas de Grubb de primera generación, en un disolvente tal como diclorometano o dicloroetano. En algunos ejemplos para la conversión de **4** a **5**, puede ser necesario calentar la mezcla de reacción con el fin de efectuar este proceso de ciclación. El intermedio **5** se convierte entonces a los compuestos de fórmula (I) tal como **7** por un proceso en dos etapas. En la primera etapa de este proceso, se hidroliza la funcionalidad éster del intermedio **5** al ácido carboxílico **6** correspondiente. Esta transformación se puede llevar a cabo por una reacción de saponificación en la que se trata **5** con una base tal como hidróxido de litio en una mezcla de THF, metanol y agua. El ácido **6** resultante se puede convertir a un compuesto de fórmula (I) por una sencilla reacción de acoplamiento con un derivado sulfonamida como se muestra. Por ejemplo, está bien documentado en la técnica que el tratamiento de un ácido carboxílico como **6**, con CDI en un disolvente tal como cloruro de metileno, genera *in situ* un intermedio reactivo que, cuando se trata con una sulfonamida, proporciona **7**, un compuesto de fórmula (I).

Esquema 1



5 Si, en el proceso de acoplamiento final anterior, es decir, en la conversión de **6** a **7**, la entidad $R^8SO_2NH_2$ es un derivado sulfamida, como por ejemplo, $R_aR_bNSO_2NH_2$, entonces se puede usar un procedimiento de acoplamiento alternativo. En este, el intermedio sulfamina **1** (Esquema 2) se desprotona en primer lugar usando una base tal como bishexametildisilano de litio en un disolvente tal como THF. La solución en THF resultante de anión sulfamida **2** se añade entonces a la mezcla de reacción anteriormente citada que contiene el ácido carboxílico activado. Esta mezcla de reacción se agita entonces durante varias horas para proporcionar la acilsulfamida **7** requerida.

Esquema 2

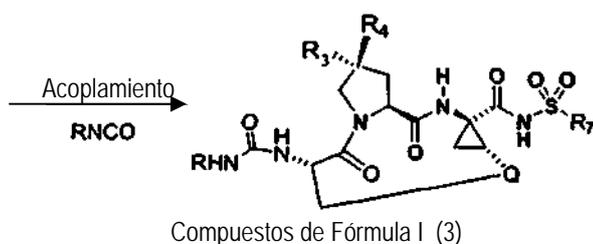
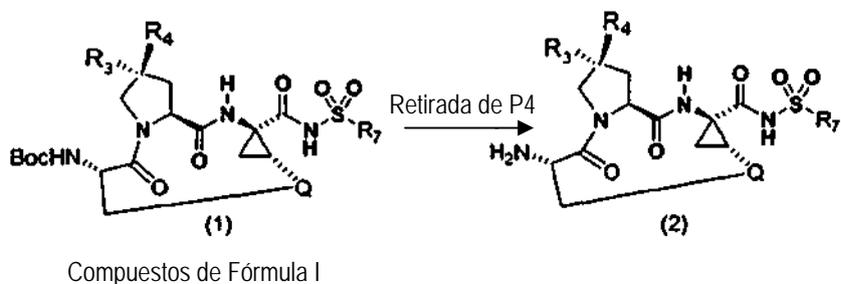


10 Los compuestos de fórmula (I) también se pueden convertir en otros compuestos de Fórmula I como se describe en el presente documento. Un ejemplo de dicho proceso se muestra en el Esquema 3, en el que un compuesto de Fórmula I (I) que tiene un grupo Boc en la posición P4 se convierte a un compuesto de Fórmula I (3) en el que dicho compuesto tiene un grupo urea en la posición P4. La conversión de **1** a **3** se puede llevar a cabo en un proceso de dos etapas, la primera de las cuales es la conversión de **1** a la amina **2** por tratamiento de **1** con un ácido tal como TFA en un disolvente tal como cloruro de metileno. La sal TFA de amina resultante se puede tratar con un isocianato en presencia de un equivalente de base para proporcionar un compuesto de Fórmula I (3) en la que el resto P3 está rematado con una urea. Como se ha indicado anteriormente, un experto en la técnica reconocerá que el intermedio **2** se puede usar como material de partida para la preparación de compuesto de Fórmula I en la que el grupo P3 está rematado con una amida o un carbamato. La construcción de dichos compuestos de Fórmula I se puede conseguir usando condiciones convencionales para la formación de dichas funcionalidades P4 en aminas.

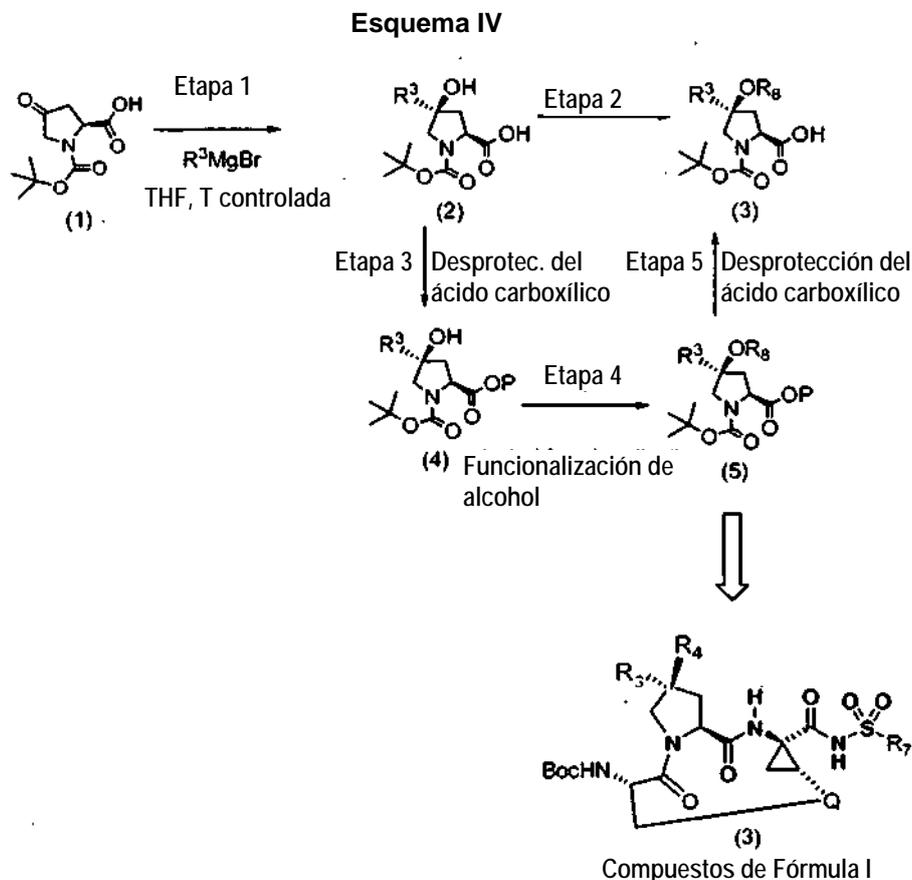
15

20

Esquema 3



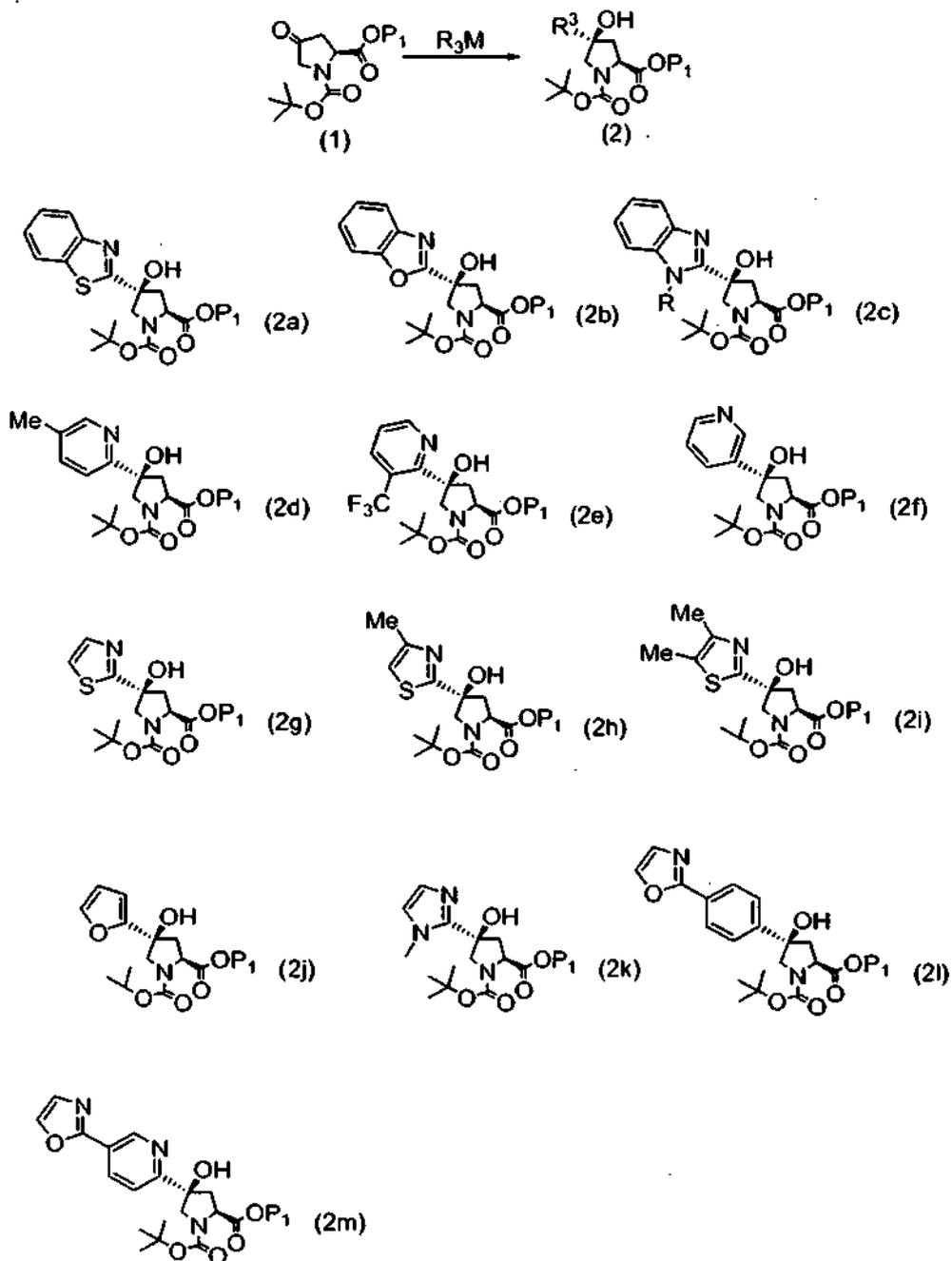
Procedimientos a modo de ejemplo para preparar intermedios P2 y compuestos de fórmula (I) se muestran en los Esquemas siguientes. Dichos intermedios, condiciones de reacción y procedimientos dados en los ejemplos específicos son aplicables en amplio grado a compuestos con otros modelos de sustitución. Por ejemplo, la síntesis de elementos P2 encontrada en compuestos de fórmula (I) del Esquema IV se puede preparar siguiendo la ruta de síntesis definida. En esta, se trata *N*-Boc-4-oxo-L-prolina disponible de forma comercial, con un agente organometálico tal como un reactivo de Grignard (o, de forma alternativa, una especie de alquil o aril litio, o, de forma alternativa, una especie de alquil o aril cinc) proporcionando el Intermedio (2) en el que la posición C4 de la prolina tiene un sustituyente R^3 y un grupo hidroxilo terciario libre. La funcionalidad alcohol del intermedio 2 se puede funcionalizar para proporcionar la funcionalidad R_8 deseada. En este proceso, el alcohol del intermedio 2 se puede introducir en una serie de reacciones bien establecidas en la técnica. Por ejemplo, el alcohol de 2 se puede acilar para proporcionar ésteres, carbamatos o carbonatos; alquilar para proporcionar éteres y fosfonar para proporcionar fosfatos. Para la conversión del intermedio 2 al intermedio 3 del Esquema IV puede ser necesario proteger primero el grupo ácido carboxílico de 2 como se muestra.



La química para la funcionalización de alcoholes se describe en textos convencionales en la materia tales como: Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations. Segunda Edición, de Richard Larock. Este texto está editado por Wiley and Sons. En el mismo se subrayan referencias y revisiones específicas que un experto en la técnica puede emplear fácilmente para conversión del intermedio 2 del Esquema IV al intermedio 3. Por ejemplo, condiciones y referencias pertinentes para la formación de éteres a partir de alcoholes pueden encontrarse en las páginas 883 a 929 del texto de Larock. De forma más específica, las condiciones y referencias citadas en las páginas 890 a 894 son las más pertinentes para llevar a la práctica la presente invención. De igual modo, condiciones para la conversión de alcoholes a los derivados éster correspondientes se pueden encontrar en las páginas 1952 y 1955 del texto de Larock. Además, la química descrita en Journal of Organic Chemistry 2001, volumen 66, página 8926 y las referencias pertinentes citadas en el mismo son útiles para llevar a la práctica la presente invención.

Se apreciará que la adición de agentes organometálicos al resto cetona del derivado de prolina I (Esquema VI) está bien establecida en la técnica. Por ejemplo, Hruby y colaboradores (J. Org. Chem. 2001, 66, 3593) han descrito la adición de bromuro de fenilmagnesio a intermedios de estructura general 1 del Esquema IV. Estos hallazgos proporcionan evidencia de que los rendimientos óptimos de los productos de adición 1,2 deseados (2, del Esquema VI) se obtienen cuando se emplea un grupo éter terc-butílico como grupo protector del resto carboxilo C2. Además, este trabajo proporcionó la evidencia clara en la forma de cristalografía de rayos X en lo que se refiere a los resultados estereoquímicos de esta reacción de adición. De forma específica, como resultado de la adición de Grignard anteriormente citada a la cetona 1, se obtuvo un único producto en el que el grupo hidroxilo C4 y el grupo carboxilo C2 asumían una orientación relativa *syn* alrededor del anillo de cinco miembros. A partir de la determinación de esta estructura se dedujo la selectividad de caras en la adición de R_3M a la cetona de I que era *alfa* en el contexto de la estructura I del Esquema IV. Es decir, la selectividad organometálica añade a la cara *re* (cara de abajo) del carbonilo en 1 proporcionando el alcohol terciario correspondiente (2) con la estereoquímica mostrada.

Esquema VI



El trabajo anteriormente citado de Hruby describe la adición de un reactivo de Grignard específico a derivados de I (Esquema VI). Sin embargo, la adición de una diversidad de reactivos de Grignard a la prolina 1 está incluida en la presente divulgación. El corpus bibliográfico que describe la adición de agentes organometálicos, incluyendo reactivos de Grignard, a cetonas es considerable y se resume en descripciones generales en la técnica tales como: Comprehensive Organic Functional Group Transformations. Volumen 2: Synthesis: Carbon with one heteroatom attached by a single bond. Editor in Chief Alan. R. Katritzky, et al. 1995. Capítulo 2.02, página 37. Esta clase de reacciones también se describe en Comprehensive Organic synthesis. Editor in Chief Barry M Trost, Volumen 1: Additions to C-X pi-bonds (part 1). 1991.

Investigaciones recientes en la técnica proporcionan condiciones para la posterior optimización de reactivos de Grignard en reacciones de adición a cetonas y estos trabajos pueden ser útiles en la presente divulgación. Por ejemplo, Ishihara y colaboradores (Org. Lett. 2005, Vol. 7, N° 4, 573) describen recientemente la formación y utilidad de complejos "ate" de magnesio (magnesiatos). Los complejos "ate" de magnesio, R_3MgLi , derivan de reactivos de Grignard y alquil litios. Como se describe por Ishihara estos complejos proporcionan excelentes rendimientos de

productos de adición 1,2 en reacciones a cetonas. En un estudio separado, Knochel y colaboradores (Angew. Chem Int. Ed. 2006, 45, 497) ha descrito el uso de sales de lantánidos solubles tales como LnCl_3 en combinación con reactivos de organomagnesio. La presencia de estas sales de lantánidos da como resultado una mejora e la eficiencia de la reacción de adición 1,2 a compuestos carbonílicos. Estos trabajos, y las referencias citadas en los mismos, establecen el estado de la técnica con respecto a la optimización de la reacción de Grignard en adiciones sencillas a compuestos carbonílicos y sirven como importante fuente de información en la presente divulgación.

Se apreciará que una gama de reactivos organometálicos participan en reacciones de adición a cetonas. Incluidos en este corpus de trabajos se encuentran reactivos tales como aril litio, alquil litio y reactivos heteroaril litio, que son bien conocidos para añadir de una forma 1,2 a restos carbonílicos. Por ejemplo, un estudio reciente de Dondoni y colaboradores (J. Org. Chem. 2005, 70, 9257) se litia benzotiazol usando BuLi y la especie de C2-litio resultante se añade de una forma 1,2 a una lactona. A modo de analogía, podría esperarse añadir un benzotiazol litiado de una forma 1,2 a una cetona I del Esquema IV para proporcionar un intermedio como 2a.

Un experto en la técnica reconocerá que reactivos organometálicos derivados de heterociclos tales como oxazoles y tiazoles e imidazoles también puede participar en reacciones de adición 1,2 a cetona 1. Existe un considerable corpus bibliográfico que define las condiciones específicas empleadas para cada uno de estos sistemas heterocíclicos y esta formación está disponible fácilmente para un experto en la técnica. Por ejemplo, el uso de reactivos organometálicos derivados de benzoxazol u oxazol, en reacciones de adición a cetonas requiere el uso de magnesiatos de litio. La especificidad de este estudio reciente de Bayh y colaboradores se describe en J. Org. Chem., 2005, 70, 5190. La adición de benzoxazol a cetona 1 del Esquema VI proporcionaría acceso a intermedios como 2b.

Hay una significativa literatura precedente para la adición a cetonas usando una amplia gama de reactivos organometálicos derivados de heterociclos. Por ejemplo, el trabajo de Behinda y colaboradores (Tet. Lett. 42, 2001, 647) describe la formación de un benzimidazol litiado y su adición a una lactona sencilla. De forma análoga, el uso de este benzimidazol litiado en reacciones de adición a cetona 1 del Esquema VI proporcionaría acceso a intermedios como 2c. Además, un estudio reciente de Kawasaki y colaboradores (Bioorganic and Medicinal Chem. Lett. 13, 2003, 87) describe la formación de una serie de compuestos heteroaromáticos litiados y sus reacciones de adición a amidas activadas. De forma análoga, el uso de estos intermedios heteroaromáticos litiados en reacciones de adición a cetona 1 del Esquema VI proporcionaría acceso a los intermedios 2d-2k.

El empleo de organometálicos derivados de biarilo, o sistemas heteroaril-arilo en reacciones de adición 1,2 a cetona 1 también es pertinente para la presente divulgación. La adición de esta clase de reactivos organometálicos a la cetona 1 proporcionaría acceso a intermedios como 21 y 2m. Se apreciará que en la ejemplificación de la presente invención, puede ser necesario sintetizar organometálicos de biarilo o heteroarilo para el posterior uso en reacciones de adición a cetona 1 del Esquema VI. Un experto en la técnica reconocerá el significativo corpus bibliográfico que describe la preparación de organometálicos de este tipo y sus precursores. Por ejemplo, una reciente revisión de Chinchilla y colaboradores (Chem. Rev. 2004, 104, 2667) describe la preparación de heterociclos metalados y su utilidad. La química básica para la preparación de sistemas de biarilo o heteroaril-arilo emplea con frecuencia reacciones de acoplamiento tipo Suzuki. Un corpus bibliográfico descrito por Gregory Fu describe el estado de la técnica en dichas reacciones de acoplamiento y un subgrupo de estas referencias son las siguientes: JACS 2004, 126, 1340; JACS, 2002, 124, 13662; Angew. Chem. Int. Ed. 2002, 41, N° 11, 1945; Angew. Chem, Int. Ed. 2002, 41, N° 20, 3910; JACS 2002, 122, 4020; JACS 2001, 123, 10099; Org. Lett. 2001, Vol. 3, N° 26, 4295; Angew. Chem. Int. Ed. 1998, 37, N° 24, 3387. Además de este estudio de revisiones críticas en el área están disponibles otras tales como la de Rossi in *Synthesis* **2004**,

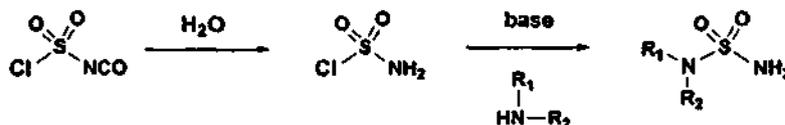
EJEMPLOS

La presente divulgación se describirá ahora en relación con determinadas realizaciones que no se pretende que limiten su alcance. Así, los siguientes ejemplos, que incluyen realizaciones específicas, ilustrarán una práctica de la presente divulgación, entendiéndose que los ejemplos son para fines de ilustración de determinadas realizaciones y se presentan para proporcionar lo que se cree que es la descripción más útil y fácilmente entendible de sus procedimientos y aspectos conceptuales.

Los siguientes ejemplos 1 a 37 y 86 son ejemplos de referencia. Los Ejemplos 87 y 88 se refieren a realizaciones de la invención. Los porcentajes en solución expresan una relación peso a volumen, y las relaciones en solución expresan una relación volumen a volumen, a no ser que se indique de otro modo. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se registraron en un espectrómetro Bruker 300, 400 ó 500 MHz; los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón. La cromatografía ultrarrápida se llevó a cabo sobre gel de sílice (SiO_2) de acuerdo con la técnica de cromatografía rápida de Still (J. Org. Chem., 1978, 43, 2923).

EJEMPLO 1

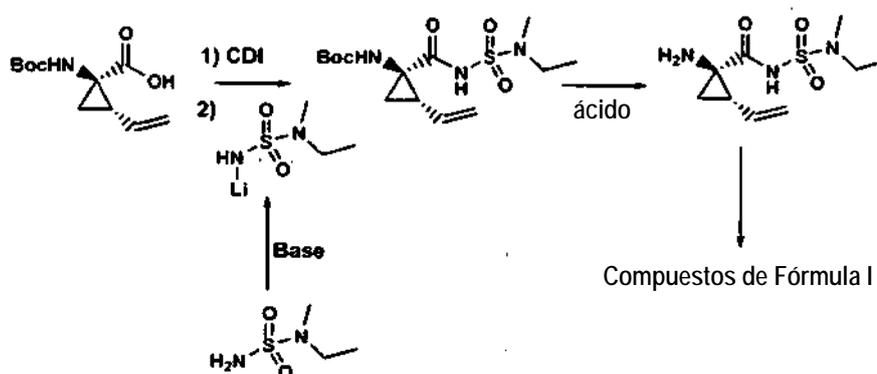
Preparación de Sulfamidas



5 Se preparó el cloruro de sulfamoilo intermedio mediante adición de agua (1 equiv) en THF a una solución agitada fría (-20°C) de isocianato de clorosulfonilo (1 equiv) en THF y la solución resultante se dejó calentar hasta 0°C. A esta solución se añadió Et₃N anhidro (1 equiv) seguido por la amina secundaria requerida (1 equiv). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente, luego se filtró y el filtrado se evaporó rotatoriamente proporcionando las sulfamidas deseadas. Dicha sulfamida se acopló entonces a un ácido carboxílico proporcionando la acilsulfamida deseada.

EJEMPLO 2

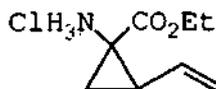
10 Procedimiento específico para la preparación de un intermedio de acilsulfamida



15 A una solución de ácido (1R,2S) 1-terc-butoxicarbonilamino-2-vinil-ciclopropanocarboxílico (217 mg, 1,194 mmol) en THF (5 ml), se añadió CDI (290 mg, 1,791 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 45 min. En otro matraz de fondo redondo, se añadió LiHMDS (solución 1,0 M en hexanos, 2,4 ml, 2,4 mmol) a una solución de N-etilmetilsulfamida (330 mg, 2,388 mmol) en THF (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 hora. Se añadieron dos mezclas de reacción juntas y se agitó a ta durante 2 horas. Se añadió agua para inactivar la reacción y la solución de reacción se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó y se secó sobre MgSO₄. La evaporación del disolvente dio el producto bruto que se purificó por HPLC Prep. proporcionando la N-acilsulfamida deseada. Se disolvió entonces N-acilsulfamida en solución de HCl 4N en dioxano (2 ml) y se agitó a ta durante 4 horas. La evaporación de la solución dio aceite pardusco como sal HCl. (112 mg, 33% de rendimiento). RMN de ¹H (400Mz, CD₃OD) δ 1,16 (t, J=7,2 Hz, 3 H), 1,68 (dd, J=10,03, 7,83 Hz, 1 H), 2,15 (m, 1H), 2,37 (m, 1 H), 2,89 (s, 3 H), 3,30 (m, 2 H), 5,31 (d, J= 10,27 Hz, 1 H), 5,42 (d, J=17,12 Hz, 3 H), 5,68 (m, 1 H). CL-EM (tiempo de retención: 0,883 min.), EM m/z 270 (M+Na⁺).

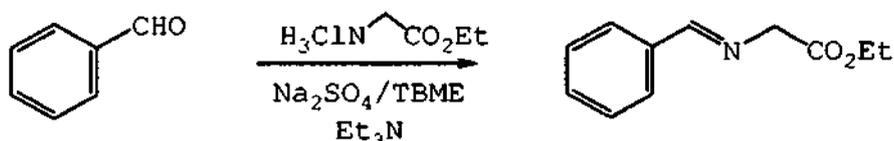
EJEMPLO 3:

25 Preparación de clorhidrato del éster etílico del ácido (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico (Procedimiento A y Procedimiento B)

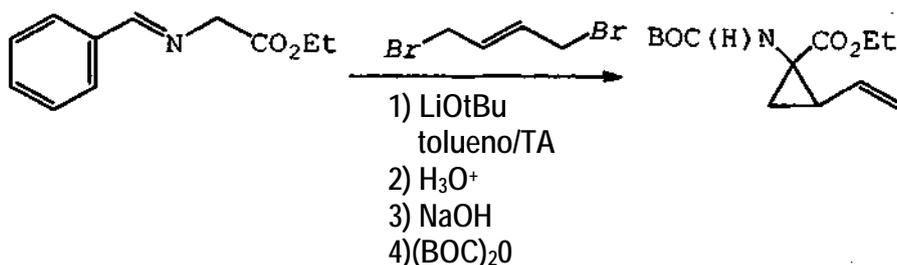


El compuesto del título se preparó racémico por cada uno de los siguientes procedimientos A y B.

PROCEDIMIENTO A

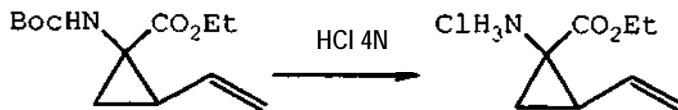
Preparación de *N*-bencil imina del éster etílico de glicina

5 Se suspendió clorhidrato de éster etílico de glicina (303,8 g, 2,16 mol) en éter en *terc*-butilmetílico (1,6 l). Se añadieron benzaldehído (231 g, 2,16 mol) y sulfato sódico anhidro (154,6 g, 1,09 mol) y la mezcla se enfrió hasta 0°C usando un baño de hielo-agua. Se añadió trietilamina (455 ml, 3,26 mol) gota a gota durante 30 min y la mezcla se agitó durante 48 h a ta. La reacción se inactivó entonces por adición de agua enfriada en hielo (1 litro) y se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con éter *terc*-butilmetílico (0,5 l) y las fases orgánicas reunidas se lavaron con una mezcla de NaHCO₃ acuoso saturado (1 l) y salmuera (1 l). La solución se secó sobre MgSO₄, se concentró a vacío proporcionando 392,4 g del producto de *N*-bencil imina como un aceite amarillo denso que se usó directamente en la etapa siguiente. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,32 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 4,24 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 4,41 (d, *J*=1,1 Hz, 2H), 7,39-7,47 (m, 3H), 7,78-7,81 (m, 2H), 8,31 (s, 1H).

Preparación de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclo-propano carboxílico racémico

15 A una suspensión de *terc*-butóxido de litio (84,06 g, 1,05 mol) en tolueno seco (1,2 l), se añadió gota a gota una mezcla de la *N*-bencil imina del éster etílico de glicina (100,4 g, 0,526 mol) y *trans*-1,4-dibromo-2-buteno (107,0 g, 0,500 mol) en tolueno seco (0,6 l) durante 60 min. Después de completarse la adición, se inactivó la mezcla rojo intenso mediante adición de agua (1 l) y éter *terc*-butilmetílico (TBME, 1 l). La fase acuosa se separó y se extrajo una segunda vez con TBME (1 l). Las fases orgánicas se reunieron, se añadió HCl 1 N (1 l) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La fase orgánica se separó y se extrajo con agua (0,8 l). Las fases acuosas se reunieron entonces, se saturaron con sal (700 g), se añadió TBME (1 l) y la mezcla se enfrió hasta 0°C. La mezcla agitada se basificó entonces hasta pH 14 mediante la adición gota a gota de NaOH 10 N, se separó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo con TBME (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secaron (MgSO₄) y se concentraron hasta un volumen de 1 l. A esta solución de la amina libre, se añadió BOC₂O o dicarbonato de di-*terc*-butilo (131,0 g, 0,6 mol) y la mezcla se agitó 4 días a ta. Se añadió a la reacción más dicarbonato de di-*terc*-butilo (50 g, 0,23 mol), la mezcla se llevó a reflujo durante 3 horas y luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se secó sobre MgSO₄ y se concentró a vacío proporcionando 80 g de material bruto. Este residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (2,5 Kg de SiO₂ eluido con 1% a 2% de MeOH/CH₂Cl₂) proporcionando 57 g (53%) de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico como un aceite amarillo que solidificó en reposo en el frigorífico: RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,26 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 1,46 (s, 9H), 1,43-1,49 (m, 1H), 1,76-1,82 (m ancho, 1H), 2,14 (q, *J*=8,6 Hz, 1H), 4,18 (q, *J*=7,2 Hz, 2H), 5,12 (dd *J*=10,3, 1,7 Hz, 1H), 5,25 (s ancho, 1H), 5,29 (dd, *J*=17,6, 1,7 Hz, 1H), 5,77 (ddd, *J*=17,6, 10,3, 8,9 Hz, 1H); EM *m/z* 254,16 (M-1).

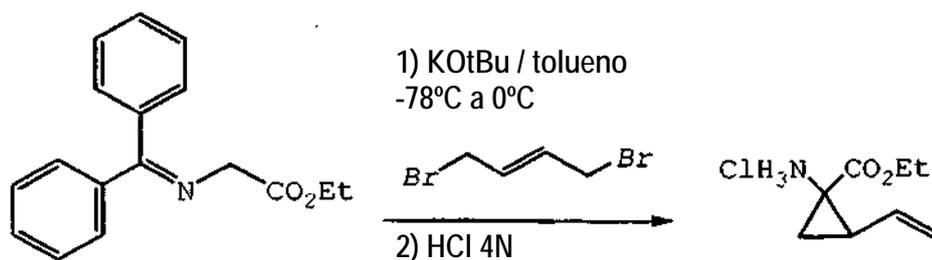
35 Preparación de clorhidrato del éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*) 1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico



5 Se disolvió éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico (9,39 g, 36,8 mmol) en HCl 4 N/dioxano (90 ml, 360 mmol) y se agitó durante 2 horas a ta. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar clorhidrato de éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico con rendimiento cuantitativo (7 g, 100%). RMN de ¹H (metanol-*d*₄) δ 1,32 (t, *J*=7,1, 3H), 1,72 (dd, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1H), 1,81 (dd, *J*=8,3, 6,6 Hz, 1 H), 2,38 (q, *J*=8,3 Hz, 1H), 4,26-4,34 (m, 2H), 5,24 (dd, 10,3, 1,3 Hz, 1H) 5,40 (d, *J*=17,2, 1H), 5,69-5,81 (m, 1H).

PROCEDIMIENTO B

Preparación de clorhidrato de éster etílico del ácido *N*-Boc-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico



10

15

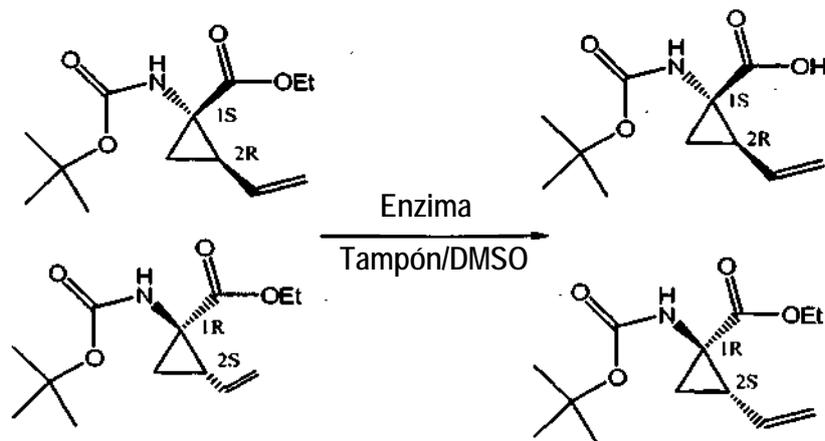
20

25

A una solución de *tert*-butóxido potásico (11,55 g, 102,9 mmol) en THF (450 ml) a -78°C se añadió la *N,N*-dibencil imina del éster etílico de glicina disponible de forma comercial (25,0 g, 93,53 mmol) en THF (112 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 0°C, se agitó durante 40 minutos y luego se volvió a enfriar hasta -78°C. A esta solución se añadió *trans*-1,4-dibromo-2-buteno (20,0 g, 93,50 mmol), la mezcla se agitó durante 1 hora a 0°C y se volvió a enfriar hasta -78°C. Se añadió *tert*-butóxido potásico (11,55 g, 102,9 mmol), la mezcla se calentó inmediatamente hasta 0°C y se agitó una hora más antes de concentrar a vacío. El producto bruto se recogió en Et₂O (530 ml), se añadió solución acuosa 1N de HCl (106 ml, 106 mmol) y la mezcla bifásica resultante se agitó durante 3,5 h a ta. Se separaron las fases y la fase acuosa se lavó con Et₂O (2x) y se basificó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. La amina deseada se extrajo con Et₂O (3x) y el extracto orgánico reunido se lavó con salmuera, se secó (MSO₄) y se concentró a vacío obteniendo la amina libre. Este material se trató con una solución de HCl 4N en dioxano (100 ml, 400 mmol) y se concentró proporcionando el clorhidrato del éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico como un semisólido marrón (5,3 g, 34% de rendimiento) idéntico al material obtenido por el procedimiento A, salvo por la presencia de una pequeña cantidad de impureza aromática no identificada (8%).

EJEMPLO 4

Resolución de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico



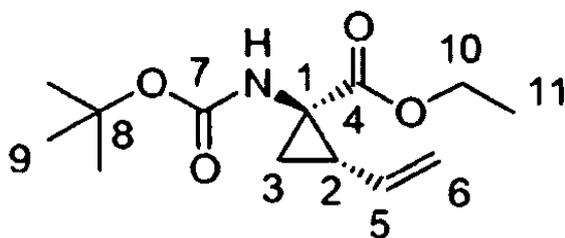
racemato: mezcla 1:1 DE (1R,
2S) v (1S, 2R)

Resolución A

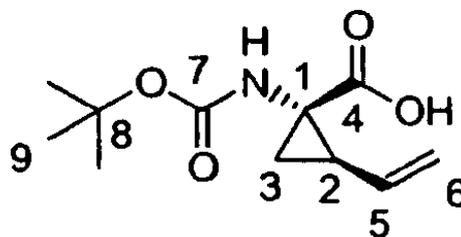
5 A una solución acuosa de tampón fosfato sódico (0,1 M, 4,25 litros ("l"), pH 8) albergada en un reactor encamisado de 12 litros, mantenido a 39°C y agitado a 300 rpm, se añadieron 511 gramos de Alcalasa 2.4L (aproximadamente 425 ml) (Novozymes North America Inc.). Cuando la temperatura de la mezcla alcanzó 39°, se ajustó el pH a 8,0 mediante la adición de NaOH al 50% en agua. Se añadió entonces, durante un período de 40 minutos, una solución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico (85 g) en 850 ml de DMSO. La temperatura de reacción se mantuvo entonces a 40°C durante 2,5 horas, tiempo durante el cual el pH de la mezcla se ajustó hasta 8,0 en los tiempos 1,5 h y 19,5 h usando NaOH al 50% en agua. Después de 24,5 h, se determinó que el exceso enantiomérico era de 97,2% y la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente (26°C) y se agitó durante la noche (16 h), después de lo cual se determinó que el exceso enantiomérico era de 100%. Se ajustó entonces a 8,5 el pH de la mezcla de reacción con NaOH al 50% y la mezcla resultante se extrajo con MTBE (2 x 2 l). El extracto reunido de MTBE se lavó entonces con NaHCO₃ al 5% (3 x 100 ml), agua (3 x 100 ml), y se evaporó a vacío dando el éster etílico del ácido *N*-Boc-(1R,2S)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico enantioméricamente puro como un sólido amarillo claro (42,55 g; pureza: 97% @ 210 nanomolar ("nM"), sin contener ácido; exceso enantiomérico ("ee") 100%.

15 La fase acuosa del proceso de extracción se acidificó seguidamente hasta pH 2 con H₂SO₄ al 50% y se extrajo con MTBE (2 x 2 l). El extracto de MTBE se lavó con agua (3 x 100 ml) y se evaporó dando el ácido como un sólido amarillo claro (42,74 g; pureza: 99% @ 210 nM, sin contener éster).

20



1R, 2S-éster



1S,2R-ácido

	éster	ácido
Espectrometría de Masas de Alta Resolución	(+) ESI, C ₁₃ H ₂₂ NO ₄ , [M+H] ⁺ , calculado 256,1549, encontrado 256,1542	(-) ESI, C ₁₁ H ₁₆ NO ₄ , [M-H] ⁻ , calculado 226,1079, encontrado 226,1089

RMN desplazamientos químicos observados				
Disolvente: CDCl ₃ (protón δ 7,24 ppm, C-13 δ 77,0 ppm)				
Bruker DRX-500C: protón 500,032 MHz, carbono 125,746 MHz				
Posición	Protón (modelo) ppm	C-13 ppm	Protón (modelo) ppm	C-13 ppm
1	—	40,9	—	40,7
2	2,10 (q, J = 9,0 Hz)	34,1	2,17 (q, J = 9,0 Hz)	35,0
3a	1,76 (ancho)	23,2	1,79 (ancho)	23,4
3b	1,46 (ancho)		1,51, (ancho)	
4	—	170,8	—	175,8
5	5,74 (ddd, J = 9,0, 10,0, 17,0 Hz)	133,7	5,75 (m)	133,4
6a	5,25(d, J=17,0 Hz)	117,6	5,28 (d, J = 17,0 Hz)	118,1
6b	5,08 (dd, J = 10,0, 1,5 Hz)		5,12 (d, J = 10,5 Hz)	
7	—	155,8	—	156,2
8	—	80,0	—	80,6
9	1,43 (s)	28,3	1,43 (s)	28,3
10	4,16 (m)	61,3	—	—
11	1,23 (t, J = 7,5 Hz)	14,2	—	—

Resolución B

5 A 0,5 ml de tampón Heps•Na 100 milimolar ("mM") (pH 8,5) en un pocillo de una placa de 24 pocillos (capacidad: 10 ml/pocillo), se añadieron 0,1 ml de Savinasa 16.0L (proteasa de *Bacillus clausii*) (Novozymes North America Inc.) y una solución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico (10 mg) en 0,1 ml de DMSO. La placa se selló y se incubó a 250 rpm a 40°C. Después de 18h, se determinó que el exceso enantiomérico del éster era 44,3% como sigue: se extrajeron 0,1 ml de la mezcla de reacción y se mezcló bien con 1 ml de etanol; después de centrifugación, se analizaron 10 microlitros ("µl") del sobrenadante con HPLC quiral. Al resto de la mezcla de reacción, se añadieron 0,1 ml de DMSO y se incubó la placa durante otros 3 días a 250 rpm a 40°C, después de lo cual se añadieron cuatro ml de etanol al pocillo. Después de centrifugar, se analizaron 10 µl del sobrenadante con HPLC quiral y se determinó que el exceso enantiomérico era del 100%.

Resolución C

15 A 0,5 ml de tampón Heps•Na 100 mM (pH 8,5) en un pocillo de una placa de 24 pocillos (capacidad: 10 ml/pocillo), se añadieron 0,1 ml de Esperasa 8.0L, (proteasa de *Bacillus halodurans*) (Novozymes North America Inc.) y una solución de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*, 2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico (10 mg) en 0,1 ml de DMSO. La placa se selló y se incubó a 250 rpm a 40°C. Después de 18 horas, se determinó que el exceso enantiomérico del éster era de 39,6% como sigue: se extrajeron 0,1 ml de la mezcla de reacción y se mezcló bien con etanol; después de centrifugar, se analizaron 10 µl del sobrenadante con HPLC quiral. A la mezcla de reacción restante, se añadieron 0,1 ml de DMSO y la placa se incubó durante otros 3 días a 250 rpm a 40°C, después de lo cual se añadieron cuatro ml de etanol al pocillo. Después de centrifugar, se analizaron 10 µl del sobrenadante con HPLC quiral y se determinó que el exceso enantiomérico del éster era del 100%.

El análisis de las muestras se llevó a cabo de la siguiente forma:

- 1) Preparación de muestras: Se mezclaron aproximadamente 0,5 ml de la mezcla de reacción bien con 10 volúmenes de EtOH. Después de centrifugar, se inyectaron en la columna HPLC 10 µl del sobrenadante.
- 2) Determinación de la conversión:

Columna: YMC ODS A, 4,6 x 50 milímetros ("mm"), S-5 μ m

Disolvente: A, HCl 1 mM en agua; B, MeCN

Gradiente: 30% de B durante 1 min; 30% a 45% de B durante 0,5 min; 45% de B durante 1,5 min; 45% a 30% de B durante 0,5 min.

5 Caudal: 2 ml/min

Detección UV: 210 nM

Tiempo de retención: ácido, 1,2 min; éster, 2,8 min.

3) Determinación del exceso enantiomérico para el éster:

Columna: CHIRACEL OD-RH, 4,6 x 150 mm, S-5 μ m

10 Fase móvil: MeCN/HClO₄ 50 mM en agua (67/33)

Caudal: 0,75 ml/min.

Detección UV: 210 nM.

Tiempo de retención:

ácido (1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico 5,2 min;

15 Racemato de éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico 18,5 min y 20,0 min;

éster etílico del ácido (1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico 18,5 min.

Resolución D

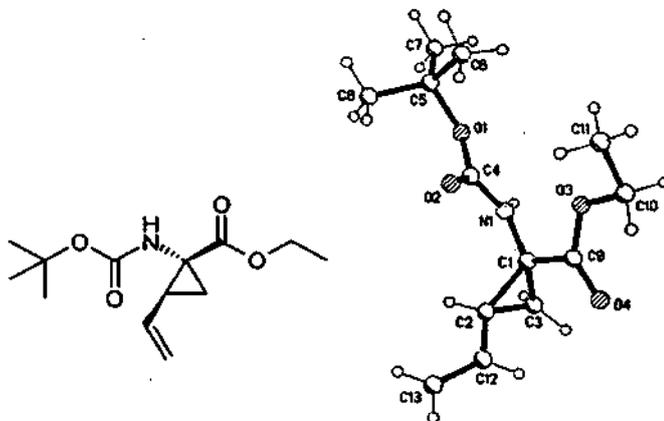
20 Se mantuvieron 5 l de tampón fosfato sódico 0,3 M (pH 8) a 38°C en un reactor encamisado de 20 litros, se agitó a 130 rpm. Se añadieron al reactor cuatro litros de Alcalasa 2.4L (Novozymes North America Inc.) y 1 litro de agua DI. Cuando la temperatura de la mezcla se aproximó a 38°C, se ajustó el pH a 7,8 con NaOH 10 N. Se añadió al reactor durante un período de 1 hora mediante un embudo de adición una solución de éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*, 2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico (500 gramo) en 5 litros de DMSO. La temperatura de reacción se ajustó entonces hasta 48°C. Después de 21 horas, el exceso enantiomérico del éster llegó a 99,3%. Se detuvo el calentamiento a las 24 horas y la reacción se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) y se agitó durante la noche. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción a 8,5 con NaOH 10 N y la mezcla se extrajo con MTBE (2 x 4 l). El extracto de MTBE reunido se lavó con NaHCO₃ al 5% (3 x 400 ml) y agua (3 x 400 ml), y se evaporó dando éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico enantioméricamente puro como un cristal amarillo claro (259 g; pureza: 96,9% @ 210 nM, que no contenía ácido; 100%ee).

Resolución E

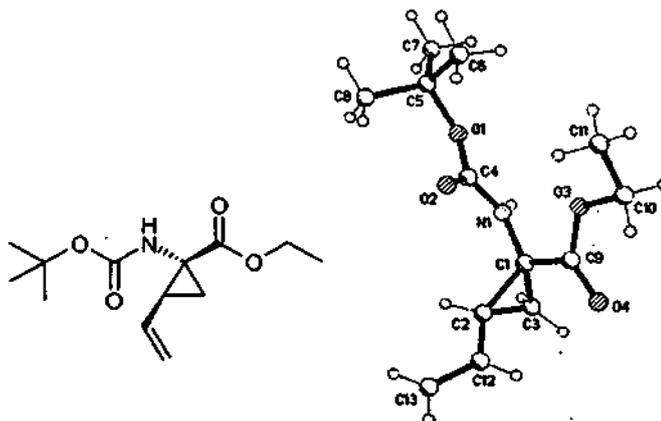
35 Se mantuvieron 10 l de tampón fosfato sódico 0,1 M (pH 8) a 40°C en un reactor encamisado de 20 litros, agitado a 360 rpm. Se añadieron al reactor 1,5 litros de Alcalasa 2.4L (Novozymes North America Inc.). Cuando la temperatura de la mezcla se aproximó a 38°C, se ajustó el pH hasta 8,0 con NaOH 10 N. Se añadió al reactor durante un período de una hora mediante un embudo de adición una solución del éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico (200 gramos) en 2 litros de DMSO. La temperatura de reacción se ajustó entonces hasta 40°C. Después de 3 horas, se ajustó el pH a 8,0 con NaOH 10 N. Después de 21 horas la reacción se enfrió hasta 25°C. El pH de la mezcla de reacción se ajustó a 8,5 con NaOH 10 N y la mezcla se extrajo con MTBE (2 x 5 l). El extracto de MTBE reunido se lavó con NaHCO₃ al 5% (3 x 500 ml) y agua (3 x 200 ml), y se evaporó dando 110 g de aceite amarillo. El aceite se dejó a temperatura ambiente a vacío de la instalación y dio el éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico enantioméricamente puro como un cristal de varillas largas incoloro (10 g; pureza: 97,9% @ 210 nM, que no contenía ácido; 100%ee).

45 El éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico enantioméricamente puro de estructura cristalina se había caracterizado por análisis de monocristal (rayos X NB#: 52795-093, código de referencia: 634592N1). La configuración absoluta no se determina por falta de un centro quiral conocido o átomos más pesados. Se forma una estructura de cadena a lo largo del eje a cristalográfico a través de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el grupo amida y el átomo de oxígeno carbonílico (N...O 3,159 Å).

Estructura de éster etílico del ácido N-Boc-(1R,2S)-1-amino-2-vinilciclopropano-carboxílico:



Estructura del éster etílico del ácido N-Boc-(1R,2S)-1-amino-2-vinilciclopropano-carboxílico:



Datos cristalinos:

Fórmula química: C₁₃H₂₁N₁O₄

Sistema cristalino: Ortorrómbico

Grupo espacial: P2₁2₁2₁

$a = 5,2902(1) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$

$b = 13,8946(2) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$

$c = 19,9768(3) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$

$V = 1468,40(4) \text{ \AA}^3$

$Z = 4$ $d_x = 1,155 \text{ g cm}^{-3}$

No de reflexiones para parámetros de red: 6817
(0,0776)

Intervalo θ para parámetros de red ($^\circ$): 2,2-65,2

Resolución F

Experimental:

Cristalización

Fuente cristalina: MTBE

Descripción del cristal: Varillas incoloras

Tamaño del cristal (mm): 0,12 X 0,26 X 0,30

Obtención de datos

Temperatura (K): 293

θ_{\max} ($^\circ$): 65,2 (Cu K α)

Nº de reflexiones medidas: 7518

Nº de reflexiones independientes: 2390 ($R_{int} =$

Nº de reflexiones observadas ($I \geq 2\sigma$): 2284

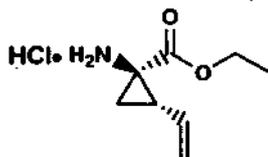
Corrección de la absorción ($T_{\text{min}}-T_{\text{max}}$): 0.688-1.000

- 5 Se mantuvieron 5 l de tampón borato sódico 0,2 M (pH 9) a 45°C en un reactor encamisado de 20 litros, agitado a 400 rpm. Se añadieron al reactor tres litros de agua DI y cuatro litros de Savinasa 16L, tipo EX (Novozymes North America Inc.). Cuando la temperatura de la mezcla se aproximó a 45°C, se ajustó el pH a 8,5 con NaOH 10 N. Se añadió al reactor durante un período de 40 minutos, mediante un embudo de adición, una solución de éster etílico del ácido N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico racémico (200 gramos) en 2
- 10 litros de DMSO. La temperatura de la reacción se ajustó entonces hasta 48°C. Después de 2 horas, se ajustó el pH

5 hasta 9,0 con NaOH 10 N. A las 18 horas, el exceso enantiomérico del éster alcanzó 72%, se ajustó el pH hasta 9,0 con NaOH 10 N. A las 24 horas, se redujo la temperatura hasta 35°C. A las 42 horas, la temperatura se elevó hasta 48°C y se ajustó el pH hasta 9,0 con NaOH 10 N. Se detuvo el calentamiento a las 48 horas y la reacción se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) y se agitó durante la noche. A las 66 horas, el pH de la mezcla de reacción era 8,6. La mezcla se extrajo con MTBE (2 x 4 l). Los extractos reunidos de MTBE se lavaron con NaHCO₃ al 5% (6 x 300 ml) y agua (3 x 300 ml), y se evaporó dando éster etílico del ácido *N*-Boc-(1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico enantioméricamente puro como un cristal amarillo claro (101A g; pureza: 95,9% @ 210 nM, que no contenía ácido; 98,6%ee).

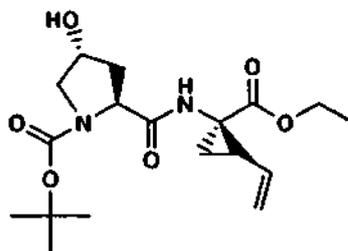
EJEMPLO 5

10 *Etapa 1: Preparación de clorhidrato 1(R)-amino-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo*



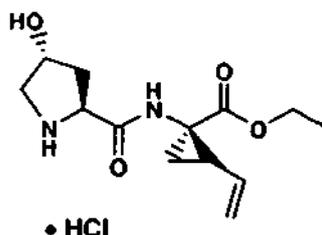
15 Se agitó clorhidrato 1(*R*)-amino-2(*S*)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo (8,5 g, 33,3 mmol) en una atmósfera de N₂ con 200 ml de HCl 4 N/dioxano (Aldrich) a t.a. durante 3 h. El disolvente se retiró a presión reducida manteniendo la temperatura por debajo de 40°C. Esto dio 6,57 g (~100%) de clorhidrato 1(*R*)-amino-2(*S*)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo como un sólido canela claro. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,31 (t, *J*=7,0 Hz, 3 H), 1,69-1,82 (m, 2 H), 2,38 (c, *J*=8,8 Hz, 1 H), 4,29 (c, *J*=7,0 Hz, 2 H), 5,22 (d, *J*=10,3 Hz, 1H), 5,40 (d, *J*=17,2 Hz, 1 H), 5,69-5,81 (m, 1 H). EM: *m/z* 156 (M⁺+1).

Etapa 2: Preparación de 1(R)-[1-terc-butoxicarbonil-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo



20 Una suspensión agitada de Boc-L-4-hidroxirolina ((2*S*,4*R*)-hidroxiprolina de *N*-Boc) (10 g, 43,3 mmol) en 400 ml de cloruro de metileno se trató secuencialmente con *N*-metil-morfolina (9,3 ml, 84,7 mmol), HATU (19,5 g, 51,3 mmol) y clorhidrato 1(*R*)-amino-2(*S*)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo (9,1 g, 47,5 mmol). La solución homogénea de oro se agitó a t.a. en N₂ durante 18 h y después se concentró al vacío dando un aceite marrón. Esto se fraccionó entre acetato de etilo y NaHCO₃ acuoso saturado. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó (MSO₄) y se concentró al vacío dando 15 g (94%) de 1(*R*)-[1-terc-butoxicarbonil-4(*R*)-hidroxipirrolidina-2(*S*)-carboxamido]-2(*S*)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo como un sólido blanquecino: CL-EM (columna de HPLC Xterra: 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: disolvente A al 100%/disolvente B al 0% a disolvente A al 0%/disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 3 min. Tiempo de retención: 1 minuto. Caudal: 5 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1%. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 2,09 min), EM: *m/z* 369 (M⁺+1).

Etapa 3: Preparación de clorhidrato de 1(R)-[4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo

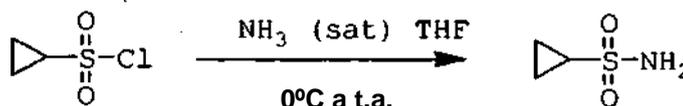


Una suspensión agitada de 1(R)-[1-*tert*-butoxicarbonil-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo (5,0 g, 13,6 mmol) se trató con HCl 4N/dioxano (20 ml) durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío dando 4,5 g (97%) de clorhidrato de 1(R)-[4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo como un sólido blanco: RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 1,26 (t, $J=7,14$ Hz, 3 H), 1,46 (dd, $J=9,70, 5,31$ Hz, 1 H), 1,80 (dd, $J=8,23, 5,31$ Hz, 1 H), 2,00 – 2,15 (m, 1 H), 2,18 – 2,30 (m, 1H), 2,45 (dd, $J=13,36, 7,50$ Hz, 1 H), 3,36 – 3,48 (m, 1 H), 4,11 – 4,24 (m, 2 H), 4,44 (dd, $J=10,25, 7,68$ Hz, 1H), 4,58 – 4,65 (m, 1 H), 4,84 – 4,94 (m, 1 H), 5,17 (d, $J=1,83$ Hz, 1 H), 5,27 – 5,42 (m, 1 H), 5,67 – 5,89 (m, 1 H).

EJEMPLO 6

10 *Preparación de ciclopropilsulfonamida. Procedimientos A y B.*

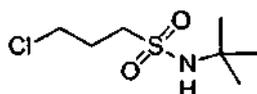
Procedimiento A:



15 A una solución de 100 ml de THF enfriado a 0°C se la hizo burbujear en amoníaco gaseoso hasta que se alcanzó la saturación. A esta solución se añadió una solución de 5 g (28,45 mmol) de cloruro de ciclopropilsulfonilo (adquirido de Array Biopharma) en 50 ml de THF, la solución se calentó a t.a. durante toda una noche y se agitó un día adicional. La mezcla se concentró hasta 1-2 ml del disolvente que queda, se aplicó sobre un lecho corto de 30 g de SiO_2 (eluido con EtOAc 30% al 60%/Hexanos) proporcionando 3,45 g (100%) de ciclopropilsulfonamida como un sólido blanco. RMN de ^1H (Metanol- d_4) δ 0,94-1,07 (m, 4H), 2,52-2,60 (m, 1H); RMN de ^{13}C (metanol- d_4) δ 5,92, 33,01.

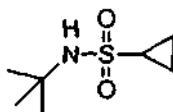
20 Procedimiento B:

*Etapas 1: Preparación de N-*tert*-butil-(3-cloro)propilsulfonamida*



25 Se disolvió *tert*-butilamina (3,0 mol, 315,3 ml) en THF (2,5 l). La solución se enfrió a -20°C. Se añadió lentamente 3-cloropropanosulfonilo (1,5 mol, 182,4 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a t.a. y se agitó durante 24 horas. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (2,0 l). La solución resultante se lavó con HCl 1 N (1,0 l), agua (1,0 l), salmuera (1,0 l) y secó en Na_2SO_4 . Ello se filtró y se concentró al vacío dando un sólido ligeramente amarillo, que se cristalizó a partir de hexano proporcionando el producto como un sólido blanco (316,0 g, al 99%). RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,38 (s, 9H), 2,30-2,27 (m, 2H), 3,22 (t, $J = 7,35$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 4,35 (b, 1H).

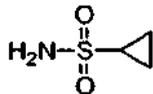
30 *Etapas 2: Preparación de *tert*-butilamida del ácido ciclopropanosulfónico*



35 A una solución de *N-tert*-butil-(3-cloro)propilsulfonamida (2,14 g, 10,0 mmol) en THF (100 ml) se añadió *n*-BuLi (2,5 M en hexano, 8,0 ml, 20,0 mmol) a -78°C. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante un periodo de 1 hora. Los volátiles se retiraron al vacío. El residuo se fraccionó entre EtOAc y agua (200 ml, 200 ml). La fase orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío. El residuo se

recristalizó a partir de hexano proporcionando el producto deseado como un sólido blanco (1,0 g, al 56%). RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,98-1,00 (m, 2H), 1,18-1,19 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 2,48-2,51 (m, 1H), 4,19 (b, 1H).

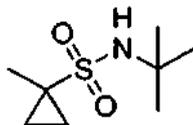
Etapa 3: *Preparación de ciclopropilsulfonamida*



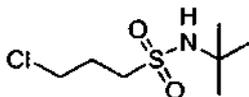
- 5 Se agitó a temperatura ambiente una solución de *tert*-butilamida del ácido ciclopropanosulfónico (110,0 g, 0,62 mol) en TFA (500 ml) durante 16 horas. El producto volátil se retiró al vacío. El residuo se recristalizó a partir de EtOAc/hexano (60 ml/240 ml) proporcionando el producto deseado como un sólido blanco (68,5 g, al 91%). RMN de ^1H (DMSO-d_6) δ 0,84-0,88 (m, 2H), 0,95-0,98 (m, 2H), 2,41-2,58 (m, 1H), 6,56 (b, 2H).

EJEMPLO 7

- 10 *Preparación de N-tert-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida.*

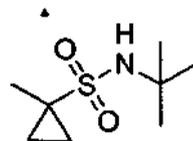


Etapa 1a. Preparación de N-tert-butil-(3-cloro)propilsulfonamida.



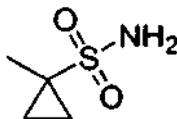
Como se muestra anteriormente.

- 15 *Etapa 1b. Preparación de N-tert-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida.*



- 20 Una solución de *N-tert*-butil-(3-cloro)propilsulfonamida (4,3 g, 20 mmol) se disolvió en THF seco (100 ml) y se enfrió a -78°C . A esta solución se añadió *n*-BuLi (17,6 ml, 44 mmol, 2,5 M en hexano) lentamente. El baño de hielo seco se retiró y la mezcla de reacción se dejó calentar a t.a. durante un periodo de 1,5 h. Esta mezcla se enfrió después a -78°C y se añadió una solución de *n*-BuLi (20 mmol, 8 ml, 2,5 M en hexano). La mezcla de reacción se calentó a t.a., se reenfrió a -78°C durante una periodo de 2 horas y se añadió una solución neta de yoduro de metilo (5,68 g, 40 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a t.a. durante toda una noche, se desactivó con NH_4Cl saturado (100 ml) a t.a. Ello se extrajo con EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró al vacío dando un sólido amarillo que se cristalizó a partir de hexano proporcionando el producto como un sólido ligeramente amarillo (3,1 g, al 81%):RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,79 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 1,52 (m, 2H), 1,62 (s, 3H), 4,10 (s.a., 1H).

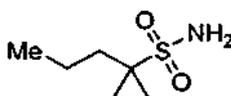
Etapa 1c: Preparación de 1-metilciclopropilsulfonamida



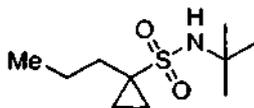
5 Una solución de *N*-*tert*-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida (1,91 g, 10 mmol) se disolvió en TFA (30 ml) y la mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 16 horas. El disolvente se retiró al vacío dando un aceite amarillo que se cristalizó a partir de EtOAc/hexano (1:4, 40 ml) proporcionando Ejemplo 3, 1-metilciclopropilsulfonamida, como un sólido blanco (1,25 g, al 96%): RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,84 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,58 (m, 3H), 4,65 (s.a., 2H). Anal. Calcd. Para $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$: C, 35,54;H, 6,71; N, 10,36. Encontrada: C, 35,67;H, 6,80; N, 10,40.

EJEMPLO 9

Preparación de 1-propilciclopropilsulfonamida



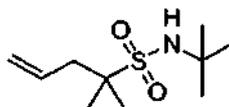
10

Etapas 1b: Preparación de *N*-*tert*-butil-(1-bencil)ciclopropil-sulfonamida.

15

Este compuesto se preparó usando el procedimiento descrito para la preparación de 1-metilciclopropilsulfonamida salvo que se utilizó haluro de propilo en lugar de yoduro de metilo en la segunda etapa de este procedimiento.

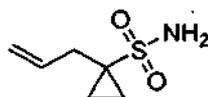
EJEMPLO 10

Preparación de *N*-*tert*-butil-(1-alil)ciclopropilsulfonamida.

20

Este compuesto, *N*-*tert*-butil-(1-alil)ciclopropilsulfonamida, se obtuvo en rendimiento del 97% según el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-*tert*-butil-(1-metil)ciclopropilsulfonamida salvo que 1,25 equivalentes de bromuro de alilo se usaron como electrófilo. El compuesto se tomó directamente en la siguiente reacción sin purificación: RMN de ^1H : (CDCl_3) δ 0,83 (m, 2H), 1,34 (s, 9H), 1,37 (m, 2H), 2,64 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 4,25 (s.a., 1H), 5,07-5,10 (m, 2H), 6,70-6,85 (m, 1H).

Preparación de 1-alilciclopropilsulfonamida.

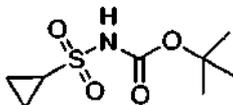
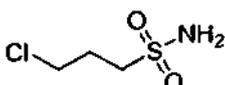


25

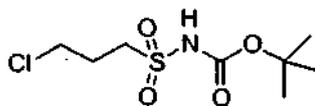
30 Este compuesto, 1-alilciclopropilsulfonamida, se obtuvo en rendimiento del 40% a partir de *N*-*tert*-butil-(1-alil)ciclopropilsulfonamida según el procedimiento descrito en la síntesis de 1-metilciclopropilsulfonamida. El compuesto se purificó por cromatografía en columna sobre SiO_2 usando MeOH al 2% en CH_2Cl_2 como el eluyente: RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,88 (m, 2 H), 1,37 (m, 2 H), 2,66 (d, $J=7,0$ Hz, 2 H), 4,80 (s, 2 H), 5,16 (m, 2 H), 5,82 (m, 1 H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 11,2, 35,6, 40,7, 119,0, 133,6.

EJEMPLO 15

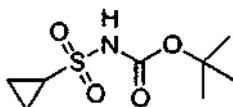
Preparación de *terc*-butil-carbamato de ciclopropilsulfonamina, un intermedio clave en la reparación de ciclopropilsulfonamidas sustituidas con C1.

5 *Etapa 1: Preparación de 3-cloropropilsulfonamida*

10 Una solución de cloruro de 3-cloropropanosulfonilo (55 g, 310,7 mmol) se disolvió en THF (200 ml) y se añadió gota a gota durante 30 minutos a una solución de NH₄OH (200 ml) enfriada a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó 1 hora y la fase acuosa se fraccionó múltiples veces con diclorometano (4 x 500 ml). La fase de diclorometano se lavó con HCl 1N (150 ml), agua (150 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío. El sólido en bruto se recrystalizó a partir de la cantidad mínima de diclorometano en hexanos proporcionando 3-cloropropilsulfonamida como un sólido blanco (45,3 g, al 93%). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 2,34 (m, 2H), 3,32 (t, J=7,3 Hz, 2H), 3,70 (t, J=6,2 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 27,10, 42,63, 52,57.

Etapa 2: Preparación de terc-butilcarbamato de 3-cloropropilsulfonilamina

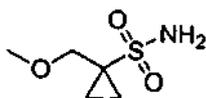
15 A una solución de 3-cloropropilsulfonamida (30,2 g, 191,5 mmol), trietilamina (30,2 ml, 217,0 mmol) y 4-DMAP (2,40 g, 19,6 mmol) en diclorometano (350 ml) enfriada a 0°C se añadió lentamente una solución de *i-terc*-butildicarbonato (47,2 g, 216,9 mmol) en diclorometano (250 ml) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, se agitó durante 3 horas adicionales y se fraccionó con HCl 1 N (300 ml), agua (300 ml), salmuera (300 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío proporcionando el producto en bruto. Este material se trituró con 70 ml de diclorometano al 5% en hexanos proporcionando *terc*-butilcarbamato de 3-cloropropilsulfonilamina como un sólido blanquecino (47,2 g, al 96%): RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,51 (s, 9H), 2,33 (m, 2H), 3,60 (t, J=7,3 Hz, 2H), 3,68 (t, J=6,21 Hz, 2H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 26,50, 27,95, 42,37, 50,40, 84,76, 149,53.

Etapa 3: Preparación de terc-butilcarbamato de ciclopropilsulfonilamina

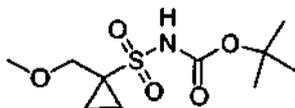
25 Una solución de *n*-butillitio (74,7 ml, 119,5 mmol, 1,6 M en hexano) se disolvió en THF seco (105 ml) y se enfrió a -78°C en una atmósfera de argón. A esta solución se añadió una solución de *terc*-butilcarbamato de 3-cloropropilsulfonilamina (14 g, 54,3 mmol) en THF seco (105 ml) gota a gota durante 20-30 minutos. El baño de hielo seco se retiró y la mezcla de reacción se dejó calentar a t.a. durante un periodo de 2 horas. La mezcla de reacción se desactivó con ácido acético glacial (3,4 ml), se concentró al vacío y se fraccionó entre diclorometano (100 ml) y agua (100 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío proporcionando el *terc*-butilcarbamato de ciclopropilsulfonilamina como un sólido blanquecino céreo (12,08 g, al 100%): RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,10 (m, 2H), 1,34 (m, 2H), 1,50 (s, 9H), 2,88 (m, 1H), 7,43 (s, 1H). RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 6,21, 28,00, 31,13, 84,07, 149,82.

35 EJEMPLO 16

Preparación de 1-metoxi-metilciclopropil-sulfonamida

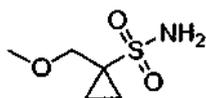


Etapa 1: Preparación de *tert*-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina



5 A una solución de *tert*-butilcarbamato de ciclopropilsulfonilamina (1,0 g, 4,5 mmol) disuelta en THF (30 ml) enfriada a -78°C , se añadió *n*-butillitio (6,4 ml, 10,2 mmol, 1,6 M en hexano) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. A esta solución se añadió una solución neta de clorometilmetiléter (0,40 ml, 5,24 mmol) y la mezcla se añadió lentamente a temperatura ambiente durante toda una noche. El pH de solución se ajustó a 3 usando HCl acuoso 1N y se extrajo después con acetato de etilo (partes de 4 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron (MgSO_4), se filtraron y concentraron proporcionando de *tert*-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina, como un sólido céreo (1,20 g, al 100%) que se tomó directamente en la siguiente reacción sin purificación adicional: RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,03 (m, 2H), 1,52 (s, 9H), 1,66 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,68 (s, 2H), 7,54 (s, 1 H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 11,37, 28,29, 40,38, 58,94, 73,43, 83,61, 149,57.

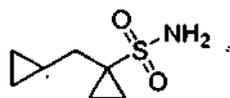
Etapa 2: Preparación de 1-metoximetilciclopropilsulfonamida



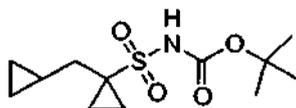
15 Una solución de *tert*-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina (1,14 g, 4,30 mmol) se disolvió en una solución de TFA al 50%/diclorometano (30 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se cromatógrafió sobre 80 g de SiO_2 (eluyendo con acetato de etilo 0% al 60%/hexanos a 1-metoximetilciclopropilsulfonamida como un sólido blanco (0,55 g, el 77% en general durante dos etapas)): RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,95 (m, 2H), 1,44 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 4,85 (s, 2H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 11,17, 40,87, 59,23, 74,80; LREM m/z 183 ($\text{M}^+ + \text{NH}_4$).

EJEMPLO 17

Preparación de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonamida

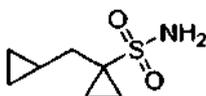


Etapa 1. Preparación de *tert*-butilcarbamato de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonilamina



25 Se obtuvo *tert*-butilcarbamato de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonilamina en rendimiento del 92% de acuerdo con el procedimiento descrito en la síntesis de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina de *tert*-butilcarbamato, salvo 1,10 equivalentes de bromuro de ciclopropilmetilo que se usaron como electrófilo. El compuesto se tomó directamente en la siguiente reacción sin purificación: RMN de ^1H (CDCl_3) δ 0,10 (m, 2H), 0,51 (m, 2H), 0,67 (m, 1H), 1,10 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,62 (m, 2H), 1,87 (d, $J=7,0$ Hz, 2H).

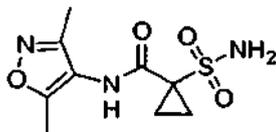
Etapa 2: Preparación de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonamida



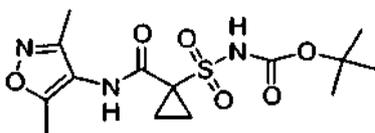
5 Este compuesto se obtuvo en rendimiento del 65% de *tert*-butilcarbamato de 1-ciclopropilmetilciclopropilsulfonilamina de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de 1-metoximetilciclopropilsulfonamida. El compuesto se purificó por cromatografía en columna sobre SiO₂ usando 0% al 60% de acetato de etilo en hexanos como el eluyente: RMN de ¹H (CDCl₃) δ 0,15 (m, 2H), 0,51 (m, 2H), 1,01 (s, 2H), 1,34 (s, 3H), 1,86 (d, J=7,0 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 4,65, 7,74, 11,26, 35,62; LREM m/z 193 (M⁺+NH₄).

EJEMPLO 19

Preparación de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclopropanosulfonamida

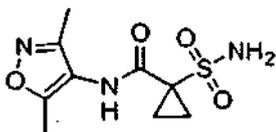


10 Etapa 1: Preparación de *tert*-butilcarbamato de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclopropanosulfonamida



15 Este compuesto se obtuvo en un rendimiento del 100% en bruto de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de *tert*-butilcarbamato de 1-metoximetilciclopropilsulfonilamina salvo que 1,20 equivalentes de 3,5-dimetilisoxazol-4-isocianato se usaron como el electrófilo. El compuesto se tomó directamente en de la siguiente reacción sin purificación.

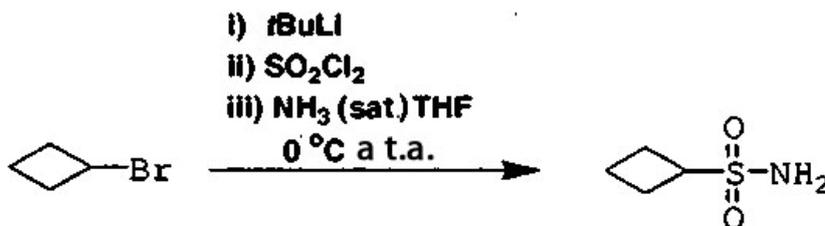
Etapa 2: Preparación de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclopropanosulfonamida



20 Este compuesto se obtuvo en rendimiento del 50% (580 mg) a partir de 1,62 g (4,52 mmol) de *tert*-butilcarbamato de 1-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)carbamoilciclopropanosulfonamida usando 30 ml (120 mmol) de HCl 4 N/dioxanos, agitándose durante toda una noche, concentración y cromatografía sobre una columna de Biotage 40 M (eluyendo con metanol al 0% a 5%/diclorometano: RMN de ¹H (metanol-d₄) δ 1,57 (m, 2H), 1,1 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 4,84 (s, 3H); RMN de ¹³C (metanol-d₄) δ 9,65, 10,94, 15,01, 46,11, 114,82, 159,45, 165,55, 168,15; LREM m/z 260 (M⁺+H).

EJEMPLO 20

25 Preparación de ciclobutilsulfonamida a partir de ciclobutilbromuro

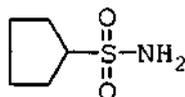


30 A una solución de 5,0 g (37,0 mmol) de bromuro de ciclobutilo en 30 ml de éter dietílico anhidro (Et₂O) enfriado a -78°C se añadieron 44 ml (74,8 mmol) de *tert*-butillitio 1,7 M en pentanos y la solución se calentó lentamente a -35°C durante 1,5 horas. Esta mezcla se canuló lentamente en una solución de 5,0 g (37,0 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado en 100 ml de hexanos enfriados a -40°C, se calentó a 0°C durante 1 hora y se concentró cuidadosamente en el vacío. Esta mezcla se redisolvió en Et₂O, se lavó una vez con algo de agua helada,

se secó (MgSO_4) y se concentró cuidadosamente. Esta mezcla se redisolvió en 20 ml de THF, se añadió gota a gota a 500 ml de NH_3 saturado en THF y se dejó agitar durante toda una noche. La mezcla se concentró al vacío a un sólido amarillo en bruto y se recrystalizó a partir de la cantidad mínima de CH_2Cl_2 en hexanos con 1-2 gotas de MeOH proporcionando 1,90 g (38%) de ciclobutilsulfonamida como un sólido blanco. RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,95-2,06 (m, 2H), 2,30-2,54 (m, 4H), 3,86 (p, $J=8$ Hz, 1H), 4,75 (s.a., 2H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 16,43, 23,93, 56,29. HREM m/z (M-H) $^-$ calc. para $\text{C}_4\text{H}_8\text{NSO}_2$: 134,0276; encontrado 134,0282.

5

EJEMPLO 21

Preparación de ciclopentilsulfonamida

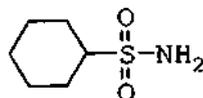
Una solución de 18,5 ml (37,0 mmol) de cloruro de ciclopentil-magnesio 2 M en éter se añadió a gota a gota a una solución de 3,0 ml (37,0 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado (obtenido de Aldrich) en 100 ml de hexanos enfriados a -78°C . La mezcla se calentó a 0°C durante 1 hora y después se concentró cuidadosamente al vacío. Esta mezcla se redisolvió en Et_2O (200 ml), se lavó una vez con algo de agua helada (200 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró cuidadosamente. Esta mezcla se redisolvió en 35 ml de THF, se añadió gota a gota a 500 ml de NH_3 saturado en THF y se dejó agitar durante toda una noche. La mezcla se concentró al vacío a un sólido amarillo en bruto, el residuo se filtró a través de 50 g de gel de sílice usando EtOAc-hexanos al 70% como el eluyente y la solución después se concentró. El residuo se recrystalizó a partir de la mínima cantidad de CH_2Cl_2 en hexanos con 1-2 gotas de MeOH proporcionando 2,49 g (41%) de ciclopentilsulfonamida como un sólido blanco. RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,58-1,72 (m, 2H), 1,74-1,88 (m, 2H), 1,94-2,14 (m, 4H), 3,48-3,59 (m, 1H), 4,80 (s.a., 2H); RMA de ^{13}C (CDCl_3) δ 25,90, 28,33, 63,54; EM m/e 148 (M-H) $^-$.

10

15

20

EJEMPLO 22

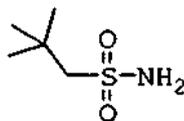
Preparación de ciclohexilsulfonamida

Una solución de 18,5 ml (37,0 mmol) de cloruro de ciclohexil-magnesio 2 M (TCI Americas) en éter se añadió a gota a gota a una solución de 3,0 ml (37,0 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado (obtenido de Aldrich) en 100 ml de hexanos enfriados a -78°C . La mezcla se calentó a 0°C durante 1 hora y después se concentró al vacío. Esta mezcla se redisolvió en Et_2O (200 ml), se lavó una vez con algo de agua helada (200 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró cuidadosamente. Esta mezcla se redisolvió en 35 ml de THF, se añadió gota a gota a 500 ml de NH_3 saturado en THF y se dejó agitar durante toda una noche. La mezcla se concentró al vacío a un sólido amarillo en bruto, el residuo se filtró a través de 50 g de gel de sílice usando EtOAc-hexanos al 70% como el eluyente y se concentró. El residuo se recrystalizó a partir de la mínima cantidad de CH_2Cl_2 en hexanos con 1-2 gotas de MeOH proporcionando 1,66 g (30%) de ciclohexilsulfonamida como un sólido blanco: RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,11-1,37 (m, 3H), 1,43-1,56 (m, 2H), 1,67-1,76 (m, 1H), 1,86-1,96 (m, 2H), 2,18-2,28 (m, 2H), 2,91 (tt, $J=12$, 3,5 Hz, 1H), 4,70 (s.a., 2H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 25,04, 25,04, 26,56, 62,74; EM m/e 162 (M-1) $^-$.

25

30

EJEMPLO 23

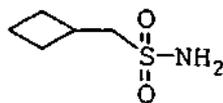
Preparación de Neopentilsulfonamida

Siguiendo el procedimiento para la preparación de ciclohexilsulfonamida, se convirtieron 49 ml (37 mmol) de cloruro de neopentilmagnesio 0,75 M (Alfa) en éter dietílico a 1,52 g (27%) de neopentilsulfonamida como un sólido blanco. RMN de ^1H (CDCl_3) δ 1,17 (s, 9H), 3,12 (s, 2H), 4,74 (s.a., 2H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 29,46, 31,51, 67,38; EM m/c 150 (M-1) $^-$.

40

EJEMPLO 24

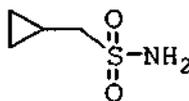
Preparación de ciclobutilcarbinilsulfonamida



5 Una solución de 12,3 g (83 mmol) de bromuro de ciclobutilcarbinilo (Aldrich) y 13,7 g (91 mmol) de yoduro de sodio en 150 ml de acetona se sometió a reflujo durante toda una noche y después se enfrió a temperatura ambiente. Los sólidos inorgánicos se emilinaron por filtración y la acetona y el yoduro de ciclopropilcarbinilo (8,41 g, al 46%) se eliminaron por destilación en condiciones ambientales y a 19995 pascales (150 torr) a 80°C, respectivamente.

10 Una solución de 4,0 g (21,98 mmol) de yoduro de ciclobutilcarbinilo en 30 ml de éter dietílico anhidro (éter dietílico) enfriado a -78°C se canuló en una solución de 17 ml (21,98 mmol) de sec-butillitio 1,3 M en ciclohexanos y la solución se agitó durante 5 minutos. A esta mezcla se canuló una solución de 3,0 g (21,98 mmol) de cloruro de sulfurilo recién destilado en 110 ml de hexanos enfriados a -78°C, la mezcla se calentó a temperatura ambiente durante 1 hora y se concentró después cuidadosamente al vacío. Esta mezcla se redisolvió en Et₂O, se lavó una vez con algo de agua helada, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró cuidadosamente. Esta mezcla se redisolvió en 30 ml de THF, se añadió gota a gota a 500 ml de NH₃ saturado en THF y se dejó agitar durante toda una noche. La mezcla se concentró al vacío a un sólido amarillo en bruto y se recrystalizó a partir de la cantidad mínima de diclorometano en hexanos con 1-2 gotas de metanol proporcionando 1,39 g (42%) de ciclobutilsulfonamida como un sólido blanco. RMN de ¹H (CDCl₃) δ 1,81-2,03 (m, 4H), 2,14-2,28 (m, 2H), 2,81-2,92 (m, 1H), 3,22 (d, J=7 Hz, 2H), 4,74 (s.a., 1H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 19,10, 28,21, 30,64, 60,93; EM m/e 148 (M-H).

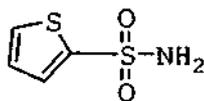
EJEMPLO 25

Preparación de ciclopropilcarbinilsulfonamida

20

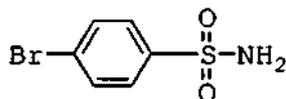
Usando el procedimiento empleado para la preparación de ciclobutilcarbinilsulfonamida, se preparó ciclopropilcarbinilsulfonamida a partir de bromuro de ciclopropilcarbinilo (Aldrich) (véase *también* el documento JACS 1981, p. 442-445). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 0,39-0,44 (m, 2H), 0,67-0,76 (m, 2H), 1,13-1,27 (m, 1H), 3,03 (d, J=7,3 Hz, 2H), 4,74 (s.a., 1H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 4,33, 5,61, 59,93; EM m/e 134 (M-1).

25 EJEMPLO 26

Preparación de 2-tiofenosulfonamida

Se preparó a partir de cloruro de 2-tiofenosulfonilo (adquirido de Aldrich) usando el procedimiento de Justus Liebigs Ann. Chem., 501, 1933, p. 174-182.

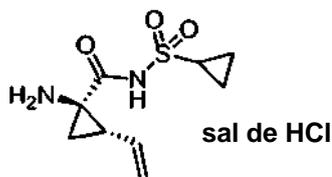
30 EJEMPLO 27

Preparación de 4-bromobenzenosulfonamida

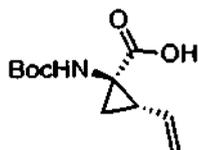
Se preparó 4-bromofenilsulfonamida por tratamiento de cloruro de 4-bromosulfonilo comercialmente disponible con amoniaco saturado en THF.

35 EJEMPLO 28

Preparación de sal de HCl de (1-(R)-amino-2-(S)-vinilciclopropanocarbonil)amida de ácido ciclopropanosulfónico

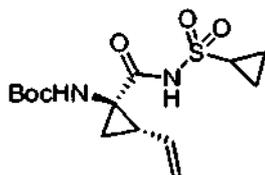


Etapa 1. Preparación de ácido 1(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-2(S)-vinilciclopropanocarboxílico



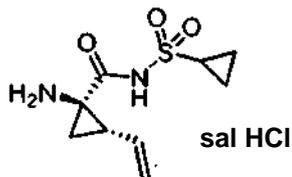
5 A una solución de éster etílico del ácido 1(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-2(S)-vinilciclopropanocarboxílico (3,28 g, 13,2 mmol) en THF (7 ml) y metanol (7 ml) se añadió una suspensión de LiOH (1,27 g, 53,0 mmol) en agua (14 ml). La mezcla se agitó durante toda una noche a temperatura ambiente y se desactivó con NaOH 1 N (15 ml) y agua (20 ml). La mezcla resultante se lavó con acetato de etilo (20 ml) y la fase orgánica se extrajo con 20 ml de NaOH 0,5 N. Las fases acuosas combinadas se acidificaron con HCl 1 N hasta pH 4 y se extrajeron con acetato de etilo (3 x 40 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron proporcionando el compuesto del título como un sólido blanco (2,62 g, al 87%). RMN de ¹H: (DMSO-d₆) δ 1,22-1,26 (m, 1H), 1,37 (s, 9H), 1,50-1,52 (m, 1H), 2,05 (c, J=9 Hz, 1H), 5,04 (d, J=10 Hz, 1H), 5,22 (d, J=17 Hz, 1H), 5,64-5,71 (m, 1H), 7,18, 7,53 (s, NH (rotámeros), 12,4 (s.a., 1H)); EM m/z 228 (M⁺+H).

Etapa 2: Preparación de (1-(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-2-(S)-vinilciclopropanocarbonil)-amida de ácido ciclopropanosulfónico



15 Una solución del producto de la Etapa 1 (2,62 g, 11,5 mmol) y CDI (2,43 g, 150 mmol) en THF (40 ml) se calentó a reflujo durante 50 minutos en nitrógeno. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se transfirió por cánula a una solución de ciclopropilsulfonamida (1,82 g, 15,0 mmol) en THF (10 ml). A la solución resultante se añadió DBU (2,40 ml, 16,1 mmol) y la agitación se continuó durante 20 horas. La mezcla se desactivó con HCl 1 N a pH 1 y THF se concentró al vacío. La suspensión se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. La purificación por recristalización a partir de hexanos-acetato de etilo (1:1) proporcionó el compuesto del título (2,4 g) como un sólido blanco. Las aguas madres se purificaron por una columna Biotage 40S (eluyó acetona al 9% en diclorometano) dando un segundo lote del compuesto del título (1,1 g). Ambos lotes se combinaron (92% de rendimiento total). RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ 0,96-1,10 (m, 4H), 1,22 (dd, J=5,5, 9,5 Hz, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,70 (t, J=5,5 Hz, 1H), 2,19-2,24 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 5,08 (d, J=10 Hz, 1H), 5,23 (d, J=17 Hz, 1H), 5,45 (m, 1H), 6,85, 7,22 (s, NH (rotámeros)); EM m/z 331 (M⁺+H).

Etapa 3: Preparación de sal de HCl de (1-(R)-amino-2-(S)-vinilciclopropanocarbonil)amida de ácido ciclopropanosulfónico

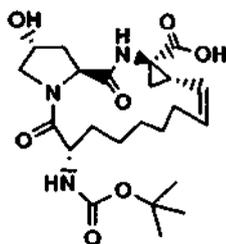


30 Una solución del producto de la Etapa 2 (3,5 g, 10,6 mmol) en diclorometano (35 ml) y TFA (32 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Los volátiles se retiraron al vacío y el residuo se suspendió en HCl 1 N en éter dietílico (20 ml) y se concentraron al vacío. Este procedimiento se repitió una vez. La mezcla resultante se trituró a partir de pentano y se filtró dando el compuesto del título como un sólido higroscópico, blanquecino (2,60 g, al 92%). RMN de ¹H: (DMSO-d₆) δ 1,01-1,15 (m, 4H), 1,69-1,73 (m, 1H), 1,99-2,02 (m, 1H), 2,38 (c, J=9 Hz, 1H), 2,92-2,97 (m, 1H), 5,20

(d, $J=11$ Hz, 1H), 5,33 (d, $J=17$ Hz, 1H), 5,52-5,59 (m, 1H), 9,17 (s.a., 3H); EM m/z 231 ($M^+ + H$).

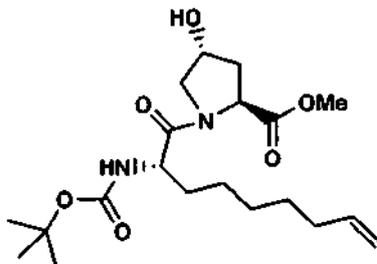
EJEMPLO 29

Preparación de ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-cis-14-terc-butoxicarbonilamino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo [14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico, Ejemplo 29.



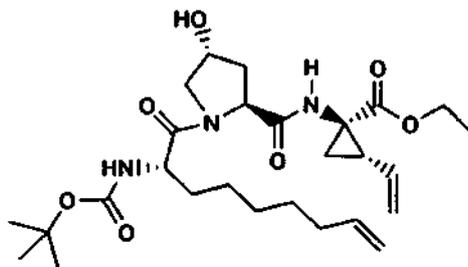
Ejemplo 29

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



Una solución de ácido 2(S)-terc-butoxicarbonilamino-8-nonenoico (adquirido de RSP Amino Acids) (3,5 g, 12,9 mmol) en 200 ml de DCM se trató secuencialmente con clorhidrato de éster metílico del ácido 4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxílico (2,15 g, 11,8 mmol), N-metil-morfolina (4,25 ml, 38,6 mmol) y HATU (5,37 g, 14,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. en N_2 durante 3 días y después se concentró al vacío. El residuo se fraccionó entre acetato de etilo y tampón a pH 4 (bifalato). La fase orgánica se lavó con $NaHCO_3$ acuoso saturado, se secó ($MgSO_4$) y se concentró al vacío dando el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 50%/hexano a acetato de etilo al 100%) dio 4,7 g (~100%) de éster metílico del ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxílico como un sólido incoloro: RMN de 1H (500 MHz, CD_3OD) δ 1,33-1,50 (m, 8 H), 1,46 (s, 9 H), 1,57 (m, 1 H), 1,72 (m, 1 H), 2,08 (m, 2 H), 2,28 (m, 1 H), 3,72 (s, 3 H), 3,75-3,87 (m, 2 H), 4,36 (m, 1 H), 4,51 (s.a., 1 H), 4,57 (t, $J=8,2$ Hz, 1 H), 4,95 (d, $J=10,4$ Hz, 1 H), 5,01 (m, 1 H), 5,83 (m, 1 H); EM m/z 399 ($M^+ + 1$).

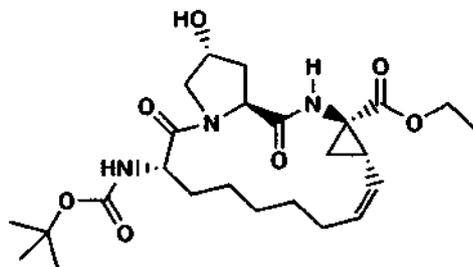
Etapa 2: Preparación de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)carbonil]-(1R)-amino]-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico



El éster metílico del ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxílico (4,7 g, 11,8 mmol) se disolvió en THF (80 ml), metanol (20 ml) y agua (40 ml). Se añadió el hidróxido de litio en polvo (5,6 g, 233 mmol). La suspensión amarilla clara se agitó a t.a. en N_2 durante 16 horas y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre éter y agua. La fase éter de descartó, y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta que el pH fue 4. Esta solución ácida se extrajo con EtOAc (3x). Los extractos de EtOAc combinados se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron al vacío dando 4,36 g (96%) de ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-8-nonenoil)-

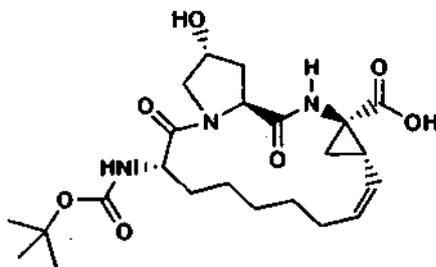
4(*R*)-hidroxi-pirrolidina-2(*S*)-carboxílico como un sólido blanco. Este ácido se disolvió después en 150 ml de DMF y se añadieron después clorhidrato de éster etílico del ácido (1*R*, 2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico (2,61 g, 13,6 mmol), *N*-metil-morfolina (2,5 ml, 22,6 mmol) y HATU (5,2 g, 13,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. en N₂ durante 16 horas y después se concentró al vacío. El residuo se fraccionó entre acetato de etilo y tampón a pH 4 (bifalato). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío dando el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 60%-80%/hexano) dio 6,0 g (98%) de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(*S*)-*tert*-butoxicarbonil-amino-non-8-enoil)-4(*R*)-hidroxi-pirrolidina-2(*S*)-carbonil]-(1*R*)-amino]-2(*S*)-vinilciclopropanocarboxílico como un sólido blanco: RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 1,25 (t, *J*=7,2 Hz, 3 H), 1,33-1,80 (m, 10 H), 1,46 (s, 9 H), 2,09 (m, 3 H), 2,25 (m, 2 H), 3,76 (m, 2 H), 4,14 (m, 2 H), 4,27 (dd, *J*=8,5, 5,2 Hz, 1 H), 4,50 (m, 2 H), 4,94 (d, *J*=10,1 Hz, 1 H), 5,01 (dd, *J*=17,1, 1,8 Hz, 1 H), 5,11 (dd, *J*=10,4, 1,8 Hz, 1 H), 5,30 (d, *J*=15,6 Hz, 1 H), 5,80 (m, 2 H), 8,57 (s, 1 H); EM *m/z* 522 (M⁺+1).

Etapa 3: Preparación de éster etílico del ácido (1*S*,4*R*,6*S*,14*S*,18*R*)-7-*cis*-14-*tert*-butoxicarbonil-amino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico



Una solución de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(*S*)-*tert*-butoxicarbonil-amino-non-8-enoil)-4(*R*)-hidroxi-pirrolidina-2(*S*)-carbonil]-(1*R*)-amino]-2(*S*)-vinilciclopropano-carboxílico (800 mg, 1,53 mmol) en 2 l de cloruro de metileno se purgó con N₂ durante 0,5 h. Después se añadió dicloruro de triciclohexilfosfina[1,3-bis(2,4,6-trimetil-fenil)-4,5-dihidroimidazol-2-ili-deno][bencilideno]-rutenio (IV) (Strem) (64 mg, 0,075 mmol) y la mezcla se purgó con N₂ durante otros 10 min. La solución homogénea naranja clara se sometió a reflujo durante 2 horas dando una solución naranja oscura. La mezcla de reacción se enfrió a t.a. y se concentró al vacío dando un aceite naranja. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo) dio 460 mg (61%) de éster etílico del ácido (1*S*,4*R*,6*S*,14*S*,18*R*)-7-*cis*-14-*tert*-butoxicarbonil-amino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico como un sólido gris. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,19 (t, *J*=7,2 Hz, 3 H), 1,42 (s, 9 H), 1,22-1,8 (m, 8 H), 1,87 (m, 2 H), 2,03-2,22 (m, 4 H), 2,63 (m, 1 H), 3,65 (m, 1 H), 4,09 (m, 3 H), 4,45 (m, 1 H), 4,56 (s, 1 H), 4,82 (m, 1 H), 5,23 (m, 1 H), 5,51 (s, 1 H), 7,16 (s, 1 H); EM *m/z* 494 (M⁺+1).

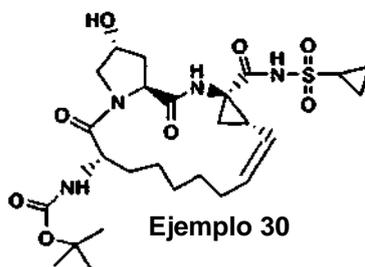
Etapa 4: Ácido (1*S*,4*R*,6*S*,14*S*,18*R*)-7-*cis*-14-*tert*-butoxicarbonil-amino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico



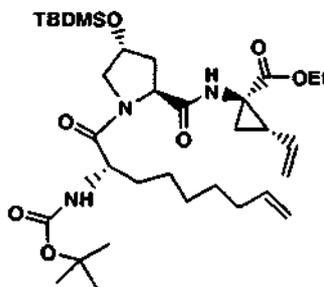
A una solución de éster etílico del (1*S*,4*R*,6*S*,14*S*,18*R*)-7-*cis*-14-*tert*-butoxicarbonil-amino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (493 mg, 1,0 mmol) en THF (4 ml), metanol (1 ml) y agua (2 ml), se añadió hidróxido de litio en polvo (480 mg, 20 mmol) y la suspensión amarilla se agitó a t.a. en N₂ durante 16 horas. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se fraccionó entre éter y agua. La fase éter se descartó, y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta que el pH fue 4. Esta solución ácida se extrajo con EtOAc tres veces. Los extractos combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío dando 460 mg (98%) de Ejemplo 18, ácido (1*S*,4*R*,6*S*,14*S*,18*R*)-7-*cis*-14-*tert*-butoxicarbonil-amino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico como un sólido gris. RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ ppm 1,26 (t, *J*=7,2 Hz, 3 H), 1,35-1,52 (m, 15 H), 1,57-1,68 (m, 3H), 1,79 (m, 1 H), 2,04 (m, 1H), 2,16-2,41 (m, 3 H), 3,80 (dd, *J*=10,7, 4,3 Hz, 1 H), 3,88 (m, 1 H), 4,38 (dd, *J*=8,9, 3,1 Hz, 1 H), 4,55 (m, 2 H), 5,39 (t, *J*=9,8 Hz, 1 H), 5,58 (m, 1H); EM *m/z* 466 (M⁺+1).

EJEMPLO 30

Preparación de éster *tert*-butílico del ácido (4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nona-dec-7-en-14-il)-carbámico



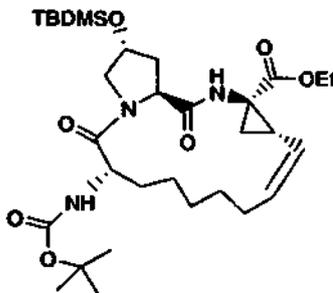
5 **Etapa 1:** Preparación de éster etílico del ácido 1-[[1-(2-*tert*-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4-(*tert*-butil-dimetil-silaniloxi)-pirrolidina-2-carbonil]-amino]-2-vinilciclopropanocarboxílico



10 A una mezcla de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(*S*)-*tert*-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(*R*)-hidroxi-pirrolidina-2(*S*)-carbonil]-(*1R*)-amino]-2(*S*)-vinil-ciclopropanocarboxílico (1,5 g, 2,87 mmol) en 10 ml de DMF se añadió imidazol (0,25 g, 3,67 mmol) y cloruro de *tert*-butil-dimetilsililo (516 mg, 3,44 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante dos días. La mezcla de reacción se concentró después al vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo. Esta solución se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío obteniendo un sólido en bruto. La purificación por cromatografía de purga (eluyendo con acetato de etilo al 20% en hexano) dio 1,43 g (78%) de ácido 1-[[1-(2-*tert*-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4-(*tert*-butildimetil-silaniloxi)-pirrolidina-2-carbonil]-amino]-2-vinilciclopropanocarboxílico como un sólido blanco.

15 RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 0,10 (s, 6 H), 0,89 (s, 9 H), 1,22 (m, 3 H), 1,31-1,48 (m, 16 H), 1,50-1,75 (m, 3 H), 2,06 (m, 3 H), 2,11-2,33 (m, 2 H), 3,70 (m, 2 H), 4,03-4,19 (m, 2 H), 4,21 (m, 1 H), 4,45 (t, *J*=7,87 Hz, 1 H), 4,59 (m, 1 H), 4,91 (d, *J*=9,15 Hz, 1 H), 4,98 (d, *J*=17,20 Hz, 1 H), 5,08 (dd, *J*=10,25, 1,83 Hz, 1 H), 5,27 (dd, *J*=17,38, 1,65 Hz, 1 H), 5,65-5,87 (m, 2 H); EM *m/z* 636 (M⁺+1).

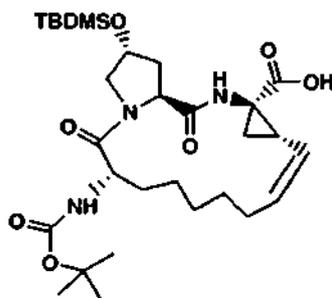
20 **Etapa 2:** Preparación de éster etílico del ácido 14-*tert*-butoxicarbonilamino-18-(*tert*-butil-dimetilsilaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico



25 A una solución de éster etílico del ácido 1-[[1-(2-*tert*-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4-(*tert*-butildimetil-silaniloxi)-pirrolidina-2-carbonil]-amino]-2-vinilciclopropanocarboxílico (1,63 g, 2,56 mmol) en 640 ml de cloruro de metileno se añadieron 215 mg (0,26 mmol) de dicloruro de triciclohexilfosfina[1,3-bis(2,4,6-tri[bencilideno]rutenio (IV)). La mezcla se calentó a reflujo durante 15 minutos. El residuo se concentró al vacío y después se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo al 30%/hexano. Decolorando adicionalmente la muestra, el producto en bruto se cromatografió una segunda vez eluyendo con éter al 50% en hexano dando 1,5 g (96%) de éster etílico del ácido 14-*tert*-butoxicarbonilamino-18-(*tert*-butildimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico como un sólido blanco. RMN de ¹H (500 MHz, CD₃Cl) δ 0,06 (s, 3 H), 0,07 (s, 3 H), 0,86 (s, 9 H), 1,18-1,24

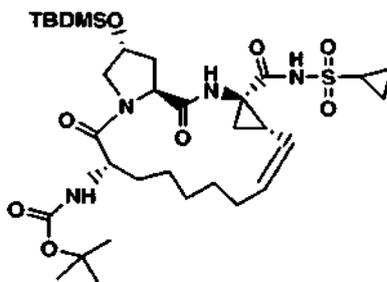
(m, 6 H), 1,34-1,64 (m, 14 H), 1,86-1,96 (m, 3 H), 2,02-2,09 (m, 1 H), 2,11-2,17 (m, 1 H), 2,19-2,28 (m, 1 H), 2,57-2,63 (m, 1 H), 3,50-3,54 (m, 1 H), 3,71 (dd, $J=10,22, 6,26$ Hz, 1 H), 4,06-4,17 (m, 2 H), 4,52-4,58 (m, 2 H), 4,75 (d, $J=8,55$ Hz, 1 H), 5,21 (t, $J=9,92$ Hz, 1 H), 5,35 (d, $J=7,63$ Hz, 1 H), 5,45-5,50 (m, 1 H), 6,94 (s, 1 H); EM m/z 608 ($M^+ + 1$).

- 5 *Etapa 3: Preparación de éster etílico del ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butil-dimetilsilaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico*



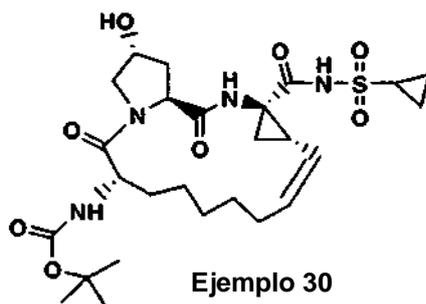
- 10 A una solución de éster etílico del ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (1,5 g, 2,47 mmol) en un sistema disolvente mezclado de THF (4 ml), metanol (1 ml) y agua (2 ml), se añadió monohidrato de hidróxido de litio en polvo (1,0 g, 50 mmol). La suspensión amarilla clara a se agitó a t.a. en N₂ durante 4 h. La mezcla se concentró después al vacío y el residuo se fraccionó entre éter y agua. La fase éter se descartó y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta que el pH fue 4. Esta solución ácida se extrajo con EtOAc (3x). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío dando 1,2 g (84%) de ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico como un sólido blanquecino. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) 0,12 (s, 6 H), 0,89 (s, 9 H), 1,23-1,64 (m, 17 H), 1,70-1,87 (m, 1 H), 1,90-2,49 (m, 6 H), 3,70-3,80 (m, 1 H), 3,83-3,90 (m, 1 H), 4,28-4,36 (m, 1 H), 4,47-4,55 (m, 1 H), 4,65 (s, 1 H), 5,30-5,39 (m, 1 H), 5,53-5,62 (m, 1 H); EM m/z 580 ($M^+ + 1$).

- 20 *Etapa 4: Preparación de éster terc-butílico de ácido [18-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-4-ciclopropano sulfonilamino carbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]-carbámico*



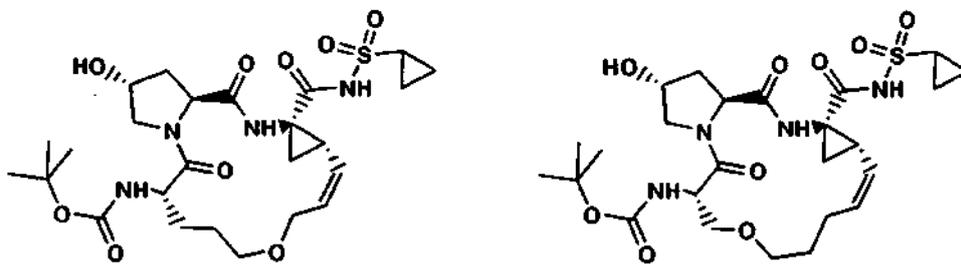
- 25 Se disolvió ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (500 mg, 0,86 mmol) en 25 ml de THF y se trató con CDI (180 mg, 1,12 mmol). (Se tomó cuidado para evitar la humedad usando cristalería secada en horno y manteniendo una atmósfera de N₂ seca). Después de que se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 2 horas, se enfrió a t.a. y se trató secuencialmente con ciclopropilsulfonamida (135 mg, 1,12 mmol) y DBU (170 mg, 1,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a t.a. y el THF se retiró por evaporación rotatoria. El residuo se fraccionó entre acetato de etilo y tampón de pH 4. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío dando el producto en bruto. Ello se purificó después por cromatografía ultrarrápida (eluyendo con acetato de etilo al 33% en hexano) dando 300 mg (51%) de éster terc-butílico de ácido [18-(terc-butildimetil-silaniloxi)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]-carbámico como un sólido blanco. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1H 0,07 (s, 3 H), 0,08 (s, 3 H), 0,85 (s, 9 H), 0,87-1,49 (m, 21 H), 1,73-1,95 (m, 3 H), 2,08-2,16 (m, 1 H), 2,25-2,36 (m, 2 H), 2,42-2,56 (m, 1 H), 2,85-2,93 (m, 1 H), 3,65-3,74 (dd, $J=10,61, 3,66$ Hz, 1 H), 3,89 (d, $J=10,25$ Hz, 1 H), 4,34 (m, $J=9,70, 9,70$ Hz, 1 H), 4,43 (t, $J=7,87$ Hz, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,94-5,01 (m, 1 H), 5,10 (d, $J=8,78$ Hz, 1 H), 5,66-5,75 (m, 1 H), 6,55 (s, 1 H), 10,13 (s, 1 H); EM m/z 683 ($M^+ + 1$).

Etapa 5: Preparación de Ejemplo 19, éster terc-butílico del ácido (4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il)-carbámico

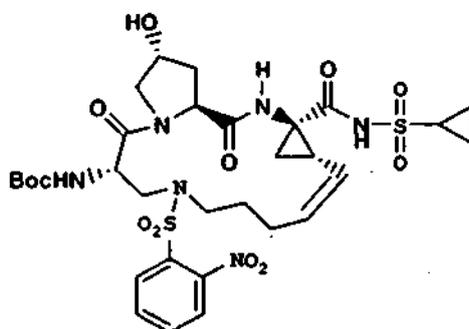
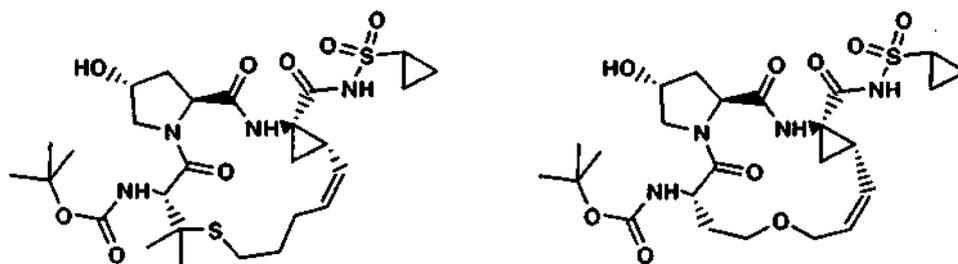
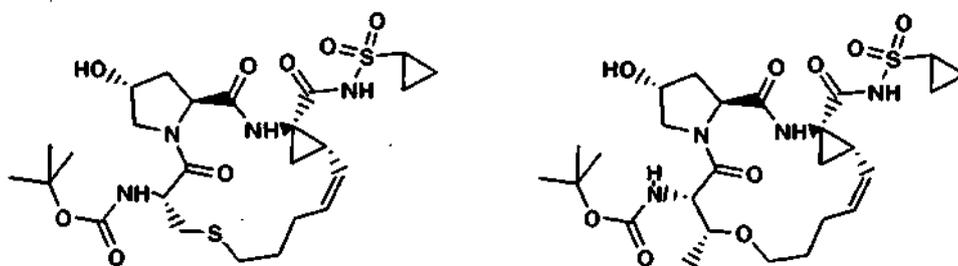


5 A una mezcla de éster terc-butílico de ácido [18-(terc-butil-dimetilsilaniloxi)-4-ciclopropano sulfonil
 aminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]-carbámico (330 mg, 0,48 mmol) en 25 ml
 de THF se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (150 mg, 0,54 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 18
 horas y después el THF se retiró por evaporación rotatoria. El residuo se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase
 orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío dando el producto en bruto. Se purificó después triturando con
 hexano proporcionando 200 mg (73%) de éster terc-butílico del ácido (4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-hidroxi-
 2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]-nonadec-7-en-14-il)-carbámico, Ejemplo 19, como un sólido blanco. RMN de
 10 ¹H (500 MHz, CD₃Cl) δ 1,87-1,64 (m, 21 H), 1,70-1,98 (m, 3 H), 2,15-2,56 (m, 5 H), 2,85-2,94 (m, 1 H), 3,71 (d, J=13,91
 Hz, 1 H), 4,10-4,26 (m, 2 H), 4,51 (t, J=7,87 Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,98 (m, 1 H), 5,06 (d, J=8,78 Hz, 1 H), 5,64-5,71
 (m, 1 H), 6,72 (s, 1 H), 10,24 (s, 1 H); EM m/z 569 (M⁺+1).

Los siguientes intermedios de alcohol macrocíclico se prepararon empleando los procedimientos descritos en los
 ejemplos 29 y 30:



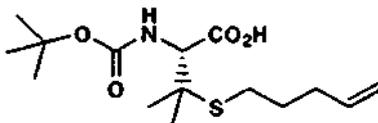
Los siguientes intermedios de alcohol macrocíclico podrían prepararse empleando los procedimientos descritos en los ejemplos 29 y 30:



5

EJEMPLO 31

Preparación de Ejemplo 31, ácido 2(S)-terc-butoxicarbonilamino-3-pent-4-enilsulfanilpropiónico



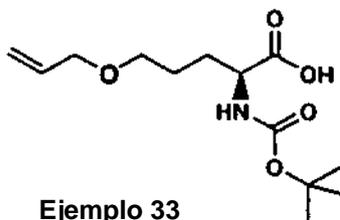
Ejemplo 32

A una solución de 8,52 g (25,7 mmol) de éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-3-(4-pentenilthio)-L-valina en 200 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente se añadió una solución de 1,10 g (26,2 mmol) de monohidrato de hidróxido de litio en 50 ml de agua. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 65 horas. A la mezcla de reacción se añadieron después 28 ml de ácido clorhídrico 1,00 N. La mezcla se diluyó con éter dietílico, se lavó con agua (3X) y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío proporcionando 8,10 g de N-terc-butoxicarbonil-3-(4-pentenilthio)-L-valina como un aceite incoloro.

RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 5,75 (d de d de t, 1 H, J = 17,2, 10,3, 6,6 Hz), 5,40 (s.a., 1 H), 5,05-4,94 (m, 2 H), 4,28 (s.a., 1 H), 2,56 (m, 2 H), 2,13 (cuartete, 2 H, J = 7,3 Hz), 1,63 (quintuplete, 2 H, J = 7,3 Hz), 1,44 (s, 9 H), 1,39 (s, 3 H), 1,37 (s, 3 H).

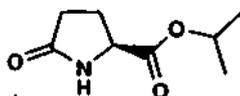
EJEMPLO 33

Preparación de Ejemplo 33, ácido 5-aliloxi-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)pentanoico



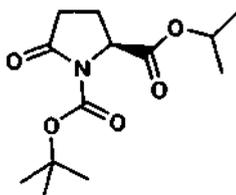
Ejemplo 33

Etapa 1: Preparación de pirrolidin-5-ona-2(S)-carboxilato de isopropilo



Una solución de ácido L-pirolglutámico (Aldrich, 25,0 g, 195 mmol) y monohidrato de ácido paratoluenosulfónico (3,71 g, 19,5 mmol) se sometió a reflujo en isopropanol (40 ml) en nitrógeno durante horas usando una variación de la trampa de Dean-Stark (el condensado retorna a través de un extractor de Soxhlet cargado con tamices moleculares de 4 Å). Después de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con éter, se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y después con NaCl acuoso saturado, se secó (MgSO₄) y se evaporó dando un jarabe incoloro. Ello cristalizó tras ajustar. Triturar el residuo cristalino en hexano proporcionó 31,9 g (96%) de pirrolidin-5-ona-2(S)-carboxilato de isopropilo en forma de prismas blancos: RMN de ¹H (300 MHz, Cloroformo-D) δ 6,35 (s.a., 1 H), 5,04 (septuplete 1 H, J = 6,2 Hz), 4,18 (dd, 1 H, J = 8,4, 5,3 Hz), 2,51-2,28 (m, 3 H), 2,27-2,12 (m, 1 H), 1,24 (d, 6 H, J = 6,2 Hz). CLEM m/z 172 (M+H)⁺.

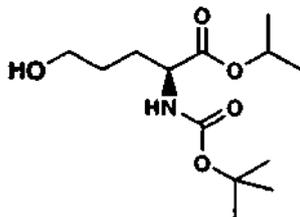
Etapa 2: Preparación de 1-(terc-butoxicarbonil)-pirrolidin-5-ona-2(S)-carboxilato de isopropilo



Una solución de pirrolidin-5-ona-2(S)-carboxilato de isopropilo (producto de la etapa 26A, 31,9 g, 188 mmol), dicarbonato de di-terc-butilo (48,6 g, 225 mmol) y DMAP (2,30 g, 8,8 mmol) en acetonitrilo (300 ml) se agitó a temperatura ambiente en N₂ durante 30 minutos. La reacción se evaporó a aproximadamente 100 ml, se diluyó con éter, se lavó con HCl 1 N después con NaCl acuoso saturado, se secó (MgSO₄) y se evaporó dando 1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-5-ona-2(S)-carboxilato de isopropilo como un aceite amarillo claro, 50,1 g (99%): RMN de ¹H (300 MHz, Cloroformo-D) δ 5,06 (septete, 1 H, J = 6,2 Hz), 4,53 (dd, 1 H, J = 9,5, 2,9 Hz), 2,66-2,40 (m, 2H), 2,36-2,22 (m, 1 H), 2,03-1,93 (m, 1 H), 1,47 (s, 9 H), 1,26 (d, 3 H, J = 6,2 Hz), 1,24 (d, 3 H, J = 6,2 Hz). CLEM m/z 272

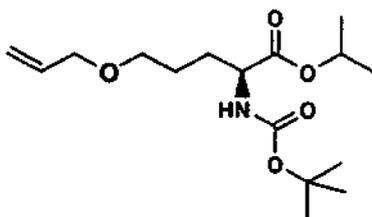
(M+H)⁺.

Etapa 3: Preparación de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-5-hidroxipentanoato de isopropilo



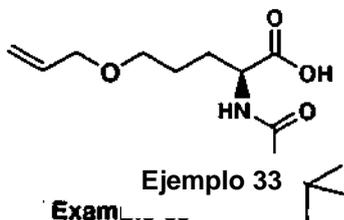
5 A una disolución de 1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-5-ona-2(S)-carboxilato de isopropilo (producto de etapa 26B, 49,5 g, 183 mmol) en metanol (300 ml) se añadió borohidruro de sodio (10,0 g, 263 mmol) en partes de ~1 g durante 1,5 horas. La reacción se agitó en nitrógeno durante otros 10 minutos. Ello se diluyó con agua, se extrajo con éter, las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con NaCl acuoso saturado, se secaron (MgSO₄) y se evaporaron dando un aceite amarillo claro. La cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, acetato de etilo al 20-30%/hexano) dio 31,8 g (64%) de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-5-hidroxipentanoato de isopropilo como una jarabe incoloro: RMN de ¹H (300 MHz, Cloroformo-D) δ 5,16 (d.a., 1 H, J = 7,3 Hz), 5,03 (septete, 1 H, J = 6,2 Hz), 4,28 (s.a., 1 H, J = 6,2 Hz), 3,67 (d.d.a., J = 10,2, 5,5 Hz), 1,94-1,79 (m, 2 H), 1,76-1,67 (m, 1 H), 1,66-1,56 (m, 2 H), 1,43 (s, 9 H), 1,25 (d, 3 H, J = 6,2 Hz), 1,23 (d, 3 H, J = 6,2 Hz). CLEM m/z 276 (M+H)⁺.

Etapa 4: Preparación de isopropil-5-aliloxi-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)pentanoato



15 Una mezcla desgasificada de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-5-hidroxipentanoato de isopropilo (producto de etapa 26C, 17,6 g, 63,9 mmol), carbonato de alilmetilo (24,0 ml, 213 mmol), Pd₂(dba)₃ (1,62 g, 1,78 mmol) y BINAP (4,42 g, 7,10 mmol) en THF (150 ml) se sometió a reflujo en nitrógeno durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con éter, se filtró a través de celite y se evaporó dando un jarabe marrón oscuro. La cromatografía ultrarrápida del residuo (gel de sílice, éter al 30%/hexano) dio 5-aliloxi-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)pentanoato de isopropilo como un aceite incoloro viscoso, 16,3 g (81%): RMN al ¹H (300 MHz, Cloroformo-D) δ 5,88 (ddt, 1 H, 17,4, 10,4, 5,5), 5,28 (m, 1 H), 5,22-5,11 (m, 1 H), 5,02 (septete, 1 H, J = 6,2 Hz), 4,21 (t.a., 1 H, J = 6,7 Hz), 3,94 (dt, 2 H, J = 5,9, 1,5 Hz), 3,42 (t, 2 H, J = 5,9 Hz), 1,90-1,82 (m, 1 H), 1,75-1,57 (m, 3 H), 1,42 (s, 9 H), 1,21 (d, 3 H, J = 6,2 Hz), 1,19 (d, 3 H, J = 6,2 Hz). CLEM m/z 316 (M+H)⁺.

Etapa 5: Preparación de Ejemplo 33, ácido 5-aliloxi-2(S)-(terc-

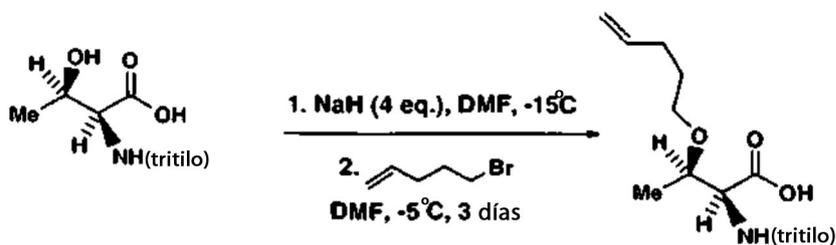


25 *butoxicarbonilamino)pentanoico*

30 Una mezcla de 5-aliloxi-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)pentanoato de isopropilo (producto de etapa 26D, 16,1 g, 51,1 mmol) e hidrato de hidróxido de litio (4,19 g, 102 mmol) en THF/agua (100 ml/20 ml) se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno durante 16 horas. La reacción se diluyó con agua, se lavó con éter, se ajustó el pH de la fracción acuosa a ~4, se extrajo con éter, las fracciones combinadas se lavaron con NaCl, se secaron (MgSO₄) y se evaporaron dando ácido 5-aliloxi-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)pentanoico como un jarabe amarillo claro: RMN de ¹H (300 MHz, Cloroformo-D) δ 5,89 (ddt, 1 H, J = 17,4, 10,4, 5,5), 5,25 (dd, 1 H, J = 17,4, 1,6 Hz), 5,17 (dd, 1 H, J = 10,4, 1,6 Hz), 4,30 (d.a., 1 H, J = 6,2), 3,96 (dt, 2 H, J = 5,9, 1,5 Hz), 3,46 (t, 2 H, J = 5,9 Hz), 1,96-1,86 (m, 1 H), 1,85-1,77 (m, 1 H), 1,75-1,64 (m, 2 H), 1,43 (s, 9 H). CLEM m/z 274 (M+H)⁺.

EJEMPLO 34

Procedimiento General para la Preparación del Ejemplo 34

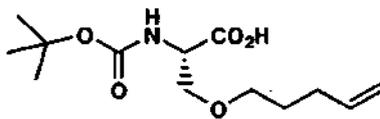


Ejemplo 34

5 El Ejemplo 23 se preparó añadiendo una solución de DMF de treonina protegida por N-tritilo a una solución de DMF de hidruro de sodio enfriada a -15°C . La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a -15°C después de lo que se añadió 5-bromo-1-penteno y la mezcla resultante se calentó a -5°C . La mezcla de reacción se mantuvo a -5°C durante 3 días tiempo después del que la reacción se desactivó por la adición de HCl 1N y se estimuló usando procedimientos de extracción estándar según se describen anteriormente. El Ejemplo 23 se obtuvo en forma pura por procedimientos cromatográficos estándar.

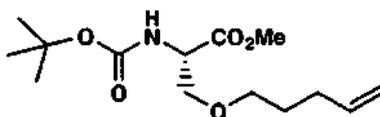
10 EJEMPLO 35:

Preparación de Ejemplo 35, N-terc-butoxicarbonil-O-(4-pentenil)-L-serina



Ejemplo 35

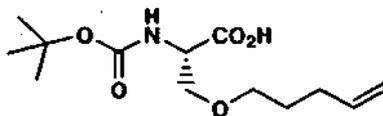
Etapa 1: Preparación de éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-O-(4-pentenil)-L-serina



15 A una solución de 10,26 g (50 mmol, 1,0 eq) de N-terc-butoxicarbonil-L-serina en 500 ml de dimetil-sulfóxido anhidro a temperatura ambiente se añadieron 2,00 g (50 mmol, 1,0 eq.) de hidruro de sodio al 60% en aceite mineral. Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas hasta que hubo cesado la evolución del gas. A la solución resultante se añadieron 6,00 ml (50 mmol, 1,0 eq.) de 5-bromo-1-penteno seguidos inmediatamente por otros 2,00 g (50 mmol, 1,0 eq) de hidruro de sodio al 60% en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó después a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se diluyó con 2000 ml de agua, se ajustó a pH 3-4 por la adición de 50 ml de ácido clorhídrico 1,00 N y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua (2x) y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. Eliminando el aceite mineral residual el material resultante se disolvió en una solución de hidróxido sódico acuosa diluida. Esta solución acuosa se lavó con hexano y después se ajustó a pH 4 empleando ácido clorhídrico y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua (2x) y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío.

20 El producto en bruto (7,70 g) se disolvió en 100 ml de dimetilsulfóxido anhidro. A esta solución se añadieron 7,80 g (56 mmol) de carbonato de potasio y 4,70 ml (56 mmol) de yodometano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con agua (2x) y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El gel de sílice de cromatografía en columna (elución: acetato de etilo al 2-10%/hexano) proporcionó 6,70 g de éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-O-(4-pentenil)-L-serina como un sólido incoloro. RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,78 (d de d de t, 1 H, $J = 17,2, 10,2, 6,6$ Hz), 5,34 (d.a., 1 H, $J = 8,0$ Hz), 5,03-4,92 (m, 2 H), 4,40 (m, 1 H), 3,81 (d de d, 1 H, $J = 9,5, 2,9$ Hz), 3,74 (s, 3 H), 3,61 (d de d, 1 H, $J = 9,5, 3,5$ Hz), 3,42 (m, 2 H), 2,06 (cuartete, 2 H, $J = 7,3$ Hz), 1,61 (quintuplete, 2 H, $J = 7,3$ Hz), 1,44 (s, 9 H).

Etapa 2: Preparación de Ejemplo 35, N-terc-butoxicarbonil-O-(4-pentenil)-L-serina

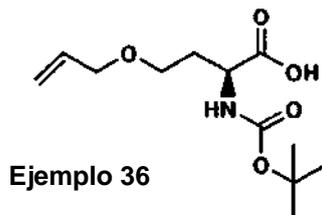


Ejemplo 35

5 A una solución de 6,65 g (23 mmol) de éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-O-(4-pentenil)-L-serina en 500 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente se añadió una solución de 1,95 g (46 mmol) de monohidrato de hidróxido de litio en 100 ml de agua. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 40 horas. A la mezcla de reacción se añadieron después 46 ml de ácido clorhídrico 1,00 N. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua (3X) y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío proporcionando 6,30 g de N-terc-butoxicarbonil-O-(4-pentenil)-L-valina como un aceite incoloro. RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,77 (d de d de t, 1 H, $J = 17,2, 10,2, 6,6$ Hz), 5,37 (d.a., 1 H, $J = 8,0$ Hz), 4,42 (m, 1 H), 3,87 (d de d, 1 H, $J = 9,5, 2,6$ Hz), 3,63 (d de d, 1 H, 4,0 Hz), 3,45 (m, 2 H, $J = 6,6$ Hz), 2,07 (cuartete, 2 H, $J = 7,3$ Hz), 1,64 (quintuplete, 2 H, $J = 7,3$ Hz), 1,44 (s, 9 H).

EJEMPLO 36

Preparación de Ejemplo 36, ácido (S)-4-aliloxi-2-(terc-butoxicarbonilamino)butírico

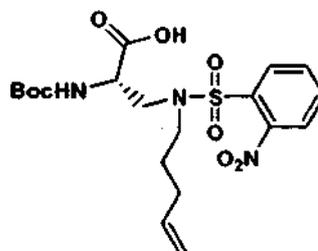


Ejemplo 36

15 A una mezcla de hidruro de sodio (913 mg, 22,8 mmol) en DMF a 0°C se añadió N-t-Boc-L-homoserina (2 g, 9,13 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 15 minutos y después se añadió bromuro de alilo (1,38 g, 11,4 mmol). La mezcla se calentó a t.a. y se agitó durante 2 horas. Ello se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua y se lavó secuencialmente con hexano y éter. Las fases orgánicas se descartaron y la fase acuosa se ajustó cuidadosamente a pH 3 con HCl 1 N. Esta solución acuosa ácida se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró al vacío proporcionando 2,2 g (93%) de ácido (S)-4-aliloxi-2-(terc-butoxicarbonilamino)butírico como un aceite incoloro. RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 1,42 (s, 9 H), 1,80-1,90 (m, 1 H), 2,04-2,16 (m, 1 H), 3,50-3,54 (m, 2 H), 3,97 (d, $J=4,39$ Hz, 2 H), 4,23 (dd, $J=8,78, 4,39$ Hz, 1 H), 5,15 (d, $J=10,25$ Hz, 1 H), 5,26 (dd, $J=17,38, 1,65$ Hz, 1 H), 5,84-5,97 (m, 1 H).

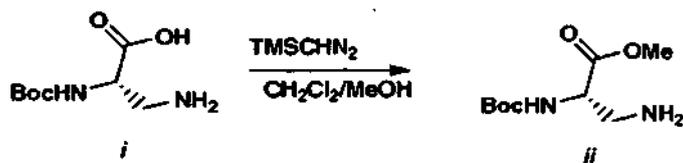
25 EJEMPLO 37

Preparación de Ejemplo 37, ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonil)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoico



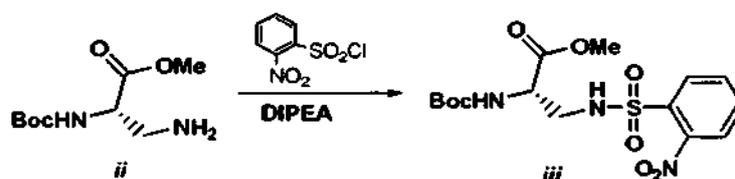
Ejemplo 37

Etapa 1: Preparación de 3-amino-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo



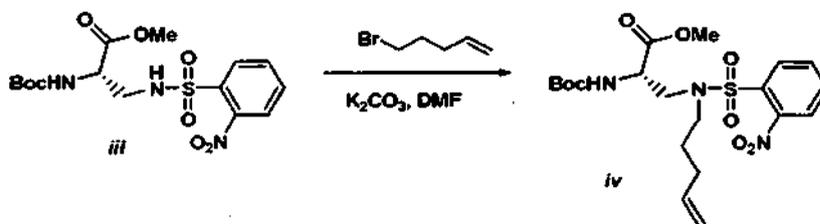
5 A una mezcla de *i* (Boc-DAP-OH) (3,0 g 14,7 mmol) en 50 ml de cloruro de metileno se añadió 5 ml de metanol. A esta solución se añadió lentamente (trimetilsilil)diazometano (2 M en éter, 7,9 ml, 15,8 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante 2 horas hasta que todo el sólido se disolvió y la solución se volvió amarilla clara. Ello se concentró proporcionando 3,2 g (99%) de 3-amino-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo *ii* como un sólido incoloro. RMN de ¹H (CD₃OD, 300 MHz) δ 1,46 (s, 9 H), 2,82-3,00 (m, 2 H), 3,71 (s, 3 H), 4,14 (s.a., 1 H).

Preparación de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitrofenilsulfonamido)propanoato de metilo *iii*:



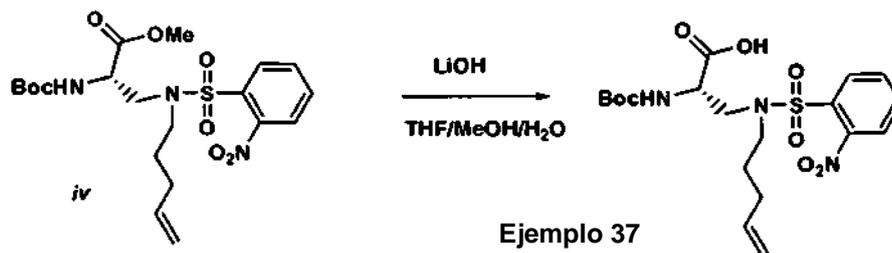
10 A una mezcla de 3-amino-2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo *ii* (1,6 g, 7,3 mmol) en DCM (50 ml) se añadió DIPEA (1,64 ml, 9,4 mmol) y clorurosulfonilo de 2-nitrobenzoceno (1,62 g, 7,3 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante 2 h. Después se concentró, se disolvió en acetato de etilo, que se lavó después con bicarbonato de sodio saturado, salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio. Ello se filtró después, se concentró proporcionando 2,9 g (98%) de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitrofenilsulfonamido)propanoato de metilo *iii* como una espuma amarilla. RMN de ¹H (CD₃OD, 300 MHz) δ 1,41 (s, 9 H), 3,36-3,51 (m, 2 H), 3,71 (s, 3 H), 4,22 (m, 1 H), 7,80-7,90 (m, 3 H), 8,07-8,10 (m, 1 H).

15 Preparación de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoico de metilo *iv*:



20 A una mezcla de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitrofenilsulfonamido)propanoato de metilo *iii* (150 mg, 0,37 mmol) en 3 ml de DMF se añadió carbonato de potasio (102 mg, 0,74 mmol). Esta mezcla se agitó a t.a. durante 20 minutos seguidos por la adición de 5-bromo-1-penteno (65 µl, 0,55 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 2 días. Ello después se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 25% en hexano) dando 75 mg (43%) de 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoato de metilo *iv* como un sólido amarillo. RMN de ¹H (CD₃OD, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9 H), 1,54-1,64 (m, 2 H), 1,97 (c, J=7,20 Hz, 2 H), 3,37 (m, 2 H), 3,57-3,80 (m, 2 H), 3,72 (s, 3 H), 4,42 (dd, J=8,60, 5,31 Hz, 1 H), 4,91-5,01 (m, 2 H), 5,69-5,79 (m, 1 H), 7,75-7,85 (m, 3 H), 8,04 (m, 1 H); EM *m/z* 372 (M⁺+1-Boc).

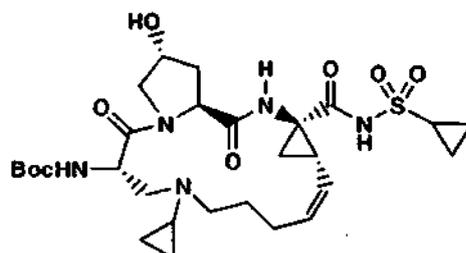
25 Preparación de Ejemplo 37. Ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonil)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoico *v*:



Se disolvió 2-(terc-butoxicarbonil)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)-propanoato de (S)-metilo iv (500 mg, 1,06 mmol) en el sistema disolvente mezclado: THF (4 ml), metanol (1 ml) y agua (2 ml). Se añadió el hidróxido de litio en polvo (250 mg, 10,4 mmol). La suspensión amarilla clara se agitó a t.a. durante 15 horas y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre éter y agua. La fase de éter se descartó y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta que el pH fue 4. Esta solución ácida se extrajo con acetato de etilo cuatro veces. Los extractos de acetato de etilo combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío dando 430 mg (89%) de ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoico (Ejemplo 26) como un aceite amarillo. RMN de ¹H (CD₃OD, 300 MHz) δ 1,38 (s, 9 H), 1,51-1,60 (m, 2 H), 1,89-1,98 (m, 2 H), 3,28-3,32 (m, 2 H), 3,59-3,64 (dd, J= 14,95, 9,46 Hz, 1 H), 3,71-3,74 (m, 1 H), 4,33 (dd, J=9,61, 4,43 Hz, 1 H), 4,87-4,94 (m, 2 H), 5,63-5,72 (m, 1 H), 7,71-7,77 (m, 3 H), 8,01 (dd, J=7,48, 1,37 Hz, 1 H); EM m/z 358 (M⁺+1-Boc).

EJEMPLO 86

Preparación de éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-[7-cis-4-ciclopropanosulfonaminocarbonil-12-ciclopropil-18-hidroxi-2, 15-dioxo-3, 12, 16-triaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]carbámico (Ejemplo 86)

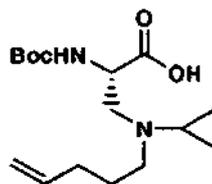


Ejemplo 86

Etapa 1: Síntesis de N-(pent-4-enil)ciclopropanamina.

Usando un embudo de adición, se añadió una solución de 5-bromopenteno (15,75 g, 106 mmol) en 50 ml de metanol durante el curso de 5 minutos a una solución de ciclopropilamina (20,6 g, 361 mmol) en 200 ml de metanol. Esta solución se dejó agitar a t.a. durante 72 horas tiempo al que se sometió a reflujo durante 1 hora. El metanol y la ciclopropilamina en exceso se retiraron por destilación. El residuo, sal bromhidrato del producto, se fraccionó entre éter y NaOH 4 N. La fase acuosa se lavó con éter (2x). Los extractos de éter combinados se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron dando 8 g (60%) de N-(pent-4-enil)ciclopropanamina como un sólido amarillo: RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 0,31-0,36 (m, 2 H) 0,40 - 0,46 (m, 2 H) 1,53 - 1,63 (m, 2 H) 1,87 (s.a., 1 H) 2,05 - 2,10 (m, 2 H) 2,10 - 2,14 (m, 1 H) 2,69 (t, J=7,32 Hz, 2 H) 4,91 - 5,07 (m, 2 H) 5,72 - 5,88 (m, 1 H).

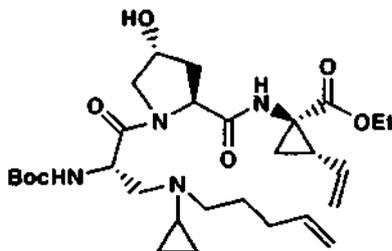
Etapa 2: Síntesis de ácido 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propanoico



Se añadió N-(pent-4-enil)ciclopropanamina (668 mg, 5,30 mmol) en 20 ml de acetonitrilo a una suspensión de N-t-butoxicarbonil-L-serina-(3-lactona) (1,0 g, 5,30 mmol) en 40 ml de acetonitrilo. La mezcla se agitó en N₂ a t.a. durante 5 días y después se concentró al vacío dando ácido 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propanoico en bruto. Este material se usó en la Etapa 3 sin purificación. CL-EM (columna de HPLC C18 10 micromolar Phenomenex (V_m^m): 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: Disolvente A al 100%/Disolvente B al 0% a

Disolvente A al 0%/Disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 3 min. Tiempo de retención: 1 min. Caudal: 4 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1%. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%. (Tiempo de retención: 2,50 min), EM *m/z* 313 (M⁺+1).

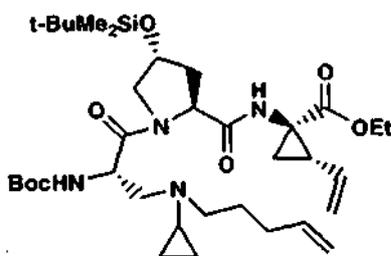
5 **Etap 3: Síntesis de 1(R)-[1-[2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propinoil]-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo.**



10 Una solución de ácido 2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propanoico (1,47 g, 4,71 mmol) en 20 ml de DCM se trató secuencialmente con clorhidrato de 1(R)-[4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo (preparado en el ejemplo 5) (1,44 g, 4,71 mmol), *N*-metilmorfolina (1,80 ml, 16,34 mmol) y HATU (2,14 g, 5,53 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. en N₂ durante 3 horas y después se concentró al vacío. El residuo se disolvió en agua y se añadió HCl 1 N hasta el pH = 5. Esta solución acuosa se extrajo con EtOAc (3x). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío dando el producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 50%/hexano al 100%) dio 1,55 g (58%) de 1(R)-[1-[2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propinoil]-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo como una espuma blanca:

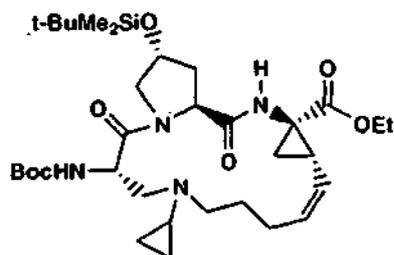
15 CL-EM (columna de HPLC S10 Phenomenex-Luna: 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: Disolvente A al 100%/Disolvente B al 0% a Disolvente A al 0%/Disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 2 min. Tiempo de retención: 1 minuto. Caudal: 4 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1 %. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 1,38 min), EM *m/z* 564 (M⁺+1).

20 **Etap 4: Síntesis de 1(R)-[1-[2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propinoil]-4(R)-(terc-butildimetilsililo)pirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-carboxamido]-vinilciclopropanocarboxilato de etilo.**



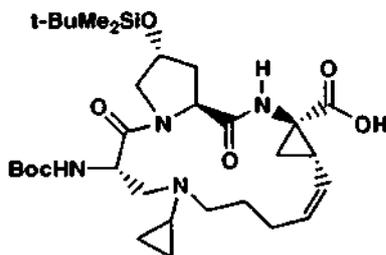
25 A una mezcla de 1(R)-[1-[2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propinoil]-4(R)-hidroxipirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo (1,55 g, 2,75 mmol) en 10 ml de DMF se añadió imidazol (0,47 g, 6,88 mmol) y cloruro de terc-butildimetilsililo (826 mg, 5,50 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante 18 horas, se concentró al vacío y se fraccionó entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío obteniendo un sólido blanquecino. La cromatografía ultrarrápida (eluyendo con cloruro de metileno y después con acetato de etilo) dio 1(R)-[1-[2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propinoil]-4(R)-(terc-butildimetilsililo)pirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo como un sólido blanco (1,75 g, al 94%): CL-EM (columna de HPLC C18 10 micromolar Phenomenex (V_m): 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: disolvente A al 100%/disolvente B al 0% a disolvente A al 0%/disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 2 min. Tiempo de retención: 1 minuto. Caudal: 5 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1 %. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 2,51 min), EM *m/z* 677 (M⁺+1).

35 **Etap 5: Síntesis de éter etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-cis-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butildimetilsililo)-2,15-dioxo-3,12-triazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico**



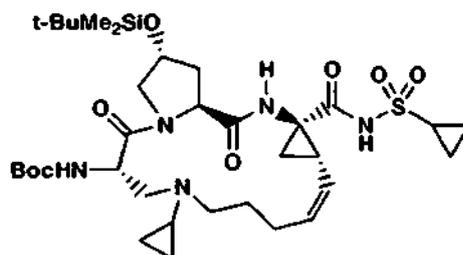
5 A una solución de 1-(R)-[1-[2(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-[N-ciclopropil-N-(pent-4-enil)amino]propanoil]-4(R)-(terc-butildimetilsililo)pirrolidina-2(S)-carboxamido]-2(S)-vinilciclopropanocarboxilato de etilo (1,45 g, 2,14 mmol) en 1 l de cloruro de metileno se añadieron 181 mg (0,21 mmol) del catalizador de segunda generación de Grubb [(1,3-bis-(2,4,6-trimetilfenil)-2-imidazolidinilideno)dicloro(fenilmetileno)(triciclohexilfosfina)rutenio]. La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora. Se añadió una segunda fracción del catalizador (50 mg, 0,058 mmol) y la mezcla se agitó a t.a. durante toda una noche. El residuo se concentró al vacío y después se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con éter al 50%/hexano dando 0,84 g (62%) de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-cis-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butildimetilsililo)-2,15-dioxo-3,12,16-triazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico, como un sólido blanco: CL-EM (columna de HPLC C18 10 micromolar Phenomenex: 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: Disolvente A al 100%/Disolvente B al 0% a Disolvente A al 0%/Disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 2 min. Tiempo de retención: 1 min. Caudal: 5 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1%. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 2,43 min), EM *m/z* 649 (M⁺+1).

15 *Etapa 6: Síntesis de ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-cis-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butildimetilsililo)-2,15-dioxo-3,12,16-triazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico.*



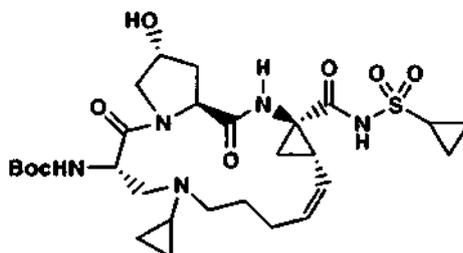
20 A una solución de éster etílico de ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-cis-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butildimetilsililo)-2,15-dioxo-3,12,16-triazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (0,84 g, 1,30 mmol) en THF (30 ml), metanol (15 ml) y agua (4 ml) se añadió hidrato de hidróxido de litio pulverizado (0,31 g, 12,90 mmol). La suspensión amarilla clara resultante se agitó a t.a. en N₂ durante toda una noche. La mezcla se concentró en el vacío, y se fraccionó entre hexano/éter (1:1) y agua. La fase orgánica se descartó y la fase acuosa se trató con HCl 1 N hasta que el pH fue 5. Esta solución ácida se extrajo con EtOAc (3x). Los extractos combinados de EtOAc se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío dando 0,495 g (61%) de ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-cis-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butildimetilsililo)-2,15-dioxo-3,12,16-triazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico como un sólido blanquecino: CL-EM (columna de HPLC C18 10 micromolar Phenomenex: 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: disolvente A al 100%/disolvente B al 0% a disolvente A al 0%/disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 2 min. Tiempo de retención: 1 minuto. Velocidad de flujo: 5 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1%. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 2,36 min), EM *m/z* 621 (M⁺+1).

30 *Etapa 7: Síntesis de éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-[7-cis-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-12-ciclopropil-18-(terc-butildimetilsililo)-2,15-dioxo-3,12,16-triaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]carbámico*



El ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-7-*cis*-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(terc-butildimetilsililoxi)-2,15-dioxo-3,12,16-triazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (490 mg, 0,79 mmol) se disolvió en 15 ml de THF y se trató con CDI (179 mg, 1,10 mmol). (Se tomó cuidado para evitar la humedad usando cristalería seca en horno y manteniendo una atmósfera de N₂ seca). Después de que se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 2 horas, se enfrió a t.a. y se trató secuencialmente con ciclopropilsulfonamida (134 mg, 1,10 mmol) y DBU (168 mg, 1,10 mmol). Después de agitar durante toda una noche a t.a., el THF se eliminó por evaporación rotatoria. El residuo se disolvió en agua y se añadió HCl 1 N hasta el pH = 5. Esta solución acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Los extractos combinados de EtOAc se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío dando el producto en bruto. Purificación por cromatografía en columna, eluyendo con metanol al 3% en cloruro de metileno, dio 300 mg (53%) de éster terc-butílico de ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-[7-*cis*-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-12-ciclopropil-18-(terc-butildimetilsililoxi)-2,15-dioxo-3,12,16-triaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nona-dec-7-en-14-il]carbámico como un sólido blanco: CL-EM (columna de HPLC C18 10 micromolar Phenomenex: 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: disolvente A al 100%/disolvente B al 0% a disolvente A al 0%/disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 2 min. Tiempo de retención: 1 minuto. Velocidad de flujo: 5 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1%. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 2,40 min), EM *m/z* 724 (M⁺+1).

Etapa 8: Síntesis de éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-[7-cis-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-12-ciclopropil-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,12,16-triaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]carbámico (Ejemplo 86).



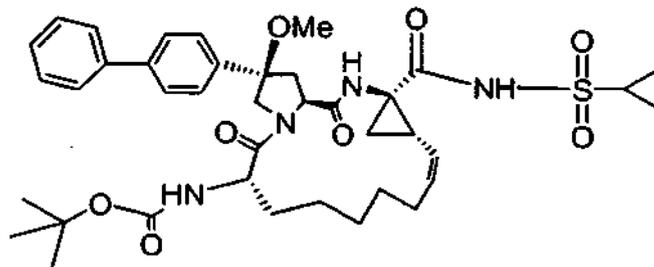
Ejemplo 86

A una mezcla de compuesto de éster terc-butílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-[7-*cis*-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-12-ciclopropil-18-(terc-butildimetilsililoxi)-2,15-dioxo-3,12,16-triaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]carbámico (250 mg, 0,35 mmol) en 15 ml de THF se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (129 mg, 0,46 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante 18 h. THF se retiró por evaporación rotatoria y el residuo se fraccionó entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío dando el producto en bruto. La purificación triturando con hexano proporcionó 200 mg (94%) de éster terc-butílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-[7-*cis*-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-12-ciclopropil-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,12,16-triaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-14-il]carbámico como un sólido blanco: CL-EM (tiempo de retención: 2,32 min), EM *m/z* 610 (M⁺+1).

(Columna de HPLC C18 10 micromolar Phenomenex: 3,0 x 50 mm de longitud. Gradiente: Disolvente A al 100%/Disolvente B al 0% a Disolvente A al 0%/Disolvente B al 100%. Tiempo de gradiente: 3 min. Tiempo de retención: 1 min. Caudal: 4 ml/min. Longitud de Onda del Detector: 220 nM. Disolvente A: MeOH al 10%/H₂O al 90%/TFA al 0,1%. Disolvente B: H₂O al 10%/MeOH al 90%/TFA al 0,1%). (Tiempo de retención: 2,32 min), EM *m/z* 610 (M⁺+1).

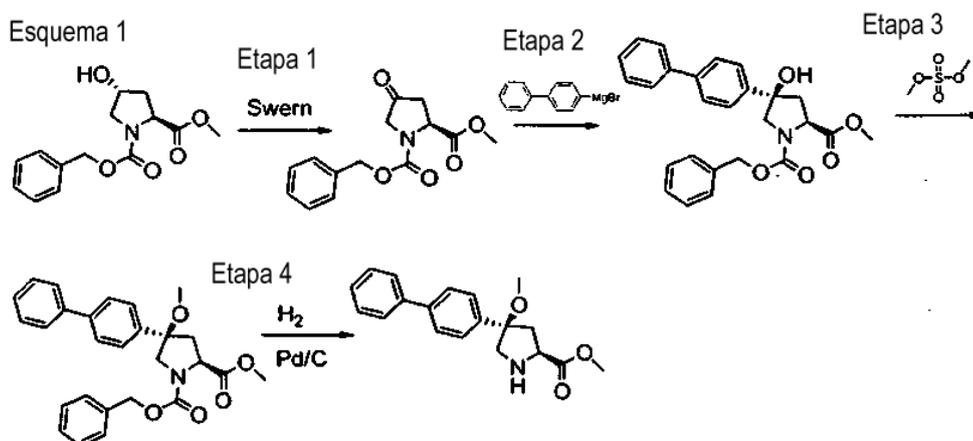
EJEMPLO 87:

Preparación de (2*R*,6*S*,13*aS*,14*aR*,16*aS*,*Z*)-2-(bifenil-4-il)-14*a*-(ciclopropilsulfonilcarbamol)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13*a*,14,14*a*,15,16,16*a*-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazaciclopentadecin-6-



Compuesto 1

ilcarbamato de terc-butilo, Compuesto 1



Etapa 1.

5 A solución de metilsulfóxido (23,90 ml, 337 mmol) en DCM (100 ml) a -78°C se añadió cloruro de oxalilo (2 M en DCM, 84 ml, 168 mmol) gota a gota. La solución formada se agitó a esta temperatura durante 30 min. Una solución de 4-hidroxipirrolidina-1,2-dicarboxilato de (2S, 4R)-1-bencil 2-metilo (21,38 g, 77 mmol) en DCM (100 ml) se añadió gota a gota a -78°C . La suspensión formada se agitó a -78°C durante 2 horas antes de adición de N,N-diisopropiletamina (66,7 ml, 383 mmol) gota a gota. La solución final se agitó a temperatura ambiente 3 h. La mezcla se lavó con HCl 1 M helado, ácido cítrico al 5% y después salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se evaporó. El aceite marrón claro residual se purificó por cromatografía en gel de sílice, se eluyó con hexano-EtOAc 4:1, 3:1, después con 2:1 proporcionando 4-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato de (S)-1-bencil-2-metilo (14,8 g, rendimiento del 70%) como aceite viscoso marrón claro.

10 RMN de ^1H (CDCl_3) δ 2,58-2,63 (m, 1 H), 2,90-2,99 (m, 1 H), 3,62, 3,77 (s, 3 H, rotámeros), 3,95-4,02 (m, 2 H), 4,82-4,89 (m, 1 H), 5,11-5,24 (m, 2 H), 7,32-7,39 (m, 5 H).

15 Etapa 2.

20 A una solución de 4-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato de (S)-1-bencil-2-metilo (14,0 g, 50,5 mmol) en tolueno (500 ml) a 0°C se añadió bromuro de bifenil-4-ilmagnesio (152 ml, 0,5 M en THF, 75,75 mmol) gota a gota. La solución amarilla clara formada se agitó a esta temperatura durante 1 hora. Se desactivó con NH_4Cl , se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó haciendo pasar a través de un lecho corto de gel de sílice, se eluyó con hexano-EtOAc 4:1, 3:1 después 2:1 y finalmente 3:2 proporcionando 11,70 g de sólido blanco, que se recristalizó a partir de EtOAc-Hexano (50 ml-150 ml) proporcionando 7,8 g de 4-(bifenil-4-il)-4-hidroxipirrolidina-1,2-dicarboxilato de (2S,4R)-1-bencil-2-metilo como pequeñas agujas. Las aguas madres se concentraron y purificaron por columna ultrarrápida, se eluyeron con hexano-EtOAc 4:1, 3:1, después 2:1 y finalmente 3:2 proporcionando 2,41 g adicionales del producto deseado.

25 RMN de ^1H (CDCl_3) δ 2,39-2,45 (m, 1 H), 2,70-2,75 (m, 1 H), 3,66, 3,86 (s, 3 H, rotámeros), 3,80-3,90 (m, 1 H), 4,00-4,07 (m, 1 H), 4,62 (dd, $J_{12} = 9,5, 28 \text{ Hz}$, 1 H), 5,09-5,15 (m, 1 H), 5,21-5,25 (m, 1 H), 7,31-7,38 (m, 6 H), 7,42-7,45 (m, 2 H), 7,54-7,59 (m, 6 H);

CL-EM (tiempo de retención: 2,77 min, procedimiento B), EM m/z 414 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}_2$)

Etapa 3.

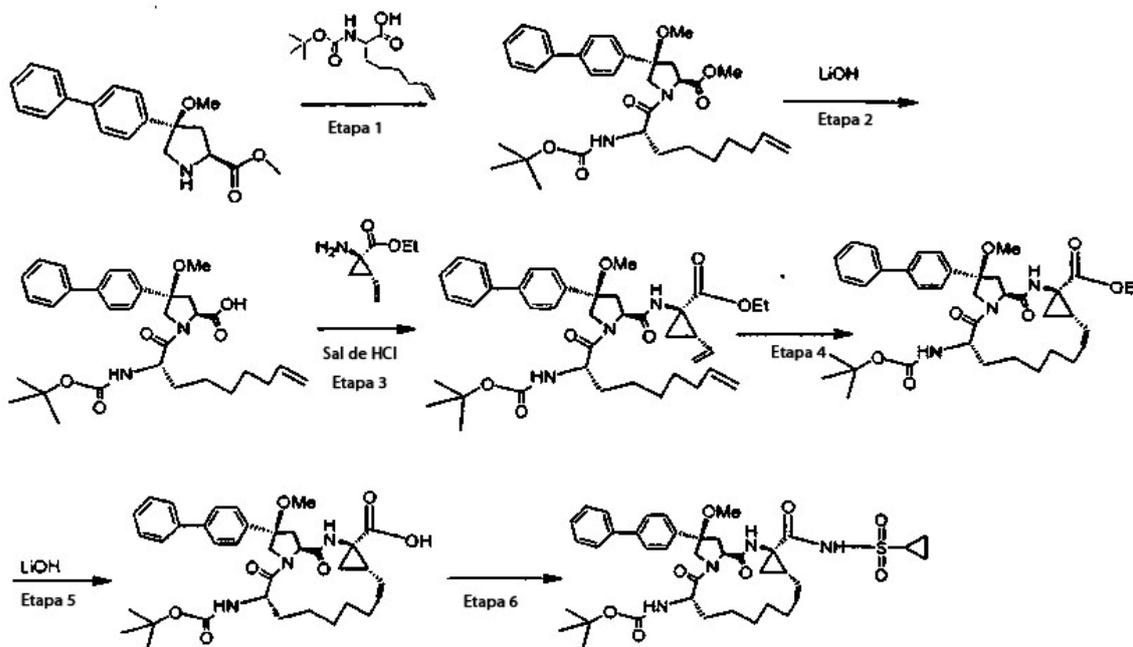
5 A una solución de 4-(bifenil-4-il)-4-hidroxipirrolidina-1,2-dicarboxilato de (2S,4R)-1-bencil-2-metilo (8,08 g, 18,73 mmol) en DMF (150 ml) a 0°C se añadió hidruro de sodio (0,520 g, 20,60 mmol). La solución marrón clara formada se agitó a esta temperatura durante 30 min. Se añadió gota a gota dimetilsulfato (1,949 ml, 20,60 mmol) a 0°C. La solución final se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se desactivó con ácido cítrico al 5%, se extrajo con EtOAc. Se lavó la parte orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice en columna ultrarrápida, se eluyó con hexano-EtOAc 4:1, 3:1, después 2:1 proporcionando 1,45 g del producto deseado, que se recrystalizó en MeOH (10 ml) proporcionando 1,20 g (rendimiento del 14,38%) como un sólido blanco. Se recuperaron también 4.50 g de material de partida durante purificación de cromatografía ultrarrápida. RMN de ¹H (CDCl₃) δ 2,51-2,56 (m, 1H), 2,85-2,89 (m, 1 H), 2,95, 2,97 (s, 3 H, rotámeros), 3,67, 3,80 (s, 3 H, rotámeros), 3,69-3,86 (m, 1H), 4,02-4,08 (m, 1 H), 4,62 (dd, J_{1,2} = 9,5, 28 Hz, 1 H), 5,09-5,17 (m, 1 H), 5,20-5,29 (m, 1H), 7,29-7,46 (m, 10 H), 7,57-7,60 (m, 4 H);

10 CL-EM (tiempo de retención: 2,92 min, procedimiento B), EM *m/z* 446 (M⁺+H), 414 (M⁺-MeOH), 370 (M⁺- MeOH - CO₂).

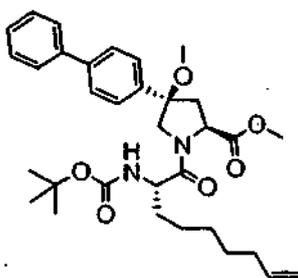
15 Etapa 4.

20 A un recipiente agitador de Parr con hielo conteniendo solución de 4-(bifenil-4-il)-4-metoxipirrolidina-1,2-dicarboxilato de (2S,4R)-1-bencil-2-metilo (1,29 g, 2,90 mmol) en MeOH (30 ml) se añadió paladio (0,308 g, 0,290 mmol) en carbono (al 10%, húmedo) El recipiente se situó en un aparato agitador de Parr en hidrógeno con presión de 172.369 pascales (25 psi) durante 5 horas. Se desactivó con celite, Se filtró, se evaporó proporcionando 0,811 g (91%) del producto deseado como un polvo blanquecino. Este material se usó para la reacción de acoplamiento siguiente sin purificación adicional; CL-EM (tiempo de retención: 1,92 min, procedimiento B), EM *m/z* 312 (M⁺+H), 280 (M⁺-MeOH).

Esquema 2.

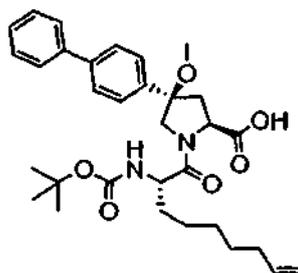


25 Etapa 1: Preparación de 4-(bifenil-4-il)-1-((S1-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo



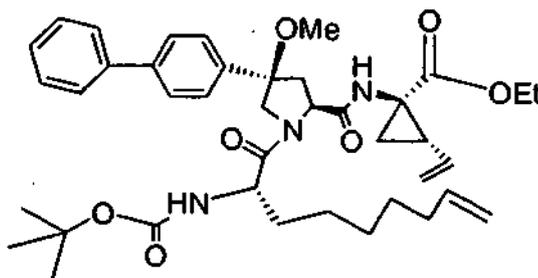
5 A una solución de 4-(bifenil-4-il)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (150 mg, 0,482 mmol), ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoico (144 mg, 0,530 mmol) y HATU (260 mg, 0,723 mmol) en DCM (5 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,252 ml, 1,445 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar a t.a. y se agitó durante 18 horas. Se diluyó después con DCM, se lavó con ácido cítrico al 5% y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por prep-HPLC proporcionando 4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (140 mg, rendimiento del 51,5%) como espuma blanca. RMN de ¹H (CD₃OD) δ 1,31-1,57 (m, 15 H), 1,62-1,65 (m, 1 H), 1,78-1,82 (m, 1 H), 2,11-2,13 (m, 2 H), 2,66-2,69 (m, 1 H), 2,84-2,89 (m, 1 H), 3,00 (s, 3 H), 3,76 (s, 3 H), 4,16 (s, 2 H), 4,30-4,35 (m, 1 H), 4,79-4,81 (m, 1 H), 4,95 (d, J = 12 Hz, 1 H), 5,03 (d, J = 18,5 Hz, 1 H), 5,83-5,87 (m, 1 H), 7,32-7,39 (m, 1 H), 7,45-7,56 (m, 4 H), 7,64-7,71 (m, 4 H); CL-EM (tiempo de retención: 3,20 min, procedimiento B), EM m/z 565 (M⁺ + H).

10 Preparación (etapa) de (2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de metilo



15 A una solución de 4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (166 mg, 0,294 mmol) en THF (2 ml) y MeOH (2 ml) se añadió una solución pre-elaborada de monohidrato de hidróxido de litio (37 mg, 0,882 mmol) en agua (2 ml). Esta solución turbia se agitó a t.a. durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se disolvió en agua y se acidificó con HCl 1 N a pH 2. Esta solución acuosa se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con ácido cítrico al 5% y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío dando 148 mg (91%) de ácido (2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxílico como un sólido blanco. No se llevó a cabo purificación adicional. CL-EM (tiempo de retención: 3,14 min, procedimiento B), EM m/z 551 (M⁺ + H).

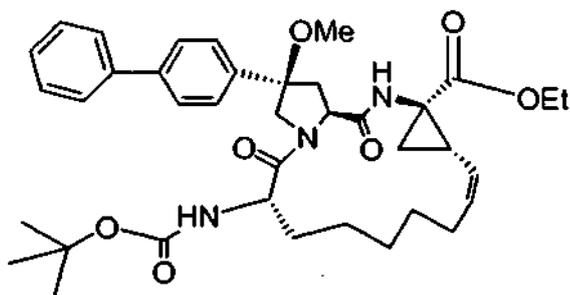
20 Etapa 3: Preparación de 1-((2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (1R,2S)-etilo



25 Una mezcla de ácido (2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxi

pirrolidina-2-carboxílico (68,2 mg, 0,124 mmol), 1-amino-2-vinilciclopropanocarboxilato de etilo, HCl (26,1 mg, 0,136 mmol), HATU (56,5 mg, 0,149 mmol) y se agitó Base de Hunig (0,076 ml, 0,433 mmol) en DCM (3 ml) a t.a. durante toda una noche. La mezcla de reacción se concentró en el vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con HCl diluido, después con NaHCO₃ acuoso saturado y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío proporcionando 120 mg del producto en bruto como un aceite amarillo. Purificación por Biotage eluyendo con EtOAc al 40%/hexano dio 67 mg (79%) de 1-((2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato de (1R,2S)-etilo como un sólido blanco. CL-EM: EM *m/z* 688 (M+1).

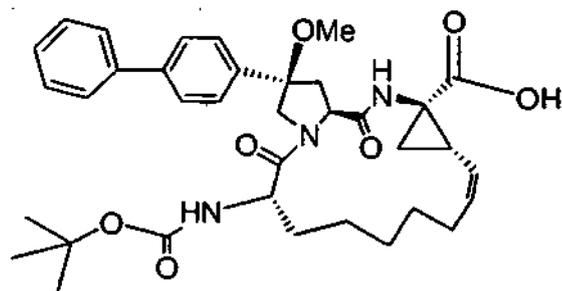
Etapa 4: Preparación de 2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-14a-carboxilato de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etilo



Una mezcla de 1-((2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)non-8-enoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato de (1R,2S)-etilo (60 mg, 0,087 mmol) y Grubbs II (14,81 mg, 0,017 mmol) en DCM (100 ml) se sometió a reflujo durante 4 h. En este momento se añadieron otros 0,2 equivalentes de Grubbs II (14,81 mg, 0,017 mmol) y la mezcla se sometió a reflujo durante otras 4 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por Biotage eluyendo con EtOAc al 40%/hexano dando 56 mg (97%) de 2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecina-14a-carboxilato de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etilo como un sólido marrón oscuro. CL-EM: EM *m/z* 628 (M+1-MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, d₄-MeOH) δ ppm 1,19-1,57 (m, 19 H), 1,75 (d, *J*=8,78 Hz, 3 H), 1,81 - 1,96 (m, 1 H), 2,15 - 2,34 (m, 3 H), 2,60 - 2,82 (m, 2 H), 3,09 (s, 3 H), 4,07 - 4,24 (m, 3 H), 4,39 - 4,54 (m, 2 H), 4,78 - 4,86 (m, 1 H), 5,25 - 5,38 (m, 1 H), 5,54 - 5,69 (m, 1 H), 7,36 (t, *J*=7,32 Hz, 1 H), 7,46 (t, *J*=7,50 Hz, 1 H), 7,58 - 7,72 (m, 6 H).

Etapa 5: Preparación de ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropanopirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-14a-carboxílico



Una mezcla de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecina-14a-carboxilato (56 mg, 0,085 mmol), monohidrato de LiOH (40,7 mg, 1,70 mmol) en tetrahydrofurano (2 ml)/agua (0,5 ml)/MeOH (1 ml) se agitó a t.a. durante 18 horas. Ello se concentró después al vacío y se lavó con éter. La fase acuosa se ajustó a pH = 4 usando HCl 1 N y se extrajo con EtOAc. El extracto de EtOAc se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío dando 52 mg (97%) de ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecina-14a-carboxílico como un sólido blanquecino.

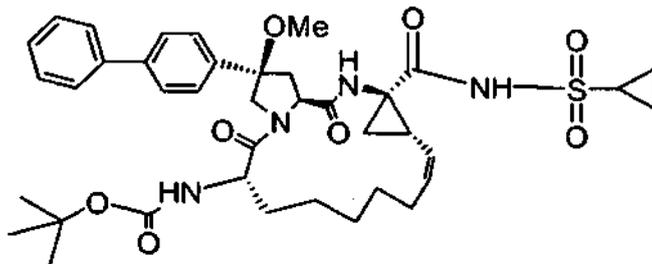
CL-EM: EM: *m/z* 654 (M⁺+1+Na).

RMN de ¹H (500 MHz, d₄-MeOH) δ ppm 1,25 - 1,64 (m, 15 H), 1,66 - 1,84 (m, 3 H), 1,88 - 2,03 (m, 1 H), 2,10 - 2,43 (m,

3H), 2,58 - 2,86 (m, 2 H), 3,09 (s, 3 H), 4,06 - 4,27 (m, 1 H), 4,33 - 4,57 (m, 2 H), 4,77 - 4,86 (m, 1 H), 5,29 - 5,45 (m, 1H), 5,52 - 5,72 (m, 1 H), 7,37 (t, $J=7,48$ Hz, 1 H), 7,47 (t, $J=7,63$ Hz, 2 H), 7,53 - 7,84 (m, 6 H).

Etapa 6: Preparación de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de terc-butilo

5



Una mezcla de ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-5,16-di-oxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecina-14a-carboxílico (50 mg, 0,079 mmol) y CDI (755 mg, 4,66 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) se calentó a reflujo durante 1 hora. Se enfrió después a t.a. y después se añadió ciclopropanosulfonamida (11,51 mg, 0,095 mmol) seguida por DBU (0,042 ml, 0,277 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 18 horas y después se concentró al vacío dando el producto en bruto como un aceite de color claro. La purificación por HPLC preparativa dio 15 mg (26%) de (2R,6S, 13aS, 14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-metoxi-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de terc-butilo como un sólido blanco. CL-EM: EM: m/z 757 ($M^+ + 1 + Na$).

10

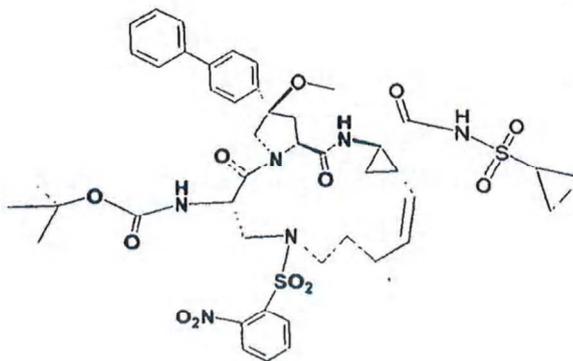
15

RMN de 1H (500 MHz, MeOD) ppm 0,86 - 0,97 (m, 1 H), 0,99 - 1,09 (m, 1 H), 1,08 - 1,74 (m, 19 H), 1,80 (dd, $J=7,78$, 5,95 Hz, 1 H), 1,87 - 2,00 (m, 1 H), 2,01 - 2,17 (m, 1 H), 2,34 - 2,44 (m, $J=8,24$ Hz, 2 H), 2,63 - 2,77 (m, 2 H), 2,90 - 3,01 (m, 1 H), 3,14 (s, 3 H), 4,05 (d, $J=10,38$ Hz, 1 H), 4,35 (t, $J=7,32$ Hz, 1 H), 4,40 - 4,51 (m, 1 H), 4,76 (d, $J=9,77$ Hz, 1 H), 5,14 (t, $J=9,46$ Hz, 1 H), 5,61 - 5,77 (m, 1 H), 7,37 (t, $J=7,32$ Hz, 1 H), 7,46 (t, $J=7,63$ Hz, 2 H), 7,55 - 7,66 (m, 6 H).

20

Ejemplo 88: Preparación de Compuesto 2

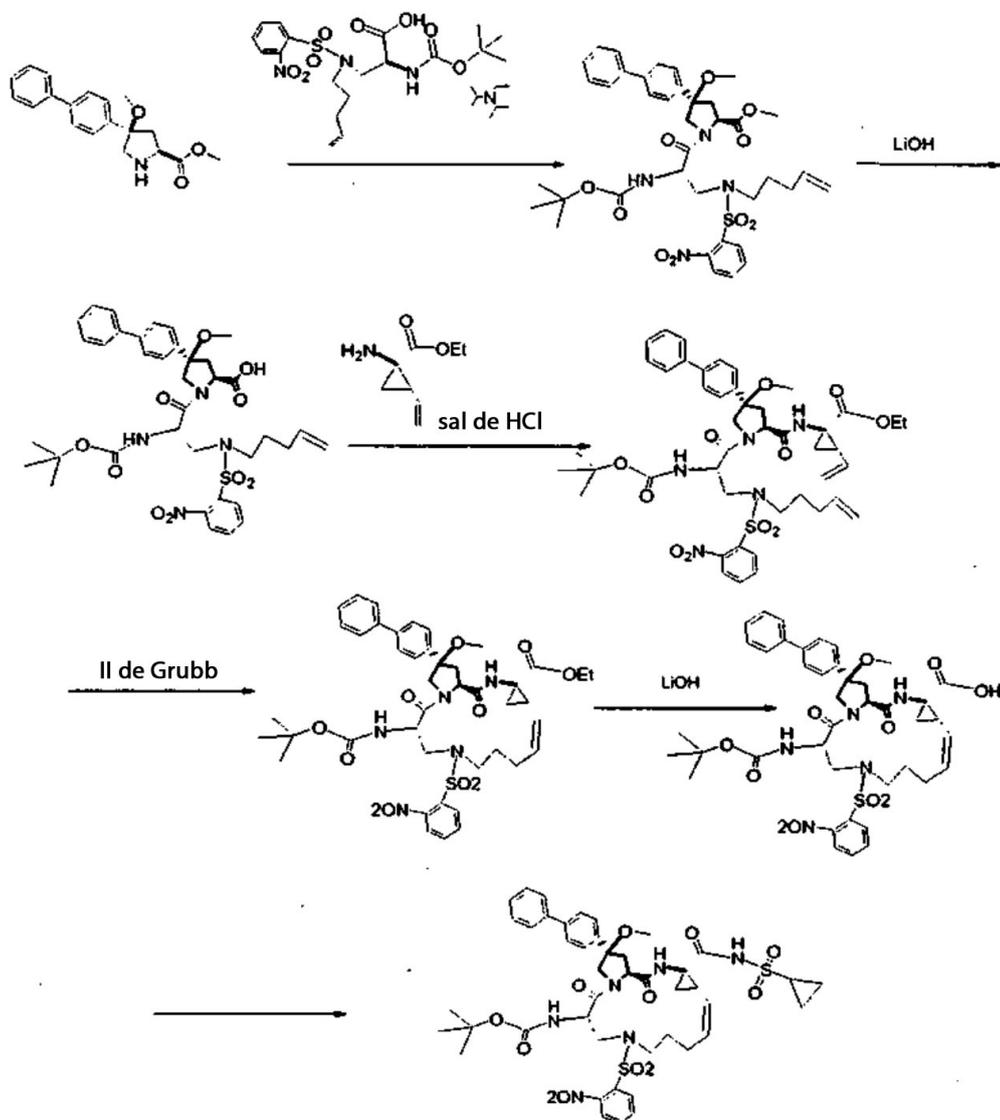
Preparación de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4]diazaciclopentadecin-6-ilcarbamato de terc-butilo, Compuesto 2.



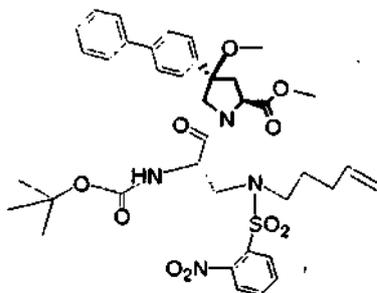
25

Compuesto 2.

Esquema 3.



Etapa 1: Preparación de 4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo



5

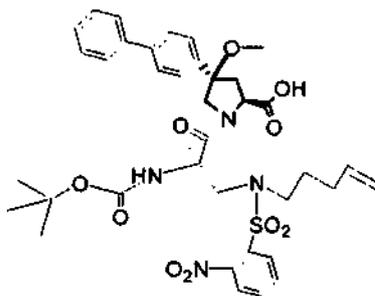
Una mezcla de 4-(bifenil-4-il)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (100 mg, 0,287 mmol), ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoico (145 mg, 0,316 mmol), base de Hunig (0,176 ml, 1,01 mmol) y HATU (131 mg, 0,345 mmol) en DCM (3 ml) se agitó a t.a. durante 18 horas. Ello se concentró después al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con HCl diluido, seguido por NaHCO₃ saturado acuoso y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío proporcionando 250 mg del

10

producto en bruto como un aceite marrón. La purificación por Biotage eluyendo con EtOAc al 60%/hexano dio 188 mg (87%) de 4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo como una espuma blanquecina. CL-EM: EM m/z 751 (M+1).

5 RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) δ ppm 1,28 - 1,52 (m, 9 H), 1,51 - 1,74 (m, 2 H), 1,90 - 2,07 (m, 2 H), 2,58 - 2,71 (m, 1 H), 2,78 - 2,91 (m, 1 H), 2,95, 3,01 (s, 3 H, rotámeros), 3,39 - 3,54 (m, 2 H), 3,56-3,68 (m, 2 H), 3,77 - 3,80 (m, 4 H), 4,00 - 4,17 (m, 1 H), 4,34 (d, $J=11,29$ Hz, 1 H), 4,74 - 4,81 (m, 1 H), 4,91 - 5,06 (m, 2 H), 5,66 - 5,85 (m, 1 H), 7,37 (t, $J=7,32$ Hz, 1 H), 7,44 - 7,54 (m, 4 H), 7,61 - 7,73 (m, 4 H), 7,75 - 7,90 (m, 3 H), 8,06 - 8,17 (m, 1 H).

Etapa 2: Preparación de ácido (2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxílico



10

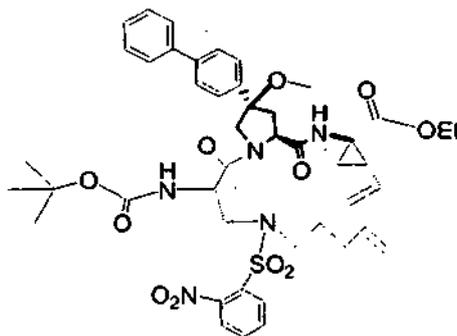
Una mezcla de 4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (185 mg, 0,246 mmol) y monohidrato de LiOH (118 mg, 4,93 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml)/MeOH (0,5 ml)/Agua (1 ml) se agitó a t.a. durante 18 horas. La mezcla de reacción se concentró después al vacío y se diluyó con 5 ml de agua, y se lavó después con éter. La fase acuosa se ajustó a pH = 4 usando HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró al vacío proporcionando 160 mg (87%) de ácido (2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenil)sulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxílico como un sólido blanco. CL-EM: EM m/z 737 (M+1).

15

20

RMN de ^1H (500 MHz, d_4 -MeOH) δ ppm 1,29 - 1,73 (m, 11 H), 1,90 - 2,12 (m, 2 H), 2,67 (dd, $J=13,12, 9,46$ Hz, 1 H), 2,88 (d, $J=13,43$ Hz, 1 H), 3,04 (s, 3 H), 3,40 - 3,55 (m, 2H), 3,56 - 3,71 (m, 2 H), 3,80 (dd, $J=15,41, 3,81$ Hz, 1 H), 4,06 (d, $J=10,99$ Hz, 1 H), 4,26 - 4,38 (m, 1 H), 4,70 - 4,81 (m, 1 H), 4,95 - 5,06 (m, 2 H), 5,59 - 5,90 (m, 1 H), 7,37 (t, $J=7,48$ Hz, 1 H), 7,42 - 7,58 (m, 4 H), 7,62 - 7,75 (m, 4 H), 7,76 - 7,92 (m, 3 H), 8,01 - 8,21 (m, 1 H).

Etapa 3: Preparación de 1-((2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato de (1R,2S)-etilo



25

30

Una mezcla de ácido (2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenil)sulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxílico (160 mg, 0,217 mmol), 1-amino-2-vinilciclopropanocarboxilato de etilo, sal de HCl (49,9 mg, 0,261 mmol), HATU (99 mg, 0,261 mmol) y Base de Hunig (0,133 ml, 0,760 mmol) en DCM (3 ml) se agitó a t.a. durante 18 horas. Ello se concentró después al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con HCl diluido, después con NaHCO_3 acuoso saturado y agua. La fase orgánica se secó después sobre MgSO_4 , se filtró, se concentró al vacío proporcionando 180 mg del producto en bruto como un aceite amarillo. La purificación por Biotage eluyendo con EtOAc al 40%/hexano dio 100 mg (53%) de 1-((2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamido)propanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato de (1R,2S)-etilo como un sólido blanco. CL-EM: EM m/z 874 (M+1).

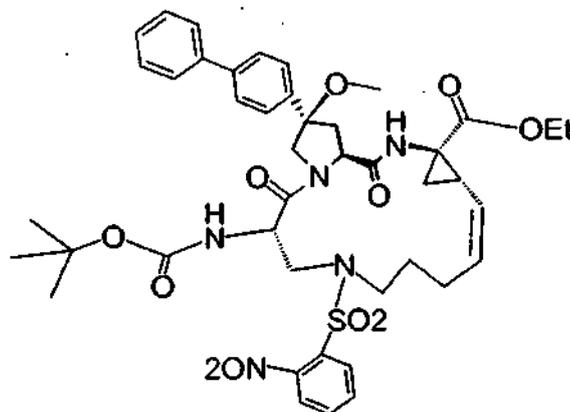
35

RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,14 (t, $J=7,14$ Hz, 3 H), 1,18 - 1,42 (m, 12 H), 1,60 - 1,69 (m, 2 H), 1,83 - 1,96 (m, 2 H), 2,11 (c, $J=8,17$ Hz, 1 H), 2,51 - 2,61 (m, 2 H), 2,96 (s, 3 H), 3,33 - 3,41 (m, 2 H), 3,43 - 3,65 (m, $J=9,51$ Hz, 2 H), 3,81 - 3,91 (m, 1 H), 3,98 - 4,10 (m, $J=6,83, 6,83, 6,83$ Hz, 3 H), 4,58 - 4,72 (m, $J=9,33, 4,21$ Hz, 1 H), 4,86 -

5,01 (m, 2 H), 5,09 (d, $J=13,17$ Hz, 1 H), 5,22 (d, $J=17,20$ Hz, 1 H), 5,50 - 5,81 (m, 2 H), 7,07 (d, $J=9,15$ Hz, 1 H), 7,34 - 7,41 (m, 1 H), 7,47 (t, $J=7,32$ Hz, 4 H), 7,61 - 7,74 (m, 4 H), 7,77 - 7,93 (m, 2 H), 7,94 - 8,08 (m, 2 H), 8,43 (s, 1 H).

Etapa 4: Preparación de 2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonyl)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-14a-carboxilato de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etilo

5



Una mezcla de 1-((2S,4R)-4-(bifenil-4-il)-1-((S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(2-nitro-N-(pent-4-enil)fenilsulfonamidopropanoil)-4-metoxipirrolidina-2-carboxamido)-2-vinilciclopropanocarboxilato de (1R,2S)-etilo (95 mg, 0,109 mmol) y Grubbs II (18,46 mg, 0,022 mmol) en DCM (200 ml) se sometió a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró después al vacío. El residuo se purificó por Biotage eluyendo con EtOAc al 60%/hexano aislando 65 mg (71%) de 2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonyl)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-14a-carboxilato de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etilo como un sólido blanquecino.

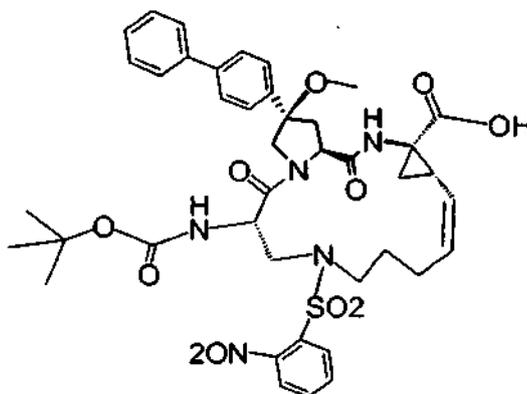
10

CL-EM: EM m/z 868 ($M^+ + 1 + Na$).

RMN de 1H (500 MHz, d_4 -MeOH) ppm 1,37 - 1,53 (m, 13 H), 1,57 - 1,71 (m, 1 H), 1,74 (dd, $J=9,77, 5,19$ Hz, 1 H), 1,76 1,87 (m, 1 H), 1,98 - 2,05 (m, 1 H), 2,09-2,22 (m, $J=10,99$ Hz, 1 H), 2,38 (c, $J=9,46$ Hz, 1 H), 2,53 - 2,73 (m, 2 H), 3,07 3,14 (m, 3 H), 3,35 - 3,46 (m, 2 H), 3,50 - 3,59 (m, 1 H), 3,62 - 3,74 (m, 1 H), 3,99 (d, $J= 10,99$ Hz, 1 H), 4,14 - 4,21 (m, 2 H), 4,26 (t, $J=7,63$ Hz, 1 H), 4,46 (d, $J= 10,38$ Hz, 1 H), 4,82 - 4,86 (m, 1 H), 5,59 (t, $J=10,38$ Hz, 1 H), 5,63 - 5,72 (m, 1 H), 7,37 (t, $J=7,32$ Hz, 1 H), 7,47 (t, $J=7,63$ Hz, 2 H), 7,53 - 7,58 (m, 2 H), 7,59 - 7,72 (m, 4 H), 7,78 - 7,92 (m, 3 H), 8,08 - 8,10 (m, 1 H).

20

Etapa 5: Preparación de ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonyl)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-14a-carboxílico



25

Una mezcla de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-etil-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonyl)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-14a-carboxilato (60 mg, 0,071 mmol) y monohidrato de LiOH (34,0 mg, 1,419 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml)/agua (0,5 ml)/MeOH (1 ml) se agitó a t.a. durante 18 horas. Ello se concentró al vacío y se fraccionó entre agua y éter. La fase acuosa se ajustó a pH = 4 usando HCl 1 N y se extrajo con EtOAc. La fase

orgánica se secó después sobre MSO_4 , se filtró y se concentró aislando 52 mg del producto en bruto como un sólido blanquecino. Preparación de ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-14a-carboxílico como un sólido blanco. CL-EM: EM *m/z* 818 (M+1+Na). RMN de ^1H (500 MHz, d_4 -MeOH) ppm 1,29 - 1,71 (m, 11 H), 1,72 - 1,96 (m, 2 H), 2,09 - 2,27 (m, 2 H), 2,30 - 2,46 (m, 1 H), 2,80 - 2,90 (m, 1 H), 3,03 (s, 3 H), 3,06 - 3,13 (m, 1 H), 3,45 - 3,62 (m, 2 H), 3,72 (dd, $J=14,95$, 3,66 Hz, 1 H), 3,78 (d, $J=12,21$ Hz, 1 H), 4,04 (d, $J=12,51$ Hz, 1 H), 4,08 - 4,18 (m, 1 H), 4,53 (dd, $J=11,44$, 3,51 Hz, 1 H), 4,98 - 5,03 (m, 1 H), 5,60 - 5,80 (m, 2 H), 7,37 (t, $J=7,32$ Hz, 1 H), 7,43 - 7,58 (m, 4 H), 7,62 - 7,73 (m, 4 H), 7,76 - 7,90 (m, 3 H), 8,07 - 8,16 (m, 1 H).

10 Etapa 6: Preparación de Compuesto 2: (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]diazaciclopentadecina-6-ilcarbamoato de terc-butilo

15 Una mezcla de ácido (2R,6S,13aS,14aR,16aS, Z)-2-(bifenil-4-il)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-2-metoxi-8-(2-nitro-fenilsulfonil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-14a-carboxílico (13 mg, 0,016 mmol) y CDI (3,61 mg, 0,022 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) se sometió a reflujo durante 1 h. Se enfrió después a t.a. y se añadió ciclopropanosulfonamida (2,70 mg, 0,022 mmol) seguida por DBU (8,39 μl , 0,056 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. a 18 horas y después se concentró al vacío proporcionando un aceite amarillo claro. A este aceite se añadieron 5 ml de agua, ajustando a pH = 4 usando HCl 1 N. El precipitado blanco se recogió por filtración y se lavó con agua dando 15 mg del producto en bruto como un sólido blanco. La purificación por cromatografía ultrarrápida eluyendo con MeOH al 2%/CH₂Cl₂ dio 8 mg de (2R,6S,13aS,14aR,16aS,Z)-2-(bifenil-4-il)-14a-(ciclopropilsulfonilcarbamoil)-2-metoxi-8-(2-nitrofenilsulfonil)-5,16-dioxo-1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,13a,14,14a,15,16,16a-hexadecahidrociclopropa[n]pirrolo[2,1-c][1,4,8]triazaciclopentadecina-6-ilcarbamoato de terc-butilo como un sólido blanco. CL-EM: EM *m/z* 889 (M+1-MeOH). (Este producto estaba contaminado con una parte igual del subproducto de éster metílico de P1).

25 Estudios biológicos

En la presente divulgación se usaron los ensayos de la enzima del complejo proteasa NS3/4A del VHC y los ensayos del replicón del VHC basados en células, y se prepararon, condujeron y validaron como sigue:

Generación de complejo proteasa NS3/4A del VHC recombinante

30 Los complejos de proteasa NS3 del VHC, derivados a partir de cepas BMS, cepas H77 o cepas J4L6S, se generaron como se describe a continuación. Estas proteínas recombinantes purificadas se generaron para su uso en un ensayo homogéneo (véase más adelante) para proporcionar una indicación de la eficacia de los compuestos de la presente divulgación en la inhibición de la actividad proteolítica de NS3 del VHC.

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

45 Las cepas H77 y J4L6S se usaron para la producción de complejos de proteasa NS3/4A recombinante. El ADN que codifica el complejo de proteasa NS3/4A del VHC recombinante (aminoácidos 1027 hasta 1711) para estas cepas se manipuló como se describe por P. Gallinari y col. (véase Gallinari P, Paolini C, Brennan D, Nardi C, Steinkuhler C, De Francesco R. Biochemistry. 38(17):5620-32, (1999)). De manera sucinta, se añadió una cola solubilizante de tres lisinas al extremo 3' de la región codificante de NS4A. La cisteína de la posición P1 del sitio de escisión de NS4A-NS4B (aminoácido 1711) se cambió por una glicina para evitar la escisión proteolítica de la marca de lisina. Además, se introdujo una mutación de cisteína a serina por PCR en la posición del aminoácido 1454 para prevenir la escisión autolítica en el dominio de la helicasa NS3. El fragmento de ADN variante se clonó en el vector de expresión bacteriano pET21b (Novagen) y el complejo NS3/4A se expresó en la cepa BL21 (DE3) de Escherichia coli (Invitrogen) siguiendo el protocolo descrito por P. Gallinari y col. (véase Gallinari P, Brennan D, Nardi C, Brunetti M, Tomei L, Steinkuhler C, De Francesco R., J Virol. 72(8):6758-69 (1998)) con modificaciones. De modo breve, se indujo la expresión del complejo de proteasa NS3/4A con isopropil β -D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) 0,5 milimolar (mM) durante 22 horas (h) a 20°C. Una fermentación típica (1 litro (l)) produjo aproximadamente 10 gramos (g) de pasta celular húmeda. Las células se resuspendieron en tampón de lisis (10 ml/g) consistente en ácido N-(2-Hidroxietil)Piperazina-N'-(2-Etano Sulfónico) (HEPES) 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20%, Cloruro Sódico 500 mM

(NaCl), Triton X-100 al 0,5%, 1 microgramo/ml ($\mu\text{g/ml}$) de lisozima, Cloruro de Magnesio 5 mM (MgCl_2), 1 $\mu\text{g/ml}$ de DnaseI, p-mercaptoetanol 5 mM (βME), Inhibidor de proteasa-Ácido etilendiamina tetraacético (EDTA) libre (Roche), homogeneizado e incubado durante 20 minutos (min) a 4°C. El homogeneizado se sometió a ultrasonidos y se aclaró por ultrafiltración a 235000 g durante 1 hora (h) a 4°C. Se añadió imidazol al sobrenadante hasta una concentración final de 15 mM y se ajustó el pH a 8,0. El extracto de proteína bruto se cargó en una columna de níquel-ácido nitroloacético (Ni-NTA) preequilibrada con tampón B (HEPES 25 mM, pH 8,0, glicerol al 20%, NaCl 500 mM, Triton X-100 al 0,5%, imidazol 15 mM, βME 5 mM). La muestra se cargó con un caudal de 1 ml/min. La columna se lavó con 15 volúmenes de columna de tampón C (similar al tampón B, pero con Triton X-100 al 0,2%). La proteína se eluyó con 5 volúmenes de columna de tampón D (similar al tampón C, pero con imidazol 200mM).

Las fracciones que contienen complejo de proteasa NS3/4A se agruparon y cargaron en una columna de desalación Superdex-S200 preequilibrada con tampón D (HEPES 25mM, pH 7,5, glicerol al 20%, NaCl 300 mM, Triton X-100 al 0,2%, βME 10 mM). La muestra se cargo con un caudal de 1 ml/min. Las fracciones que contenían complejo de proteasa NS3/4A se agruparon y se concentraron a aproximadamente 0,5 mg/ml. Se determinó que la pureza de los complejos de proteasa NS3/4A, derivados de las cepas BMS, H77 y J4L6S, era superior a un 90% mediante análisis SDS-PAGE y de espectroscopía de masas. La enzima se almacenó a -80°C, se descongeló en hielo y se diluyó antes de usar en el tampón de ensayo.

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

El fin de este ensayo *in vitro* era medir la inhibición de complejos de proteasa NS3 del VHC, derivados de cepas BMS, H77 o J4L6S, tal como se describe a continuación, por compuestos de la presente divulgación. Este ensayo proporciona una indicación de la eficacia de los compuestos de la presente divulgación en la inhibición de la actividad proteolítica de NS3 del VHC.

Para controlar la actividad de la proteasa NS3/4A del VHC, se usó un sustrato peptídico de NS3/4A. El sustrato era RET S1 (Sustrato Depsipéptido de Transferencia de Energía Resonante; AnaSpec, Inc. n° cat 22.991) (péptido FRET), descrito por Taliani et al. en Anal. Biochem. 240(2):60-67 (1996). La secuencia de este péptido se basa de modo aproximado en el sitio de escisión natural de NS4A/NS4B para la proteasa NS3 del VHC, con la excepción de que existe un enlace estérico en vez de una unión amídica en el sitio de escisión. El péptido contiene también un donador de fluorescencia, EDANS, cerca de un extremo del péptido, y un aceptor de fluorescencia, DABCIL0, cerca del otro extremo. La fluorescencia del péptido se inactiva mediante transferencia de energía de resonancia (RET) intermolecular entre el donador y el aceptor, pero como la proteasa NS3 escinde el péptido, los productos se liberan de la inactivación RET y la fluorescencia del donador se vuelve aparente.

El sustrato peptídico se incubaba con uno a tres complejos de proteasa NS3/4A recombinantes, en ausencia o presencia de un compuesto de la presente divulgación. Los efectos inhibidores de un compuesto se determinan mediante seguimiento de la formación de productos de reacción fluorescentes en tiempo real usando un Cytofluor Series 4000.

Las reactivos fueron los siguientes: HEPES y glicerol (Ultrapure) se obtuvieron de GIBCO-BRL. Se obtuvo dimetil sulfóxido (DMSO) de Sigma. Se obtuvo p-mercaptoetanol de Bio Rad.

Tampón de ensayo: HEPES 50 mM, pH 7,5; NaCl 0,15 M; Tritol al 0,1%; Glicerol al 15%; βME 10 mM. Sustrato: 2 μM de concentración final (a partir de una solución madre 2 mM en DMSO almacenado a -20°C). Tipo 1a (1b) de proteasa NS3/4A del VHC, 2-3 nM de concentración final (a partir de una solución madre 5 μM en HEPES 25 mM, pH 7,5, glicerol al 20%, NaCl 300 mM, Triton-X100 al 0,2%, βME 10 mM). Para compuestos con potencias que se acercan al límite del ensayo, el ensayo se vuelve más sensible añadiendo seroalbúmina bovina 50 $\mu\text{g/ml}$ (Sigma) al tampón de ensayo y reduciendo la concentración final de proteasa hasta 300 pM.

El ensayo se realizó en una placa negra de poliestireno de 96 pocillos de Falcon. Cada pocillo contenía 25 μl de complejo de proteasa NS3/4A en tampón de ensayo, 50 μl de un compuesto de la presente divulgación en DMSO al 10%/tampón de ensayo y 25 μl de sustrato en tampón de ensayo. Se preparó también un control (sin compuesto) en la misma placa de ensayo. El complejo de enzima se mezcló con soluciones de compuesto o control durante 1 min antes de iniciar la reacción enzimática mediante la adición de sustrato. La placa de ensayo se leyó inmediatamente usando el Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). El instrumento se calibró para leer a una emisión de 340 nm y excitación de 490 nm a 25°C. Las reacciones se siguieron en general durante aproximadamente 15 minutos.

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

$$100 - [(\delta F_{\text{Inh}}/\delta F_{\text{Con}}) \times 100]$$

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

Ensayos de especificidad

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

5 Las especificidades de compuestos de la presente divulgación se determinaron frente a una variedad de proteasas serinas: elastasa neutrófila humana (HNE), elastasa pancreática porcina (PPE) y quimiotripsina pancreática humana y una proteasa cisteína: catepsina B hepática humana. En todos los casos se usó un protocolo de formato de placa de 96 pocillos usando un sustrato de amino-metil-coumarina (AMC) específico para cada enzima tal como se describe previamente (PCT Solicitud de Patente N° WO 00/09543) con algunas modificaciones a los ensayos de proteasa serina. Todas las enzimas se adquirieron de Sigma, EMDbiosciences, mientras que los sustratos lo fueron de Bachem, Sigma y EMDbiosciences.

10 Las concentraciones de compuesto variaron de 100 a 0,4 μM dependiendo de su potencia. Cada uno de los ensayos enzimáticos se inició mediante la adición de sustrato al inhibidor preincubado durante 10 min a temperatura ambiente e hidrólisis hasta un 15% de conversión como medida del citofluor.

15 Las condiciones finales para cada ensayo se realizaron como sigue:

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

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

20 NaOAc (acetato de sodio) 100 mM, pH 5,5, DMSO al 3%, TCEP (clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina) 1 mM, catepsina B 5 nM (solución madre de enzimas activada en tampón que contiene TCEP 20 mM antes de su uso), y Z-FR-AMC 2 μM diluido en H_2O .

El porcentaje de inhibición se calculó usando la fórmula:

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

25 Se aplicó un ajuste de curva no lineal a los datos de inhibición-concentración, y se calculó la concentración eficaz al 50% (CI_{50}) usando el programa Excel XLfit.

Generación del replicón del VHC

30 Un sistema de células completo del replicón del VHC se estableció tal como se describe por Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R., Science 285(5424): 110-3 (1999). Este sistema nos permitió evaluar los efectos de nuestros compuestos de proteasa del VHC sobre la replicación del ARN del VHC. De modo breve, usando la secuencia de la cepa 1b del VHC que se describe en el artículo de Lohmann (Número de adjudicación:AJ238799), se sintetizó un ADNc del VHC por Operon Technologies, Inc. (Alameda, CA, EEUU), y se ensambló después el replicón de longitud completa en el plásmido pGem9zf(+) (Promega, Madison, WI) usando técnicas estándar de biología molecular. El replicón consta de (i) la 5' UTR del VHC condensada a los 12 primeros aminoácidos de la proteína de la cápsida, (ii) el gen neomicin fosfotransferasa (neo), (iii) el IRES del virus de la encefalomiocarditis (EMCV), y (iv) genes NS3 a NS5B del VHC y la 3' UTR del VHC. Los ADN plásmidos se linealizaron con Scal y los transcritos de ARN se sintetizaron *in vitro* usando el kit de transcripción T7 MegaScript (Ambion, Austin, TX, EEUU) de acuerdo con las directrices del fabricante. La transcripción *in vitro* del ADNc se transfectó en una línea celular de hepatoma humano, HUH-7. La selección para células que expresan constitutivamente el replicón del VHC se logró en presencia de un marcador seleccionable (G418). Las líneas celulares resultantes se caracterizaron por la producción de ARN de cadena positiva y negativa y producción de proteína con el paso del tiempo.

Ensayo FRET del replicón del VHC

45 El ensayo FRET del replicón del VHC se desarrolló para comprobar los efectos inhibitorios de compuestos descritos en la presente divulgación sobre la replicación vírica del VHC. Las células HUH-7, que expresan constitutivamente el replicón del VHC, se cultivaron en Medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) (Gibco-BRL) que contiene suero de ternero fetal al 10% (FCS) (Sigma) y 1 mg/ml de G418 (Gibco-BRL). Las células se sembraron la noche anterior ($1,5 \times 10^4$ células/pocillo) en placas estériles de cultivo de tejidos de 96 pocillos. Los controles con compuesto y sin compuesto se prepararon en DMEM que contenía FCS al 4%, 1:100 penicilina/estreptomicina (Gibco-BRL), 1:100 L-glutamina y DMSO al 5% en la placa de dilución (DMSO al 0,5% de concentración final del ensayo). Se añadieron mezclas de compuesto/DMSO a las células y se incubaron durante 4 días a 37°C. Después de 4 días, las células se evaluaron por citotoxicidad usando Alamar azul (Trek Diagnostc Systems) para una lectura de CC_{50} . La toxicidad del compuesto (CC_{50}) se determinó añadiendo $1/10^{\circ}$ de volumen de Alamar azul al medio de incubación de las células. Después de 4 h, se leyó la señal de fluorescencia de cada pocillo,

con una longitud de onda de excitación de 530 nm y una longitud de onda de emisión de 580 nm, usando el Cytofluor Series 4000 (Perspective Biosystems). Las placas se lavaron después a conciencia con solución salina de tamponada con fosfato (PBS) (3 veces 150 μ l). Las células se lisaron con 25 μ l de un reactivo de ensayo de lisis que contenía sustrato de proteasa del VHC (5X reactivo de lisis de cultivo de células de luciferasa celular (Promega N.º E153A) diluido a 1X con agua destilada, se añadió NaCl a una concentración 150 mM final, el sustrato peptídico FRET (tal como se ha descrito para el ensayo enzimático anterior) diluido a una concentración final de 10 μ M a partir de una solución madre 2 mM en DMSO al 100%. La placa se situó en el instrumento Cytofluor 4000, ajustado a 340 nm de excitación/490 nm de emisión, a modo automático para 21 ciclos y la placa se leyó en modo cinético. Las determinaciones de CE_{50} se llevaron a cabo como se ha descrito para las determinaciones de IC_{50} .

Ensayo del indicador de luciferasa del replicón del VHC

Como un ensayo secundario, las determinaciones de CE_{50} a partir del ensayo FRET del replicón se confirmaron en un ensayo del indicador de luciferasa del replicón. La utilización de un ensayo del indicador del replicón de luciferasa se describió primero por Krieger et al (Krieger N, Lohmann V y Bartenschlager R, J. Virol. 75(10):4614-4624 (2001)). La construcción del replicón descrita por nuestro ensayo FRET se modificó insertando ADNc que codifica una forma humanizada del gen de la luciferasa de Renilla y una secuencia de unión condensada directamente al extremo 3' del gen de la luciferasa. Este inserto se introdujo en la construcción del replicón usando un sitio de restricción Asc1 localizado en el centro, directamente cadena arriba del gen marcador de neomicina. Se introdujo también la mutación adaptativa en la posición 1179 (serina a isoleucina) (Blight KJ, Kolykhalov, AA, Rice, CM, *Science* 290(5498):1972-1974). Una línea celular estable que expresa constitutivamente esta construcción de replicón del VHC se generó tal como se ha descrito anteriormente. El ensayo del indicador de luciferasa se ajustó como se describe para el ensayo FRET del replicón del VHC con las siguientes modificaciones. Después de 4 días en un incubador con CO_2 a 37°C/5%, se analizaron las células para determinar la actividad de Renilla Luciferase usando el Sistema de Ensayo de Luciferasa Promega Dual-Glo. Los medios (100 μ l) se retiraron de cada pocillo que contenía células. A los 50 μ l restantes de medios, se añadieron, 50 μ l de reactivo de luciferasa Dual-Glo y las placas se sacudieron durante 10 minutos a 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió reactivo Dual-Glo Stop & Glo (50 μ l) a cada pocillo y las placas se agitaron suavemente durante un tiempo adicional de 10 min a 2h a temperatura ambiente. Las placas se leyeron en un Packard TopCount NXT usando un programa de luminiscencia.

El porcentaje de inhibición se calculó usando la fórmula:

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

Se hizo un gráfico con los valores y se analizaron usando XLfit obteniendo valores de CE_{50} .

Obsérvese que usando el número de ejemplo de la patente y el número de compuesto de la patente mostrado en la Tabla 2 se pueden encontrar aquí las estructuras de los compuestos.

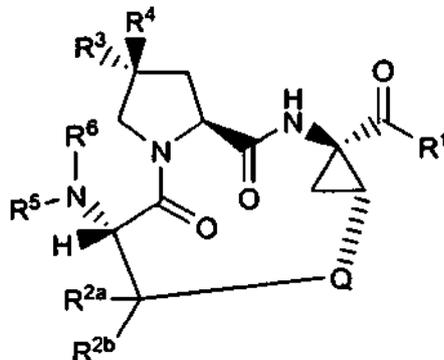
Tabla 2

Número de compuesto	Intervalo CI50	CE50 (nM)
1	2	5

Será evidente para un experto en la técnica que la presente divulgación no se limita a los anteriores ejemplos ilustrativos, y que puede realizarse en otras formas específicas sin separarse de sus atributos esenciales. Por lo tanto se desea que los ejemplos sean considerados en todos los aspectos como ilustrativos y como no restrictivos, haciendo referencia a las reivindicaciones anexas, en lugar de a los ejemplos anteriores, y por lo tanto se pretende que todos los cambios que entren dentro del significado y del alcance de equivalencia de las reivindicaciones estén incluidos en ellas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I),

o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la que

R^1 se selecciona de alcoxi, hidroxí y $-NHSO_2R^7$;

- 5 R^{2a} y R^{2b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;

R^3 se selecciona de alqueno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo; R^4 es $-OR^8$;

R^5 se selecciona de hidrógeno, alquilo y cicloalquilo;

- 10 R^6 se selecciona de hidrógeno, alquilo, alcocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, aminocarbonilo, ariloxicarbonilo, cicloalquiloxicarbonilo, dialquilaminocarbonilo, haloalcoxicarbonilo, haloalquilo, haloalquilcarbonilo, heterocicliloxicarbonilo y (NR^aR^b) sulfonilo;

- 15 R^7 se selecciona de alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, heterociclilo, heterociclilcarbonilo y $-NR^aR^b$; estando el cicloalquilo y la parte cicloalquilo del (cicloalquil)alquilo opcionalmente sustituidos con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alqueno, alcoxi, alcóxialquilo, alquilo, arilalquilo, arilcarbonilo, ciano, cicloalqueno, (cicloalquil)alquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo y (NR^eR^f) carbonilo; y en la que R^a y R^b se seleccionan independientemente de hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo; y en la que R^e y R^f se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo y heterociclilo; en la que el arilo, la parte arilo del arilalquilo y el heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de alcoxi, alquilo y halo; y

- 20 R^8 se selecciona de alcóxialquilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquilcarbonilo, haloalcoxialquilo, haloalquilo, (NR^cR^d) carbonilo y $-P(O)(OR^7)_2$; seleccionándose R^c y R^d independientemente de hidrógeno, alquilo y arilalquilo; o R^c y R^d , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cinco o seis miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, NR^x y S; donde R^x se selecciona de hidrógeno y alquilo; y donde R^7 se selecciona de hidrógeno y alquilo; y

- 25 Q es una cadena C_{3-9} saturada o insaturada, que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de O, $S(O)_m$ y NR^9 , en la que m es 0, 1 ó 2 y R^9 se selecciona de hidrógeno, alcoxi, alcocarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterociclilcarbonilo.

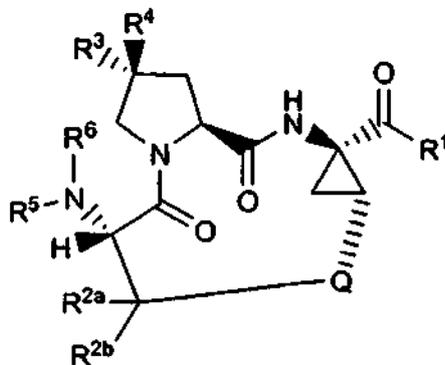
2. Un compuesto de la reivindicación 1, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que R^1 es $-NHSO_2R^7$.

3. Un compuesto de la reivindicación 2, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que R^7 es cicloalquilo.

- 35 4. Un compuesto de la reivindicación 1, 2 ó 3, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que R^{2a} y R^{2b} son hidrógeno.

5. Un compuesto de la reivindicación 1, 2, 3 ó 4, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que Q es una cadena C_6 insaturada que no contiene ningún heteroátomo.

6. Un compuesto de fórmula (II) de la reivindicación 1,



(II),

o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la que

R¹ es -NHSO₂R⁷;

- 5 R^{2a} y R^{2b} son hidrógeno;

R³ se selecciona de alquenilo, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;

R⁴ es -OR⁸;

R⁵ es hidrógeno;

- 10 R⁶ es alcoxicarbonilo;

R⁷ se selecciona de alquilo, arilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, heterociclilo, heterocicilcarbonilo y NR^aR^b; en la que R^a y R^b se seleccionan independientemente de hidrógeno, alcoxi, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, haloalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo;

- 15 R⁸ se selecciona de alcoxialquilo, alquilo, alquilcarbonilo, arilalquilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquilcarbonilo, haloalcoxialquilo, haloalquilo, (NR^cR^d)carbonilo y -P(O)(OR¹)₂; en la que R^c y R^d se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo y arilalquilo; o R^c y R^d, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico monocíclico de cinco a seis miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, NR^x y S; en la que R^x se selecciona de hidrógeno y alquilo; y donde R¹ se selecciona de hidrógeno y alquilo; y

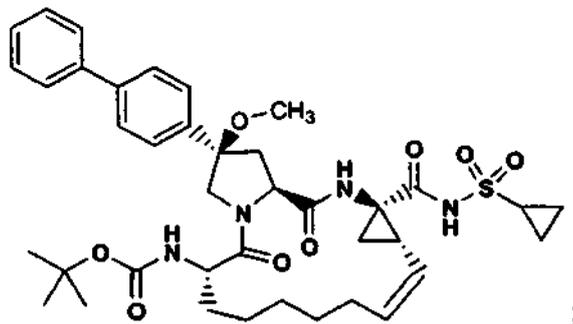
- 20 Q es una cadena C₃₋₉ saturada o insaturada, que opcionalmente contiene uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de O, S(O)_m y NR⁹, en la que m es 0, 1 ó 2 y R⁹ se selecciona de hidrógeno, alcoxi, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilcarbonilo, alquilsulfonilo, aminocarbonilo, arilsulfonilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, cicloalquiloxi, dialquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilalquilo, haloalquilo y heterocicilcarbonilo.

7. Un compuesto de la reivindicación 6, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que

R⁷ es cicloalquilo; y

Q es una cadena C₆ insaturada que no contiene ningún heteroátomo.

8. Un compuesto de la reivindicación 1 que es:



o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

- 5 **9.** Una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10.** La composición de la reivindicación 9, que comprende además al menos un compuesto adicional que tiene actividad contra el VHC.
- 11.** La composición de la reivindicación 10, en la que al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina.
- 10 **12.** La composición de la reivindicación 10, en la que al menos uno de los compuestos adicionales se selecciona de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de la respuesta de linfocitos T auxiliares de tipo 1, ARN de interferencia, ARN antisentido, imiquimod, ribavirina, un inhibidor de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.
- 15 **13.** Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o un enantiómero, diastereómeros o sal del mismo farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de un infección por VHC.
- 14.** El compuesto para uso de la reivindicación 13 que comprende además al menos un compuesto adicional que tenga actividad contra el VHC para ser administrado antes de, después de, o de forma simultánea con, el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o un enantiómero, diastereómero o sal del mismo farmacéuticamente aceptable.
- 20 **15.** El compuesto para uso de la reivindicación 14, en el que al menos uno de los compuestos adicionales es un interferón o una ribavirina.