

SIB EX4924R

P074688SM:JAW/REC

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo

domanda n° **16190694.6**, pubblicazione n° **3159345**

a nome di **Gilead Sciences, Inc.**

di **333 Lakeside Drive, Foster City, California 94404, U.S.A.**

* * * * *

"INIBITORI DI VIRUS DI EPATITE C"

DESCRIZIONE

CAMPO

Sono descritti nuovi inibitori a piccola molecola di replicazione virale, composizioni contenenti tali composti e metodi terapeutici comprendenti la somministrazione di tali composti.

FONDAMENTO

Il virus dell'epatite C (HCV), un membro del genere hepacivirus all'interno della famiglia *Flaviviridae*, è la principale causa di malattia epatica cronica in tutto il mondo (Boyer, N. et al. *J Hepatol.* 2000, 32, 98-112). Di conseguenza, un'attenzione significativa dell'attuale ricerca antivirale è diretta allo sviluppo di metodi migliorati per il trattamento di infezioni croniche da HCV nell'uomo (Ciesek, S., von Hahn T. e Manns, MP., *Clin. Liver Dis.*, 2011, 15, 597-609; Soriano, V. et al. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011, 66, 1573-1686; Brody, H., *Nature Outlook*, 2011, 474, S1-S7; Gordon, C. P., et al., *J. Med. Chem.* 2005, 48, 1-20; Maradpour, D., et al., *Nat. Rev. Micro.* 2007, 5, 453-463).

Le cure virologiche dei pazienti con infezione cronica da HCV sono difficili da raggiungere a causa della quantità prodigiosa di produzione giornaliera di virus in pazienti con infezione cronica e dell'elevata mutabilità spontanea di HCV (Neumann, et al., *Science* 1998, 282, 103-7; Fukimoto, et al., *Hepatology*, 1996, 24, 1351-4; Domingo, et al., *Gene* 1985, 40, 1-8; Martell, et al., *J. Virol.* 1992, 66, 3225-9). Il trattamento con HCV è ulteriormente complicato dal fatto che l'HCV è geneticamente diverso ed espresso come diversi genotipi e numerosi sottotipi. Ad esempio, HCV è attualmente classificato in sei genotipi principali (designati 1-6), molti sottotipi (designati a, b, c, e così via) e circa 100 ceppi diversi (numerati 1, 2, 3 e così via) .

L'HCV è distribuito in tutto il mondo con i genotipi 1, 2 e 3 predominanti negli Stati Uniti, Europa, Australia e Asia orientale (Giappone, Taiwan, Thailandia e Cina). Il genotipo 4 si trova in gran parte in Medio Oriente, in Egitto e nell'Africa centrale, mentre i genotipi 5 e 6 si trovano prevalentemente in Sud Africa e nel Sud-Est asiatico (Simmonds, P. et al. *J Virol.* 84: 4597-4610, 2010).

La combinazione di ribavirina, un analogo nucleosidico e interferone-alfa (α) (IFN), è utilizzata per il trattamento di genotipi multipli di infezioni croniche da HCV nell'uomo. Tuttavia, la risposta clinica variabile

osservata nei pazienti e la tossicità di questo regime hanno limitato la sua utilità. L'aggiunta di un inibitore della proteasi dell'HCV (telaprevir o boceprevir) al regime di ribavirina e IFN migliora i tassi di risposta virologica a 12 settimane post-trattamento (SVR12) in modo sostanziale. Tuttavia, il regime è attualmente approvato solo per i pazienti con genotipo 1 e la tossicità e altri effetti collaterali rimangono.

L'uso di antivirali ad azione diretta per trattare genotipi multipli di infezione da HCV si è dimostrato difficile a causa dell'attività variabile degli antivirali rispetto ai diversi genotipi. Gli inibitori di proteasi di HCV spesso hanno attività *in vitro* compromessa contro i genotipi HCV 2 e 3 rispetto al genotipo 1 (Vedi, per esempio, Tabella 1 di Summa, V. et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56, 4161-4167; Gottwein, J. et al., *Gastroenterology*, 2011, 141, 1067-1079). Parallelamente, l'efficacia clinica si è anche dimostrata altamente variabile tra i genotipi dell'HCV. Ad esempio, le terapie che sono altamente efficaci contro il genotipo 1 e 2 dell'HCV possono avere un'efficacia clinica limitata o nulla rispetto al genotipo 3. (Moreno, C. et al., Poster 895, 61st AASLD Meeting, Boston, MA, USA, 29 ottobre - 2 novembre, 2010; Graham, F., et al., *Gastroenterology*, 2011, 141, 881-889; Foster, G.R. et al., EASL 45th Annual Meeting, 14-18 aprile 2010, Vienna, Austria.) In alcuni casi, gli agenti antivirali hanno una buona efficacia clinica contro il genotipo 1, ma più bassa e più variabile rispetto ai genotipi 2 e 3. (Reiser, M. et al., *Hepatology*, 2005, 41,832-835.) Per superare l'efficacia ridotta nei pazienti con genotipo 3, possono essere richieste dosi antivirali sostanzialmente più elevate per ottenere riduzioni sostanziali della carica virale (Fraser, IP et al., Abstract # 48, HEP DART 2011, Koloa, HI, dicembre 2011.)

Sono anche necessari agenti antivirali meno sensibili alla resistenza virale. Ad esempio, le mutazioni di resistenza nelle posizioni 155 e 168 nella proteasi dell'HCV causano frequentemente una sostanziale diminuzione dell'efficacia antivirale degli inibitori della proteasi dell'HCV (Mani, N. *Ann Forum Collab HIV Res.*, 2012, 14, 1-8; Romano, KP et al. *PNAS*, 2010, 107, 20986-20991; Lenz O, *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 2010, 54,1878-1887.)

Si richiama anche l'attenzione a WO2007/016441A1; Srikanth Venkatraman et al., Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2009, vol.19, n.9, p1277-1303; Chen Shu-Hui et al., Current Medicinal Chemistry, 2005,

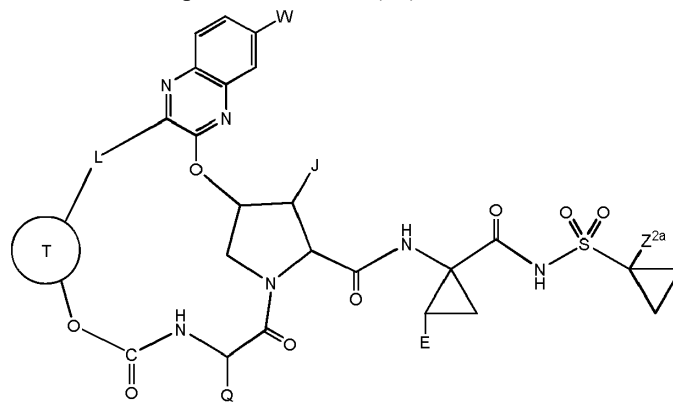
vol.12, n.20, p2317-2342; e US2010/029666A1.

In considerazione dei limiti dell'attuale terapia HCV, è necessario sviluppare terapie anti-HCV più efficaci. Sarebbe anche utile fornire terapie efficaci contro diversi genotipi e sottotipi di HCV.

SOMMARIO

Sono descritti nuovi composti che inibiscono la proteasi NS3 del virus dell'epatite C (HCV). In alcune realizzazioni, i composti descritti inibiscono genotipi multipli del virus dell'epatite C. Questi composti sono utili per il trattamento dell'infezione da HCV e dei sintomi correlati.

In una realizzazione (1), è fornito un composto di Formula (IV):



(IV),

o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui:

J è C₁-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice, in cui il C₁-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con 1-4 alogeno, -OH, arile o nitrile;

Ⓣ è C₃-C₅ carbociclicene che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₅ carbociclicene è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile, C₁-C₃ alogenoalchile, alogeno, -OH, o nitrile, o Ⓣ è C₅-C₈ carbociclicene biciclico che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, o C₃-C₆ carbociclicene che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₆ carbociclicene è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile o C₁-C₃ alogenoalchile;

L è C₃-C₆ alchilene, C₃-C₆ alchenilene o -(CH₂)₃-ciclopropilene-, opzionalmente sostituito con 1-4 alogeno, -OH, o nitrile;

Q è C₂-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice opzionalmente sostituito con C₁-C₃ alchile, alogeno, -OH, o nitrile;

E è C₁-C₃ alchile o C₂-C₃ alchenile, opzionalmente sostituito con 1-3 alogeni;

W è H, -OH, -O(C₁-C₃)alchile, -O(C₁-C₃)alogenoalchile, alogeno o nitrile; e

Z^{2a} è H o C₁-C₃ alchile,

(2) In una realizzazione di (1), J è C₁-C₃ alchile.

(3) In una realizzazione di (1), J è metile o etile.

(4) In una realizzazione di (1) fino a (3), \textcircled{T} è C₃-C₆ carbociclice che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile o C₁-C₃ alogenoalchile.

(5) In una realizzazione di (1) fino a (3), \textcircled{T} è C₃-C₆ carbociclice che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui il C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con metile, etile o trifluorometile.

(6) In una realizzazione di (1) fino a (3), \textcircled{T} è ciclopropilene.

(7) In una realizzazione di (1) fino a (3), \textcircled{T} è C₆-C₈ carbociclice biciclico a ponte o C₆-C₈ carbociclice biciclico condensato che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti.

(8) In una realizzazione di (1) fino a (7), L è C₃-C₆ alchilene, sostituito con 1-4 alogeni.

(9) In una realizzazione di (1) fino a (7), L è C₅ alchilene, sostituito con due alogeni.

(10) In una realizzazione di (1) fino a (7), L è C₃-C₆ alchilene.

(11) In una realizzazione di (1) fino a (7), L è C₅ alchilene.

(12) In una realizzazione di (8) o (9), gli alogeni sono ognuno fluoro.

(13) In una realizzazione di (1) fino a (12), Q è t-butile o C₅-C₆ carbociclice.

(14) In una realizzazione di (1) fino a (12), Q è t-butile.

- (15) In una realizzazione di (1) fino a (14), E è C₁-C₃ alchile opzionalmente sostituito con 1-3 atomi di alogeno.
- (16) In una realizzazione di (1) fino a (14), E è difluorometile.
- (17) In una realizzazione di (1) fino a (16), W è idrogeno, -O(C₁-C₃)alchile, alogeno o nitrile.
- (18) In una realizzazione di (1) fino a (16), W è metossile.
- (19) In una realizzazione di (1) fino a (18), Z^{2a} è idrogeno o metile.
- (20) In una realizzazione di (1) fino a (18), Z^{2a} è metile.
- (21) In un'altra realizzazione, è fornita una composizione farmaceutica comprendente un composto di una qualsiasi delle realizzazioni (1)-(20), o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e un eccipiente accettabile farmaceuticamente.
- (22) In una realizzazione di (21), la composizione farmaceutica comprende inoltre almeno un agente terapeutico addizionale.
- (23) In una realizzazione di (22), detto agente terapeutico addizionale è un interferone, un analogo di ribavirina, un inibitore di NS5a, un inibitore di NS4b, un inibitore di proteasi NS3, un inibitore di NS5b, un inibitore di alfa-glucosidasi 1, un epatoprotettore, un inibitore non nucleosidico di HCV, o altro farmaco per il trattamento dell'infezione da virus dell'epatite C.
- (24) In un'altra realizzazione, è fornito un composto di una qualsiasi delle realizzazioni da (1) a (20) o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso in terapia medica.
- (25) In una realizzazione di (24), è fornito un composto di una qualsiasi delle realizzazioni da (1) a (20) o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso nel trattamento profilattico o terapeutico di un'infezione da virus dell'epatite C.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

Mentre la presente invenzione è suscettibile di essere realizzata in varie forme, la descrizione che segue di diverse realizzazioni è fatta con la comprensione che la presente descrizione deve essere considerata come una illustrazione dell'oggetto rivendicato, e non è destinata a limitare le rivendicazioni alle realizzazioni specifiche illustrate. I titoli usati nella presente descrizione sono forniti solo per comodità e non devono essere interpretati

in modo da limitare in alcun modo le rivendicazioni. Realizzazioni illustrate sotto qualsiasi voce possono essere combinate con realizzazioni illustrate sotto qualsiasi altra voce.

Abbreviazioni

Le seguenti abbreviazioni sono usate in tutta la descrizione, e hanno i seguenti significati:

°C = gradi Celsius

Å = Angstrom

Ac = acetile

AcOH = acido acetico

aq = acquoso

Ar = argon

atm = atmosfera

BEP = 2-bromo-1-etil piridinio tetrafluoroborato

Bis(difenilfosfino)ferrocene)palladio (II) dicloruro

Bn = benzile

Boc = *terz*-butossi carbonile

Boc₂O = di-*terz*-butil dicarbonato

bp = punto di ebollizione

Bs = 4-bromofenilsolfonile

Bu = butile

Calc. = calcolato

CBS = Corey-Bakshi-Shibata

CBZ = Cbz = carbossibenzile

CDI = 1,1'-carbonildiimidazolo

cm = centimetro

COMU = (1-ciano-2-etossi-2-ossoetilidenamminoossi)-dimetilammino-morfolino-carbenio esafluorofosfato

DABCO = 1,4-diazabicyclo[2.2.2]ottano
DBU = 1,8-diazabicycloundec-7-ene
DCE = 1,2-dicloroetano
DCM = diclorometano
DDQ = 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzochinone
DIAD = diisopropil azodicarbossilato
diossano = 1,4-diossano
DIPEA = *N, N*-diisopropil-*N*-etilammina
DMF = *N, N*-dimetilformammide
DMAP = 4-dimetilamminopiridina
DMPU = 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetraidro-2(1H)-pirimidinone
DMSO = dimetisolfossido
dppf = 1,1'-bis (difenilfosfino) ferrocene
DSC = *N, N'*-disuccinimidil carbonato
EA = EtOAc = etil acetato
EC₅₀ = concentrazione efficace semi-massimale
EDC = 1-etil-3-(3-dimetilamminopropil)carbodiimmide
Et = etile
Et₂O = dietil etere
EtOAc = etil acetato
EtOH = etanolo
equiv = equivalente
F-NMR = spettroscopia di risonanza magnetica nucleare al fluoro
g = grammo
h = hr = ora

HATU = *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio esafluorofosfato

HCV = virus dell'epatite C.

HEPES = acido idrossietil piperazinetanosolfonico

Hex = hex = esani

HMDS = esametildisilazano (azide)

HMPA = esametilfosforammide

¹H-NMR = spettroscopia di risonanza magnetica nucleare protonica

HOAc = acido acetico

HOBT = idrossibenzotriazolo

HPLC = cromatografia liquida ad alta pressione

Hz = Hertz

IPA = alcol isopropilico

i = iso

J = costante di accoppiamento

KHMDS = potassio bis(trimetilsilil)ammide

L = litro

LCMS-ESI⁺ = spettrometro di massa per cromatografia liquida (ionizzazione per elettrospray)

LiHMDS = litio bis(trimetilsilil) ammide

M = concentrazione molare (moli/L)

mCPBA = acido *meta*-cloroperossibenzoico

Me = metile

MeCN = ACN = acetonitrile

MeOH = metanolo

MeTHF = 2-metiltetraidrofurano

mg = milligrammo

MHz = mega Hertz

mL = millilitro

mmole = millimole

min = minuto

MTBE = metil-terz-butiletere

Ms = metansolfonile

MsCl = metansolfonil cloruro

MS = setacci molecolari

MSA = acido metilsolfonico

n = normale

N = concentrazione normale

NCS = N-clorosuccinimide

NMM = N-metilmorfolina

NMO = *N*-metilmorfolina-*N*-ossido

NMP = *N*-metilpirrolidinone

o/n = durante la notte

PCR = reazione a catena della polimerasi

Pf = 9-fenil-9H-fluoren-9-ile

PG = gruppo di protezione

PE = etere di petrolio

Ph = fenile

PhMe = toluene

pM = picomolare

PMB = 4-metossibenzile

Pr = propile

$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 = \text{PdCl}_2(\text{dppf}) = \text{PdCl}_2\text{dppf} = (1,1'\text{-bis (difenilfosfino)ferrocene})\text{dicloropalladio (II)}$

PPh_3 = trifenilfosfina

RetTime = tempo di ritenzione

rt = temperatura ambiente

sat = sat. = saturo

sec = secondario

$\text{S}_{\text{N}}1$ = sostituzione nucleofila unimolecolare

$\text{S}_{\text{N}}2$ = sostituzione nucleofila bimolecolare

$\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ = sostituzione nucleofila aromatica

t = terz = terziario

TBAF = fluoruro di tetra-n-butilammonio

TBS = TBDMS = terz-Butildimetilsilile

TBTU = *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio tetrafluoroborato

TEA = trietilammina

temp = temperatura

TEMPO = (2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-1-il)ossile

Tf = trifluorometansolfonile

TFA = acido trifluoroacetico

THF = tetraidrofurano

TIPS = triisopropilsilile

TLC = cromatografia su strato sottile

TMS = trimetilsilile

TMSOTf = trimetilsilile trifluorometansolfonato

TPAP = tetropropilammonio perrutenato

Tr = trifenilmetile

Ts = para-toluensolfonile

Wt = peso

p/p = rapporto peso/peso

Definizioni

Salvo diversa indicazione, i seguenti termini e frasi usati nel presente documento sono destinati ad avere i seguenti significati:

Quando un gruppo ciclico (ad esempio cicloalchile, carbociclice, carbociclice biciclico, eteroarile, eterociclice) è limitato da un numero o intervallo di numeri, il numero o i numeri si riferiscono al numero di atomi costituenti il gruppo ciclico, inclusi eventuali eteroatomi. Pertanto, ad esempio, un gruppo eterociclico di 4-8 termini ha 4, 5, 6, 7 o 8 atomi d'anello.

"Alchenile" si riferisce ad un idrocarbile a catena lineare o ramificata con almeno un sito di insaturazione, ad esempio un doppio legame (sp^2)carbonio- (sp^2) carbonio. Ad esempio, un gruppo alchenilico può avere da 2 a 8 atomi di carbonio (cioè C₂-C₈ alchenile), o da 2 a 6 atomi di carbonio (cioè, C₂-C₆ alchenile). Esempi di gruppi alchenilici adatti includono, ma non sono limitati a, etilene o vinile (-CH=CH₂) e allile (-CH₂CH=CH₂).

"Alchenilene" si riferisce ad un alchene avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due diversi atomi di carbonio di un alchene progenitore. Radicali di alchenilene illustrativi includono, ma non sono limitati a, 1,2-etenilene (-CH=CH-) o prop-1-enilene (-CH₂CH=CH-).

"Alcossile" è RO- dove R è alchile, come qui definito. Esempi non limitativi di gruppi alcossilici includono metossile, etossile e propossile.

"Alchile" si riferisce a un radicale idrocarbिलico saturo a catena lineare o ramificata. Ad esempio, un gruppo alchilico può avere da 1 a 8 atomi di carbonio (cioè, (C₁-C₈) alchile) o da 1 a 6 atomi di carbonio (cioè, (C₁-C₆ alchile) o da 1 a 4 atomi di carbonio. Esempi di gruppi alchilici includono, ma non sono limitati a, metile, etile, propile, isopropile, butile, isobutile, *t*-butile, pentile, esile, eptile, ottile, nonile e decile.

"Alchilene" si riferisce ad un alchile avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi

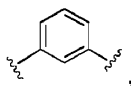
di idrogeno dallo stesso o da due differenti atomi di carbonio di un alcano progenitore. Esempi di radicali alchilenici includono, ma non sono limitati a, metilene ($-\text{CH}_2-$), etilene ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), propilene ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) e butilene ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$).

"Alchinile" si riferisce ad un idrocarburo a catena lineare o ramificata con almeno un sito di insaturazione, ad esempio un triplo legame (*sp*)carbonio-*(sp)*carbonio. Ad esempio, un gruppo alchinilico può avere da 2 a 8 atomi di carbonio (C_2 - C_8 alchinile) o da 2 a 6 atomi di carbonio (C_2 - C_6 alchinile). Esempi di gruppi alchinilici comprendono, ma non sono limitati a, gruppi di acetilenile ($-\text{C}\equiv\text{CH}$) e propargile ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$).

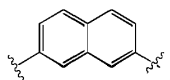
"Alchinilene" si riferisce ad un alchinile avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due diversi atomi di carbonio di un alchino progenitore. Tipici radicali alchinilenici includono, ma non sono limitati a, acetilene ($-\text{C}\equiv\text{C}-$), propargilene ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$) e 1-pentinilene ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$).

"Arile" si riferisce ad un singolo anello aromatico interamente di carbonio o ad un sistema di anelli di solo carbonio condensati multipli (ad esempio un sistema di anelli multiciclici condensati) in cui almeno uno degli anelli è aromatico. Ad esempio, un gruppo arilico può avere da 6 a 20 atomi di carbonio, da 6 a 14 atomi di carbonio o da 6 a 12 atomi di carbonio. Si deve comprendere che il punto di attacco di un sistema ad anello condensato multiplo, come definito sopra, può essere in qualsiasi posizione del sistema ad anello comprendente una porzione aromatica o carbociclica dell'anello. Esempi di gruppi arilici includono, ma non sono limitati a, fenile, naftile, tetraidronaftile e indanile.

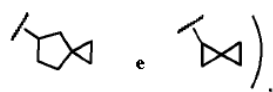
"Arlene" si riferisce ad un arile come qui definito avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno da due differenti atomi di carbonio di un arile progenitore. Tipici radicali di arilene includono, ma non sono limitati a, fenilene, ad es.



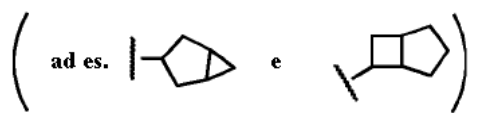
e naftilene, ad es.,



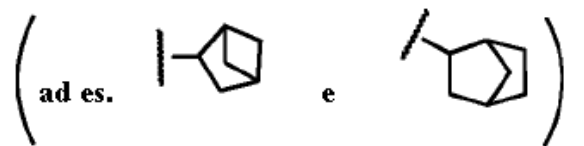
"Carbociclice bicicliche" si riferisce a un idrocarburo con anello condensato, a ponte o spiro-ciclico, a 5-14 termini saturo o parzialmente insaturo, collegato mediante un carbonio di anello. In un carbociclice spiro-biciclico, i due anelli condividono un singolo atomo di carbonio comune. In un carbociclice biciclico condensato, i due anelli condividono due atomi di carbonio comuni e adiacenti. In un carbociclice a ponte biciclico, i due anelli condividono tre o più atomi di carbonio comuni, non adiacenti. Esempi di gruppi carbociclici biciclici includono, ma non sono limitati a gruppi carbociclici spiro-biciclici in cui due anelli carbociclici condividono un atomo comune (*ad es.*



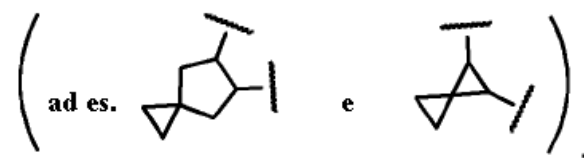
gruppi carbociclici biciclici condensati in cui due anelli carbociclici condividono due atomi comuni



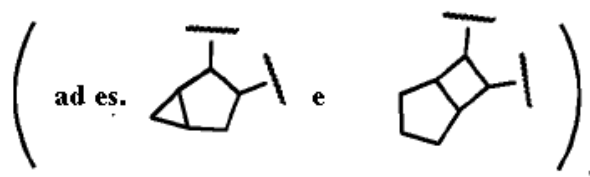
e gruppi carbociclici biciclici a ponte in cui due anelli carbociclici condividono tre o più (come 3, 4, 5 o 6) atomi comuni



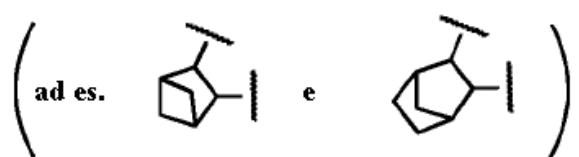
"Carbocicliche bicicliche" si riferisce ad un carbociclice biciclico, come sopra definito, avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o due atomi di carbonio differenti di un carbociclice biciclico progenitore. Esempi di gruppi carbociclici biciclici comprendono, ma non sono limitati a, gruppi carbociclici spiro-biciclici in cui due anelli carbociclici condividono un atomo comune



gruppi carbociclinelici biciclici condensati in cui due anelli carbociclici condividono due atomi comuni



e gruppi carbociclicili biciclici a ponte in cui due anelli carbociclici condividono tre o più (come 3, 4, 5 o 6) atomi comuni



"Carbocicilossile" è RO- dove R è carbociclile, come qui definito.

"Carbocicilossile biciclico" è RO- dove R è carbociclile biciclico, come qui definito.

"Carbociclile" e "carbociclo" si riferiscono ad un gruppo idrocarbilico contenente una struttura ad anello satura o parzialmente insatura, attaccata tramite un carbonio di anello. In varie realizzazioni, il carbociclile si riferisce a una porzione C₃-C₁₂ ciclica satura o parzialmente insatura, esempi della quale includono ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, ciclopentenile, cicloesile, cicloesenile, cicloeptile e cicloottile.

"Carbociclilene" (come pure "carbociclene") si riferisce a un carbociclile, come qui definito, avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due differenti atomi di carbonio di un carbociclile originario. Esempi di carbociclene includono, ma non sono limitati a, ciclopropilene, ciclobutilene, ciclopentilene e cicloesilene.

"Carbociclilalchile" si riferisce ad un gruppo idrocarbilico contenente una struttura ad anello satura o parzialmente insatura attaccata ad un gruppo alchilico, attaccato tramite un carbonio di anello o un carbonio alchilico. In varie realizzazioni, carbociclilalchile si riferisce a una porzione C₁-C₁₂ carbociclilalchilica satura o parzialmente insatura, esempi della quale comprendono ciclopropilalchile, ciclobutilalchile, ciclopropiletilico e ciclopropilpropile.

"Carbociclicilalchilene" si riferisce a un carbociclicilalchile, come qui definito, avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due differenti atomi di carbonio di un cicloalchilalchile progenitore. Esempi di cicloalchilene includono, ma non sono limitati a, ciclopropilmetilene e ciclopropilmetilene.

"Cicloalchile" si riferisce a un gruppo idrocarbilico contenente una struttura ad anello satura, attaccato tramite un carbonio di anello. In varie realizzazioni, il cicloalchile si riferisce a una porzione C₃-C₁₂ ciclica satura, esempi della quale includono ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, cicloesile, cicloeptile e cicloottile.

"Cicloalcoossile" è RO- dove R è cicloalchile, come qui definito.

"Legame diretto" indica un legame covalente tra due atomi.

"Alogeno-" o "alogeno" si riferisce a cloro (-Cl), bromo (-Br), fluoro (-F) o iodio (-I).

"Alogenoalchenile" si riferisce a gruppo alchenilico, come qui definito, sostituito con uno o più atomi di alogeno.

"Alogenoalcoossile" si riferisce a alcoossile, come qui definito, sostituito con uno o più atomi di alogeno.

"Alogenoalchile" si riferisce a un gruppo alchilico, in cui uno o più atomi di idrogeno del gruppo alchilico sono sostituiti con un atomo di alogeno. Esempi di gruppi alogenoalchilici includono, ma non sono limitati a -CF₃, -CHF₂, -CFH₂ e -CH₂CF₃.

"Alogenoalchilene" si riferisce al gruppo alchilenico, come qui definito, sostituito con uno o più atomi di alogeno.

"Eteroalchile" si riferisce a un gruppo alchilico, come qui definito, in cui uno o più atomi di carbonio sono sostituiti con un atomo di ossigeno, zolfo o azoto.

"Eteroalchilene" si riferisce a un gruppo alchilenico, come qui definito, in cui uno o più atomi di carbonio sono sostituiti con un atomo di ossigeno, zolfo o azoto.

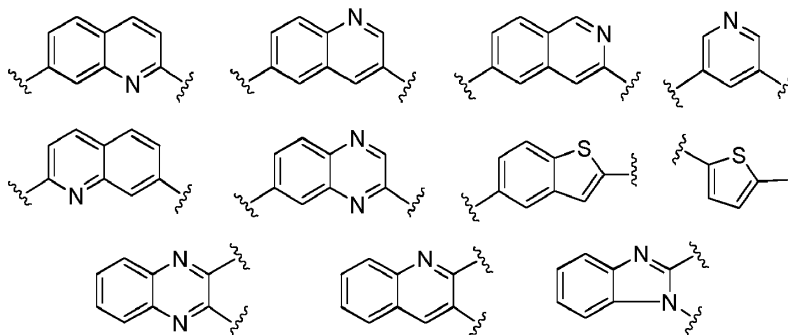
"Eteroalchenile" si riferisce a un gruppo alchenilico, come qui definito, in cui uno o più atomi di carbonio sono sostituiti con un atomo di ossigeno, zolfo o azoto.

"Eteroalchenilene" si riferisce al gruppo eteroalchenilico, come sopra definito, avente due centri radicali

monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due diversi atomi di un gruppo eteroalchenilico progenitore.

"Eteroarile" si riferisce ad un singolo anello aromatico che ha almeno un atomo diverso dal carbonio nell'anello, in cui l'atomo è scelto dal gruppo costituito da ossigeno, azoto e zolfo; il termine include anche sistemi ad anelli condensati multipli che hanno almeno uno di questi anelli aromatici. Ad esempio, eteroarile include un anello monociclico, biciclico o triciclico avente fino a 6 atomi in ciascun anello, in cui almeno un anello è aromatico e contiene da 1 a 4 eteroatomi nell'anello scelti dal gruppo costituito da ossigeno, azoto e zolfo. Gli anelli del sistema ad anelli condensati multipli possono essere collegati tra loro tramite legami condensati, spiro-ciclici e a ponte quando consentito dai requisiti di valenza. Esempi non limitativi di eteroarile includono piridile, tienile, furanile, pirimidile, imidazolile, piranile, pirazolile, tiazolile, tiadiazolile, isotiazolile, ossazolile, isossazolile, pirrolile, piridazinile, pirazinile, chinolinile, isochinolinile, chinossalinile, benzofuranile, dibenzofuranile, dibenzotiofenile, benzotienile, indolile, benzotiazolile, benzossazolile, benzimidazolile, isoindolile, benzotriazolile, purinile, tianaftenile e pirazinile. L'attacco di eteroarile può avvenire attraverso un anello aromatico o, se eteroarile è biciclico o triciclico e uno degli anelli non è aromatico o non contiene eteroatomi, attraverso un anello non aromatico o un anello che non contiene eteroatomi. "Eteroarile" comprende anche il derivato N-ossido di qualsiasi eteroarile contenente azoto.

"Eteroarilene" si riferisce ad un eteroarile, come sopra definito, avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due diversi atomi di carbonio o dalla rimozione di un idrogeno da un atomo di carbonio e dalla rimozione di un atomo di idrogeno da un atomo di azoto di un gruppo eteroarilico progenitore. Esempi non limitativi di gruppi eteroarilenici sono:



"Eterociclile" si riferisce ad un gruppo monociclico, biciclico o tricyclico saturo o parzialmente insaturo con 2 fino a 14 atomi di carbonio di anello e, in aggiunta agli atomi di carbonio di anello, da 1 a 4 eteroatomi scelti tra azoto, ossigeno e zolfo. Gruppi eterociclici bi- o tricyclici possono avere connettività condensata, a ponte o spiro-ciclica. In varie realizzazioni il gruppo eterociclico è attaccato a un'altra porzione attraverso carbonio o attraverso un eteroatomo. Esempi di eterociclile comprendono, senza limitazione azetidile, ossazolinile, isossazolinile, ossetanile, tetraidropiranile, tetraidrotiopiranile, tetraidroisochinolinile, 1,4-diossanile, pirrolidinile, morfolinile, tiomorfolinile, diidrobenzimidazolile, diidrobenzofuranile, diidrobenzotiofenile, diidrobenzossazolile, diidrofuranile, diidroimidazolile, diidroindolile, diidroisoossazolile, diidroisotiazolile, diidroossadiazolile, diidroossazolile, diidropirazinile, diidropirazolile, diidropiridinile, diidropirimidinile, diidropirrolile, diidrochinolinile, diidrotetrazolile, diidrotiadiazolile, diidrotiazolile, diidrotienile, diidrotiazolile, diidroazetidile, metilenediossibenzoile, cromanile, diidropiranochinossalinile, tetraidrochinossalinile, tetraidrochinolinile, diidropiranochinolinile e tetraidrotienile e loro N-ossidi. Un gruppo eterociclico spiro-biciclico si riferisce ad un gruppo eterociclico biciclico in cui i due anelli del gruppo eterociclico biciclico condividono un atomo comune. Un gruppo eterociclico biciclico condensato si riferisce ad un gruppo eterociclico biciclico in cui i due anelli del gruppo eterociclico biciclico condividono due atomi comuni. Un gruppo eterociclico biciclico a ponte si riferisce a un gruppo eterociclico biciclico in cui i due anelli del gruppo eterociclico biciclico condividono tre o più (come 3, 4, 5 o 6) atomi comuni.

"Eterociclene" si riferisce a un eterociclile, come qui definito, avente due centri radicali monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso o da due differenti atomi di carbonio, attraverso un carbonio ed un eteroatomo, o attraverso due eteroatomi di un eterociclo progenitore.

"Profarmaco" si riferisce a qualsiasi composto che, quando somministrato a un sistema biologico genera la sostanza farmaceutica, o principio attivo, come risultato di reazione(i) chimica spontanea, reazione(i) chimica catalizzata da enzimi, fotolisi e/o reazione(i) chimica metabolica. Un profarmaco è quindi una forma analoga o latente modificata in modo covalente di un composto terapeuticamente attivo. Esempi non limitativi di profarmaci includono porzioni esteree, porzioni di ammonio quaternario, porzioni di glicole e simili.

Il termine "opzionalmente sostituito" si riferisce ad una porzione in cui tutti i sostituenti sono idrogeno o in cui uno o più degli idrogeni della porzione sono sostituiti da sostituenti non idrogeni; cioè la porzione che è opzionalmente sostituita è sostituita o non sostituita.

"Gruppo uscente" (LG) si riferisce a una porzione di un composto che è attivo verso lo spostamento o la sostituzione in una reazione chimica. Esempi in cui si verificano come lo spostamento o la sostituzione includono, ma non sono limitati a, sostituzione nucleofila bimolecolare (S_N2), sostituzione nucleofila unimolecolare (S_N1), sostituzione nucleofila aromatica (S_NAr) e accoppiamenti incrociati catalizzati con metalli di transizione. Esempi di gruppi uscenti includono, ma non sono limitati a, un atomo di alogeno (*ad es.* -Cl, -Br, -I) e solfonati (*ad es.* mesilato (-OMs), tosilato (-OTs) o triflato (-OTf)). Il tecnico esperto sarà a conoscenza di vari gruppi di partenza chimici e strategie per l'attivazione e comprenderà la porzione appropriata che fungerà da gruppo uscente, in base alla particolare reazione chimica, alla funzionalità a cui il gruppo è collegato e ai reagenti chimici usati per influenzare la reazione di spostamento o di sostituzione. Come esempio non limitativo, in alcune situazioni, un atomo di alogeno (*ad es.* -Cl, -Br, o -I) funge da gruppo uscente in una reazione catalizzata da un metallo di transizione (*ad esempio* accoppiamento di Suzuki catalizzato da Pd tra un alogenuro arilico e acido arilboronico) e altri reagenti come una base.

Stereoisomeri

Le definizioni e convenzioni stereochemiche qui usate generalmente seguono S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill *Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; e Eliel, E. and Wilen, S., *Stereochemistry of Organic Compounds* (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York.

Il termine "chirale" si riferisce a molecole che hanno la proprietà di non sovrapponibilità del partner dell'immagine speculare, mentre il termine "achirale" si riferisce a molecole che sono sovrapponibili al loro partner di immagine speculare.

Gli "isomeri" sono composti diversi che hanno la stessa formula molecolare. Gli isomeri includono stereoisomeri, enantiomeri e diastereomeri.

I "diastereomeri" sono stereoisomeri che hanno almeno due atomi asimmetrici, ma che non sono immagini

speculari l'uno dell'altro.

Gli "enantiomeri" sono una coppia di stereoisomeri che sono immagini speculari non sovrapponibili l'uno dell'altro. Una miscela 1:1 di una coppia di enantiomeri è una miscela "racemica". Il termine "(±)" è usato per designare una miscela racemica, ove appropriato.

Il termine "stereoisomeri" si riferisce a composti che hanno una costituzione chimica identica, ma si differenziano per quanto riguarda la disposizione degli atomi o dei gruppi nello spazio.

I composti descritti nella presente possono avere centri chirali, ad esempio atomi di carbonio chirali. Tali composti includono quindi miscele racemiche di tutti gli stereoisomeri, inclusi enantiomeri, diastereomeri e atropisomeri. Inoltre, i composti qui descritti comprendono isomeri ottici arricchiti o risolti in tutti gli atomi chirali asimmetrici. In altre parole, i centri chirali apparenti dalle raffigurazioni sono forniti come isomeri chirali o miscele racemiche. Sia le miscele racemiche che diastereomeriche, così come i singoli isomeri ottici isolati o sintetizzati, sostanzialmente privi dei loro partner enantiomeri o diastereomeri, rientrano tutti nel campo dell'invenzione. Le miscele racemiche possono essere separate nei loro isomeri singoli, sostanzialmente otticamente puri attraverso tecniche ben note come, ad esempio, la separazione di sali diastereomerici formati con additivi otticamente attivi, ad esempio acidi o basi seguiti da riconversione alle sostanze otticamente attive. L'isomero ottico desiderato può anche essere sintetizzato per mezzo di reazioni stereospecifiche, iniziando con lo stereoisomero appropriato del materiale di partenza desiderato.

Si deve comprendere che per i composti descritti nella presente quando un legame viene disegnato in un modo non stereochimico (ad esempio piatto) l'atomo a cui è attaccato il legame include tutte le possibilità stereochimiche. Si deve anche comprendere che quando un legame viene tracciato in un modo stereochimico (ad es., grassetto, cuneo in grassetto, tratteggiato o cuneo tratteggiato) l'atomo a cui è attaccato il legame stereochimico ha la stereochimica mostrata, a meno che non sia indicato diversamente. Di conseguenza, in una realizzazione, un composto descritto nella presente è maggiore del 50% di un singolo enantiomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente rappresenta almeno l'80% di un singolo enantiomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno il 90% di un singolo enantiomero. In

un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno il 98% di un singolo enantiomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno il 99% di un singolo enantiomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è maggiore del 50% di un singolo diastereomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno l'80% di un singolo diastereomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno il 90% di un singolo diastereomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno il 98% di un singolo diastereomero. In un'altra realizzazione, un composto descritto nella presente è almeno il 99% di un singolo diastereomero.

Tautomeri

I composti descritti nella presente possono anche esistere come isomeri tautomerici in certi casi. Sebbene possa essere rappresentata solo una struttura di risonanza delocalizzata, tutte queste forme sono contemplate nell'ambito dell'invenzione. Ad esempio, tautomeri ene-amminici possono esistere per sistemi purinico, pirimidinico, imidazolico, guanidinico, ammidinico e tetrazolico e tutte le loro possibili forme tautomeriche rientrano nell'ambito dell'invenzione.

Isotopi

Un esperto nella tecnica comprende che questa invenzione include anche qualsiasi composto rivendicato che può essere arricchito in uno o più atomi al di sopra di rapporti isotopici presenti in natura con uno o più isotopi come, ma non limitato a, deuterio (^2H o D). Come esempio non limitativo, un gruppo $-\text{CH}_3$ può essere sostituito da $-\text{CD}_3$.

I valori specifici elencati di seguito per i radicali, i sostituenti e gli intervalli sono solo a scopo illustrativo; non escludono altri valori definiti o altri valori all'interno di intervalli definiti per i radicali e i sostituenti.

Gruppi protettivi

In alcune realizzazioni, i gruppi protettivi comprendono gruppi di profarmaci e gruppi protettivi chimica. I gruppi protettivi possono essere rappresentati dall'abbreviazione "PG".

"Gruppo protettivo" ("PG") si riferisce a una porzione di un composto che maschera o altera le proprietà di un gruppo funzionale o le proprietà del composto nel suo complesso. I gruppi protettivi chimica e le strategie di

protezione/deprotezione sono ben noti nella tecnica. Vedi per es. Peter G. M. Wuts e Theodora W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4a edizione; John Wiley & Sons, Inc.: New Jersey, 2007. Vedere anche Kocienski, P.J. *Protecting Groups*, 3a edizione; Georg Thieme Verlag Stuttgart: New York, 2005, in particolare Capitolo 1, Protecting Groups: An Overview, pagine 1-48, Capitolo 2, Carbonyl Protecting Groups, pagine 49-118, Capitolo 3, Diol Protecting Groups, pagine 119-186, Capitolo 4, Hydroxyl Protecting Groups, pagine 187-364, Capitolo 5, Thiol Protecting Groups, pagine 365-392. I gruppi protettivi sono spesso usati per mascherare la reattività di determinati gruppi funzionali, per aiutare nell'efficienza delle reazioni chimiche desiderate, ad esempio, creando e rompendo legami chimici in modo ordinato e pianificato.

La protezione dei gruppi funzionali di un composto altera altre proprietà fisiche oltre alla reattività del gruppo funzionale protetto, come la polarità, la lipofilia (idrofobicità) e altre proprietà che possono essere misurate mediante strumenti analitici comuni. Gli intermedi chimicamente protetti possono essere biologicamente attivi o inattivi.

In alcune realizzazioni, i gruppi protettivi sono opzionalmente impiegati per prevenire reazioni collaterali con il gruppo protetto durante le procedure sintetiche. La scelta dei gruppi appropriati da proteggere, quando farlo, e la natura del gruppo di protezione chimico "PG" dipende dalla chimica della reazione da proteggere (ad esempio condizioni acide, basiche, ossidative, riduttive o di altro tipo) e la direzione prevista della sintesi. I PG non devono essere, e generalmente non lo sono, gli stessi se il composto è sostituito con PG multipli. In generale, PG sarà usato per proteggere gruppi funzionali come carbossile, ossidrile, tiolo o gruppi amminici e per prevenire così reazioni collaterali o per facilitare altrimenti l'efficienza sintetica. L'ordine di deprotezione per fornire gruppi deprotetti liberi dipende dalla direzione prevista della sintesi e dalle condizioni di reazione da incontrare e può avvenire in qualsiasi ordine determinato dal tecnico.

Sali e idrati

Esempi di sali accettabili farmaceuticamente dei composti qui descritti comprendono sali derivati da una base appropriata, come un metallo alcalino (per esempio sodio), un metallo alcalino terroso (per esempio magnesio), ammonio e NX_4^+ (in cui X è C₁-C₄ alchile). Sali accettabili farmaceuticamente di un atomo di azoto o di un

gruppo amminico comprendono ad esempio sali di acidi carbossilici organici come acido acetico, benzoico, lattico, fumarico, tartarico, maleico, malico, malico, isetionico, lattobionico e succinico; acidi solfonici organici, come acidi metansolfonico, etanosolfonico, benzensolfonico e p-toluensolfonico; e acidi inorganici, come acidi cloridrico, bromidrico, solforico, fosforico e solfamnico. Sali accettabili farmaceuticamente di un composto di un gruppo ossidrilico includono l'anione di detto composto in combinazione con un catione adatto come Na^+ e NX_4^+ (in cui ciascuna X è indipendentemente scelto tra H o gruppo $\text{C}_1\text{-C}_4$ alchilico).

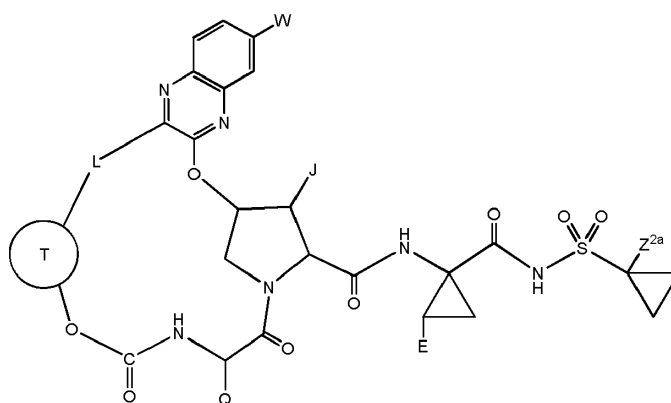
Per uso terapeutico, i sali dei principi attivi dei composti qui descritti saranno tipicamente accettabili farmaceuticamente, cioè saranno sali derivati da un acido o base fisiologicamente accettabile. Tuttavia, sali di acidi o basi che non sono accettabili farmaceuticamente possono anche trovare impiego, per esempio, nella preparazione o purificazione di un composto di formula I, II, III o IV, (come qualsiasi di IVa-IVh) o un stereoisomero o una miscela di stereoisomeri o un altro composto qui descritto. Tutti i sali, derivati o meno da un acido o base fisiologicamente accettabile, rientrano nell'ambito della presente invenzione.

I sali metallici vengono tipicamente preparati facendo reagire l'idrossido di metallo con un composto descritto qui. Esempi di sali metallici che vengono preparati in questo modo sono sali contenenti Li^+ , Na^+ e K^+ . Un sale di metallo meno solubile può essere precipitato dalla soluzione di un sale più solubile per aggiunta del composto di metallo adatto.

Inoltre, i sali possono essere formati dall'aggiunta di acido di alcuni acidi organici e inorganici, ad esempio HCl, HBr, H_2SO_4 , H_3PO_4 o acidi solfonici organici, a centri di base, come ammine. Infine, si deve comprendere che le composizioni qui comprendono composti qui descritti nella loro forma non ionizzata, nonché zwitterionica, e combinazioni con quantità stechiometriche di acqua come negli idrati.

Realizzazioni

In una realizzazione, è fornito un composto di Formula (IV):



(IV),

o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui:

J è C₁-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice, in cui C₁-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con 1-4 alogeno, -OH, arile o nitrile;

Ⓣ è C₃-C₅ carbociclice che è attaccato a L e al resto del composto attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₅ carbociclice è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile, C₁-C₃ alogenoalchile, alogeno, -OH, o nitrile, o Ⓣ è C₅-C₈ carbociclice biciclico che è attaccato a L e al resto del composto attraverso due atomi di carbonio adiacenti, o Ⓣ è C₃-C₆ carbociclice che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile o C₁-C₃ alogenoalchile;

L è C₃-C₆ alchilene, C₃-C₆ alchenilene o -(CH₂)₃-ciclopropilene-, opzionalmente sostituito con 1-4 alogeno, -OH, o nitrile;

Q è C₂-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice opzionalmente sostituito con C₁-C₃ alchile, alogeno, -OH, o nitrile;

E è C₁-C₃ alchile o C₂-C₃ alchenile, opzionalmente sostituito con C₁-C₃ alchile, alogeno, -OH, o nitrile;

W è H, -OH, -O(C₁-C₃)alchile, -O(C₁-C₃)alogenoalchile, alogeno o nitrile; e

Z^{2a} è H o C₁-C₃ alchile.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), J è C₁-C₃ alchile.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), J è metile o etile.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), \textcircled{T} è C₃-C₆ carbocicilene che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₆ carbociclene è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile o C₁-C₃ alogenoalchile.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), \textcircled{T} è C₃-C₆ carbocicilene che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui il C₃-C₆ carbociclene è opzionalmente sostituito con metile, etile o trifluorometile.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), \textcircled{T} è ciclopropilene.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), \textcircled{T} è C₆-C₈ carbocicilene biciclico a ponte o C₆-C₈ carbocicilene biciclico condensato che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), L è C₃-C₆ alchilene, sostituito con 1-4 alogeni, In un'altra realizzazione di Formula (IV), L è C₅ alchilene, sostituito con due alogeni, In alcune realizzazioni, gli alogeni sono ognuno fluoro.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), L è C₃-C₆ alchilene.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), L è C₅ alchilene.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), Q è t-butile o C₅-C₆ carbocicilene.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), Q è t-butile.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), E è C₁-C₃ alchile opzionalmente sostituito con 1-3 atomi di alogeno.

In un'altra realizzazione di Formula (IV), E è difluorometile.

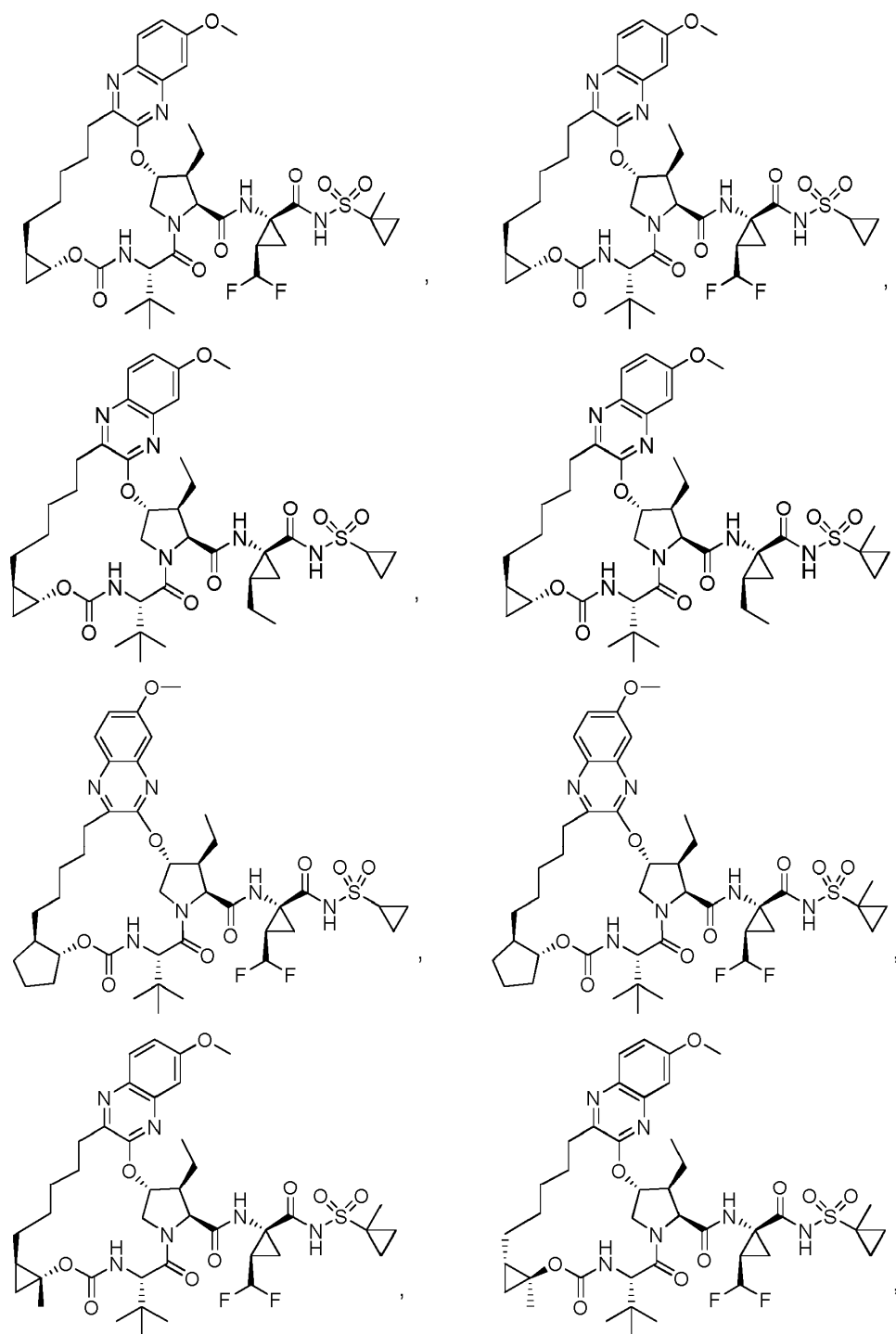
In un'altra realizzazione di Formula (IV), W è idrogeno, -O(C₁-C₃)alchile, alogeno o nitrile.

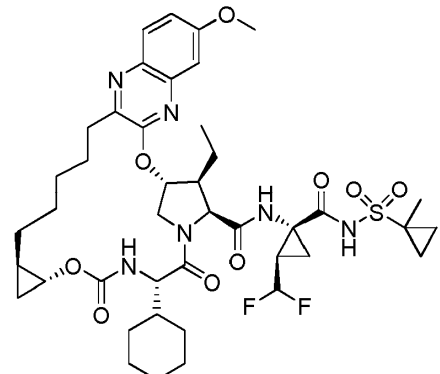
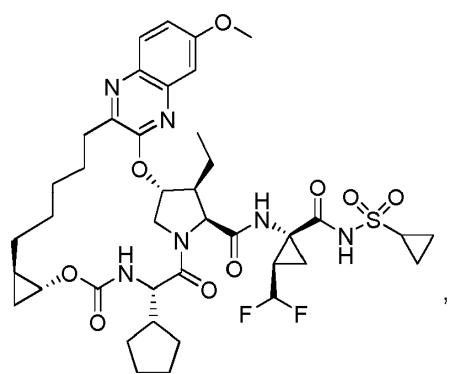
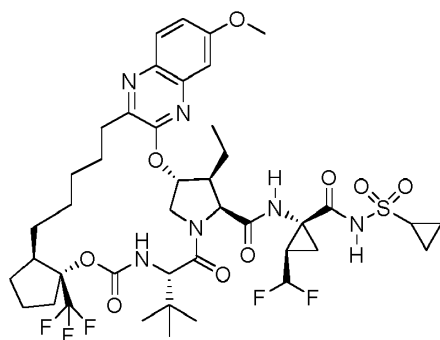
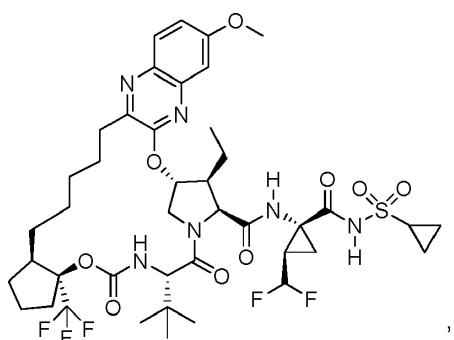
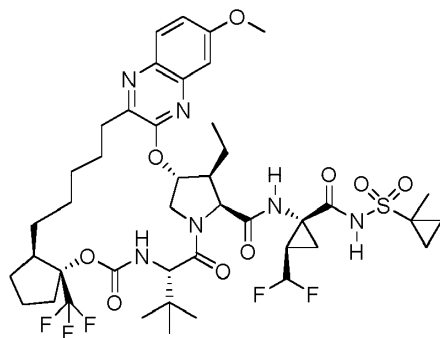
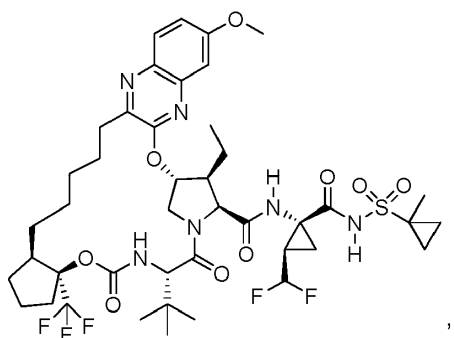
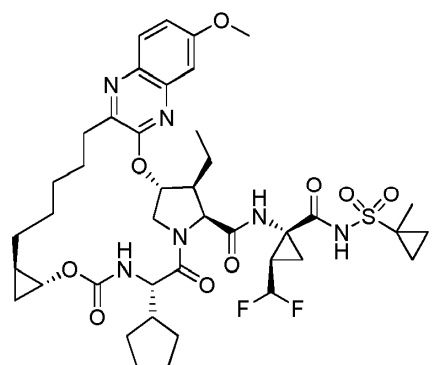
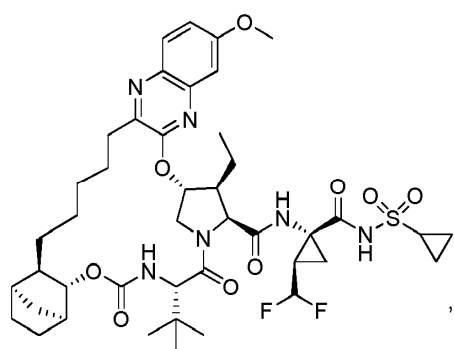
In un'altra realizzazione di Formula (IV), W è metossile.

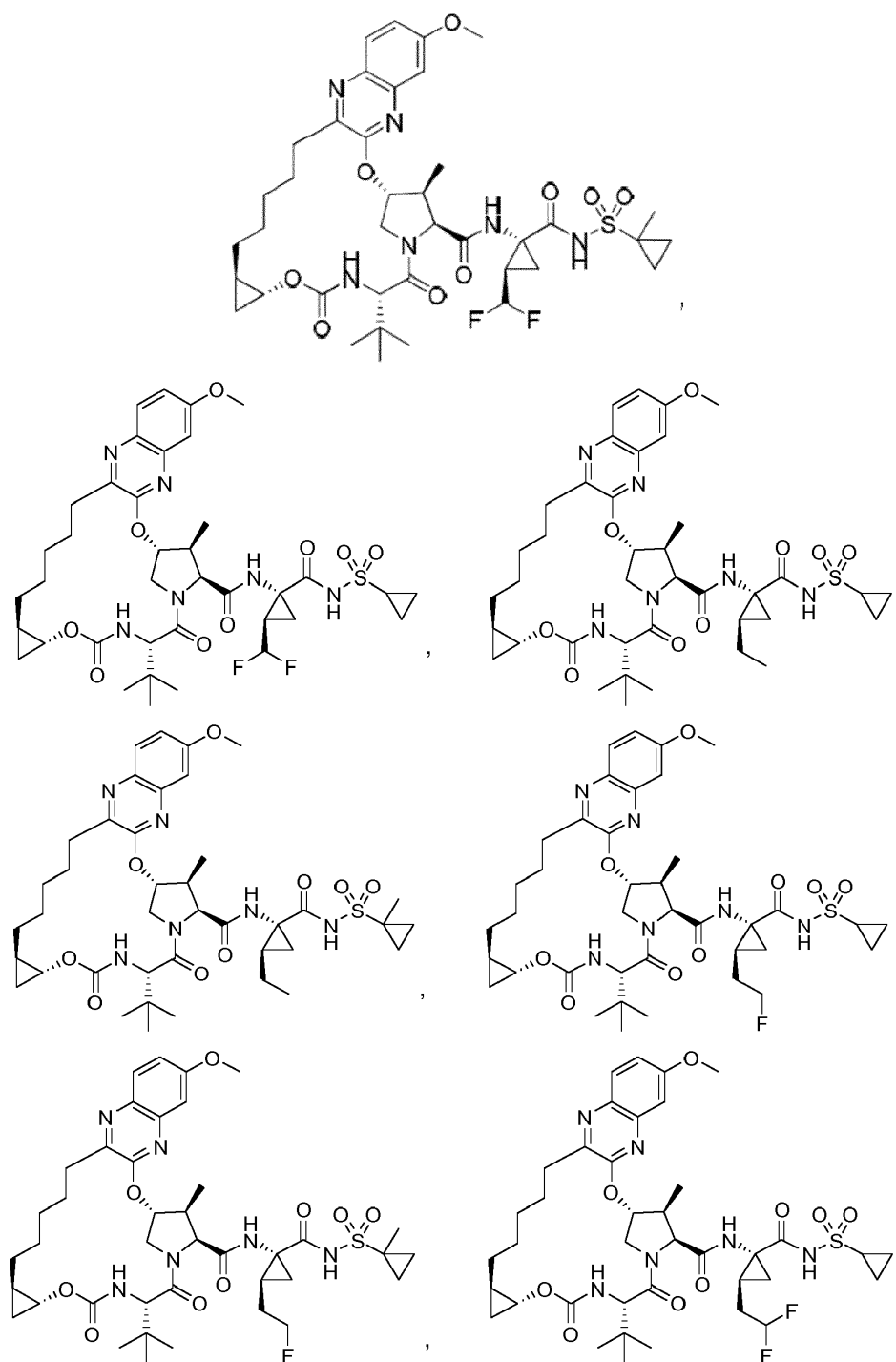
In un'altra realizzazione di Formula (IV), Z^{2a} è idrogeno o metile.

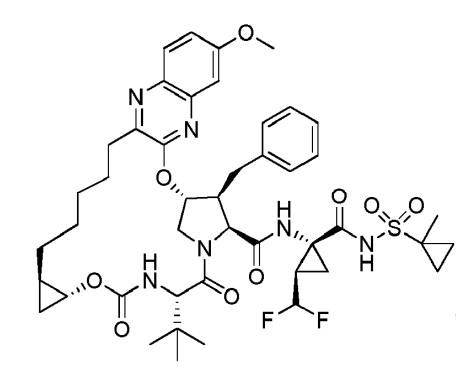
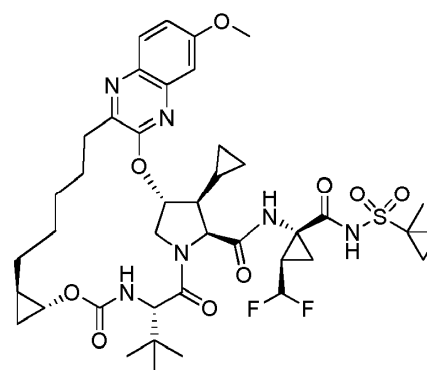
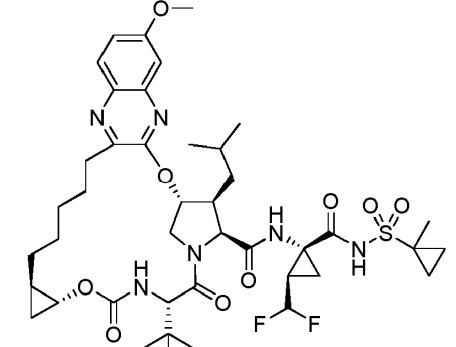
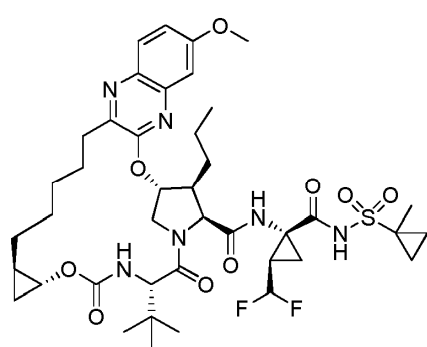
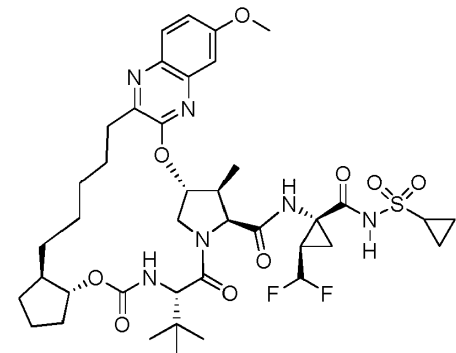
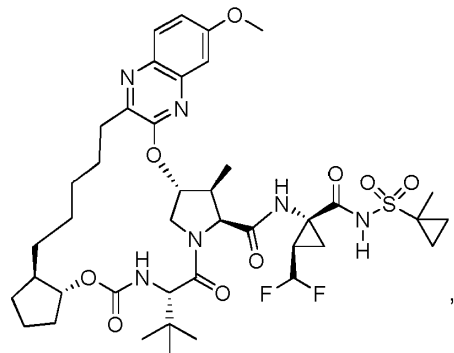
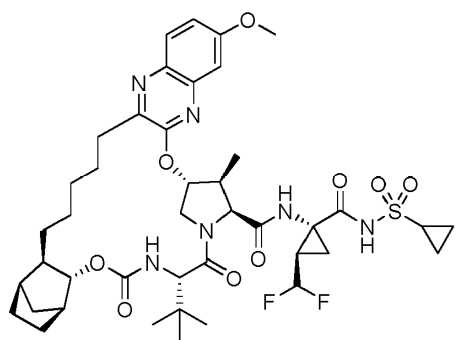
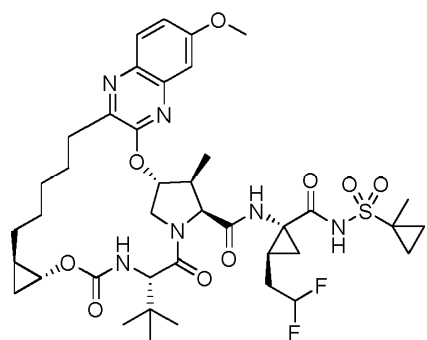
In un'altra realizzazione di Formula (IV), Z^{2a} è metile.

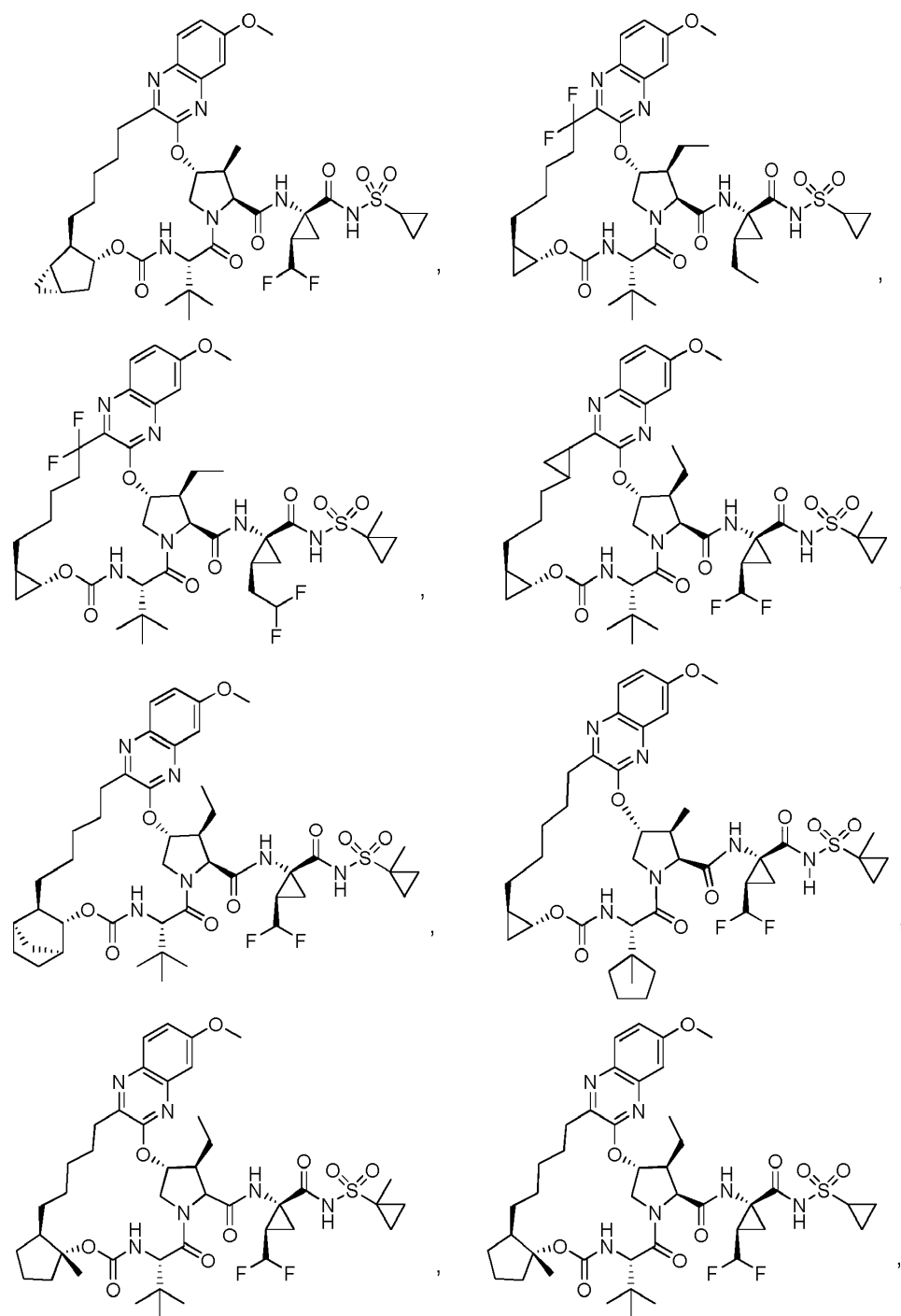
È inoltre fornito un composto scelto dal gruppo costituito da:

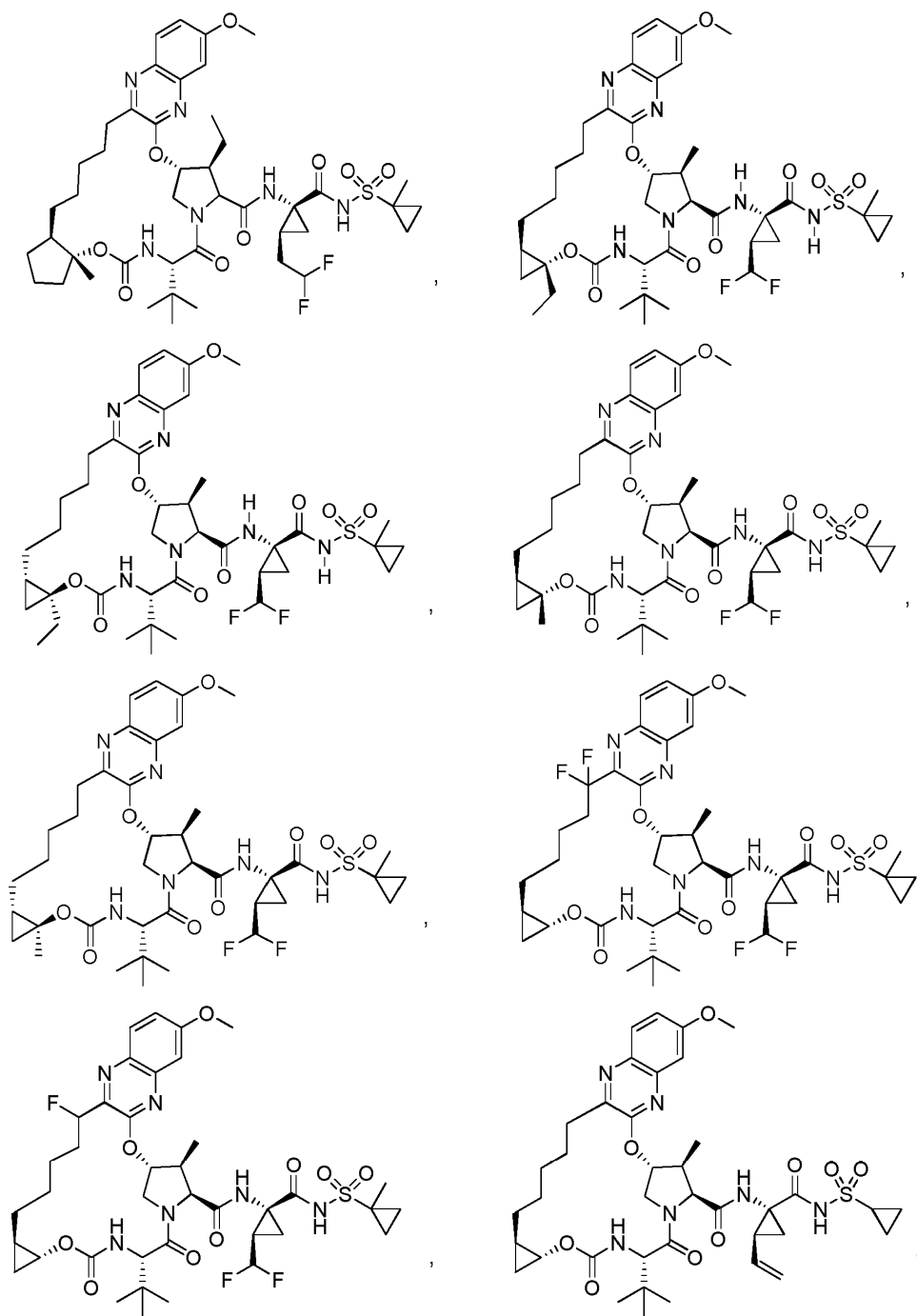


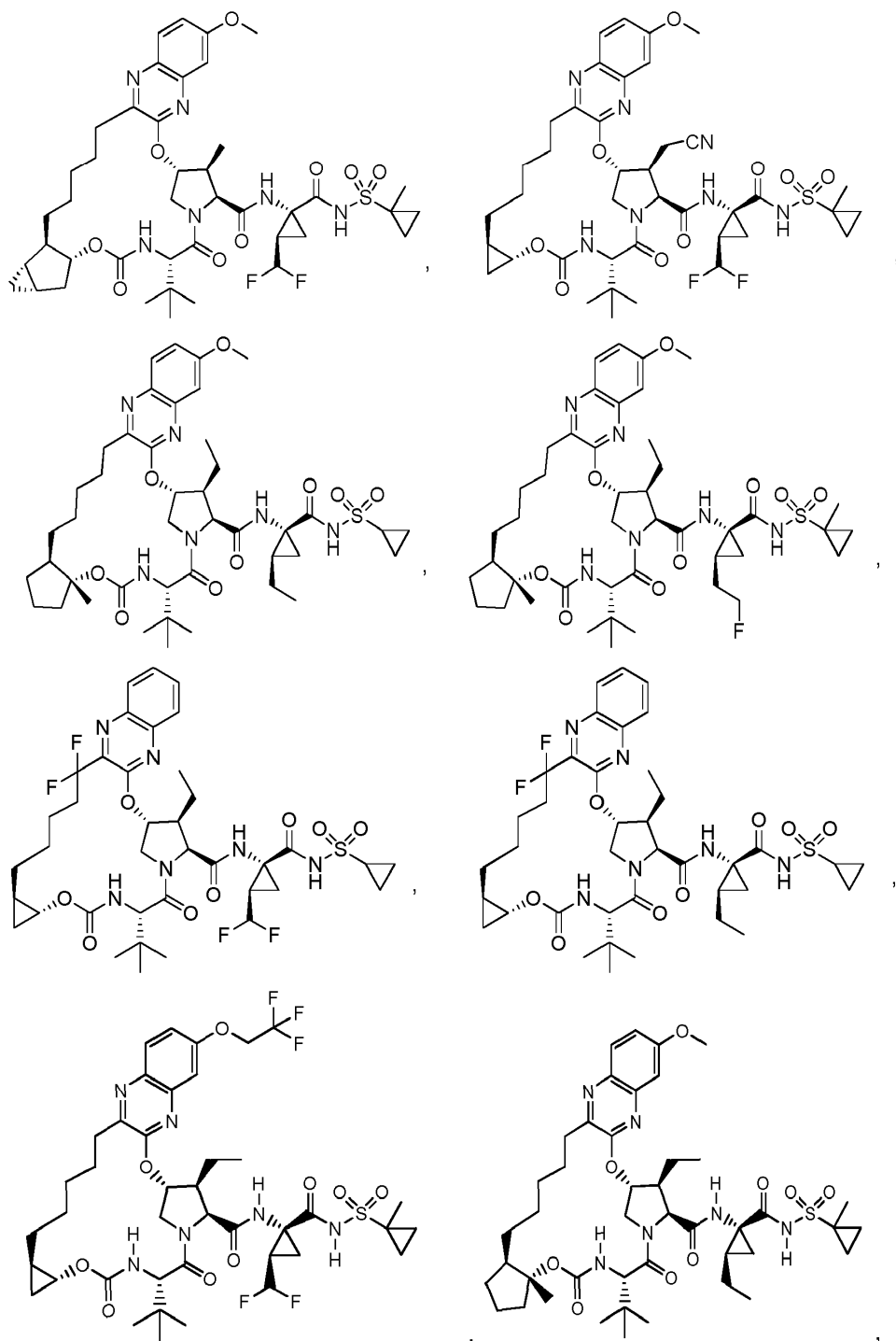


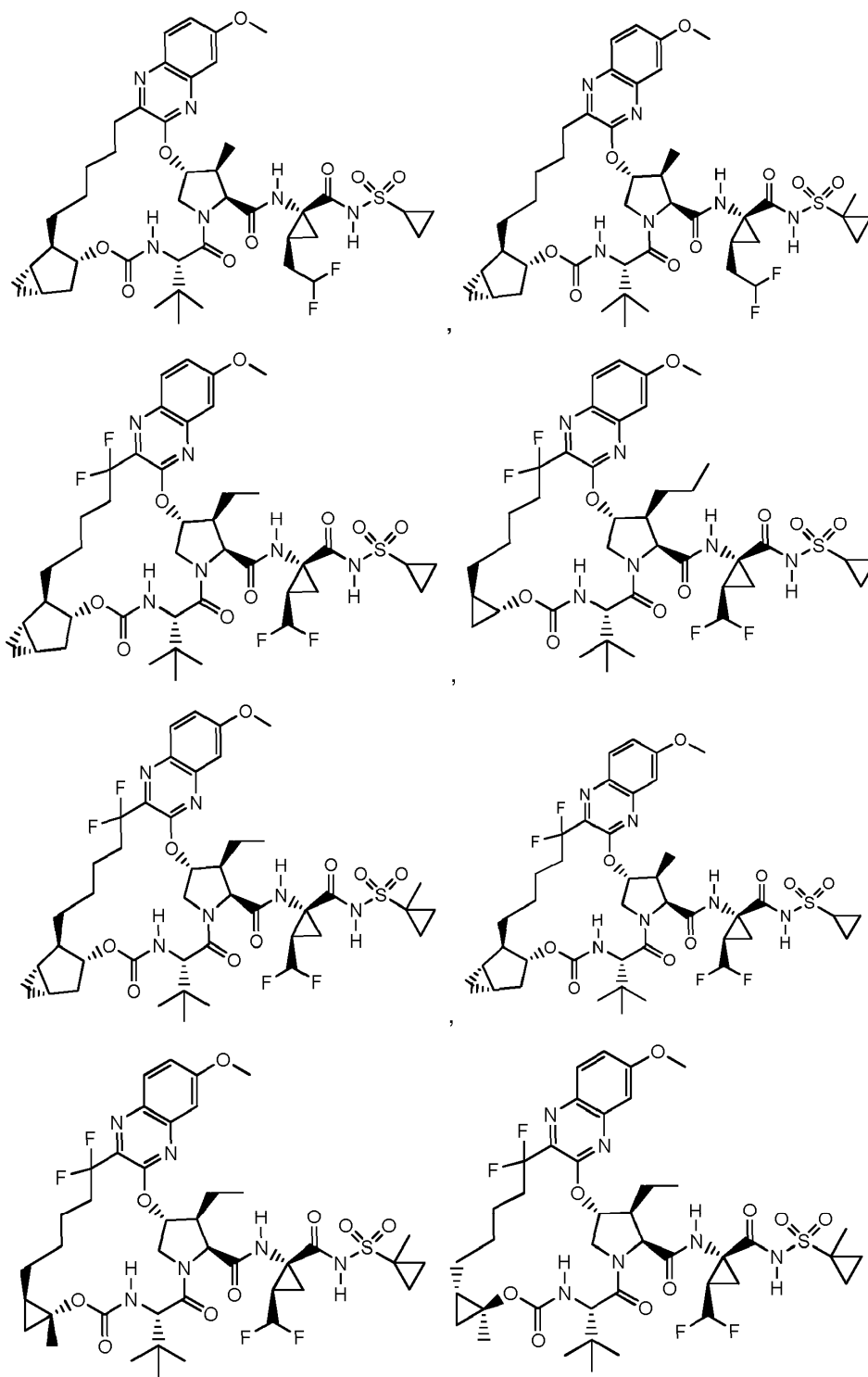


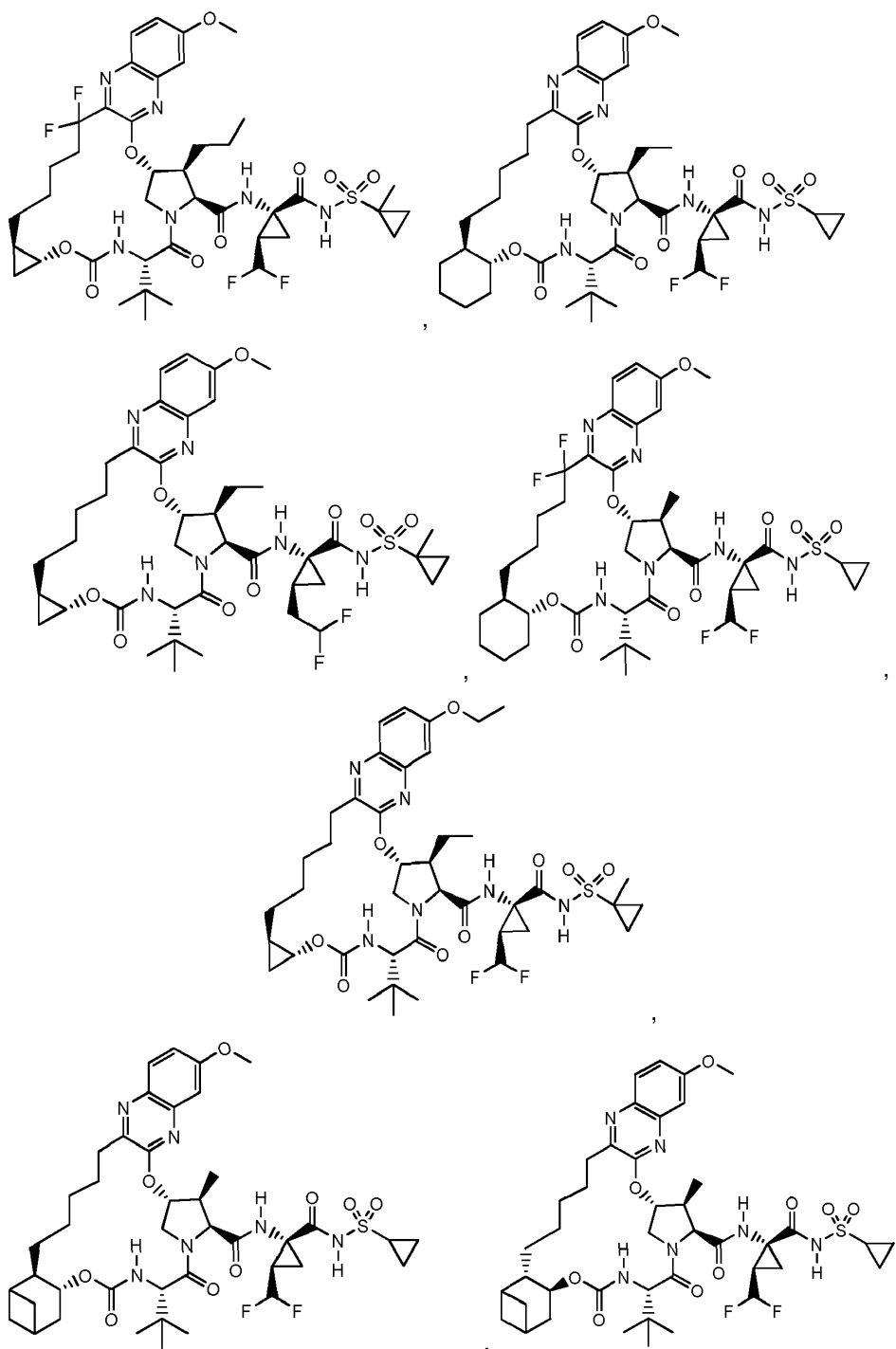


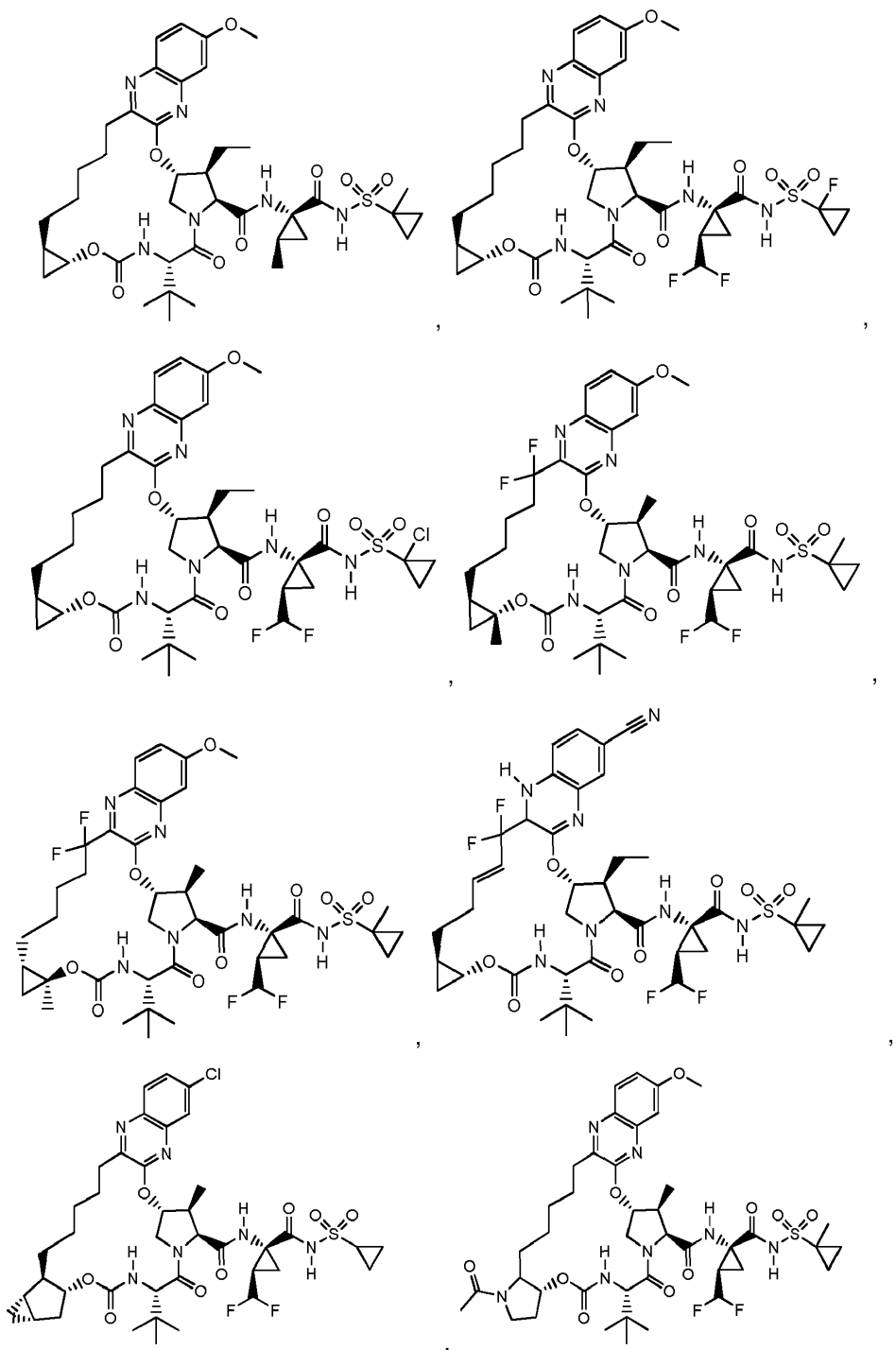


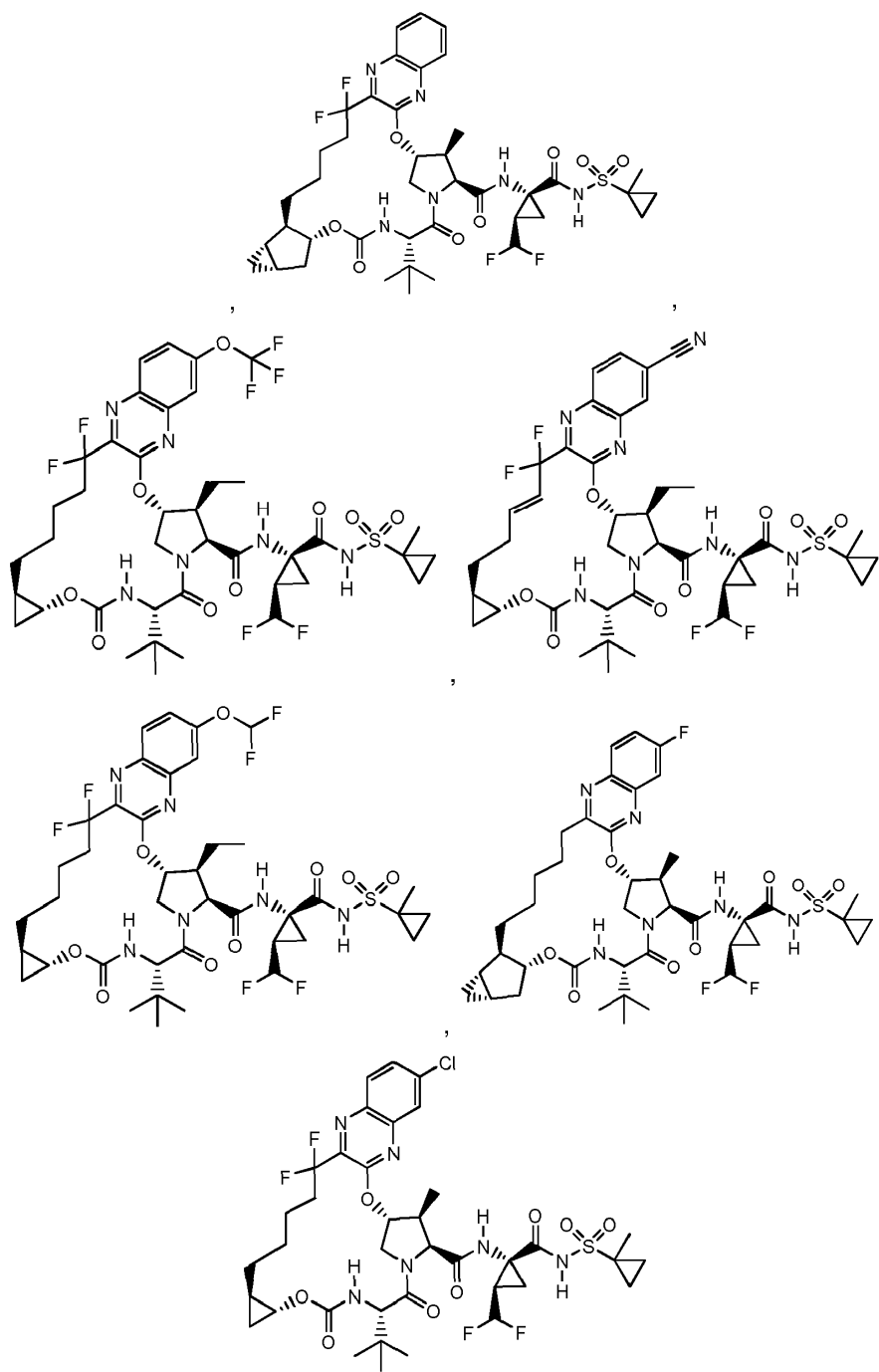


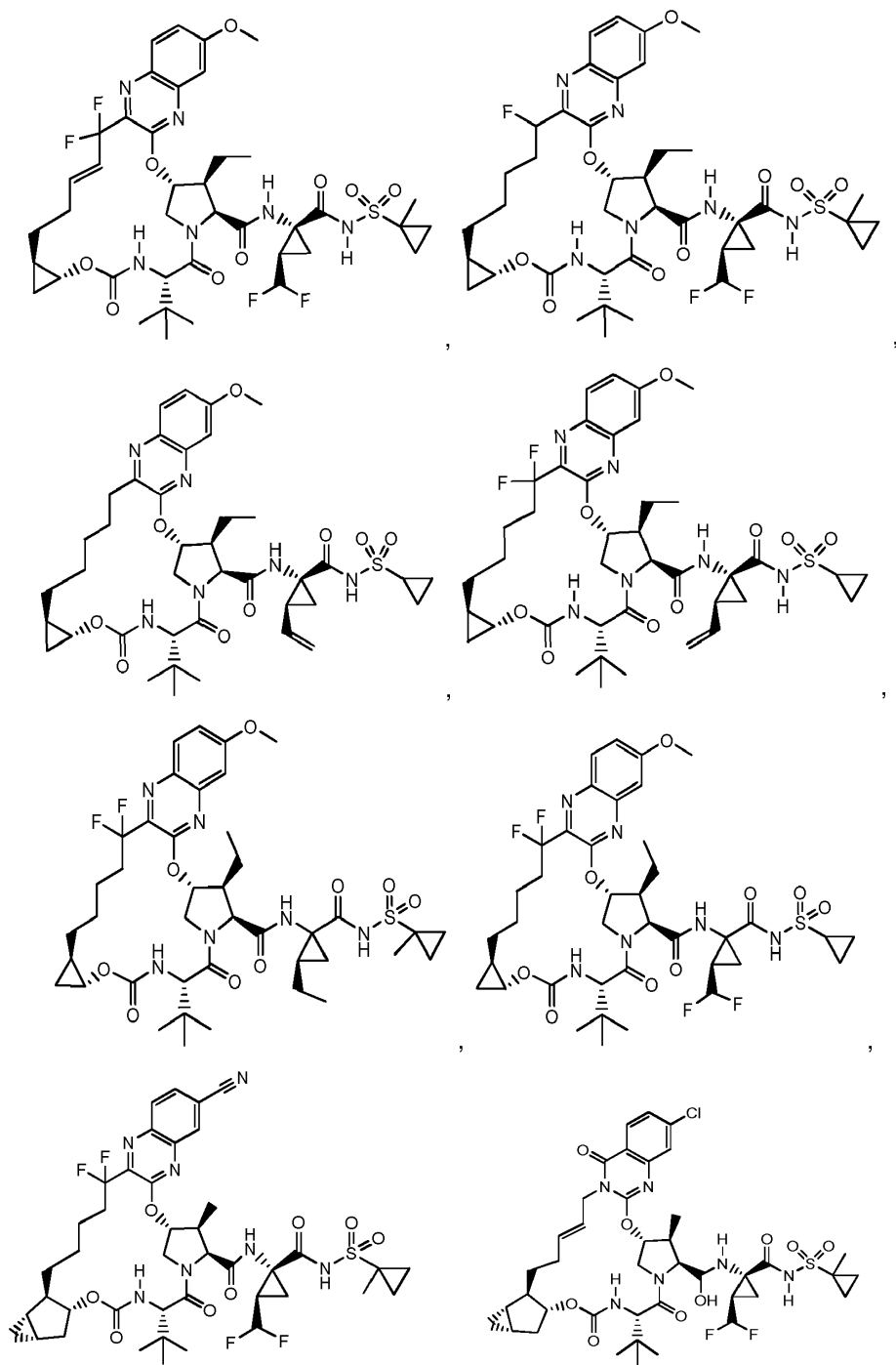




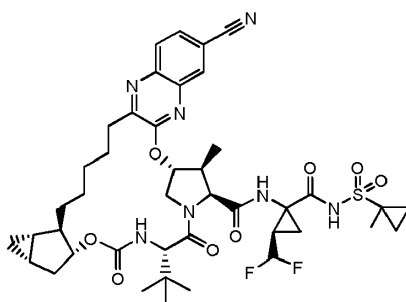




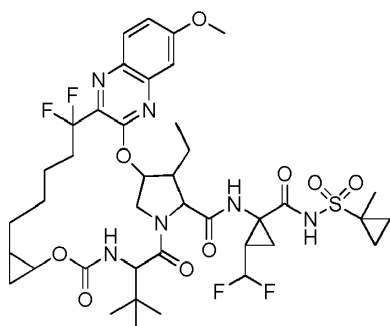




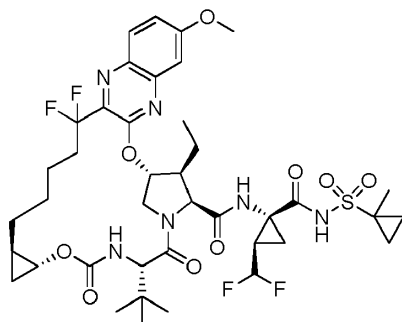
e



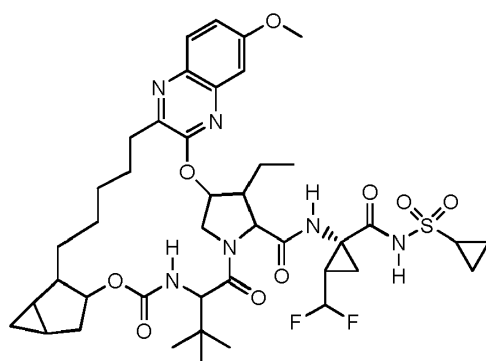
Un composto di una qualsiasi di Formula IVa, IVb, IVc, IVd, IVe, IVf, IVg, o IVh, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, è escluso:



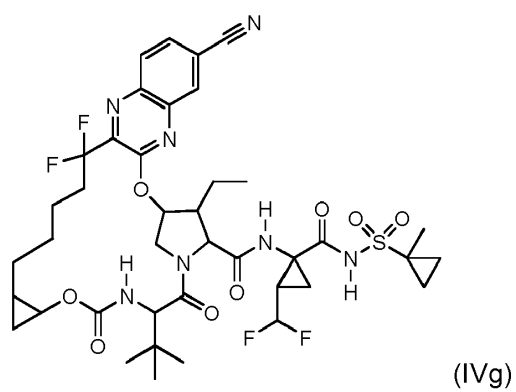
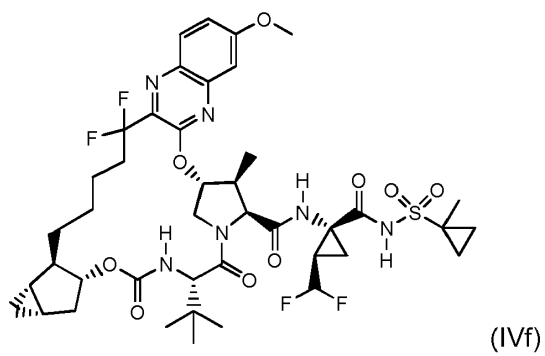
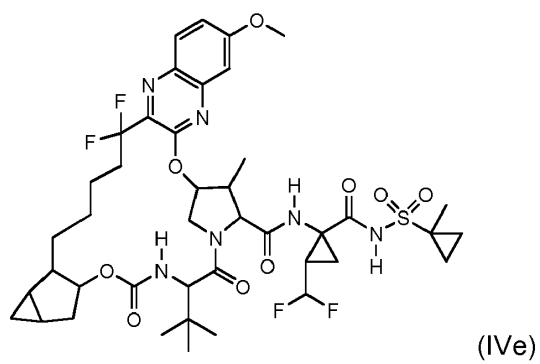
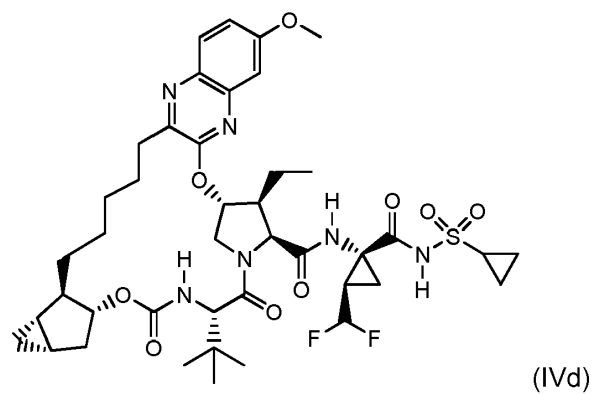
(IVa)

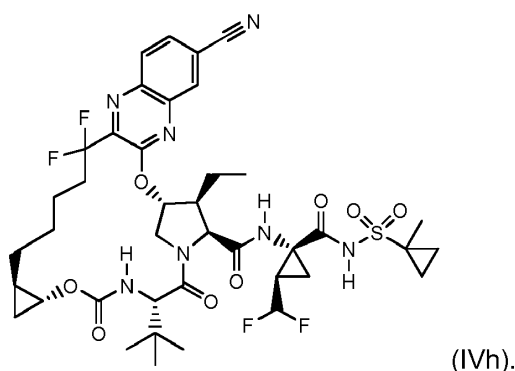


(IVb)



(IVc)





Metodi di trattamento

Una realizzazione fornisce un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso in terapia medica (ad es., per uso nel trattare una infezione virale da *Flaviviridae* (ad es., una infezione virale da HCV) o la proliferazione del virus HCV o ritardare l'insorgenza di sintomi di HCV in un paziente (ad es., un mammifero come un essere umano).

Una realizzazione fornisce un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh) o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nella fabbricazione di un medicamento per trattare una infezione virale da *Flaviviridae* (ad es., una infezione virale da HCV) o la proliferazione del virus HCV o ritardare l'insorgenza di sintomi di HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad es., mammifero come un essere umano).

Una realizzazione fornisce un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso nel trattamento profilattico o terapeutico della proliferazione di un virus *Flaviviridae*, un virus di HCV o per uso nel trattamento terapeutico per ritardare l'insorgenza di sintomi di HCV.

Una realizzazione fornisce un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh) o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso nel trattamento profilattico o terapeutico di una infezione da virus di *Flaviviridae* (ad es., una infezione da virus HCV).

Una realizzazione fornisce l'uso di un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno

stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per la fabbricazione di un medicamento per una infezione da virus di Flaviviridae (ad es., una infezione da virus HCV) in un mammifero (ad es., un essere umano).

In certe realizzazioni, è fornito un composto per uso in un metodo per trattare infezione da epatite C cronica. Il metodo include il somministrare ad un paziente che ne ha bisogno, un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

In certe realizzazioni, è fornito un composto per uso in un metodo per trattare infezione da epatite C in pazienti non sensibilizzati al trattamento. Il metodo include il somministrare ad un paziente non sensibilizzato al trattamento, un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In certe realizzazioni, è fornito un composto per uso in un metodo per trattare infezione da epatite C in pazienti con esperienza di trattamento. Il metodo include il somministrare ad un paziente con esperienza di trattamento, un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In certe realizzazioni, è fornito un composto per uso in un metodo per trattare infezione da epatite C in un paziente non eleggibile per interferone o intollerante ad interferone. Il metodo include il somministrare un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

In alcune realizzazioni, i metodi di trattamento qui descritti includono la somministrazione del composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per un periodo di durata. In alcune realizzazioni, il periodo fisso di durata è di 4 settimane, 6 settimane, 8 settimane, 10 settimane o 12 settimane. In altre realizzazioni, il periodo fisso di durata non è superiore a 12 settimane.

In alcune realizzazioni, il composto viene somministrato per circa 12 settimane. In altre realizzazioni, il

composto viene somministrato per circa 12 settimane o meno, per circa 10 settimane o meno, per circa 8 settimane o meno, per circa 6 settimane o meno, o per circa 4 settimane o meno.

Il composto può essere somministrato una volta al giorno, due volte al giorno, una volta a giorni alterni, due volte alla settimana, tre volte alla settimana, quattro volte alla settimana o cinque volte alla settimana.

In alcune realizzazioni, i metodi di trattamento qui descritti includono la somministrazione di un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, ad infezione da HCV genotipo (GT) 1, 2, 3, 4, 5 o 6 (ovvero, un metodo per trattare un'infezione da HCV GT 1, 2, 3, 4, 5 o 6).

Una realizzazione fornisce un composto per l'uso in un metodo per il trattamento di un'infezione da HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad esempio un mammifero come un essere umano), in cui il paziente è infetto dal genotipo HCV 1. Il metodo include la somministrazione di un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

Una realizzazione fornisce un composto per l'uso in un metodo per il trattamento di un'infezione da HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad esempio un mammifero come un essere umano), in cui il paziente è infettato con genotipo HCV 2. Il metodo include la somministrazione di un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

Una realizzazione fornisce un composto per l'uso in un metodo per il trattamento di un'infezione da HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad esempio un mammifero come un essere umano), in cui il paziente è infetto con genotipo HCV 3. Il metodo include la somministrazione di un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

Una realizzazione fornisce un composto per l'uso in un metodo per il trattamento di un'infezione da HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad esempio un mammifero come un essere umano), in cui il paziente è infetto con

genotipo HCV 4. Il metodo include la somministrazione di un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

Una realizzazione fornisce un composto per uso in un metodo per trattare una infezione da HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad es., un mammifero come un essere umano), in cui il paziente è infettato con HCV genotipo 5. Il metodo include il somministrare un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

Una realizzazione fornisce un composto per uso in un metodo per trattare una infezione da HCV in un paziente che ne ha bisogno (ad es., un mammifero come un essere umano), in cui il paziente è infettato con HCV genotipo 6. Il metodo include il somministrare un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente.

Nei metodi di trattamento descritti nella presente, la fase di somministrazione include la somministrazione di una quantità terapeuticamente efficace di un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, al paziente che necessita di trattamento.

In alcune realizzazioni, sono forniti metodi per inibire l'attività di HCV. Tali metodi comprendono la fase di trattare un campione sospettato di contenere HCV con un composto o composizione qui descritti.

In una realizzazione, i composti descritti nella presente agiscono come inibitori di HCV, come intermedi per tali inibitori o hanno altre utilità come descritto di seguito.

In alcune realizzazioni, i composti che si legano nel fegato possono legarsi con vari gradi di reversibilità.

In una realizzazione, un metodo per trattare HCV include l'aggiunta di un composto descritto nella presente nel campione. La fase di aggiunta comprende qualsiasi metodo di somministrazione come descritto sopra.

Se lo si desidera, l'attività dell'HCV dopo l'applicazione del composto può essere osservata con qualsiasi metodo, compresi i metodi diretti e indiretti di rilevamento dell'attività dell'HCV. Tutti i metodi quantitativi, qualitativi e semiquantitativi per determinare l'attività dell'HCV sono contemplati. Tipicamente, uno dei metodi di *screening*

descritti sopra viene applicato, tuttavia, sono applicabili anche altri metodi come l'osservazione delle proprietà fisiologiche di un organismo vivente.

Molti organismi contengono HCV. I composti di questa invenzione sono utili nel trattamento o nella profilassi di condizioni associate all'attivazione di HCV negli animali o nell'uomo.

Formulazioni farmaceutiche

"Accettabile farmaceuticamente" significa adatto per l'uso in preparati farmaceutici, generalmente considerati sicuri per tale uso, approvati ufficialmente da un'agenzia di regolamentazione di un governo nazionale o statale per tale uso, o elencato nella Farmacopea degli Stati Uniti o altra farmacopea generalmente riconosciuta per uso negli animali e più in particolare nell'uomo.

"Veicolo accettabile farmaceuticamente" si riferisce ad un diluente, coadiuvante, eccipiente o veicolo o altro ingrediente che è accettabile farmaceuticamente e con cui viene somministrato un composto dell'invenzione.

I composti di questa invenzione sono formulati con veicoli convenzionali (ad esempio, ingrediente inattivo o materiale eccipiente), che saranno scelti secondo la pratica ordinaria. Le compresse conterranno eccipienti inclusi agenti di scorrevolezza, riempitivi, leganti e simili. Le formulazioni acquose sono preparate in forma sterile e, quando destinate al rilascio per somministrazione diversa dalla somministrazione orale, saranno generalmente isotoniche. Tutte le formulazioni opzionalmente contengono eccipienti come quelli esposti nel *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (1986). Gli eccipienti includono acido ascorbico e altri antiossidanti, agenti chelanti come EDTA, carboidrati come destrina, idrossialchilcellulosa, idrossialchilmetilcellulosa, acido stearico e simili. Una realizzazione fornisce la formulazione come una forma di dosaggio solida comprendente una forma di dosaggio orale solida. Il pH delle formulazioni varia da circa 3 a circa 11, ma è ordinariamente da circa 7 a 10.

Mentre è possibile che i principi attivi siano somministrati da soli, può essere preferibile presentarli come formulazioni farmaceutiche (composizioni). Le formulazioni, sia per uso veterinario che per uso umano, dell'invenzione comprendono almeno un ingrediente attivo, come sopra definito, insieme con uno o più veicoli accettabili per questo e opzionalmente altri ingredienti terapeutici. Il veicolo(i) deve essere "accettabile" nel

senso di essere compatibile con gli altri ingredienti della formulazione e fisiologicamente innocuo per il destinatario dello stesso.

Le formulazioni includono quelle adatte per i suddetti percorsi di somministrazione. Le formulazioni possono convenientemente essere presentate in forma di dosaggio unitario e possono essere preparate mediante uno qualsiasi dei metodi ben noti nella tecnica della farmacia. Tecniche e formulazioni generalmente si trovano in *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania). Tali metodi includono il passaggio di mettere in associazione il principio attivo con ingredienti inattivi (ad es. un veicolo, un eccipiente farmaceutico, ecc.) che costituisce uno o più ingredienti accessori. In generale, le formulazioni sono preparate uniformando e portando in associazione intima il principio attivo con veicoli liquidi o veicoli solidi finemente suddivisi o entrambi, e quindi, se necessario, modellando il prodotto.

In alcune realizzazioni, formulazioni adatte per la somministrazione orale sono presentate come unità distinte come capsule, *cachet* o compresse contenenti ciascuna una quantità predeterminata del principio attivo.

In alcune realizzazioni, le formulazioni farmaceutiche includono uno o più composti dell'invenzione insieme con uno o più veicoli o eccipienti accettabili farmaceuticamente e opzionalmente altri agenti terapeutici. Le formulazioni farmaceutiche contenenti il principio attivo possono essere in qualsiasi forma adatta al metodo di somministrazione previsto. Se usato per uso orale, ad esempio, si possono preparare compresse, pastiglie, pasticche, sospensioni acquose o oleose, polveri o granuli disperdibili, emulsioni, capsule rigide o molli, sciroppi o elisir. Le composizioni destinate all'uso orale possono essere preparate secondo qualsiasi metodo noto nella tecnica per la fabbricazione di composizioni farmaceutiche e tali composizioni possono contenere uno o più agenti inclusi agenti dolcificanti, agenti aromatizzanti, agenti coloranti e agenti conservanti, al fine di fornire una preparazione gradevole. Le compresse contenenti il principio attivo in miscela con eccipienti accettabili farmaceuticamente non tossici che sono adatti per la produzione di compresse sono accettabili. Questi eccipienti possono essere, ad esempio, diluenti inerti, come carbonato di calcio o di sodio, lattosio, lattosio monoidrato, sodio croscarmellosa, povidone, fosfato di calcio o di sodio; agenti granulanti e disgreganti, come amido di mais o acido alginico; agenti leganti, come cellulosa, cellulosa microcristallina, amido, gelatina o gomma arabica; e

agenti lubrificanti, come magnesio stearato, acido stearico o talco. Le compresse possono essere non rivestite o rivestite con tecniche note inclusa la microincapsulazione per ritardare la disintegrazione e l'assorbimento nel tratto gastrointestinale e quindi fornire un'azione prolungata per un periodo più lungo. Ad esempio, può essere impiegato un materiale a ritardo temporale come gliceril monostearato o gliceril distearato da solo o con una cera.

La quantità di principio attivo che è combinato con gli ingredienti inattivi per produrre una forma di dosaggio varierà a seconda dell'ospite trattato e della particolare modalità di somministrazione. Ad esempio, in alcune realizzazioni, una forma di dosaggio per somministrazione orale per l'uomo contiene approssimativamente da 1 a 1000 mg di materiale attivo formulato con una quantità appropriata e conveniente di materiale di supporto (ad esempio, ingrediente inattivo o materiale eccipiente). In certe realizzazioni, il materiale di veicolo varia da circa il 5 a circa il 95% delle composizioni totali (peso:peso). In alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche descritte nella presente contengono da 1 a 800 mg, da 1 a 600 mg, da 1 a 400 mg, da 1 a 200 mg, da 1 a 100 mg o da 1 a 50 mg del composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero o una miscela di stereoisomeri o un suo sale accettabile farmaceuticamente. In alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche descritte nella presente contengono non più di circa 400 mg del composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente. In alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche descritte nella presente contengono circa 100 mg del composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

Si deve comprendere che oltre agli ingredienti particolarmente menzionati sopra, le formulazioni qui descritte possono includere altri agenti convenzionali nella tecnica in relazione al tipo di formulazione in questione, per esempio quelli adatti per la somministrazione orale possono includere agenti aromatizzanti.

Sono inoltre fornite composizioni veterinarie comprendenti almeno un ingrediente attivo come sopra definito insieme con un veicolo veterinario.

I veicoli veterinari sono materiali utili allo scopo di somministrare la composizione e possono essere materiali

solidi, liquidi o gassosi che sono altrimenti inerti o accettabili nella tecnica veterinaria e sono compatibili con il principio attivo. Queste composizioni veterinarie possono essere somministrate per via orale, per via parenterale o per qualsiasi altra via desiderata.

La dose efficace di ingrediente attivo dipende almeno dalla natura della condizione da trattare, dalla tossicità, dal fatto che il composto sia usato per profilassi (dosi più basse), dal metodo di rilascio e dalla formulazione farmaceutica e sarà determinato dal personale clinico usando studi di aumento della dose convenzionali.

Vie di somministrazione

Uno o più composti di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh) (qui indicati come ingredienti attivi), o un loro sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati mediante qualsiasi via appropriata alla condizione da trattare. Vie adatte includono le vie orali, rettali, nasali, topiche (comprese buccale e sublinguale), vaginali e parenterali (incluse quelle sottocutanee, intramuscolari, endovenose, intradermiche, intratecali ed epidurali), e simili. Si comprenderà che il percorso preferito può variare con, ad esempio, la condizione del ricevente. Un vantaggio dei composti di questa invenzione è che essi sono biodisponibili per via orale e possono essere somministrati per via orale. Di conseguenza, in una realizzazione, le composizioni farmaceutiche qui descritte sono forme di dosaggio orale. In alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche qui descritte sono forme di dosaggio orale solide.

Un esperto nella tecnica comprenderà che sostituenti e altre porzioni dei composti della formula generica devono essere scelti al fine di fornire un composto che sia sufficientemente stabile per fornire un composto farmaceuticamente utile che può essere formulato in una composizione farmaceutica accettabilmente stabile. I composti che hanno una tale stabilità sono contemplati come rientranti nel campo della presente invenzione. Dovrebbe essere compreso da una persona esperta nella tecnica che qualsiasi combinazione delle definizioni e dei sostituenti sopra descritti non dovrebbe risultare in una specie o composto non funzionante.

Terapia combinata

In ancora un'altra realizzazione, la presente domanda descrive composizioni farmaceutiche comprendenti un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in

combinazione con almeno un agente terapeutico addizionale (ad es. ingrediente attivo), e un veicolo o eccipiente accettabile farmaceuticamente. In alcune realizzazioni, agenti terapeutici aggiuntivi includono agenti antivirali aggiuntivi.

L'agente terapeutico aggiuntivo usato in combinazione con i composti descritti nella presente include, senza limitazione, qualsiasi agente avente un effetto terapeutico quando usato in combinazione con il composto della presente invenzione. Tali combinazioni sono scelte in base alla condizione da trattare, alle reattività incrociate degli ingredienti e alle proprietà farmacologiche della combinazione. Per esempio, in certe realizzazioni, l'agente terapeutico usato in combinazione con i composti di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh) include, senza limitazione, uno dei seguenti: interferoni, analoghi della ribavirina, inibitori della proteasi NS3, inibitori di NS5a, inibitori di NS5b, inibitori di alfa-glucosidasi 1, epatoprotettori, inibitori non nucleosidici di HCV, analoghi nucleosidici e altri farmaci per il trattamento dell'infezione da HCV. In alcune realizzazioni, gli agenti terapeutici aggiuntivi includono, senza limitazione, inibitori della proteasi NS3, inibitori di NS5a e/o inibitori di NS5b. In alcune realizzazioni, è fornita una composizione farmaceutica comprendente un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o un suo sale accettabile farmaceuticamente e uno o più di un inibitore della proteasi NS3, un inibitore di NS5a e/o un inibitore di NS5b. In alcune realizzazioni, è fornita una composizione farmaceutica che include un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o un suo sale accettabile farmaceuticamente e uno o più di un inibitore di NS5a e/o un inibitore di NS5b. In alcune realizzazioni, sono fornite composizioni farmaceutiche che includono un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh) e uno o più agenti antivirali aggiuntivi, in cui l'agente antivirale aggiuntivo non è un analogo di interferone, ribavirina o ribavirina. In altre realizzazioni, sono fornite composizioni farmaceutiche che includono un composto di Formula IV (eccetto una qualsiasi di IVa-IVh), o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, e uno o più agenti antivirali addizionali, in cui l'agente antivirale aggiuntivo non è ribavirina o un analogo della ribavirina.

In certe realizzazioni, i composti descritti nella presente sono combinati con uno o più altri ingredienti attivi (ad esempio uno o più agenti antivirali aggiuntivi) in una forma di dosaggio unitaria per somministrazione

simultanea o sequenziale ad un paziente. La terapia combinata può essere somministrata come regime simultaneo o sequenziale. Se somministrata sequenzialmente, la combinazione viene somministrata in due o più somministrazioni. In alcune realizzazioni, gli ingredienti attivi sono: (1) co-formulati e somministrati o erogati simultaneamente in una composizione farmaceutica combinata; (2) rilasciati alternativamente o in parallelo come composizione farmaceutica separata; o (3) tramite qualche altro regime. Quando vengono rilasciati in terapia alternata, gli ingredienti attivi vengono somministrati o rilasciati sequenzialmente, ad esempio in compresse, pillole o capsule separate, o mediante diverse iniezioni in siringhe separate. In generale, durante la terapia di alternanza, viene somministrato sequenzialmente un dosaggio efficace di ciascun ingrediente attivo, cioè in serie, mentre nella terapia combinata vengono somministrati dosaggi efficaci di due o più principi attivi.

Interferoni illustrativi includono, senza limitazione, rIFN-alfa 2b pegilato (PEG-Intron), rIFN-alfa 2a pegilato (Pegasis), rIFN-alfa 2b (Intron A), rIFN-alfa 2a (Roferon-A), interferone alfa (MOR-22, OPC-18, Alfaferone, Alfanative, Multiferon, subalin), interferone alfacon-1 (Infergen), interferone alfa-n1 (Wellferon), interferone alfa-n3 (Alferon), interferone-beta (Avonex, DL-8234), interferone-omega (omega DUROS, Biomed 510), albinterferone alfa-2b (Albuferon), IFN alfa XL, BLX-883 (Locteron), DA-3021, interferone alfa-2b glicosilato (AVI-005), PEG-Infergen, interferone lambda PEGilato (IL-29 PEGilato), o belerofon, IFN alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, IFN alfa consenso, infergen, rebif, IFN-beta pegilato, interferone alfa orale, feron, reaferon, intermax alfa, r-IFN-beta, e infergen + actimmune.

Analoghi di ribavarina illustrativi includono, senza limitazione, ribavirin (Rebetol, Copegus), levovirin VX-497, e taribavirin (Viramidine).

Inibitori di NS5A illustrativi includono, senza limitazione, ledipasvir (GS-5885), GS-5816, JNJ-47910382, daclatasvir (BMS-790052), ABT-267, MK-8742, EDP-239, IDX-719, PPI-668, GSK-2336805, ACH-3102, A-831, A-689, AZD-2836 (A-831), AZD-7295 (A-689), e BMS-790052.

Inibitori di NS5B illustrativi includono, senza limitazione, inibitore di polimerasi sofosbuvir (GS-7977), tegobuvir (GS-9190), GS-9669, TMC647055, ABT-333, ABT-072, setrobuvir (ANA-598), filibuvir (PF-868554), VX-222, IDX-375, IDX-184, IDX-102, BI-207127, valopicitabine (NM-283), R1626, PSI-6130

(R1656), PSI-7851, BCX-4678, nesbuvir (HCV-796), BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, GSK625433, XTL-2125, VCH-916, JTK-652, MK-3281, VBY-708, A848837, GL59728, A-63890, A-48773, A-48547, BC-2329, BMS-791325, e BILB-1941.

Inibitori di proteasi NS3 illustrativi includono, senza limitazione, GS-9451, GS-9256, simeprevir (TMC-435), ABT-450, boceprevir (SCH-503034), narlaprevir (SCH-900518), vaniprevir (MK-7009), MK-5172, danoprevir (ITMN-191), sovalprevir (ACH-1625), neceprevir (ACH-2684), Telaprevir (VX-950), VX-813, VX-500, faldaprevir (BI-201335), asunaprevir (BMS-650032), BMS-605339, VBY-376, PHX-1766, YH5531, BILN-2065, e BILN-2061.

Inibitori di alfa-glucosidasi 1 illustrativi includono, senza limitazione, celgosivir (MX-3253), Miglitol, e UT-231B.

Epatoprotettori illustrativi includono, senza limitazione, IDN-6556, ME 3738, MitoQ, e LB-84451.

Inibitori non nucleosidici di HCV illustrativi includono, senza limitazione, derivati di benzimidazolo, derivati di benzo-1,2,4-tiadiazina, e derivati di fenilalanina.

Analoghi nucleosidici illustrativi includono, senza limitazione, ribavirin, viramidine, levovirin, un L-nucleoside, o isatoribine e detto interferone è α -interferone o interferone pegilato.

Altri farmaci illustrativi per trattare infezione da HCV includono, senza limitazione, imiquimod, 852A, GS-9524, ANA-773, ANA-975, AZD-8848 (DSP-3025), PF-04878691, e SM-360320, inibitori di ciclofillina (ad es., DEBIO-025, SCY-635, o NIM811) o inibitori di HCV IRES (ad es., MCI-067); emericasan (IDN-6556), ME-3738, GS-9450 (LB-84451), silibilin, o MitoQ. BAS-100, SPI-452, PF-4194477, TMC-41629, GS-9350, GS-9585, e roxythromicina.

Altri farmaci illustrativi addizionali per trattare infezione da HCV includono, senza limitazione, zadaxin, nitazoxanide (alinea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavituximab, oglufanide, PYN-17, KPE02003002, actilon (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975 (isatoribine), XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacin, EHC-18, e NIM811.

Ancora altri farmaci illustrativi per trattare infezione da HCV includono, senza limitazione, timosina alfa 1

(Zadaxin), nitazoxanide (Alinea, NTZ), BIVN-401 (virostat), PYN-17 (altirex), KPE02003002, actilon (CPG-10101), GS-9525, KRN-7000, civacir, GI-5005, XTL-6865, BIT225, PTX-111, ITX2865, TT-033i, ANA 971, NOV-205, tarvacin, EHC-18, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, BMS-650032, Bavituximab, MDX-1106 (ONO-4538), Oglufanide, FK-788, VX-497 (merimepodib), DEBIO-025, ANA-975 (isatoribine), XTL-6865, o NIM811.

Procedure sintetiche generali

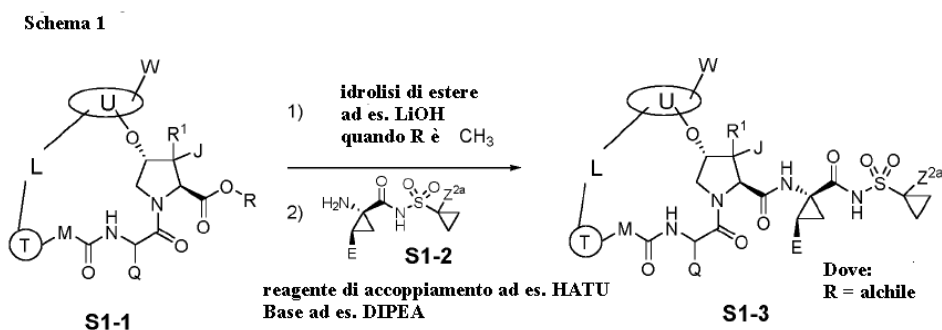
Gli schemi, le procedure e gli esempi qui forniti descrivono la sintesi dei composti qui descritti e gli intermedi usati per preparare i composti. Si deve comprendere che i singoli passaggi descritti nella presente possono essere combinati. Si deve anche comprendere che lotti separati di un composto possono essere combinati e quindi portati avanti nel passaggio sintetico successivo.

I seguenti schemi descrivono metodi che sono utili per preparare composti qui descritti.

L_F è un "frammento di associatore" (*cioè*, un precursore di L) in cui un legame di carbonio-carbonio insaturo attaccato (ad esempio alchene o alchino) nella porzione di L_F distale a $\textcircled{1}$ facilita, come esempio non limitativo, una reazione catalizzata da metalli che risulta nella connessione di L_F a U per formare un gruppo L. Esempi non limitativi di reazioni catalizzate da metalli che risultano in tale connessione includono la metatesi a chiusura dell'anello catalizzata da Ru o una reazione di accoppiamento incrociato catalizzata Pd (ad esempio accoppiamenti di Negishi, Heck o Sonagashira).

Gli spettri di risonanza magnetica nucleare ^1H (NMR) erano in tutti i casi coerenti con le strutture proposte. Spostamenti chimici caratteristici (δ) sono forniti in parti per milione a campi bassi dal tetrametilsilano usando le abbreviazioni convenzionali per la designazione dei picchi principali: ad es. s, singoletto; d, doppietto; t, tripletto; q, quartetto; m, multipletto; br, largo. Le seguenti abbreviazioni sono state usate per solventi comuni usati negli esperimenti di risonanza magnetica nucleare: CDCl_3 , cloroformio deuterato; CD_3OD , perdeuterometanolo; CD_3CN , perdeuteroacetonitrile; $d_6\text{-DMSO}$, perdeuterodimetilsolfossido. Gli spettri di massa sono stati ottenuti usando gli spettrometri di massa Thermo Scientific o Agilent Technologies dotati di ionizzazione per elettrospray (ESI). Le masse sono riportate come rapporti massa/carica (m/z) di, per esempio,

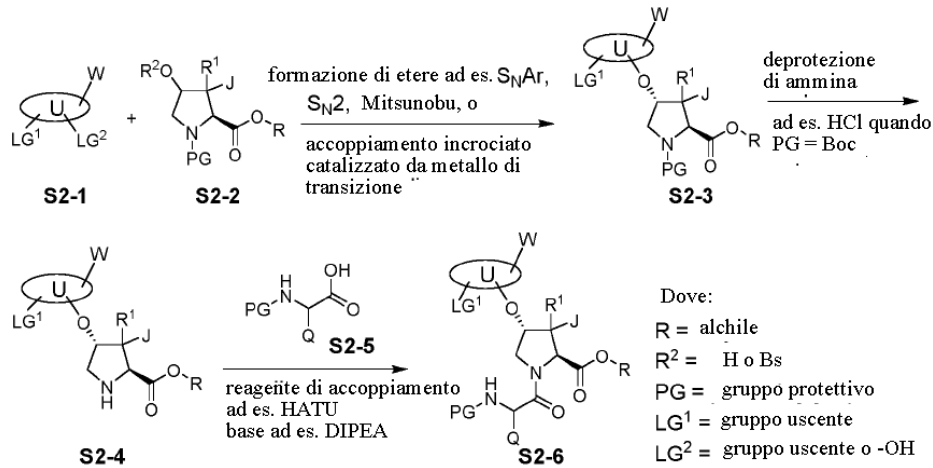
uno ione del composto (rappresentato da $[M]^+$), uno ione formato dal composto con un altro ione, come uno ione idrogeno (rappresentato da $[M+H]^+$), uno ione sodio (rappresentato da $[M+Na]^+$), uno ione formato dal composto perdendo uno ione, come il composto deprotonato (rappresentato da $[M-H]^-$ ecc. Le misurazioni HPLC analitiche sono state eseguite su HPLC Agilent Technologies Serie 1100 usando colonna Phenomenex Kinetex C18, 2,6 um 100 A, 4,6 x 100 mm con un programma di eluizione del 2% di solvente B per 0,55 min, gradiente al 98% del solvente B su 8 min che viene mantenuto al 98% del solvente B per 0,40 minuti prima di ritornare al 2% del solvente B in 0,02 minuti e mantenendo al 2% del solvente B per 2,03 minuti ad una portata di 1,5 ml/min (Solvente A = H₂O MilliQ filtrata + 0,1% TFA, solvente B = MeCN + 0,1% TFA). Il termine "cromatografia su strato sottile (TLC)" si riferisce alla cromatografia su gel di silice usando lastre di gel di silice 60 F₂₅₄. Il fattore di ritenzione (" R_f ") di un composto è la distanza percorsa da un composto divisa per la distanza percorsa dal fronte del solvente su una lastra per TLC. Termini come "eluizione precoce" e "eluizione tardiva" si riferiscono all'ordine in cui un composto eluisce o viene recuperato da un metodo di cromatografia in fase stazionaria solida/fase mobile di solvente liquido (ad es. cromatografia su fase normale su gel di silice o cromatografia liquida ad alta pressione in fase inversa (HPLC)).



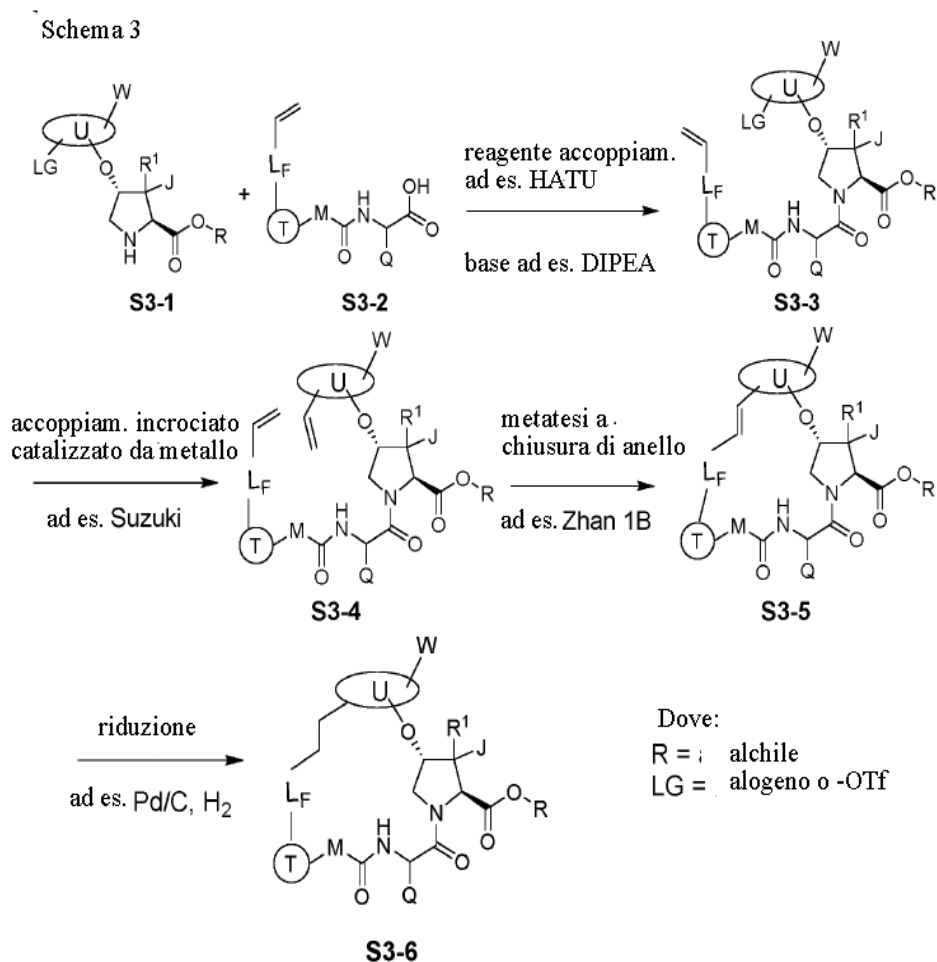
Lo Schema 1 mostra un percorso generale per S1-3, dove J, R¹, R, M, L, T, U, W e Q sono come qui definiti, Z^{2a} è come definito nella Formula IV o III, o è H o Z^{2a} come definito nella Formula I o II. Nello schema 1, intermedio dell'estere **S1-1** è idrolizzato con una base come l'idrossido di litio quando R è C₁-C₃ alchile (ad esempio metile) o con acido come acido trifluoroacetico quando R è *terz*-butile. Il prodotto dell'idrolisi dell'estere viene quindi accoppiato a un intermedio **S1-2** attraverso una reazione di accoppiamento (ad esempio

usando un agente di accoppiamento peptidico come HATU e una base come DIPEA) per generare composti della struttura generale **S1-3**.

Schema 2

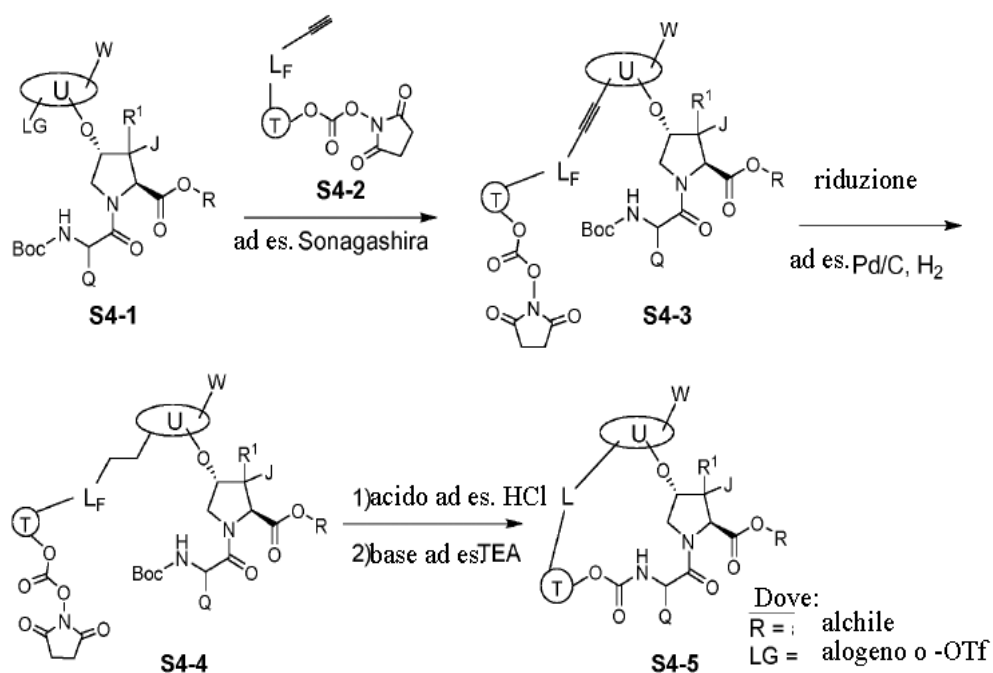


Lo schema 2 mostra una sintesi generale di un intermedio **S2-6** dove U , W , R^1 , J e Q sono descritti nella presente. Nello schema 2, una specie di prolina opportunamente sostituita e protetta **S2-2** subisce una reazione di eterificazione come S_NAr (*ad es.* trattamento con Cs_2CO_3 e **S2-1** dove R^2 è H e LG^2 è alogeno), S_N2 (*ad es.* preconversione di **S2-2** a un brosilato (R^2 è Bs) seguito dal trattamento con **S2-1** dove LG^2 è $-OH$ e base come DABCO), reazione di Mitsunobu (*ad es.* Trattamento di **S2-2** con DIAD e trifetilfosfina seguiti da **S2-1** dove LG^2 è $-OH$) o reazione di accoppiamento incrociato catalizzato con metallo (LG^2 è alogeno, R^2 è H) per generare intermedio **S2-3**. Intermedio **S2-3** è deprotetto (*ad es.* $4 N HCl$ in diossano quando PG è Boc) per preparare intermedio **S2-4**. Formazione del legame ammidico attraverso attivazione dell'acido carbossilico di **S2-5** usando agenti di accoppiamento peptidico o altri metodi di attivazione dell'acido carbossilico prima del trattamento di **S2-4** fornisce intermedio **S2-6**.



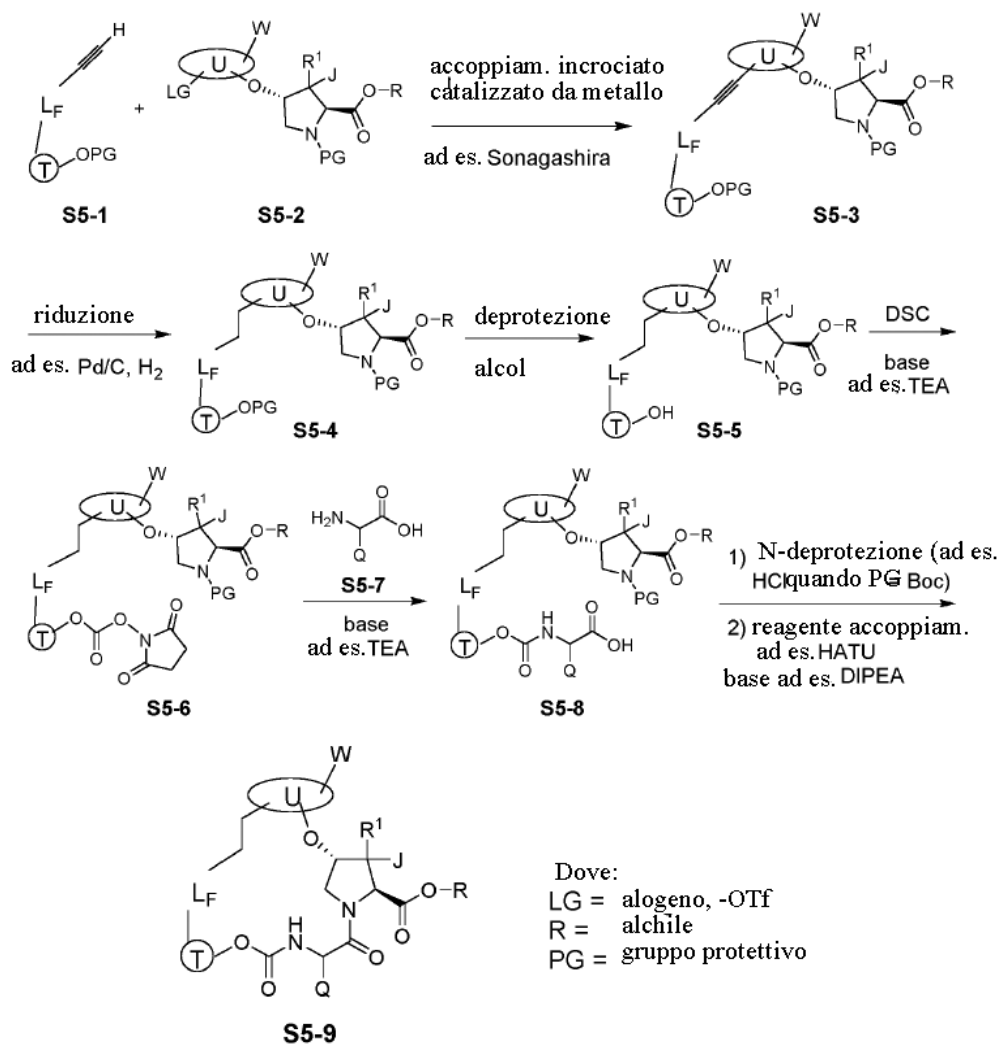
Lo schema 3 mostra una sintesi generale di intermedio **S3-6** dove L_F-CH₂-CH₂ è L, e U, W, R¹, J, Q, M, T e L sono descritti nella presente. Nello schema 3, un intermedio **S3-1** è accoppiato attraverso reazione di formazione del legame ammidico ad un intermedio **S3-2** per fornire intermedio **S3-3**. Accoppiamento incrociato catalizzato con metallo (ad esempio reazione di Suzuki usando potassio viniltrifluoroborato, Et₃N, Pd (dppf) Cl₂) per dare **S3-4**, seguito da metatesi di chiusura di anelli (ad esempio Zhan 1B) per dare **S3-5**, seguito dalla riduzione del doppio legame (ad esempio H₂, 10% Pd/C) fornisce intermedio **S3-6**.

Schema 4



Lo schema 4 mostra una sintesi generale di un intermedio **S4-5** dove $L_F\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ è L, e U, W, R¹, J, Q, Q e L sono descritti nella presente. Nello schema 4, intermedio **S4-1** è protetto da un gruppo di protezione come Boc. **S4-1** subisce un accoppiamento incrociato catalizzato con metalli di transizione (*ad es.* accoppiamento di Sonogashira) ad un intermedio **S4-2** per fornire intermedio **S4-3**. Il triplo legame di intermedio **S4-3** è ridotto a un singolo legame per idrogenazione (*ad es.* H₂, catalitico al 10% Pd/C) per dare intermedio **S4-4**. Deprotezione della Boc-ammina seguita da accoppiamento in condizioni basiche (*ad es.* trietilammina) fornisce intermedio **S4-5**.

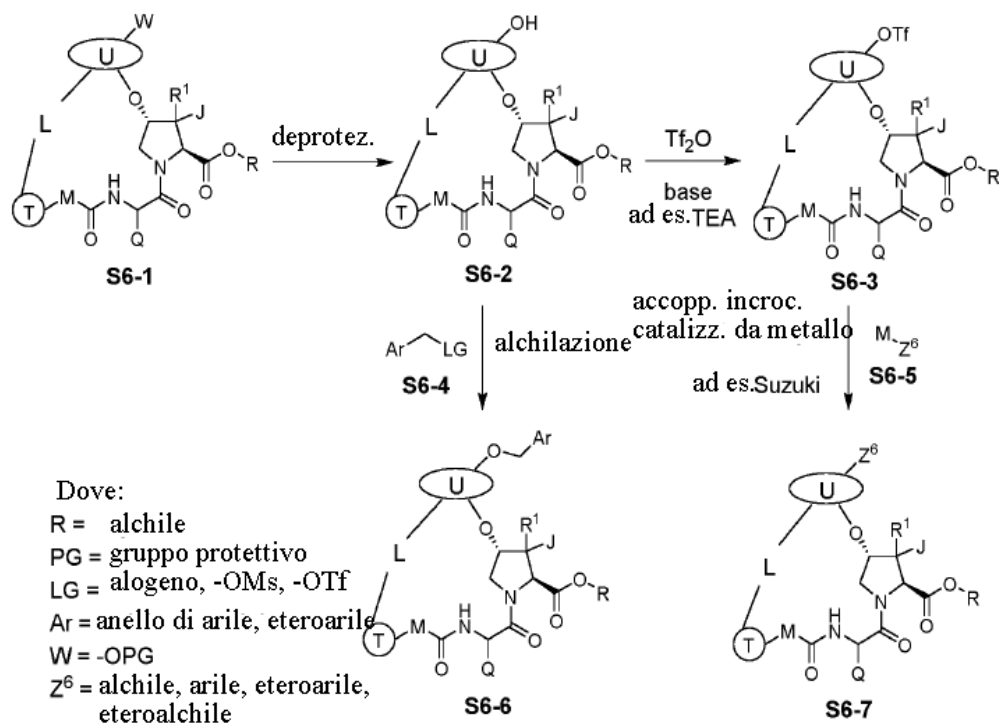
Schema 5



Lo Schema 5 mostra una sintesi generale di un intermedio **S5-9** dove $\text{L}_F\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ è L, e U, W, R^1 , J, Q, T e L sono descritti nella presente. Nello schema 5 intermedio **S5-1** subisce un accoppiamento incrociato catalizzato da metalli (come reazione di Sonogashira) con un intermedio **S5-2** per fornire intermedio **S5-3**. Il triplo legame di intermedio **S5-3** è ridotto ad un legame singolo in opportune conduzioni come idrogenazione (*ad es.* usando H_2 su catalizzatore 10% Pd/C) per dare intermedio **S5-4**. Deprotezione dell'alcol per fornire **S5-5**, seguito dall'attivazione (*ad es.* DSC in condizioni basiche, *ad es.* trietilammina) fornisce intermedio **S5-6**. Accoppiamento di **S5-6** e **S5-7** in condizioni basiche fornisce **S5-8**. Deprotezione dell'azoto della prolina (*ad es.*

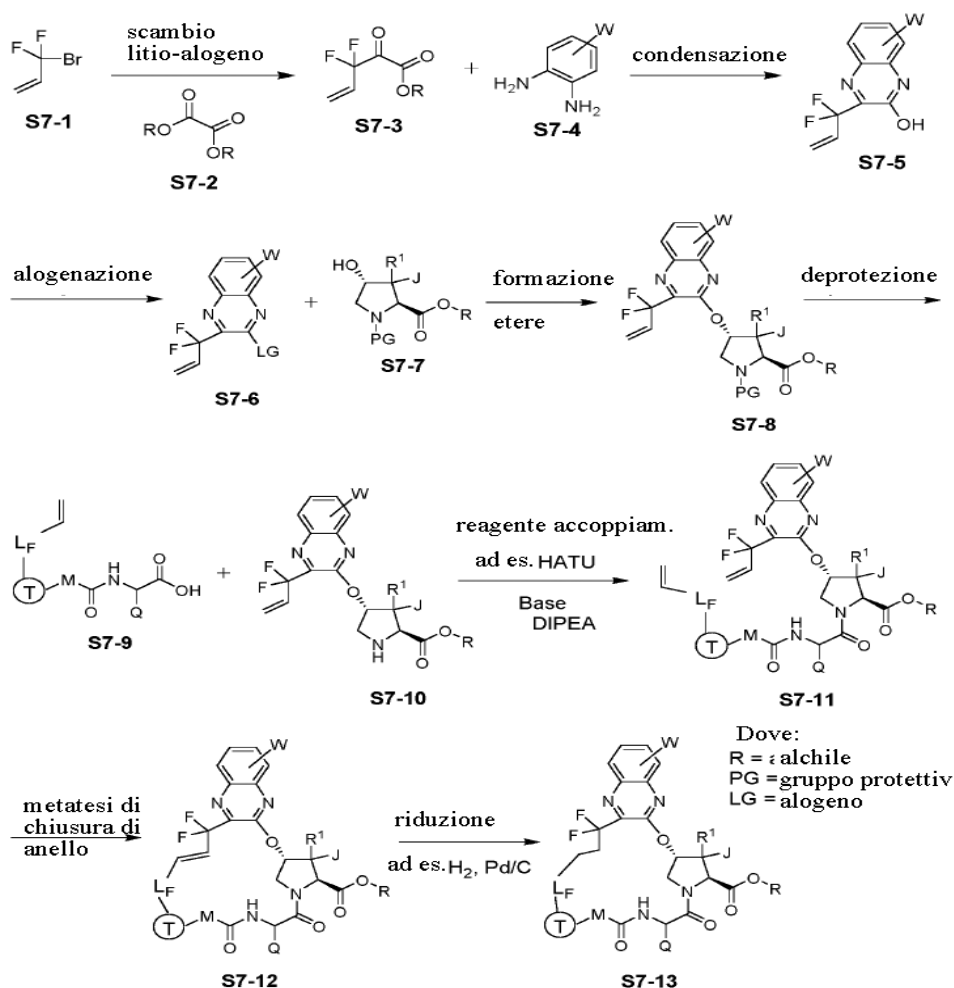
HCl in diossano quando PG = Boc) seguito da macrolattamizzazione (*ad es.* agente di accoppiamento come HATU in condizioni basiche) fornisce intermedio **S5-9**.

Schema 6



Lo Schema 6 mostra una sintesi generale degli intermedi **S6-6** e **S6-7** dove U, R¹, J, Q, M, T e L sono descritti nella presente. Nello schema 6 intermedio **S6-1**, W è OPG, dove PG è un gruppo di protezione. **S6-1** viene dapprima deprotezzato per dare intermedio **S6-2**. Alchilazione di intermedio **S6-2** con un elettrofilo appropriato come **S6-4** fornisce intermedio **S6-6**. Reazione di **S6-2** con anidride trifluorometansolfonica fornisce **S6-3**, che subisce quindi un accoppiamento incrociato catalizzato con un appropriato partner di accoppiamento nucleofilo come **S6-5** (*ad es.* reazione di Sonogashira o Suzuki) per fornire l'intermedio **S6-7**.

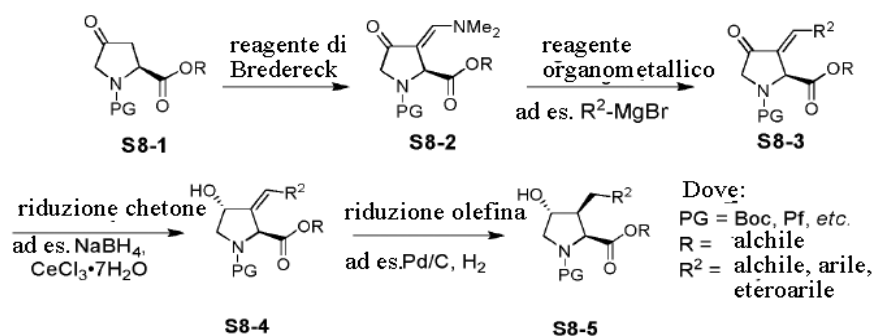
Schema 7



Lo Schema 7 mostra una sintesi generale di intermedio **S7-13** dove L_F-CH₂-CH₂CF₂ è L, e W, R¹, J, Q, M e T sono come descritti nella presente. Nel **S7-13**, L è C₁-C₃ alchile. Nello schema 7, intermedio **S7-1** prima subisce scambio di litio alogeno e poi viene trattato con intermedio **S7-2** per dare intermedio **S7-3**, che viene quindi condensato con intermedio **S7-4** per fornire la chinossalina intermedia **S7-5**. Alogenazione di **S7-5** (*ad es.* POCl₃) fornisce intermedio **S7-6**. Intermedio **S7-6** è collegato tramite una formazione di etere a intermedio **S7-7** attraverso una reazione S_NAr (*ad es.* Cs₂CO₃) per generare intermedio **S7-8**. Deprotezione di N-PG di intermedio **S7-8** fornisce **S7-10**. Una reazione di accoppiamento di legame ammidico di intermedio **S7-9** e intermedio **S7-10** (Ad esempio, EDC e HOBT o HATU, NMM, DIPEA) forniscono l'intermedio **S7-11**. Metatesi di chiusura di

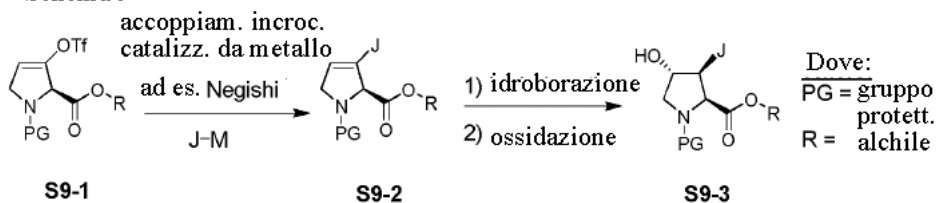
anello di **S7-11** genera intermedio **S7-12**. Riduzione del doppio legame (*ad es.* idrogenazione con palladio su carbone) fornisce intermedio **S7-13**.

Schema 8



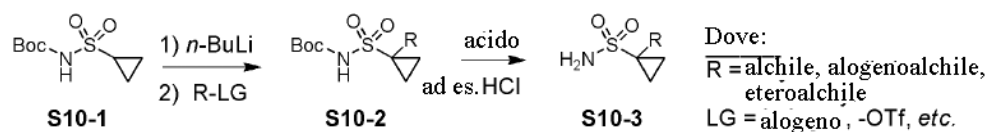
Schema 8 mostra una sintesi generale di intermedio **S8-5** in cui una prolina con gruppo 4-osso opportunamente protetto **S8-1** viene fatta reagire con reagente di Bredereck per generare enamminone **S8-2**. L'aggiunta di una specie organometallica fornisce enone **S8-3**, che subisce riduzione a intermedio ossidrilico **S8-4** in modo stereoselettivo (*ad es.* riduzione di Luche o riduzione di CBS). La successiva riduzione di olefina fornisce l'idrossi-prolina 3-sostituita intermedio **S8-5**.

Schema 9



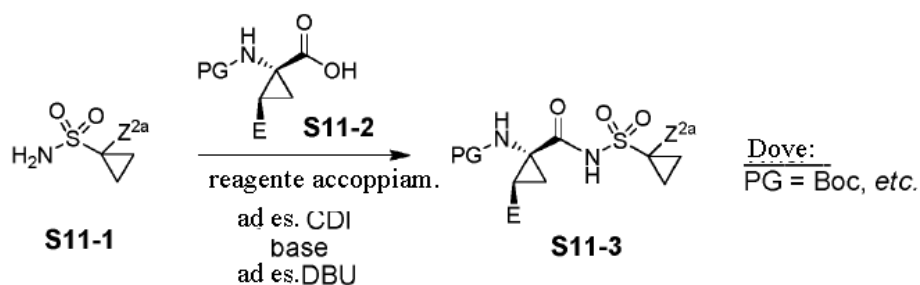
Schema 9 mostra una sintesi generale di intermedio **S9-3** in cui un triflato di vinile **S9-1** (preparato ad esempio con i metodi in Kamenecka, T.M., et al. *Tetrahedron Letters*, 2001, 8571) viene sottoposto ad accoppiamento incrociato catalizzato da metallo (*ad es.* accoppiamento di Negishi) per generare intermedio **S9-2**. Idrobrazione e successiva ossidazione di intermedio **S9-2** fornisce intermedio **S9-3**.

Schema 10



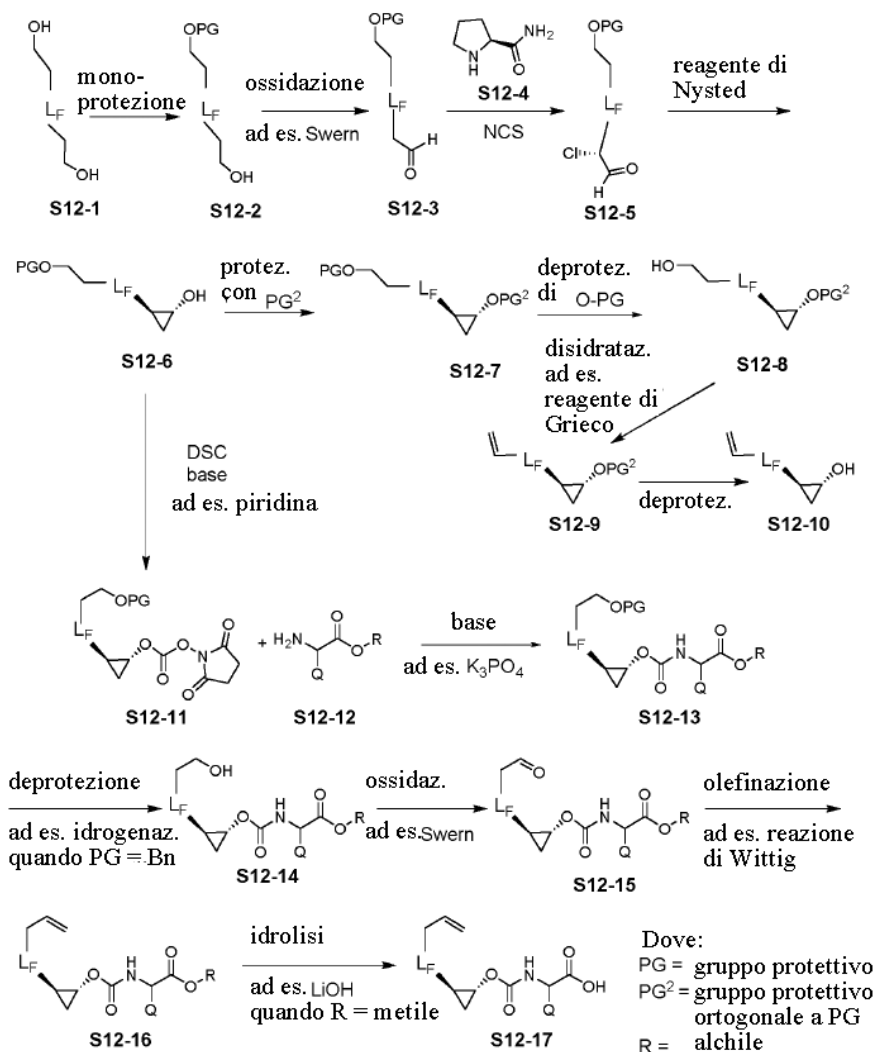
Schema 10 mostra una sintesi generale di intermedio solfonammidico sostituito **S10-3**. *terz*-butil ciclopropilsolfonilcarbammato **S10-1** è deprotonato (*ad es.* *n*-BuLi) e fatto reagire con un elettrofilo (*ad es.* alogenuro alchilico) per dare l'intermedio solfonammidico sostituito protetto **S10-2**, che viene poi deprotetto (*ad es.* 4 N HCl in diossano) per fornire intermedio **S10-3**.

Schema 11



Schema 11 mostra una sintesi generale di un intermedio **S11-3** dove E è come qui definito. Nello schema 11, una solfonammide **S11-1** è accoppiata ad un amminoacido protetto **S11-2** usando un agente di accoppiamento come CDI e una base come DBU.

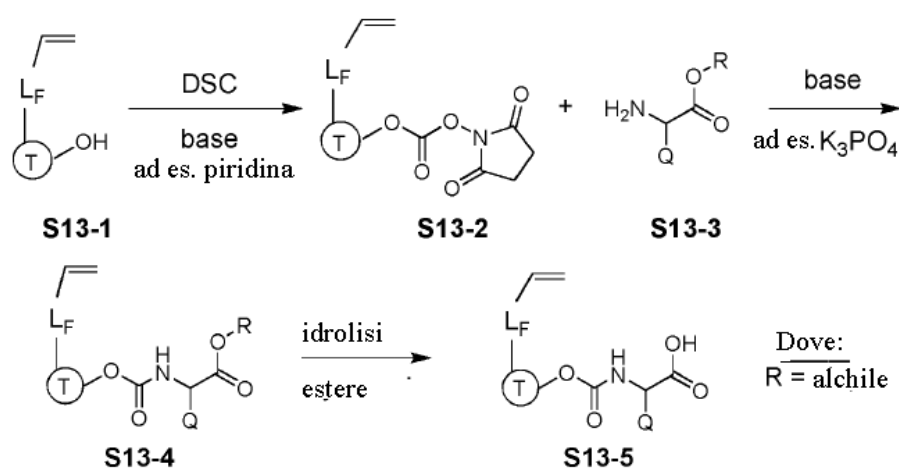
Schema 12



Schema 12 mostra una sintesi generale di intermedi **S12-10** e **S12-17**, dove L_F è C_1 - C_3 alchilene. Nello schema 12, entrambe le sintesi iniziano con la monoprotezione di intermedio **S12-1** produrre **S12-2**, seguito da ossidazione (*ad es.* ossidazione di Swern) per fornire l'intermedio **S12-3**. Clorurazione alfa enantioselectiva (*ad es.* organocatalizzatore **S12-4** e NCS) fornisce la cloroaldeide **S12-5**. Reazione di **S12-5** con un derivato di bis-zincometano (*ad es.* reagente di Nysted) fornisce l'intermedio ciclopropano **S12-6**. Intermedio **S12-6** è protetto ortogonalmente per fornire intermedio **S12-7**. Deprotezione di -OPG di **S12-7** fornisce intermedio **S12-8**, che

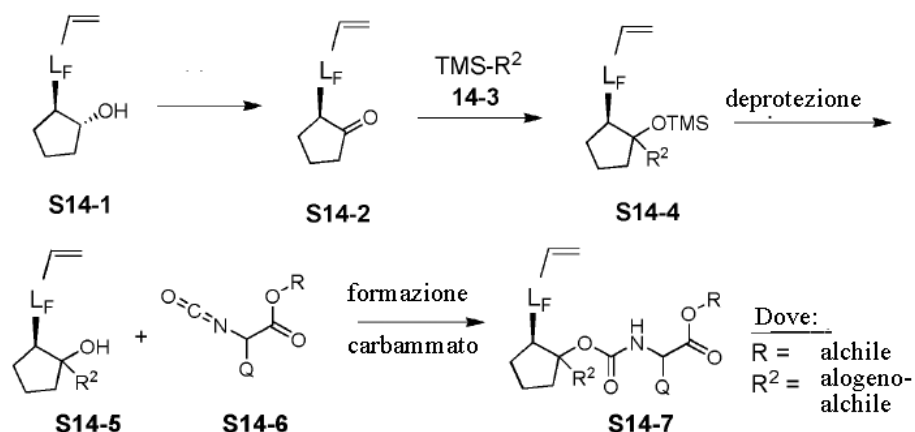
viene successivamente disidratato (ad es. Reagente di Grieco) a intermedio **S12-9** e infine O-PG² viene rimosso per dare intermedi **S12-10**. Intermedio **S12-6** è alternativamente attivato (ad es. DSC e una base come piridina) per fornire intermedio **S12-11** che è accoppiato a intermedio **S12-12** per fornire carbammato intermedio **S12-13**. Intermedio **S12-13** è deproteetto per dare intermedio **S12-14**, che viene poi ossidato (ad es. ossidazione di Swern) per fornire l'intermedio aldeidico **S12-15**. Olefinazione (ad es. reazione di Wittig) di intermedio **S12-15** fornisce intermedio **S12-16**. Idrolisi dell'estere (ad es. LiOH quando R è metile, TFA quando R = *terz*-butile) fornisce intermedio **S12-17**.

Schema 13



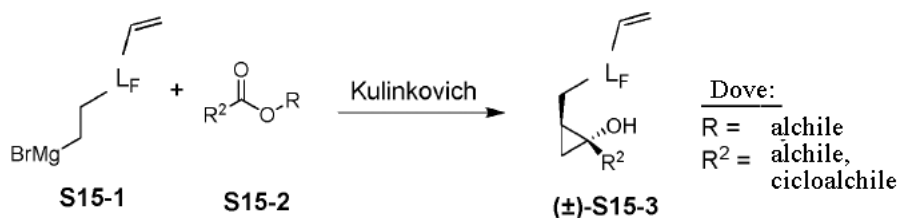
Schema 13 mostra una sintesi generale di intermedio **S13-5** dove Q e T sono come qui definiti e L_F è C₁-C₃ alchilene. Attivazione di intermedio **S13-1** (ad es. DSC) seguito dalla formazione di carbammato tra intermedio **S13-2** e intermedio di estere di amminoacido **S13-3** in condizioni basiche fornisce intermedio estereo **S13-4**. Idrolisi dell'estere (ad es. LiOH quando R = metile o TFA quando R = *terz*-butile) fornisce intermedio **S13-5**.

Schema 14

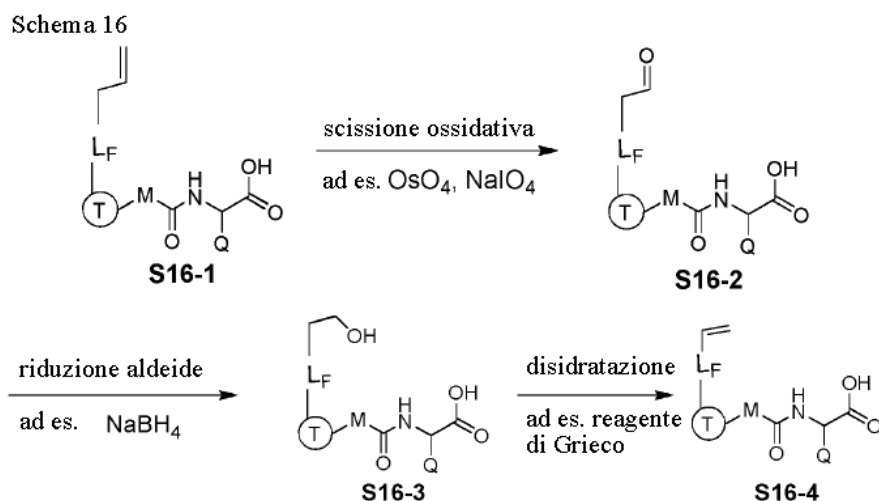


Schema 14 mostra una sintesi generale di intermedio **S14-7** dove Q è come qui definito e L_F è C₁-C₃ alchilene. Ossidazione di intermedio **S14-1** (per esempio periodinano di Dess-Martin) produce chetone **S14-2**. Trattamento di **S14-2** con **S14-3** (*ad es.* R² è -CF₃) in presenza di reagente adatto (come CsF) fornisce intermedio **S14-4**. Deprotezione di **S14-4** (*ad es.* TBAF) fornisce **S14-5**, che viene poi aggiunto a un isocianato **S14-6** dare intermedio **S14-7**.

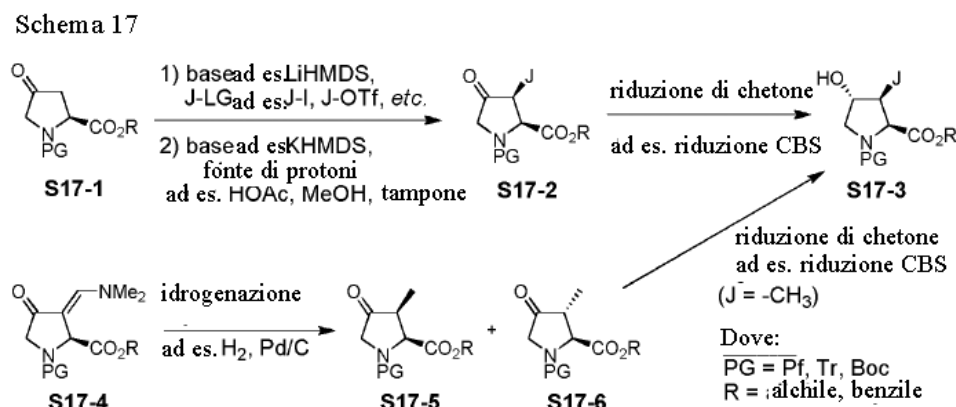
Schema 15



Schema 15 mostra una sintesi generale di un intermedio **(±)-S15-3**, generato dalla reazione di Kulinkovich di un reagente di Grignard **S15-1** e un estere **S15-2**, secondo le procedure standard descritte in Kulinkovich, O.G. e Kananovich, D.G., *Eur. J. Org. Chem.* 2007, 2007, 2121.

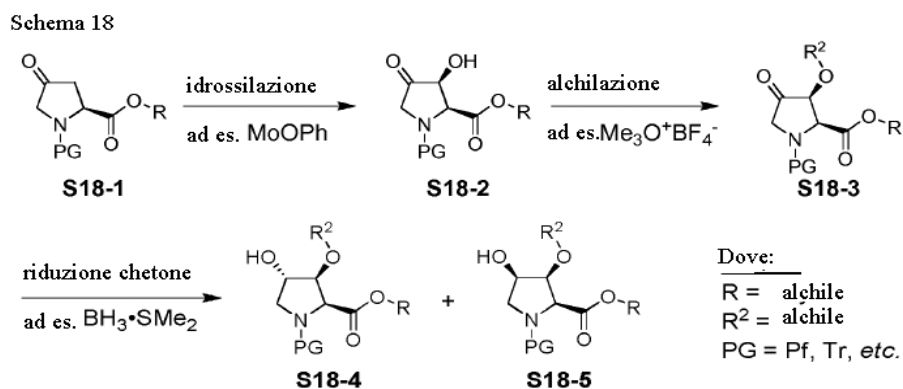


Schema 16 mostra una sintesi generale di un intermedio **S16-4** dove Q, M e T sono come qui definiti e L_F è C₁-C₃ alchilene. Nello schema 16, olefina **S16-1** subisce scissione ossidativa (ad es. OsO₄, NaIO₄) all'aldeide **S16-2**, che viene quindi ridotta ad alcol **S16-3** (ad es. NaBH₄) e infine viene disidratato (ad esempio eliminazione di Grieco) per dare intermedio **S16-4**.

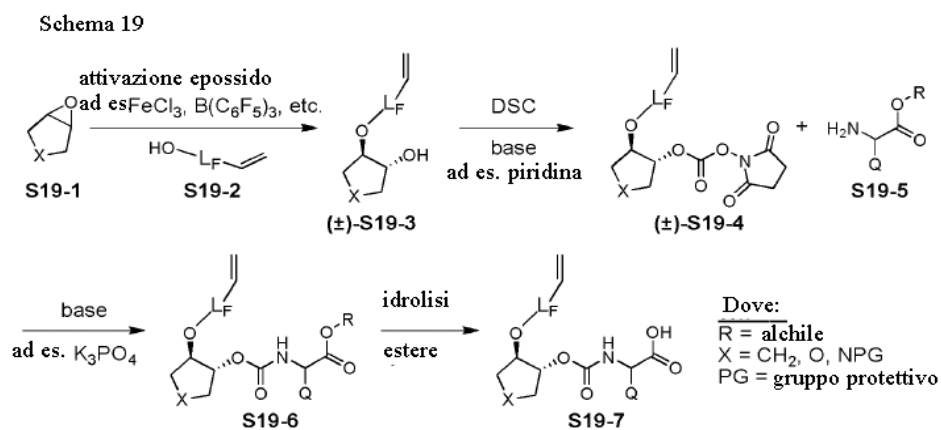


Schema 17 mostra due strategie sintetiche generali per produrre intermedio **S17-3** dove J è come qui definito. Nello Schema 17, una 4-osso-prolina opportunamente protetta **S17-1** è deprotonata e alchilata (ad esempio LiHMDS seguito da J-LG). Una seconda deprotonazione con base seguita da ri-protonazione a bassa temperatura genera un intermedio stereo-arricchito **S17-2**, in base ad un protocollo descritto (Blanco, M-J. et. al. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 8786). La riduzione del chetone in modo stereoselettivo (ad esempio riduzione della CBS)

fornisce alcol **S17-3**. Dove J è metile, Schema 17 mostra una sintesi generale alternativa in cui intermedio **S17-4** è idrogenato per generare una miscela di **S17-5** e **S17-6**. Riduzione del chetone di **S17-5** in modo stereoselettivo (ad esempio riduzione con CBS) fornisce intermedio **S17-3**, dove J è metile.



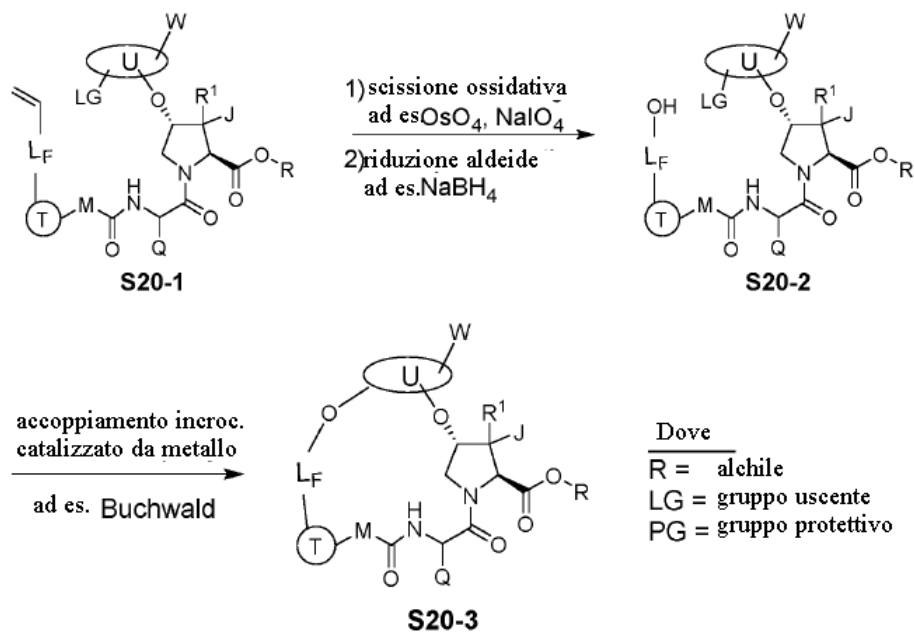
Schema 18 mostra una sintesi generale di intermedi **S18-4** e **S18-5**, in cui una 4-osso-prolina opportunamente protetta **S18-1** è ossidrilata in modo stereoselettivo (*ad es.* MoOPh) per fornire intermedio **S18-2**, che viene successivamente fatto reagire con un agente alchilante (*ad es.* trimetilossonio tetrafluoroborato) per dare l'intermedio **S18-3**. Riduzione del chetone (*ad es.* complesso di $\text{BH}_3\cdot\text{SME}_2$) fornisce sostanze intermedie **S18-4** e **S18-5**.



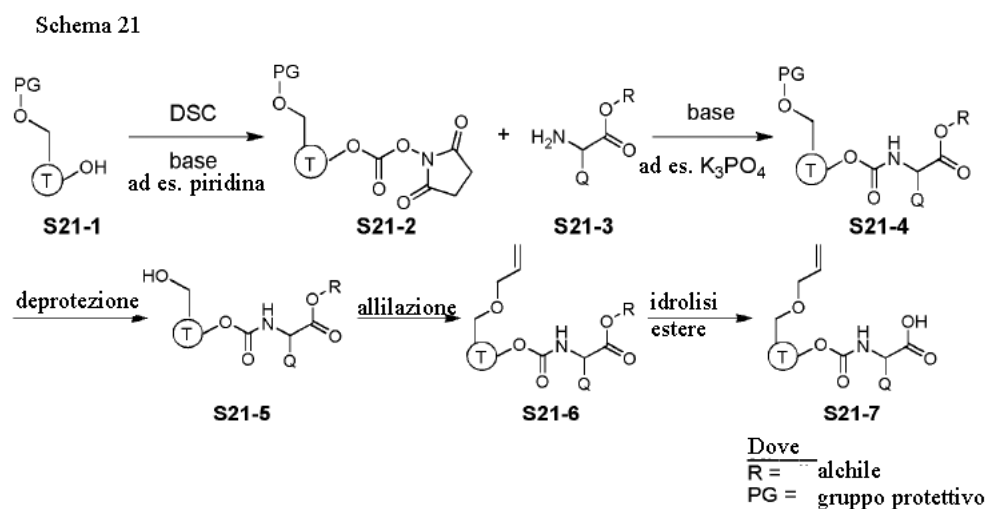
Schema 19 mostra una sintesi generale di un intermedio **S19-7** dove Q è come qui definito e L_F è C₁-C₃ alchilene. Nello schema 19, un intermedio epossidico **S19-1** viene convertito in (±)-*trans*- intermedio **S19-3**.

Attivazione dell'intermedio alcolico (\pm)-**S19-3** (*ad es.* DSC) produce carbonato (\pm)-**S19-4**, che viene trattato con intermedio **S19-5** per dare il carbammato intermedio **S19-6**. Intermedio **S19-6** quindi subisce l'idrolisi dell'estere (*ad es.* LiOH quando R = metile o TFA quando R = *terz*-butile) per fornire l'intermedio **S19-7**.

Schema 20

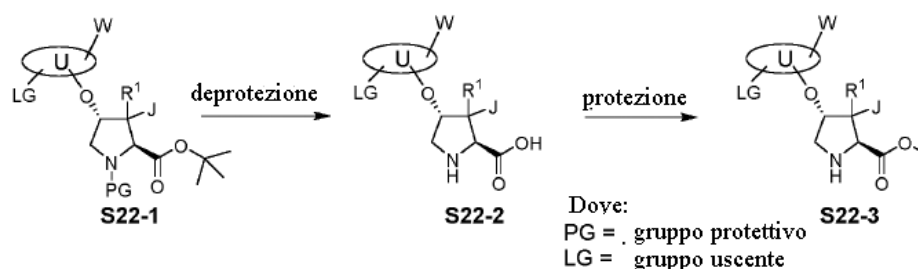


Schema 20 mostra una sintesi generale di un intermedio **S20-3** dove $\text{L}_F\text{-O}$ è F, e U, W, R^1 , J, Q, M, T e L sono come descritti nella presente. Nello schema 20, intermedio **S20-1** prima viene sottoposto a scissione ossidativa di un'olefina (*ad es.* OsO_4 , NaIO_4) e successiva riduzione dell'aldeide risultante (*ad es.* NaBH_4) per fornire intermedio **S20-2**. L'accoppiamento incrociato catalizzato da metallo di transizione fornisce un intermedio **S20-3**.



Schema 21 mostra una sintesi generale di un intermedio **S21-7** dove Q e T sono come qui definiti. Nello schema 21, attivazione di diolo mono-protetto **S21-1** (*ad es.* DSC) seguito da accoppiamento con intermedio amminoestere **S21-3** fornisce carbammato intermedio **S21-4**. Intermedio **S21-4** viene quindi deprotetto per smascherare la funzionalità alcolica (intermedio **S21-5**) che viene poi allilato per fornire l'intermedio **S21-6**. Intermedio **S21-6** quindi subisce l'idrolisi dell'estere (*ad es.* LiOH quando R = metile o TFA quando R = *terz*-butile) per fornire l'intermedio **S21-7**.

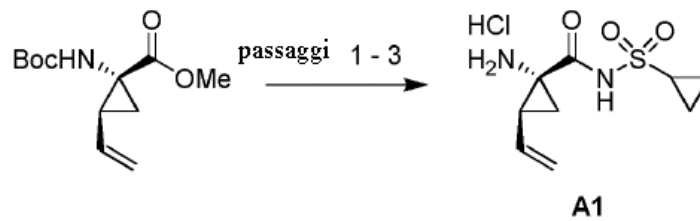
Schema 22



Schema 22 mostra una sintesi generale di un intermedio **S22-3** dove U, W, R¹, J e Q sono come descritti nella presente. Nello schema 22 intermedio **S22-1** è globalmente deprotetto per fornire un intermedio amminoacidico **S22-2**. La funzionalità acida di intermedio **S22-2** viene quindi convertita in un estere di acido carbossilico base-labile (*ad es.* estere metilico), intermedio **S22-3**.

Preparazione di intermedi selezionati

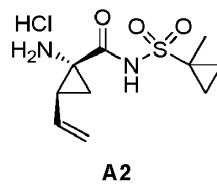
Preparazione di Intermedio A1.



(1R,2S)-metil 1-(terz-butossicarbonilammino)-2-
vinilciclopropan-carbossilato

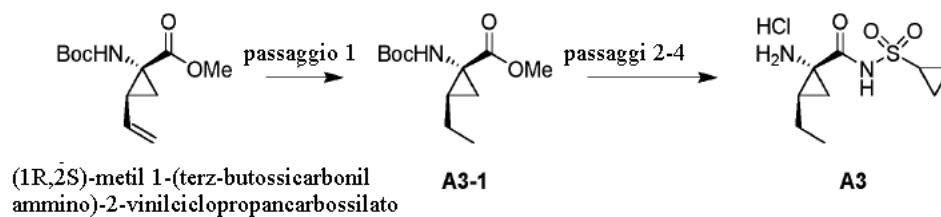
Passaggi 1-3. Preparazione di Intermedio **A1**: Intermedio **A1** è stato preparato usando la procedura descritta in Esempio 2.12 di Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2008/064066 (di seguito "WO '066") (p. 75-76) sostituendo (1R,2S)-metil 1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropan-carbossilato (preparato secondo Beaulieu, P.L., et al., J. Org. Chem. 2005, 70, 5869) per (1R,2S)-etil 1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropan-carbossilato.

Preparazione di Intermedio A2.



Intermedio **A2** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **A1**, sostituendo 1-metilciclopropan-1-solfonammide (preparato secondo Esempio 1,2 di WO '066, p. 47) per ciclopropansolfonammide.

Preparazione di Intermedio A3.



Passaggio 1. Preparazione di **A3-1**: Ciclopropano estere **A3-1** è stato preparato da (1R,2S)-metil 1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropanecarbossilato (preparato secondo Beaulieu, P.L., et al., J. Org. Chem. 2005, 70, 5869) usando la procedura descritta in Esempio 26 di Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2009/005677 (di seguito "WO '677") (p, 176).

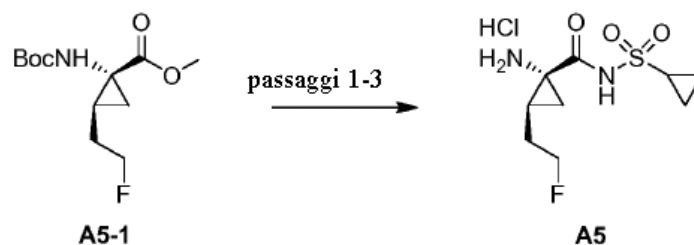
Passaggi 2-4. Preparazione di Intermedio **A3**: Intermedio **A3** è stato preparato in maniera simile a (1R,2S)-1-ammino-N-(ciclopropilsolfonil)-2-vinilciclopropanecarbossammide cloridrato di Esempio 2.12 di WO '066 (p, 75-76) sostituendo **A3-1** per (1R,2S)-etil 1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropan-carbossilato.

Preparazione di Intermedio A4.



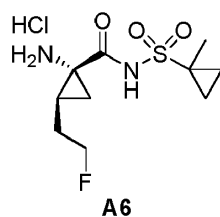
Intermedio **A4** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **A3**, sostituendo 1-metilciclopropan-1-solfonammide (preparato secondo Esempio 1,2 di WO '066, p. 47) per ciclopropansolfonammide.

Preparazione di Intermedio A5.



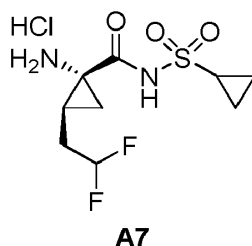
Passaggi 1-3. Preparazione di Intermedio **A5**: Intermedio **A5** è stato preparato in maniera simile a (1R,2S)-1-ammino-N-(ciclopropilsolfonil)-2-vinilciclopropan-carbossammide cloridrato di Esempio 2,12 di WO '066 (p, 75-76) sostituendo **A5-1** (preparato secondo Esempio 104 di WO '677, p. 265) per (1R,2S)-etil 1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropanecarbossilato.

Preparazione di Intermedio A6.



Intermedio **A6** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **A5**, sostituendo 1-metilciclopropan-1-solfonammide (preparato secondo Esempio 1,2 di WO '066, p. 47) per ciclopropansolfonammide.

Preparazione di Intermedio **A7**.



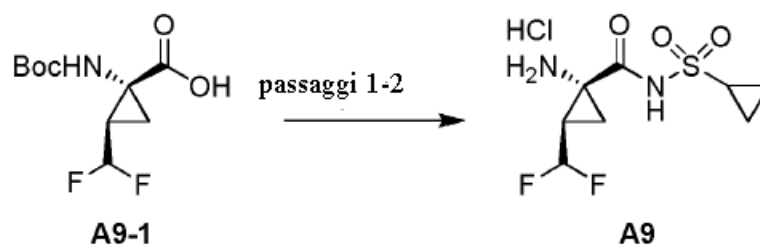
Intermedio **A7** è stato preparato secondo Esempio 97.1.6 di Pubblicazione di brevetto U.S.A. N. 2009/274652 (di seguito "US '652"), p. 72-73.

Preparazione di Intermedio **A8**.



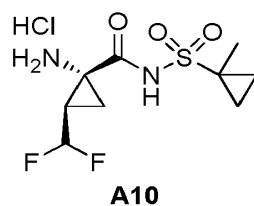
Passaggi 1-2. Preparazione di Intermedio **A8**: Intermedio **A8** è stato preparato in maniera simile a (1R,2S)-1-ammino-N-(ciclopropilsolfonil)-2-vinilciclopropan-carbossammide cloridrato di Esempio 2,12 di WO '066 (p. 75-76) sostituendo **A8-1** (preparato secondo la procedura descritta in Esempio 97,1,4 di US '652, p. 72-3) per acido (1R,2S)-1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropan-carbossilico e sostituendo 1-metilciclopropan-1-solfonammide (preparato secondo Esempio 1.2 di WO '066, p. 47) per ciclopropansolfonammide, **A8-1** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,22 (s largo, 1H), 6,05 - 5,75 (m, 1H), 5,38 (s largo, 1H), 2,04 (m, 2H), 1,68 (m, 2H), 1,61 (m, 3H), 1,52 (m, 9H), 1,42 (m, 1H), 1,28 (m, 1H), 0,85 (m, 2H).

Preparazione di Intermedio A9.



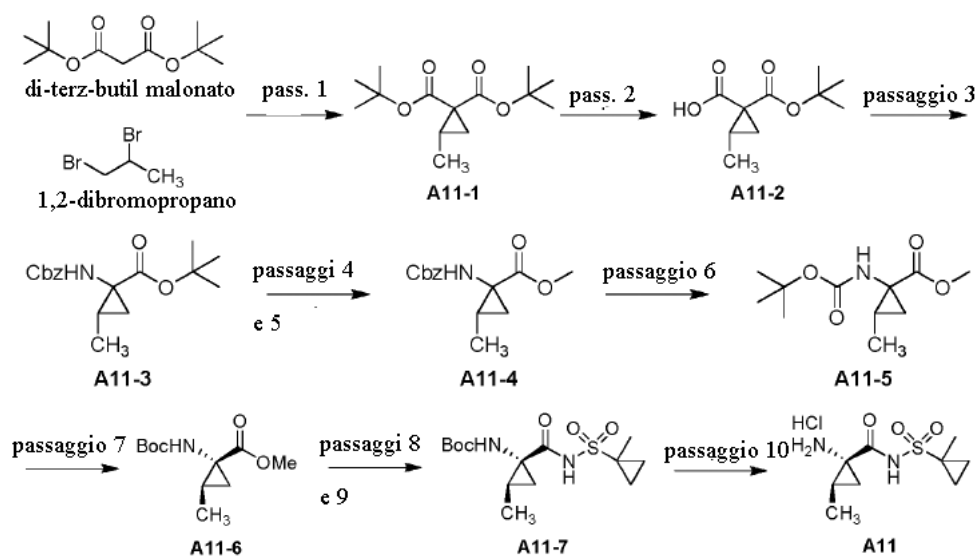
Passaggio 1-2. Preparazione di Intermedio **A9**: Intermedio **A9** è stato preparato in maniera simile a (1R,2S)-1-ammino-N-(ciclopropilsolfonil)-2-vinilciclopropan-carbossammide cloridrato di Esempio 2,12 di WO '066 (p. 75-76) sostituendo **A9-1** (preparato secondo Esempio 1, Passaggi 1L-1O di Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2009/134987, p. 75-77) per acido (1R,2S)-1-(terz-butossicarbonilammino)-2-vinilciclopropan-carbossilico.

Preparazione di Intermedio A10.



Intermedio **A10** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **A9**, sostituendo 1-metilciclopropan-1-solfonammide (preparato secondo Esempio 1,2 di WO '066, p. 47) per ciclopropansolfonammide.

Preparazione di Intermedio A11.



Passaggio 1. Preparazione di **A11-1**: Ad una soluzione di NaOH (46,2 g, 50% p/p in acqua) a rt è stato aggiunto BnEt₃NCl (10,5 g, 46 mmoli), di-*tert*-butil malonato (10 g, 46 mmoli) e 1,2-dibromopropano (14 g, 69,3 mmoli). La miscela è stata agitata a rt durante la notte ed è stata estratta con DCM (3×100 mL). Gli strati organici sono stati lavati con acqua (80 mL) e salamoia (50 mL), seccati su Na₂SO₄ anidro. Concentrazione *sotto vuoto* produceva **A11-1** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1,83-1,62 (m, 1H); 1,42 (s, 9H); 1,40 (s, 9H); 1,24-1,05 (m, 2H); 1,03-1,02 (d, 3H).

Passaggio 2. Preparazione di **A11-2**: Ad una miscela di *t*-BuOK (175 g, 1,56 moli) in etere (1,2 L) a 0 °C è stata aggiunta acqua (3,4 mL) seguita da aggiunta di diestere **A11-1** (91 g, 0,35 moli). La miscela è stata agitata a rt per tre giorni, poi spenta con acqua ghiacciata. Lo strato acquoso è stato estratto con etere (2×400 mL), acidificato con acido citrico, e poi estratto con EA (3×400 mL). Gli estratti di etilacetato combinati sono stati lavati con acqua (2×100 mL), salamoia (200 mL), seccati su Na₂SO₄ anidro, e concentrati *sotto vuoto* per produrre **A11-2** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,60 (s, 1H); 1,70-1,64 (s, 1H); 1,37 (s, 9H); 1,19-1,13 (m, 1H); 1,03-1,00 (m, 4H).

Passaggio 3. Preparazione di **A11-3**: Ad una miscela **A11-2** (33,5 g, 0,17 moli) e trietilammina (70 mL) in THF (200 mL) a 0 °C è stato aggiunto etil cloroformiato (22 mL). La miscela è stata agitata a 0 °C per 1 h. Alla miscela a 0 °C è stato aggiunto sodio azide (54 g, 0,83 moli, 4,9 eq) in acqua (100 mL), la miscela è stata agitata

per 40 min. La miscela è stata estratta con EA (2×400 mL), lavata con acqua (100 mL), salamoia (100 mL), seccata su Na₂SO₄ anidro e concentrata *sotto vuoto* per produrre un residuo che è stato ripreso in toluene (100 mL) e trattato con benzil alcol (50 mL). La miscela è stata poi riscaldata a 70 °C per 2 h, raffreddata a rt, regolata a pH 8 con bicarbonato di sodio, e poi estratta con etere (3×200 mL). Lo strato acquoso è stato poi regolato a pH 5 con 1 N HCl e estratto con EA (2×300 mL). Gli estratti di etilacetato combinati sono stati lavati con acqua (100 mL), salamoia (80 mL), seccati su Na₂SO₄ anidro, e concentrati *sotto vuoto* per dare ammina protetta con CBZ **A11-3** (16 g) che viene usata successivamente senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,85 (s, 1H); 7,28-7,15 (m, 5H); 4,97-5,03 (m, 2H); 1,33 (s, 9H); 1,33-1,17 (m, 2H); 1,10 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H); 0,90-1,00 (m, 1H).

Passaggi 4 e 5. Preparazione di **A11-4**: Ad una soluzione di ammina protetta con Cbz **A11-3** (16 g, 52 mmoli) in DCM (250 mL) è stato aggiunto a gocce TFA (250 mL, 3,24 moli) a rt e la miscela agitata a rt durante la notte. La miscela è stata concentrata sotto vuoto, regolata a pH 8-9 usando carbonato di sodio acquoso e lavata con etere (3×80 mL). La fase acquosa è stata poi regolata a pH 5-6 usando 1 N HCl e estratta con EA (2×300 mL). Le fasi di etil acetato combinate sono state lavate con acqua (80 mL), salamoia (80 mL), seccate su Na₂SO₄ anidro e concentrate per dare 13 g come un olio leggermente giallo che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. Questo materiale (8,0 g, 32 mmoli) è stato ripreso in metanolo (200 mL), trattato con tionil cloruro (15 mL) a 0 °C, poi agitato a rt durante la notte. La risultante miscela è stata concentrata *sotto vuoto* e purificata mediante cromatografia flash su silice (eluente PE/EA 10:1-5:1) per dare metil estere **A11-4** (6 g), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,97 (s, 1H); 7,37-7,26 (m, 5H); 4,99 (s, 2H); 3,61 (s, 3H); 1,48-1,45 (m, 1H); 1,17-1,08 (m, 2H); 1,06-1,04 (d, 3H).

Passaggio 6. Preparazione di **A11-5**: Cbz carbossammide **A11-4** (36 g, 0,15 moli), Boc₂O (40 g, 0,18 moli), e Pd/C (3,6 g, 10% p/p) sono stati combinati in metanolo sotto H₂ e agitati a 32 °C durante la notte. La miscela di reazione è stata filtrata per rimuovere il catalizzatore, altro Boc₂O (40 g, 0,18 moli) e Pd/C (3,6 g, 10% p/p) sono stati aggiunti e la reazione posta sotto un'atmosfera di H₂ con agitazione a rt per un fine settimana. La miscela di reazione è stata filtrata per rimuovere il catalizzatore, concentrata *sotto vuoto* e purificata mediante

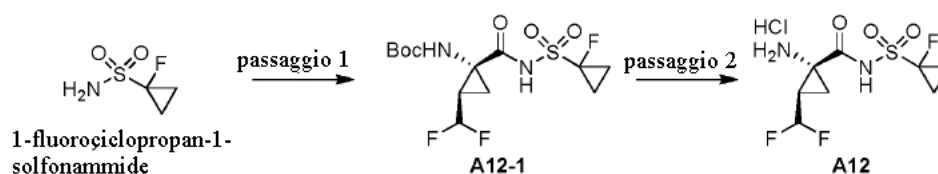
cromatografia flash su silice (eluente PE/EA 20:1-10:1) per produrre ammina protetta con Boc **A11-5**, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7,48 (s, 1H), 3,59 (s, 3H), 1,43-1,41 (m, 1H), 1,34 (s, 9H), 1,21-1,18 (m, 1H), 1,07-1,01 (m, 4H).

Passaggio 7. Preparazione di **A11-6**: Ad una soluzione di NaH_2PO_4 (1,9 g) in acqua (160 mL) a 40 °C è stato aggiunto Alcalase (2,4 U/g, 16 mL). La miscela è stata regolata con 50% idrossido di sodio acquoso a pH 8. **A11-5** (2,80 g) in DMSO (32 mL) è stato aggiunto al tampone a gocce in 30 min. La miscela è stata agitata a 40 °C e mantenuta a pH 8 con aggiunta di 50% NaOH per 19 h. La miscela è stata raffreddata a rt, con etere (3 x 100 mL) e la fase organica lavata con sat. NaHCO_3 (2 x 40 mL), acqua (2 x 40 mL), salamoia (40 mL), seccata su Na_2SO_4 anidro, filtrata e concentrata *sotto vuoto* per produrre **A11-6**, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 5,18 (s largo, 1H); 3,71 (s, 3H); 1,43-1,18 (m, 2H); 1,34 (s, 9H); 1,07-1,01 (m, 4H). Analisi del prodotto usando colonna ChromegaChiral CC3 (0,46 cm I.D. X 25 cm L, 3 μL iniezione, 80/20 esano/IPA, 1 mL/min, 34 °C, rivelazione UV a 220 nm) ha determinato che l'eccesso enantiomerico era di 99,4% (RT desiderato = 5,238 min, RT indesiderato = 6,745 min).

Passaggi 8 e 9. Preparazione di **A11-7**: $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ solido (19,1 g, 455 mmoli) viene ripreso in 50 mL MeOH/50 mL acqua a rt. Una volta che tutto il LiOH si è sciolto, metil estere **A11-6** (10,4 g, 45,5 mmoli) viene ripreso in 100 mL THF aggiunto alla miscela di reazione e agitato vigorosamente durante la notte. La risultante soluzione è diluita con acqua (150 mL), regolata a pH \approx 3 con 12 M HCl e estratta con EtOAc. Gli strati organici combinati vengono lavati con salamoia, seccati su MgSO_4 anidro e concentrati *sotto vuoto* per produrre una polvere bianca fine (9,2 g). Questo materiale (1,5 g, 7 mmoli) viene ripreso in THF (30 mL) e trattato con CDI (1,47 g, 9,1 mmoli). La risultante soluzione è stata riscaldata a 65 °C per 2 h, raffreddata a rt e trattata con DBU (2,1 mL, 13,9 mmoli) e 1-metilciclopropan-1-solfonammide (1,4 g, 10,5 mmoli). La risultante soluzione è agitata a rt durante la notte. Aggiunta di 1 M HCl viene usata per regolare il pH \approx 1 prima di rimuovere la maggior parte di THF *sotto vuoto*. Il risultante impasto liquido è estratto con EtOAc e gli estratti organici combinati lavati con salamoia, seccati su MgSO_4 anidro e concentrati *sotto vuoto* per produrre 2,29 g di acil solfonammide **A11-7**. LCMS-ESI $^+$ (m/z): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. per $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$: 355,41; osservato: 355,84.

Passaggio 10. Preparazione di Intermedio **A11**. Acil solfonammide **A11-7** (0,25 g, 0,75 mmoli) in diossano (1 mL) è trattato con HCl (4 M in diossano, 2,8 mL, 11,2 mmoli) a rt. Dopo 4 h, la reazione è concentrata *sotto vuoto* per produrre 0,20 g di Intermedio **A-11** che viene usato successivamente senza ulteriore purificazione ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,87-1,84 (m, 0,5 H); 1,77-1,65 (m, 1,5H); 1,58-1,46 (m, 2H); 1,54 (d, J = 8 Hz, 3H); 1,34-1,26 (m, 3+1H); 1,02-0,92 (m, 1H); 0,83-0,77 (m, 1H).

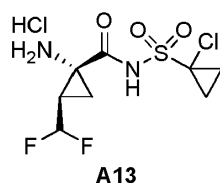
Preparazione di Intermedio A12.



Passaggio 1. Preparazione di **A12-1**: Un recipiente contenente una soluzione di acido carbossilico **A9-1** (1 g, 4 mmoli) in THF (15 mL) è stato trattato con CDI (0,84 g, 5,2 mmoli), sigillato e riscaldato a 75 °C per 2 h. la soluzione di colore rossiccio chiaro viene divisa a metà e usata successivamente senza ulteriore purificazione per il resto di Passaggio 1 nella preparazione di Intermedio **A12** come pure nella preparazione di Intermedio **A13** come descritto sotto. Questa soluzione è trattata con 1-fluorociclopropan-1-solfonammide (0,42 g, 3 mmoli; preparata secondo Passaggi 1, 4, e 9 di Esempio 7 di Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2009/14730, p. 107-110) e DBU (0,6 mL, 4 mmoli) e lasciata agitare durante la notte a rt. La soluzione è stata acidificata a pH \approx 1 con 1 M HCl e concentrata *sotto vuoto* per rimuovere la maggior parte di THF. Lo strato acquoso è stato estratto con EtOAc e gli estratti organici combinati lavati con salamoia, seccati su MgSO₄ anidro e concentrati *sotto vuoto* ad essiccazione per dare 0,73 g di **A12-1** che è stato usato senza ulteriore purificazione.

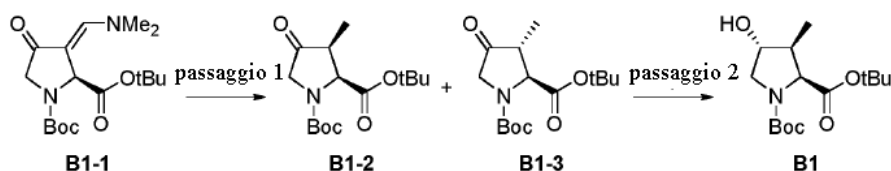
Passaggio 2. Preparazione di Intermedio **A12**: Acil solfonammide **A12-1** (0,25 g, 0,67 mmoli) è stato ripreso in 1 mL diossano e trattato con HCl (4 M in diossano, 2,5 mL, 11 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 2 h e concentrata *sotto vuoto* ad essiccazione per dare una resa quantitativa di Intermedio **A12**, ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6,04 (td, J_{H-F} = 55,6 Hz, J = 5,2 Hz, 1H); 2,25-2,14 (m, 1H); 1,78-1,62 (m, 2H); 1,52-1,38 (m, 4H).

Preparazione di Intermedio A13.



Intermedio **A13** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **A12**, sostituendo 1-clorociclopropan-1-solfonammide (preparato secondo Li, J. et al. *Synlett*, 2006, 5, pp, 725-728) per 1-clorociclopropan-1-solfonammide in Passaggio 1, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 6,03 (td, $J_{\text{H-F}} = 54,8$ Hz, $J = 6$ Hz, 1H); 2,32-2,18 (m, 1H); 2,06-1,92 (m, 2H); 1,80-1,68 (m, 2+1H); 1,56-1,44 (m, 1H); 1,44-1,37 (m, 1H).

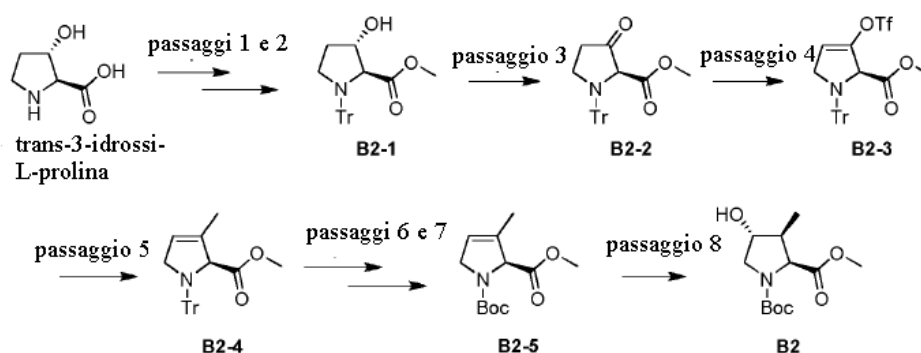
Preparazione di Intermedio B1.



Passaggi 1 e 2. Preparazione di Intermedio **B1**: Enamminone **B1-1** (4,0 g, 11,8 mmoli, preparato secondo Camplo, M., et al. *Tetrahedron* 2005, 61, 3725) è stato sciolto in acetone (120 mL) e il recipiente di reazione è stato spurgato con Ar. Pd/C (10% in peso Pd, 820 mg) è stato aggiunto in una singola porzione e il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con H_2 . La reazione è stata agitata sotto 1 atm H_2 a rt per 15 h ed è stata poi filtrata attraverso un pannello di Celite con acetone. Il filtrato è stato concentrato e filtrato attraverso un tappo di gel di silice con 30% EtOAc in esani per dare una miscela 2:1 di chetoni **B1-2** e **B1-3** (3,48 g) come un solido bianco. Questa miscela (3,37 g, 11,3 mmoli) è stata sciolta in THF (100 mL) sotto Ar. Una soluzione 1 M di (*R*)-(+)-2-metil-CBS-ossazaborolidina in toluene (11,3 mL, 11,3 mmoli) è stata aggiunta in una singola porzione e la risultante soluzione è stata raffreddata a -78 °C. Una soluzione 1 M di $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ in CH_2Cl_2 (11,3 mL) è stata poi aggiunta a gocce in 5 min. La risultante soluzione è stata agitata per 20 min ed è stata rimossa dal bagno freddo. Dopo altri 15 min, la reazione è stata posta in un bagno di acqua a temperatura ambiente. Dopo altri 7 min, la reazione è stata spenta mediante aggiunta a gocce di MeOH (20 mL). Dopo aver agitato altre 2,5 h, la miscela di reazione è stata concentrata, sciolta in EtOAc (300 mL), e lavata con 0,2 M HCl (200 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (100 mL). La fase organica combinata è stata

filtrata per rimuovere solidi, seccata su Na_2SO_4 , filtrata, e concentrata. Il residuo grezzo è stato sciolto in CH_2Cl_2 ed è stato concentrato su 20 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (25 fino a 40% EtOAc in esani) forniva separazione parziale di Intermedio **B1** da altri prodotti diastereomerici. Le frazioni miste sono state riunite e concentrate su 9 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice forniva Intermedio **B1** contaminato con componenti diastereomerici secondari come un solido bianco (1,96 g), ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , rotameri osservati) δ 4,25 - 4,15 (m, 1H), 4,13 - 4,04 (m, 1H), 3,91 - 3,79 (m, 1H), 3,28 - 3,09 (m, 1H), 2,41 - 2,23 (m, 1H), 2,04 (bs, 1H), 1,51 - 1,39 (m, 18H), 1,09 - 1,01 (m, 3H).

Preparazione di Intermedio B2.



Passaggi 1 e 2. Preparazione di **B2-1**: *trans*-3-Idrossi-L-prolina (571 mg, 4,35 mmoli, Chem-Impex International, Inc.) è stata sospesa in MeOH e raffreddata a 0 °C. Tionil cloruro (1,6 mL, 22 mmoli) è stato aggiunto in 5 min e la soluzione è stata riscaldata a rt. Dopo aver agitato per 24 h, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta per dare l'estere metilico, che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. L'estere grezzo è stato sospeso in DCM (22 mL) e trattato con TEA (1,3 mL, 9,57 mmoli). La miscela agitata è stata raffreddata a 0 °C e tritil cloruro (1,21 g, 4,35 mmoli) è stato aggiunto. La miscela di reazione è stata lasciata arrivare gradualmente a rt o/n, e poi versata in NaHCO_3 acquoso saturo. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con DCM. Gli estratti organici combinati sono stati seccati su Na_2SO_4 , filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (25% fino a 50% EtOAc/Es per dare alcol **B2-1** (1,27 g).

Passaggio 3. Preparazione di **B2-2**: Alcol **B2-1** (1,23 g, 3,18 mmoli) e 2 g 4 A MS sono stati sospesi in DCM (16 mL) e trattati con NMO (560 mg, 4,78 mmoli) e TPAP (76 mg, 0,218 mmoli). Dopo aver agitato per 30 min, la miscela è stata filtrata su un breve strato di silice e eluita con 50% EtOAc/Es. Il filtrato è stato concentrato e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc/Es per dare chetone **B2-2** (0,99 g).

Passaggio 4. Preparazione di **B2-3**: LiHMDS (1,0 M in THF, 5,8 mL, 5,8 mmoli) è stato aggiunto a THF (22 mL) e la soluzione agitata è stata raffreddata a -78 °C. Una soluzione a rt di chetone **B2-2** (2,14 g, 5,55 mmoli) in THF (6 mL) è stata aggiunta a gocce tramite cannula in 5 min. Il pallone che aveva contenuto **B2-2** è stato poi risciacquato con THF (4 mL) e il risciacquo è stato aggiunto a gocce tramite cannula alla miscela di reazione. Dopo 35 min, *N*-(5-cloro-2-piridil)bis(trifluorometansolfonimide) (2,40 g, 6,11 mmoli) in THF (6 mL) è stata aggiunta alla miscela di reazione a gocce tramite siringa in 5 min. Dopo ancora 1 h, la miscela di reazione è stata riscaldata a rt. Dopo altri 30 min, la reazione è stata spenta per aggiunta di 20 mL H₂O e diluita con Et₂O. La soluzione organica è stata lavata con 10% NaOH e seccata su K₂CO₃, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato caricato su una colonna di silice che era stata pre-equilibrata con 1% TEA/Es. Il materiale è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 15% EtOAc/Es addizionato con 1% TEA) per dare enolo triflato **B2-3** (1,89 g).

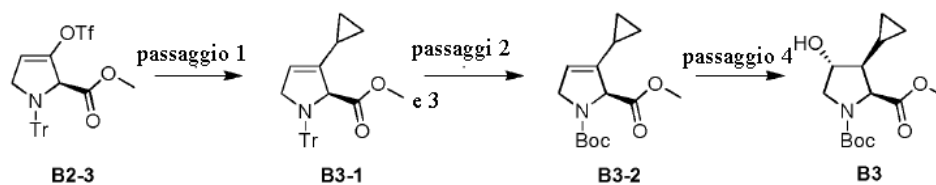
Passaggio 5. Preparazione di **B2-4**: Enolo triflato **B2-3** (957 mg, 1,85 mmoli) è stato sciolto in THF (9 mL) e trattato con Pd(PPh₃)₄ (107 mg, 0,0925 mmoli) e dimetil zinco (2,0 M in PhMe, 1,9 mL, 3,7 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 5 h, poi altro dimetil zinco (2,0 M in PhMe, 1,9 mL, 3,7 mmoli) è stato aggiunto e la reazione è stata riscaldata a 50 °C per 15 min. Dopo aver raffreddato a rt, la miscela è stata diluita con Et₂O. La soluzione organica è stata lavata con 10% NaOH due volte, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo **B2-4** grezzo è stato portato avanti senza ulteriore purificazione.

Passaggi 6 e 7. Preparazione di **B2-5**: Composto **B2-4** (1,85 mmoli teoriche) è stato sciolto in 1:1 MeOH/DCM (20 mL) e trattato con HCl (4,0 M in diossano, 2 mL, 8,0 mmoli). Dopo aver agitato per 2 h a rt, la miscela di reazione è stata concentrata e il materiale grezzo è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. Il prodotto

grezzo ammina cloridrato è stato trattato con Boc_2O (2,02 g, 9,25 mmoli), DCM (18 mL), MeOH (1,8 mL) e TEA (0,52 mL, 3,7 mmoli). Dopo aver agitato per 2 h a rt, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc e lavata con 10% HCl, NaHCO_3 acquoso saturo e salamoia. La soluzione organica è stata seccata su MgSO_4 , filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 40% EtOAc/Es) per dare carbammato **B2-5** (331 mg), LCMS-ESI⁺ (*m/z*): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NO}_4$: 242,14; osservato: 243,26.

Passaggio 8. Preparazione di Intermedio **B2**: Carbammato **B2-5** (345 mg, 1,43 mmoli) è stato sciolto in THF (7 mL) e raffreddata a 0 °C, $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$ complesso (2,0 M in THF, 0,79 mL, 1,58 mmoli) è stato aggiunto a gocce e la miscela di reazione è stata lasciata arrivare a rt gradualmente. Dopo 15 h, la reazione è stata spenta mediante aggiunta a gocce di H_2O (aggiunta fino a cessazione del gorgogliamento), poi raffreddata a 0 °C. Perossido di idrogeno (30% p/p in H_2O , 0,73 mL, 7,2 mmoli) e NaOH (2,0 M in H_2O , 0,86 mL, 1,72 mmoli) sono stati aggiunti in rapida successione e la miscela agitata è stata riscaldata a 50 °C per 35 min. La miscela è stata poi diluita con Et_2O e lavata in successione con H_2O , NaHCO_3 acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO_4 , filtrata e concentrata a pressione ridotta. Intermedio **B2** è stato usato in reazioni successive senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NO}_5$: 260,15; osservato: 259,99.

Preparazione di Intermedio B3.



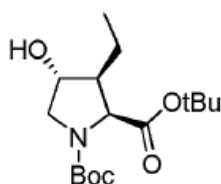
Passaggio 1. Preparazione di **B3-1**: Enolo triflato **B2-3** (91 mg, 0,176 mmoli) è stato sciolto in THF (1,7 mL) e trattato con ciclopropil zinco bromuro (0,5 M in THF, 1,7 mL, 0,85 mmoli) e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (20 mg, 0,018 mmoli). La miscela di reazione agitata è stata riscaldata a 50 °C per 2 h poi raffreddata a rt e diluita con EtOAc. La soluzione organica è stata lavata in successione con NaHCO_3 acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO_4 , filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di

silice (0% fino a 20% EtOAc/Es) per dare ciclopropano **B3-1** (43 mg), LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-Tr+H]⁺ calc. per C₉H₁₄NO₂: 168,10; osservato: 168,04.

Passaggi 2 e 3. Preparazione di **B3-2**: Vinil ciclopropano **B3-1** (43 mg, 0,11 mmoli) è stato sciolto in 1:1 MeOH/DCM (10 mL) e trattato con HCl (4,0 M in diossano, 1 mL, 4,0 mmoli). Dopo aver agitato per 1,5 h a rt, la miscela di reazione è stata concentrata e il materiale grezzo è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. Il prodotto grezzo di passaggio 2 è stato trattato con Boc₂O (229 mg, 1,05 mmoli), DMAP (13 mg, 0,105 mmoli), DCM (5 mL) e TEA (0,293 mL, 2,10 mmoli). Dopo aver agitato per 5 h a rt, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc e lavata con 10% HCl, NaHCO₃ acquoso saturo due volte e salamoia. La soluzione organica è stata seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc/Es) per dare carbammato **B3-2** (20 mg), LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-(*t*-Bu)+H]⁺ calc. per C₁₀H₁₄NO₄: 212,09; osservato: 211,91.

Passaggio 4. Preparazione di Intermedio **B3**: Carbammato **B3-2** (152 mg, 0,569 mmoli) è stato sciolto in THF (5,7 mL) e raffreddato a 0 °C, BH₃•SMe₂ complesso (2,0 M in THF, 0,31 mL, 0,63 mmoli) è stato aggiunto a gocce e la miscela di reazione è stata lasciata arrivare a rt gradualmente. Dopo 20 h, la reazione è stata spenta mediante aggiunta a gocce di H₂O (aggiunta fino a cessazione del gorgogliamento), poi raffreddata a 0 °C. Perossido di idrogeno (30% p/p in H₂O, 0,29 mL, 2,85 mmoli) e NaOH (2,0 M in H₂O, 0,43 mL, 0,86 mmoli) sono stati aggiunti in rapida successione e la miscela agitata è stata riscaldata a 50 °C per 30 min. La miscela è stata poi diluita con Et₂O e lavata in successione con H₂O, NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta, Intermedio **B3** è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-(*t*-Bu)+H]⁺ calc. per C₁₀H₁₆NO₅: 230,10; osservato: 230,03.

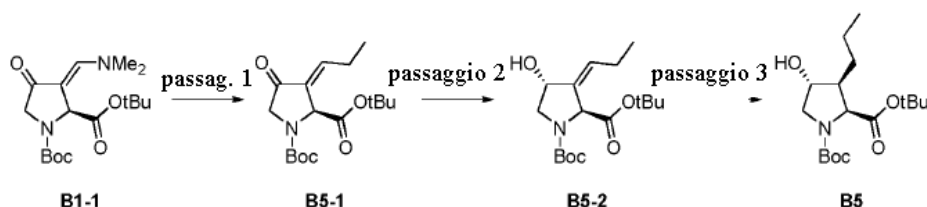
Preparazione di Intermedio B4.



(2S,3S,4R)-di-terz-butil 3-etil-4-idrossipirrolidin-1,2-dicarbossilato)
B4

Intermedio **B4** ((2S,3S,4R)-di-terz-butil 3-etil-4-idrossipirrolidin-1,2-dicarbossilato) è stato preparato secondo Camplo, M., et al. Tetrahedron 2005, 61, 3725.

Preparazione di Intermedio B5.



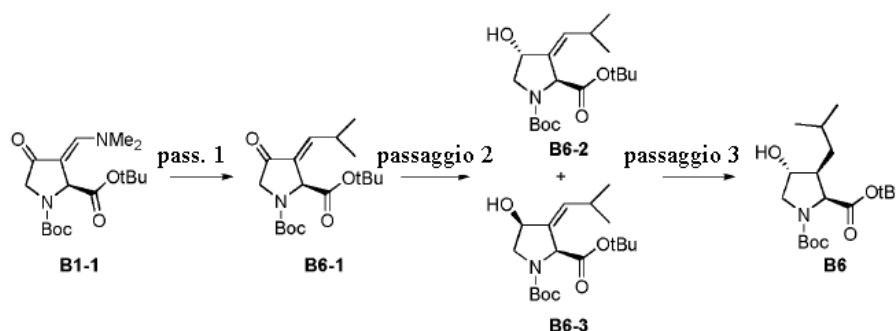
Passaggio 1. Preparazione di enone **B5-2**: Ad una soluzione di **B1-1** in tetraidrofurano (7,35 mL) è stato aggiunto etilmagnesio bromuro (3 M in dietil etere, 1,47 mL 4,41 mmoli) tramite siringa a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2,5 h, la miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a rt in 30 min dopo di che la miscela di reazione è stata diluita con soluzione acquosa satura di cloruro d'ammonio (20 mL). La risultante miscela è stata estratta con etil acetato (20 mL due volte), e gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare intermedio **B5-1** (308,8 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₂₈NO₅: 326,2; osservato: 326,2.

Passaggio 2. Preparazione di **B5-2**: Ad una soluzione di enone **B5-1** (308 mg, 0,95 mmoli) in metanolo (4,7 mL) è stato aggiunto cerio(III) cloruro eptaidrato (566 mg, 1,52 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. La risultante miscela è stata raffreddata a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, e sodio boroidruro (57,7 mg, 1,52 mmoli) è stato aggiunto come solido. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata riscaldata a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e cloruro d'ammonio acquoso saturo (20 mL) è stato aggiunto. La risultante miscela è stata estratta con etil acetato (20 mL due volte), e gli estratti organici combinati

sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto* per dare alcol allilico **B5-2** (319,3 mg) come un olio incolore, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₂₉NO₅: 328,2; osservato: 328,2.

Passaggio 3. Preparazione di Intermedio **B5**: Ad una soluzione di alcol **B5-2** (319 mg, 0,98 mmoli) in etanolo (4,9 mL) è stato aggiunto Pd/C (10%, 103,9 mg, 0,097 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la miscela di reazione è stata agitata vigorosamente a rt. Dopo 16 h, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (25 mL) ed è stata filtrata attraverso un pannello di Celite con lavaggi di etil acetato (10 mL tre volte). Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare Intermedio **B5** (188 mg), che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₃₂NO₅: 330,2; osservato: 330,3.

Preparazione di Intermedio B6.



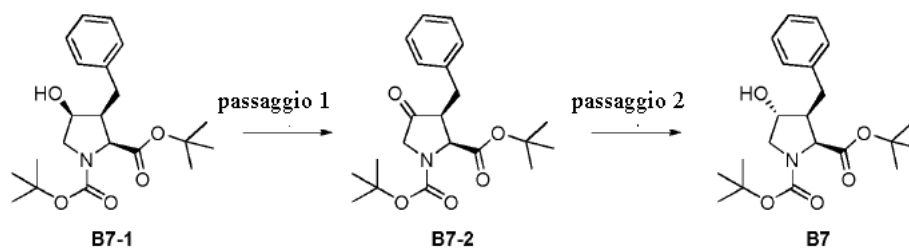
Passaggio 1. Preparazione di **B6-1**: Una soluzione di isopropilmagnesio bromuro (2,9 M in MeTHF, 3,2 mL, 9,3 mmoli) è stata aggiunta a gocce ad una soluzione raffreddata di **B1-1** (1,02 g, 3,00 mmoli) in 60 mL di etere a -78 °C sotto argon. La miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e agitata per 3 ore. La miscela di reazione è stata spenta con sat. NH₄Cl acquoso e estratta tre volte con etere. Le fasi organiche combinate sono state lavate con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, seccate (MgSO₄), filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **B6-1** (743 mg) come un olio giallo chiaro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,60 (dd, J = 10,8, 2,4 Hz, 1H),

5,14 e 5,06 (rotameri, d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,96 (m, 2H), 2,91 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,27 (s, 9H), 1,04 (d, $J = 8,8$ Hz, 6H).

Passaggio 2. Preparazione di **B6-2** e **B6-3**: $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,32 g, 3,50 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **B6-1** (740 mg, 2,18 mmoli) in 47 mL di metanolo a temperatura ambiente sotto argon. Dopo aver raffreddato a -78 °C, sodio boroidruro (127 mg, 3,34 mmoli) è stato aggiunto lentamente in porzioni. Dopo due ore, la miscela di reazione è stata riscaldata a 0 °C. Dopo quindici minuti, la miscela di reazione è stata spenta con NH_4Cl acquoso saturo e estratta tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con salamoia, seccate (MgSO_4), filtrata, e concentrate a pressione ridotta per dare una miscela 3:1 di **B6-2** (principale) e **B6-3** (secondario) come una pellicola incolore (738 mg), che è stata usata nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5,68-5,48 (m, 1H), 4,90-4,31 (m, 2H), 4,05-3,15 (m, 2H), 2,90-2,61 (m, 1H), 1,50-1,39 (s largo, 18H), 1,02 (d, $J = 9,2$ Hz, 6H).

Passaggio 3. Preparazione di Intermedio **B6**: La miscela 3:1 di **B6-2** e **B6-3** (341 mg, 1,00 mmoli) è stata sciolta in 28 mL di etil acetato. Palladio su carbone (10% in peso, 109 mg, 0,11 mmoli) è stato poi aggiunto e la miscela è stata idrogenata sotto un'atmosfera di idrogeno per diciannove ore. La miscela è stata poi filtrata su Celite, lavando con etil acetato, e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) per dare Intermedio **B6** (141 mg) come un olio incolore. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 4,31-4,17 (m, 2H), 3,97-3,85 (m, 1H), 3,21-3,07 (m, 1H), 2,35-2,18 (m, 1H), 1,92-1,78 (m, 1H), 1,47-1,37 (m, 18H), 1,35-1,19 (m, 2H), 0,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 6H).

Preparazione di Intermedio **B7**.

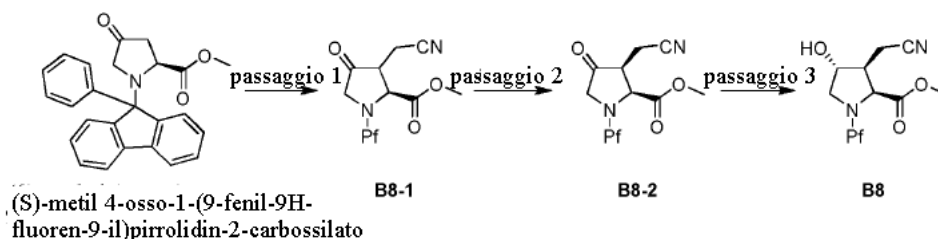


Passaggio 1. Preparazione di **B7-2**: Ad una soluzione di alcol **B7-1** (500 mg, 1,33 mmoli; preparato secondo Barreling, P., et al. Tetrahedron 1995, 51, 4195) in DCM (6,65 mL) è stato aggiunto Periodinano di Dess-Martin

(564 mg, 1,33 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata purificata direttamente mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare chetone **B7-2** (431 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₁H₃₀NO₅: 376,2; osservato: 376,2.

Passaggio 2. Preparazione di Intermedio **B7**: Ad una soluzione di intermedio **B7-2** (410 mg, 1,09 mmoli) e (*R*)-(+)-2-metil-CBS-ossazaborolidina (Aldrich, 1 M in toluene, 1,09 mL, 1,09 mmoli) in THF (5,45 mL) è stato aggiunto BH₃•THF (1 M in toluene, 2,18 mL, 2,18 mmoli) a -78 °C sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata spenta con soluzione acquosa satura di cloruro d'ammonio (15 mL) e la risultante miscela è stata lasciata riscaldare a rt. Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta due volte (20 mL) con DCM. Gli strati organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro, e sono stati concentrati sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare Intermedio **B7** (390,9 mg, 4:1 miscela di diastereomeri) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₁H₃₂NO₅: 378,2; osservato: 378,5.

Preparazione di Intermedio **B8**.



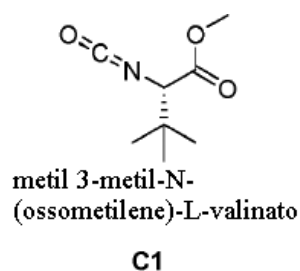
Passaggio 1. Preparazione di **B8-1**, n-BuLi (0,44 mL, 1,1 mmoli, 2,5 M in esano) è stato aggiunto ad una soluzione fredda (-78 °C) di (*S*)-metil 4-osso-1-(9-fenil-9H-fluoren-9-il)pirrolidin-2-carbossilato (383 mg, 1 mmoli, preparato come descritto in Sardina, F.J., Blanco, M.-J. J. Org. Chem. 1996, 61, 4748) in THF/HMPA (3,8 mL/ 0,4 mL). La risultante soluzione è stata agitata a -78 °C fino a -50 °C per 1,5 h, e poi bromoacetonitrile (0,2 mL, 3 mmoli) è stato aggiunto. La miscela di reazione è stata agitata mentre la temperatura è stata lasciata raggiungere -10 °C (4 h). La miscela di reazione è stata caricata con NH₄Cl acquoso saturo (1 mL) e EtOAc (15 mL). Lo strato organico è stato separato, e lo strato acquoso è stato estratto con EtOAc (10 mL). Entrambi gli strati organici sono stati combinati, lavati con H₂O e salamoia, e seccati su Na₂SO₄. Lo strato organico è stato

concentrato e purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare miscela di diastereomeri **B8-1** (170 mg) come un olio incolore.

Passaggio 2. Preparazione di **B8-2**, KHMDS (0,4 mL, 0,4 mmoli, 1 M in THF) è stato aggiunto ad una soluzione fredda (-78 °C) di **B8-1** (140 mg, 0,33 mmoli) in THF/DMPU (1,5 mL/0,75 mL). La risultante soluzione è stata agitata a -78 °C per 1,5 h. Poi HOAc (0,1 mL) è stato aggiunto. La miscela di reazione è stata caricata con NH₄Cl acquoso saturo (1 mL) e EtOAc (15 mL). Lo strato organico è stato separato, e lo strato acquoso è stato estratto con EtOAc (10 mL). Entrambi gli strati organici sono stati combinati, lavati con H₂O e salamoia, e seccati su Na₂SO₄. Lo strato organico è stato concentrato e purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare chetone **B8-2** (120 mg) come un olio incolore.

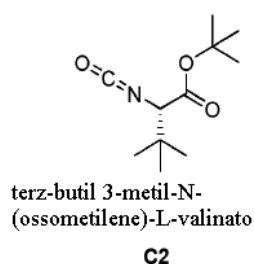
Passaggio 3. Preparazione di Intermedio **B8**. Ad un pallone seccato in stufa, irrorato con azoto è stato aggiunto BH₃•THF (0,28 mL, 0,28 mmoli,) seguito da (*R*)-(+)-2-metil-CBS-ossazaborolidina (0,012 mL, 0,03 mmoli, 1,0 M in toluene). Una soluzione di **B8-2** (120 mg, 0,28 mmoli) in THF (0,5 mL) è stato aggiunto a gocce. La miscela di reazione è stata agitata a rt per 60 min, e poi spenta per aggiunta di 1,0 M HCl acquoso (0,2 mL), EtOAc (20 mL) è stato aggiunto e la fase organica lavata con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, e seccata su Na₂SO₄. Lo strato organico è stato concentrato e purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare Intermedio **B8** (100 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M]⁺ calc. per C₂₇H₂₄N₂O₃: 424,49; osservato: 424,77.

Preparazione di Intermedio **C1**.



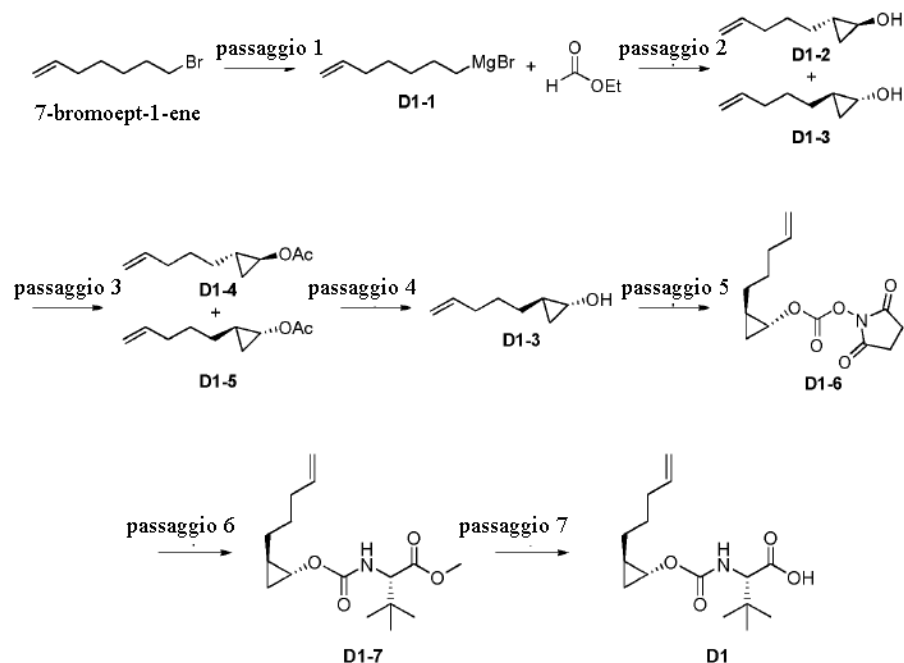
Metil 3-metil-N-(ossometilene)-L-valinato (Intermedio **C1**) è stato preparato secondo Passaggio 3 di Intermedio B1 di Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2010/11566 (di seguito "WO'566"), p 14.

Preparazione di Intermedio C2.



Intermedio **C2** (tert-butil 3-metil-N-(ossometilene)-L-valinato) è stato preparato in maniera simile a Intermedio **C1**, sostituendo tert-butil 3-metil-L-valinato (Bachem AG) per metil 3-metil-L-valinato in Passaggio 3 di intermedio B1 di WO'566, p 14.

Preparazione di Intermedio D1.



Passaggi 1 e 2. Preparazione di trans-ciclopropanolo miscela **D1-2** e **D1-3**: THF (1000 mL) è stato introdotto in un pallone a tre colli a fondo sferico contenente Mg (32,2 g, 1,34 moli). Una soluzione di 7-bromohept-1-ene (216 g, 1,22 moli) in THF (600 mL) è stata introdotta ad un imbuto per aggiunta. Un cristallo di iodio e 20 mL di 7-bromohept-1-ene soluzione sono stati aggiunti alla reazione. La soluzione è stata riscaldata a riflusso, e il resto della soluzione di 7-bromohept-1-ene è stato aggiunto a gocce. Dopo che l'aggiunta era completa, la miscela è

stata tenuta a riflusso per altre 2 h poi lasciata raffreddare a rt per produrre una soluzione di reagente di Grignard **D1-1**, che è stata poi aggiunta a gocce ad una soluzione di etil formiato (30 g, 0,41 moli) e $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$ (115,2 g, 0,41 moli) in THF (1200 mL) a rt. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela è stata versata in 1600 mL di 10% H_2SO_4 acquoso e estratta con MTBE (1500 mL tre volte). Gli strati organici combinati sono stati lavati con salamoia, seccati su MgSO_4 , filtrati e concentrati sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare 31,0 g di una miscela di trans-ciclopropil alcoli **D1-2** e **D1-3** come un olio giallo. ^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3): δ 5,77-5,70 (m, 1H), 4,96-4,86 (m, 2H), 3,15-3,12 (m, 1H), 2,03-1,98 (m, 2H), 1,75 (s largo, 1H), 1,45-1,37 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 1H), 1,06-1,01 (m, 1H), 0,89-0,82 (m, 1H), 0,63-0,59 (m, 1H), 0,24 (q, $J = 6,0$ Hz, 1H).

Passaggio 3. Preparazione di ciclopropil acetato miscela **D1-4** e **D1-5**: Ad un pallone a fondo sferico da 1000 mL è stato aggiunto trans-ciclopropil alcol miscela **D1-2** e **D1-3** (60,3 g, 0,48 moli), 700 mL di DCM e TEA (62,9 g, 0,62 moli) prima di raffreddare la soluzione in un bagno di acetone/ghiaccio ad una temperatura interna di < 5 °C. Acetil cloruro (41,3 g, 0,53 moli) è stato aggiunto a gocce alla soluzione in un periodo di 30 min mantenendo una temperatura interna < 10 °C. Il risultante impasto liquido è stato poi riscaldato a rt e agitato per 2 h. La miscela di reazione è stata diluita con 350 mL di acqua. La miscela bifasica è stata trasferita ad un imbuto separatore e lo strato acquoso rimosso. Lo strato organico è stato lavato con 480 mL di 2 N HCl acquoso e poi con 500 mL di NaHCO_3 acquoso saturo prima di essiccare su MgSO_4 . Il solvente è stato rimosso sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare una miscela **D1-4** e **D1-5** (56,3 g) come un olio giallo. Informazioni TLC (PE/EtOAc =5/1) R_f (materiale di partenza) = 0,4; R_f (prodotto) = 0,8.

Passaggio 4. Preparazione di **D1-3**: Ad un pallone a fondo sferico da 1000 mL è stata aggiunta una soluzione di miscela **D1-4** e **D1-5** (39 g, 0,23 moli) in 680 mL di MTBE satura con tampone fosfato saturo 0,1 M pH 7. Il pallone è stato posto in un bagno di ghiaccio per mantenere una temperatura interna di circa 10 °C per tutta la reazione di idrolisi che è stata avviata per aggiunta di 3,0 g di Novozyme 435. La reazione è stata maturata a 10 °C per circa 6 h fino a quando la conversione raggiungeva circa 40%. La miscela di reazione è stata filtrata, e l'enzima immobilizzato solido è stato lavato tre volte con 200 mL di MTBE. La risultante soluzione in MTBE è

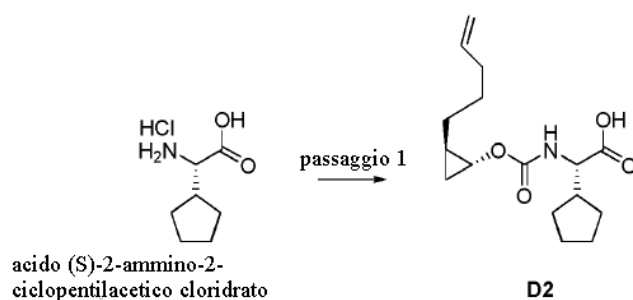
stata concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare **D1-3** (11,3 g) come un olio giallo. $^1\text{H NMR}$: (400 MHz, CDCl_3) δ 5,80-5,75 (m, 1H), 5,02-4,91 (m, 2H), 3,20-3,17 (m, 1H), 2,09-2,03 (m, 3H), 1,50-1,43 (m, 2H), 1,26-1,22 (m, 1H), 1,17-1,08 (m, 1H), 1,07-0,89 (m, 1H), 0,70-0,65 (m, 1H), 0,32-0,27 (m, 1H).

Passaggio 5. Preparazione di **D1-6**: Ciclopropanolo **D1-3** (17,7 g, 0,140 moli) è stato sciolto in 300 mL di MeCN a 0 °C. Alla soluzione è stato aggiunto DSC (72,0 g, 0,280 moli) e TEA (42,42 g, 0,420 moli). La miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e agitata durante la notte e poi concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare **D1-6** (25,8 g) come un solido giallo. $^1\text{H NMR}$: (400 MHz, CDCl_3) δ 5,84-5,77 (m, 1H), 5,05-4,96 (m, 2H), 4,09-4,03 (d, $J = 24$ Hz, 1H), 2,86 (s, 4H), 2,12-2,06 (m, 2H), 1,58-1,51 (m, 2H), 1,33-1,27 (m, 3H), 1,09 (m, 1H), 0,68-0,62 (m, 1H).

Passaggio 6. Preparazione di **D1-7**: Ad una soluzione di **D1-6** (10 g, 0,0374 moli) in THF (374 mL) è stato aggiunto L-terz-leucina metil estere cloridrato (10,2 g, 0,056 moli) e TEA (11,3 g, 0,112 moli). La soluzione è stata agitata durante la notte a 40 °C. La miscela è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato diluito con EtOAc e lavato con acqua e salamoia, seccato su solfato di sodio anidro, filtrato e concentrato sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare **D1-7** (10,2 g) come un olio giallo. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{NO}_4$: 298,2; osservato: 298,0.

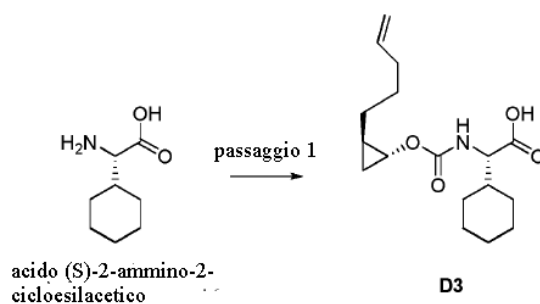
Passaggio 7. Preparazione di Intermedio **D1**: Una soluzione di **D1-7** (20 g, 0,067 moli) in 2:1 miscela di MeOH/H₂O (447 mL/223 mL) è stata trattata con LiOH•H₂O (11,3 g, 0,269 moli) e poi riscaldata a 60 °C per 4 h. La miscela di reazione è stata raffreddata, concentrata a metà volume e estratta con MTBE. Poi la soluzione acquosa è stata acidificata con 1 N HCl acquoso (400 mL) e estratta con EtOAc (400 mL × 3), gli strati organici combinati sono stati lavati con salamoia, seccati su Na₂SO₄, filtrati e concentrati per dare Intermedio **D1** (18 g), $^1\text{H NMR}$: (400 MHz, CDCl_3) δ 10,5-9,4 (largo, 1H), 5,82-5,71 (m, 1H), 5,20-5,17 (m, 1H), 4,99-4,91 (m, 2H), 4,19-4,16 (m, 1H), 3,86-3,68 (m, 1H), 2,09-2,03 (m, 2H), 1,53-1,32 (m, 2H), 1,30-1,20 (m, 2H), 1,18-1,13 (m, 1H), 1,11-0,99 (s, 9H), 0,80-0,75 (m, 1H), 0,49-0,47 (m, 1H).

Preparazione di Intermedio **D2**.



Passaggio 1. Preparazione di Intermedio **D2**: Ad una sospensione di **D1-6** (600 mg, 2,25 mmoli) e acido (S)-2-ammino-2-ciclopentilacetico sale cloridrato (386 mg, 2,7 mmoli, Betapharma Inc.) in THF (20 mL) sono stati aggiunti acqua distillata (6 mL) e trietilammina (0,94 mL, 6,74 mmoli). La soluzione omogenea è stata lasciata agitare per 18 h. Il THF è stato evaporato e il residuo acquoso è stato diluito con acqua (20 mL). La miscela è stata basificata con 1 N NaOH (pH > 10) e poi lavata due volte (20 mL) con etil acetato. La fase acquosa è stata poi acidificata con 1 N HCl (pH < 2) e la risultante soluzione è stata estratta due volte (20 mL) con etil acetato. La fase organica combinata è stata seccata su MgSO₄ anidro e concentrata per dare Intermedio **D2** (500 mg) come un olio marrone. Questo è stato usato senza purificazione in un passaggio successivo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₆H₂₆NO₄: 296,2; osservato: 296,3.

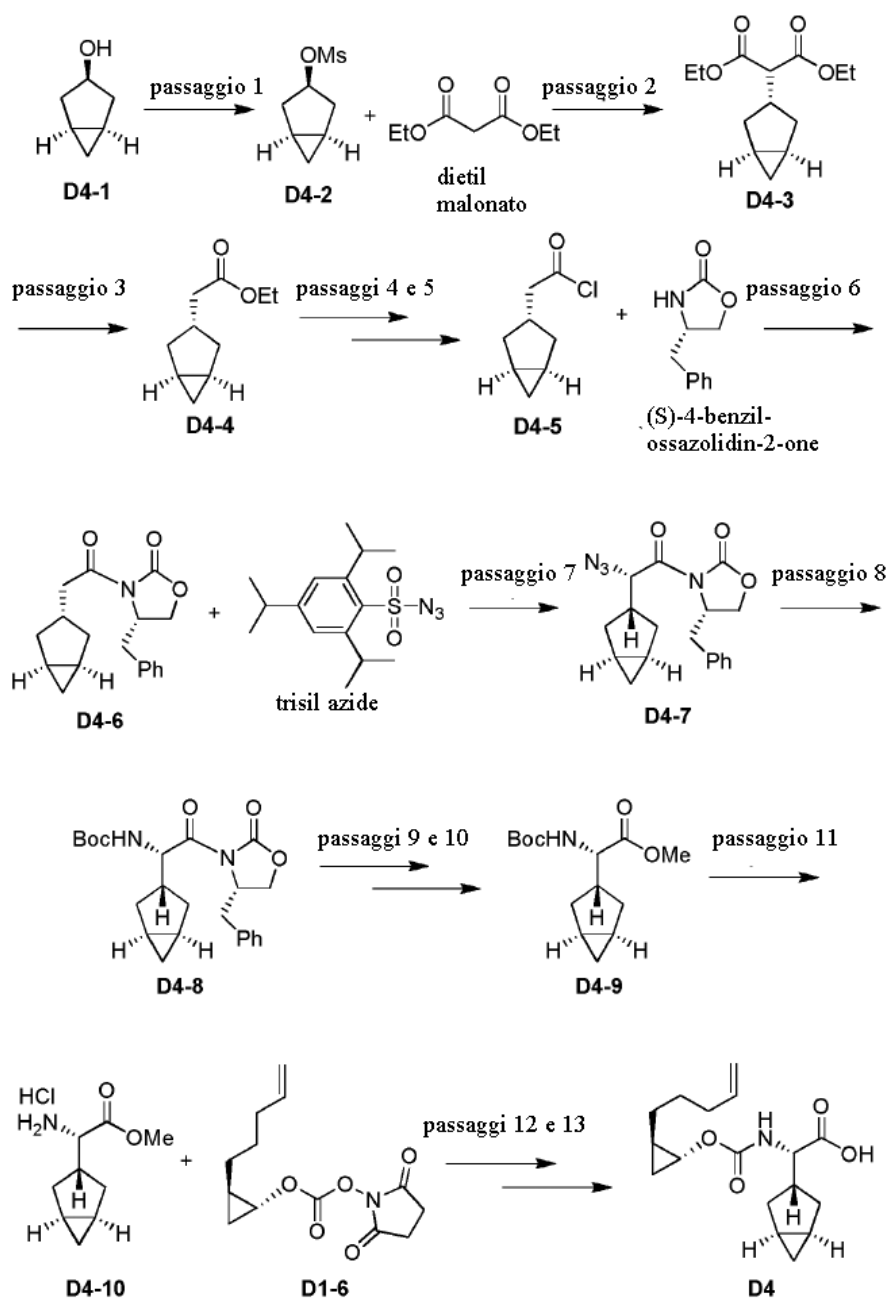
Preparazione di Intermedio **D3**.



Passaggio 1. Preparazione di Intermedio **D3**: Ad una sospensione di **D1-6** (800 mg, 3 mmoli) e acido (S)-2-ammino-2-cicloesilacetico (519 mg, 3,3 mmoli; Alfa Aesar) in acqua (15 mL) è stato aggiunto K₃PO₄ (1,27 g, 6 mmoli). La soluzione omogenea è stata lasciata agitare a rt per 5 h. Alla miscela di reazione è stata caricata con acqua (15 mL) e EtOAc (15 mL). Lo strato organico è stato separato, e lo strato acquoso è stato estratto con

EtOAc (10 mL). Gli strati organici sono stati combinati, lavati con 1 N HCl, H₂O e salamoia, e seccati su Na₂SO₄. Concentrazione della soluzione organica forniva Intermedio **D3** (850 mg) come un olio che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₂₈NO₄: 310,4; osservato: 310,3.

Preparazione di Intermedio D4.



Passaggio 1. Preparazione di **D4-2**: alcol bicyclico **D4-1** (2,9 g, 29,5 mmoli, preparato secondo Sezione A, Intermedio 1 di Brevetto U.S.A. N. 8.178.491 B2 (di seguito "US '491"), p 192) è stato sciolto in DCM (60 mL) e TEA (8,2 mL, 59 mmoli) è stato aggiunto. La soluzione agitata è stata raffreddata a 0 °C e MsCl (3,4 mL, 44

mmoli) è stato aggiunto. La miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a rt gradualmente. Dopo 18 h, la miscela di reazione è stata versata in H₂O. Lo strato acquoso è stato estratto 2 x con DCM poi gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (20% fino a 50% EtOAc/Es) per dare **D4-2** (3,73 g).

Passaggio 2. Preparazione di **D4-3**: NaH (1,69 g, 42,3 mmoli) è stata sospesa in 100 mL THF e la miscela è stata raffreddata a 0 °C, Dietil malonato (6,4 mL, 47 mmoli) è stato aggiunto a gocce in 4 min e la miscela agitata è stata riscaldata a rt. Dopo un'altra ora, mesilato **D4-2** (3,73 g, 21,2 mmoli) in 20 mL THF è stato aggiunto e la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso per 15 h. Dopo questo periodo, la miscela di reazione è stata raffreddata a rt e versata in NaHCO₃ acquoso saturo. Lo strato acquoso è stato estratto 2 x con EtOAc. Poi, gli estratti organici sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 15% EtOAc/Es) per dare **D4-3** (4,64 g).

Passaggio 3. Preparazione di **D4-4**: Malonato **D4-3** (4,64 g, 19,3 mmoli) è stato sciolto in 20 mL DMSO poi NaCl (1,24 g, 21,2 mmoli) e acqua (0,694 mL, 38,6 mmoli) sono stati aggiunti. La miscela agitata è stata riscaldata a 170 °C per 48 h poi raffreddata a rt e diluita con Et₂O. La soluzione organica è stata lavata con H₂O due volte, poi salamoia, seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (5% fino a 15% EtOAc/Es) per dare **D4-4** (2,83 g).

Passaggi 4 e 5. Preparazione di **D4-5**: Una soluzione di etil estere **D4-4** (2,83 g, 16,8 mmoli) e LiOH (1 M in H₂O, 34 mL, 34 mmoli) in EtOH (68 mL) è stata agitata a rt o/n poi concentrata a pressione ridotta per rimuovere EtOH. Il materiale restante è stato diluito con H₂O e lavato due volte con DCM. La fase acquosa è stata acidificata a pH 1-2 con 10% HCl e poi estratta tre volte con DCM. Questa soluzione in DCM è stata seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il risultante acido carbossilico grezzo è stato sciolto in DCM (100 mL) e trattato con DMF (5 gocce). Ossalil cloruro (2,2 mL, 25 mmoli) è stato aggiunto cautamente. Dopo aver agitato o/n, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta per dare **D4-5**, che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione.

Passaggio 6. Preparazione di **D4-6**: (S)-4-Benzil-2-ossazolidinone (3,57 g, 20,2 mmoli) è stato sciolto in THF

(80 mL) e raffreddata a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. n-BuLi (1,6 M in esano, 12,6 mL, 20,2 mmoli) è stato aggiunto a gocce in 7 min e la miscela di reazione è stata lasciata agitare a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 30 min. Questa soluzione, contenente l'ossazolidinone litiato è stata poi aggiunta tramite cannula ad una soluzione a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ di cloruro acilico **D4-5** (16,8 mmoli) in THF (80 mL) in 6 min. Dopo aver agitato a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ per altre 30 min, la miscela di reazione è stata spenta per aggiunta di 1 M NaHSO₄ acquoso. La fase acquosa è stata estratta con EtOAc e lo strato organico è stato seccato su MgSO₄, filtrato e concentrato a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 40% EtOAc/Es) per dare **D4-6** (4,32 g). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₈H₂₂NO₃: 300,16; osservato: 300,14.

Passaggio 7. Preparazione di **D4-7**: Una soluzione di KHMDS (0,5 M in PhMe, 3,4 mL, 1,7 mmoli) in THF (5 mL) è stata raffreddata a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ e una soluzione separata a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ di ossazolidinone **D4-6** (465 mg, 1,55 mmoli) in THF (5 mL) è stata aggiunta a gocce tramite cannula. Dopo 30 min, una soluzione a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ di trisilazide (576 mg, 1,86 mmoli) in THF (5 mL) è stato aggiunto tramite cannula. Tre minuti dopo, la reazione è stata spenta per aggiunta di AcOH (0,41 mL, 7,13 mmoli) e la miscela di reazione è stata riscaldata a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 2 h. Dopo aver raffreddato, la miscela è stata versata in salamoia. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con DCM. Gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (4% fino a 25% EtOAc/Es) per dare azide **D4-7** (367 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₈H₂₁N₄O₃: 341,16; osservato: 341,10.

Passaggio 8. Preparazione di **D4-8**: Azide **D4-7** (367 mg, 1,08 mmoli) e di-*terz*-butil dicarbonato (471 mg, 2,16 mmoli) sono stati sciolti in EtOAc (20 mL), 10% Pd/C (197 mg) è stato aggiunto e l'atmosfera sostituita con H₂. La sospensione è stata agitata sotto 1 atm H₂ per 20 h, poi filtrata su Celite e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 30% EtOAc/Es) per dare **D4-8** (376 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-(*t*-Bu)+H]⁺ calc. per C₁₉H₂₃N₂O₅: 359,16; osservato: 359,43.

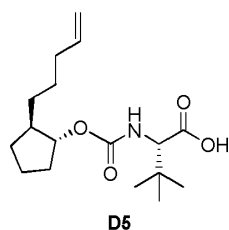
Passaggi 9 e 10. Preparazione di **D4-9**: Carbammato **D4-8** (376 mg, 0,907 mmoli) è stato sciolto in THF (9 mL) e raffreddata a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, H₂O₂ (30% in H₂O, 0,463 mL, 4,54 mmoli) e LiOH (1 M in H₂O, 2,7 mL, 2,7 mmoli) sono stati aggiunti. La reazione è stata lasciata agitare a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ per altre 2 h ed è stata poi concentrata a pressione

ridotta. Il risultante concentrato è stato versato in H₂O e la soluzione acquosa è stata lavata due volte con Et₂O, poi acidificata a pH 1-2 e estratta tre volte con DCM. Gli estratti combinati sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il risultante residuo grezzo è stato sciolto in DCM (8 mL) e MeOH (1 mL) e trattato con trimetilsilildiazometano (2 M in esano, 0,9 mL, 1,8 mmoli). Dopo aver agitato per 40 min a rt, la reazione è stata spenta per aggiunta di 10% AcOH/MeOH e concentrata a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (4% fino a 25% EtOAc/Es) per dare **D4-9** (167 mg), ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4,98 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,22 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 1,89 (m, 1H), 1,77-1,46 (m, 4H), 1,42 (s, 9H), 1,22 (m, 2H), 0,28 (dd, *J* = 7,2 Hz, 13,3 Hz, 1H), 0,13 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H).

Passaggio 11. Preparazione di **D4-10**: Carbammato **D4-9** (223 mg, 0,828 mmoli) è stato sciolto in DCM (4 mL) e trattato con HCl (4,0 M in diossano, 1 mL, 4,0 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 17 h, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta per dare ammina sale cloridrato **D4-10**, che è stato portato avanti senza purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₉H₁₆NO₂: 170,12; osservato: 170,04.

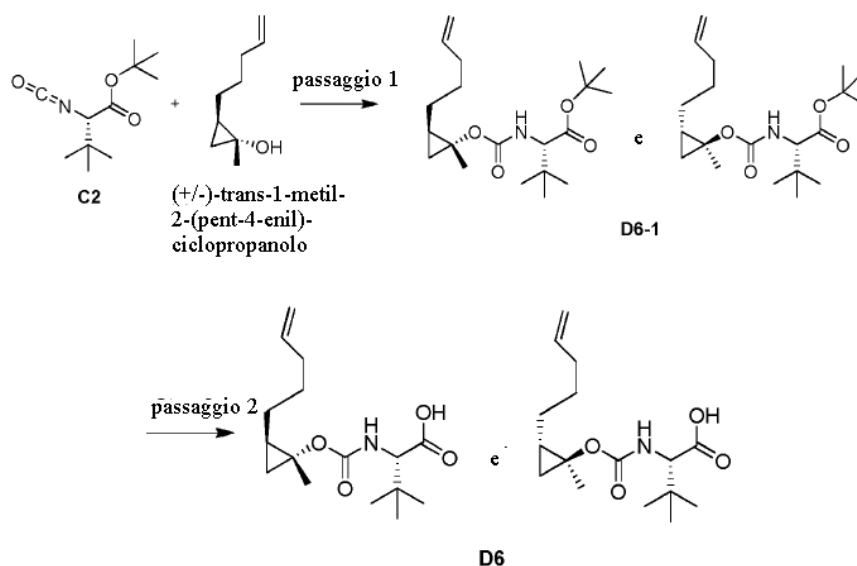
Passaggi 12 e 13. Preparazione di Intermedio **D4**: Ammina sale cloridrato **D4-10** (0,828 mmoli, teorico) in H₂O (1,4 mL) è stato trattato con una soluzione appena preparata di **D1-6** (1,35 mmoli) in DMF (1,4 mL), K₃PO₄ (703 mg, 3,31 mmoli) è stato aggiunto e la miscela di reazione è stata agitata per 2 h a rt. Dopo diluizione con EtOAc, lo strato organico è stato lavato con 10% HCl acquoso e salamoia, poi seccato su MgSO₄, filtrato e concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 25% EtOAc/Es) per dare il carbammato previsto (239 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₈H₂₈NO₄: 322,20; osservato: 323,00. Questo materiale (239 mg, 0,744 mmoli) è stato sciolto in MeOH e trattato con LiOH (1,0 M in H₂O, 5,0 mL, 5,0 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 1 h, il MeOH è stato rimosso a pressione ridotta. La soluzione acquosa è stata acidificata a pH 1-2 con 10% HCl acquoso ed è stata estratta tre volte con DCM. Gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta per dare Intermedio **D4** (229 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₂₆NO₄: 308,2; osservato: 307,9.

Preparazione di Intermedio **D5**.



Intermedio **D5** è stato preparato secondo la procedura descritta in Li, H., et al. Synlett 2011, 10, 1454.

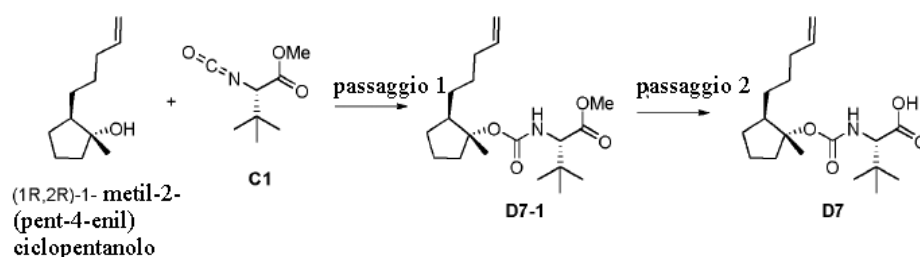
Preparazione di Miscela di intermedi **D6**.



Passaggio 1. Preparazione di miscela di carbammati diastereomeri **D6-1**: Intermedio **C2** (1,34 g, 6,31 mmoli), (\pm)-trans-1-metil-2-(pent-4-enil)ciclopropanolo (590 mg, 4,208 mmoli; preparato secondo procedura per Intermedio C3, WO2011014487, p. 36), DMAP (514 mg, 4,21 mmoli), e DIPEA (2,93 mL, 16,83 mmoli) sono stati combinati in toluene (14 mL). La reazione è stata riscaldata a 90 °C per 18 h. La reazione è stata diluita con Et₂O (25 mL) e 1 N HCl acquoso (75 mL), agitata bene, e le fasi organiche sono state rimosse. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con etere (50 mL), gli estratti organici sono stati combinati, lavati con salamoia, seccati su MgSO₄, filtrati, e concentrati per dare un olio grezzo, che è stato purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare miscela 1:1 di diastereomeri **D6-1** come un olio limpido (820 mg). LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+Na]⁺ calc. per C₂₀H₃₅NNaO₄: 376,3; osservato: 376,2.

Passaggio 2: Preparazione di Miscela di intermedi diastereomeri **D6**. La miscela di diastereomeri **D6-1** è stata ripresa in DCM (2 mL) e trattata con TFA (2 mL) a temperatura ambiente. Dopo 1,5 h, la reazione è stata concentrata *sotto vuoto* e co-evaporata con cloroformio ripetutamente per rimuovere TFA residuo e purificata tramite cromatografia su gel di silice per dare miscela 1:1 di diastereomeri di Intermedio **D6** come un olio marrone, (536 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+Na]⁺ calc. per C₁₆H₂₇NNaO₄: 320,2; osservato: 320,1.

Preparazione di Intermedio **D7**.

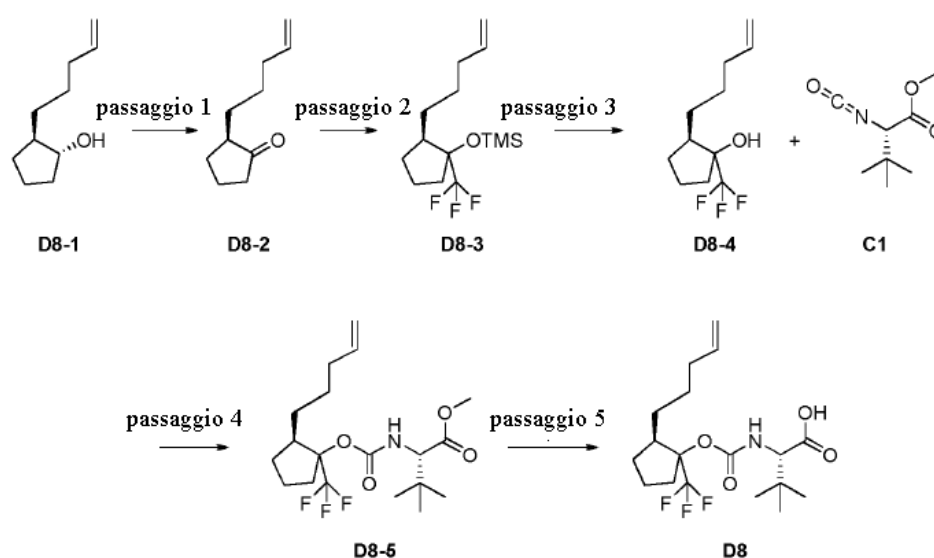


Passaggio 1. Preparazione di **D7-1**: (1R,2R)-1-metil-2-(pent-4-enil)ciclopentanol (220,9 mg, 1,313 mmoli; preparato secondo procedura per Intermedio B26, Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2008/057209 (di seguito "WO '209"), p. 45) e Intermedio **C1** (337,1 mg, 1,969 mmoli) sono stati trattati con DIPEA (0,91 mL, 5,252 mmoli) e DMAP (160,4 mg, 1,313 mmoli) in toluene (4,4 mL). La miscela è stata riscaldata a 85 °C per 21 h. La soluzione è stata diluita con etere (80 mL). La soluzione è stata lavata con 1 N HCl acquoso (30 mL) e salamoia (30 mL) in successione. Lo strato organico ottenuto è stato seccato su Na₂SO₄. Dopo rimozione di agente essiccante per filtrazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (13% etil acetato in esani) per dare **D7-1** (249,5 mg, 0,735 mmoli) come un olio incolore. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, rotameri espressi come valore H totale x frazione presente) δ 5,76-5,92 (m, 1H), 5,12 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,02 (d, *J* = 16,8 Hz, 1H), 4,96 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,13 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,81 (s, 3 x 4/10H), 3,73 (s, 3 x 6/10H), 1,80-2,15 (m, 7H), 1,04-1,74 (m, 6H), 1,36 (s, 3H), 1,04 (s, 9 x 4/10H), 0,97 (s, 9 x 6/10H).

Passaggio 2. Preparazione di Intermedio **D7**: Estere **D7-1** (249,5 mg, 0,735 mmoli) è stato trattato con soluzione acquosa 2 M di LiOH (2 mL, 4,0 mmoli) in MeOH/THF (4 mL / 4 mL) a rt per 25 h. La miscela di reazione è

stata poi trattata con 1 N HCl acquoso (5 mL) e salamoia acquosa (25 mL) per acidificare leggermente. La miscela è stata estratta tre volte con CH₂Cl₂ (30 mL). Lo strato organico è stato lavato con salamoia acquosa (30 mL). Lo strato organico ottenuto è stato seccato su Na₂SO₄. Dopo rimozione di agente essiccante per filtrazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta per dare Intermedio **D7** (191,2 mg, 0,587 mmoli) come un olio incolore che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,00 (s largo, 1H), 5,72-5,90 (m, 1H), 5,12 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,00 (d, *J* = 16,8 Hz, 1H), 4,94 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,13 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 1,80-2,16 (m, 7H), 1,04-1,74 (m, 6H), 1,35 (s, 3H), 1,02 (s, 9H).

Preparazione di Miscela di intermedi D8.



Passaggio 1. Preparazione di **D8-2**: Ad una soluzione di intermedio **D8-1** (500 mg, 3,24 mmoli, preparato secondo WO '209, p. 36) in DCM (6,65 mL) è stato aggiunto Periodinano di Dess-Martin (1,37 g, 3,24 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 6 h, la miscela di reazione è stata filtrata attraverso un pannello di Celite ed è stata direttamente purificata mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare chetone **D8-2** (252 mg) come un olio incolore, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,81 (ddt, *J* = 16,9, 10,2, 6,6 Hz, 1H), 5,05 - 4,92 (m, 2H), 2,38 - 1,93 (m, 7H), 1,87 - 1,68 (m, 2H), 1,60 - 1,37 (m, 3H), 1,35 - 1,20 (m, 1H).

Passaggio 2. Preparazione di miscela di diastereomeri **D8-3**: Ad una soluzione di chetone **D8-2** (385 mg, 2,53 mmoli) e TMSCF_3 (749 μL , 5,07 mmoli) in THF (2,3 mL) è stato aggiunto CsF (7,0 mg, 46 μmol) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2,5 h, la miscela di reazione è stata diluita con acqua (10 mL) e la risultante miscela è stata estratta due volte con DCM (10 mL). Gli strati organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro, e sono stati concentrati sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare silil etere **D8-3** (714 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio incolore, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5,67 (ddt, $J = 13,3, 10,1, 6,7$ Hz, 1H), 4,91 - 4,76 (m, 2H), 2,02 - 1,00 (m, 13H), 0,00 (s, 9H).

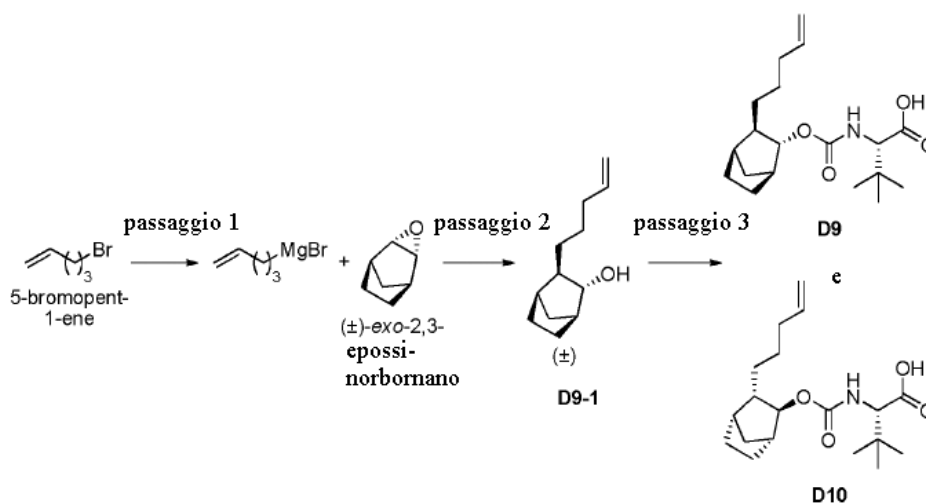
Passaggio 3. Preparazione di miscela di diastereomeri **D8-4**: Ad una soluzione di **D8-3** (700 mg, 2,38 mmoli) in THF (11,9 mL) è stato aggiunto TBAF (1M in THF, 2,38 mL, 2,38 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 30 min, la miscela di reazione è stata diluita con diclorometano (100 mL). La risultante miscela è stata lavata con soluzione acquosa satura di bicarbonato di sodio (75 mL), è stata seccata su solfato di sodio anidro, ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare alcol **D8-4** (418 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio incolore. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5,81 (dt, $J = 16,8, 6,6$ Hz, 1H), 5,09 - 4,88 (m, 2H), 2,20 - 1,91 (m, 4H), 1,86 - 1,08 (m, 10H).

Passaggio 4. Preparazione di miscela di diastereomeri **D8-5**: Una soluzione di **D8-4** (380 mg, 1,72 mmoli), Intermedio **C1** (295,7 mg, 1,72 mmoli), DIPEA (1,20 mL, 6,88 mmoli), e DMAP (210 mg, 1,72 mmoli) in toluene (8,6 mL) è stata riscaldata a 85 °C sotto un'atmosfera di argon. Dopo 20 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata diluita con etil acetato (100 mL). La risultante miscela è stata lavata con soluzione 1 N di HCl (50 mL), soluzione acquosa satura di bicarbonato di sodio (50 mL), e salamoia (50 mL). Lo strato organico è stato seccato su solfato di sodio anidro, ed è stato concentrato sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare carbammato **D8-5** (550 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio incolore, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5,81 (ddt, $J = 16,7, 9,8, 6,6$ Hz, 1H), 5,37 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 5,06 - 4,89 (m, 2H), 4,16 - 4,07 (m, 1H), 3,75 (s,

3H), 2,84 - 2,29 (m, 2H), 2,27 - 1,89 (m, 3H), 1,85 - 1,12 (m, 8H), 0,98 (s, 9H).

Passaggio 5. Preparazione di Miscela di intermedi diastereomeri **D8**: Ad una soluzione di carbammato **D8-5** (500 mg, 1,27 mmoli) in DCE (6,4 mL) è stato aggiunto trimetilstagno idrossido (2,30 g, 12,7 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon, e la risultante miscela è stata riscaldata a 65 °C. Dopo 21 h, la miscela di reazione lasciata raffreddare a rt ed è stata diluita con soluzione 1 N di HCl (50 mL). La risultante miscela è stata estratta con etil acetato (2 × 50 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto* per dare Intermedio **D8** (575 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio incolore, che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,90 - 5,71 (m, 1H), 5,32 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 5,07 - 4,89 (m, 2H), 4,16 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 2,83 - 2,30 (m, 2H), 2,27 - 1,87 (m, 3H), 1,83 - 1,12 (m, 8H), 1,04 (s, 9H).

Preparazione di Miscela di intermedi **D9** e **D10**.

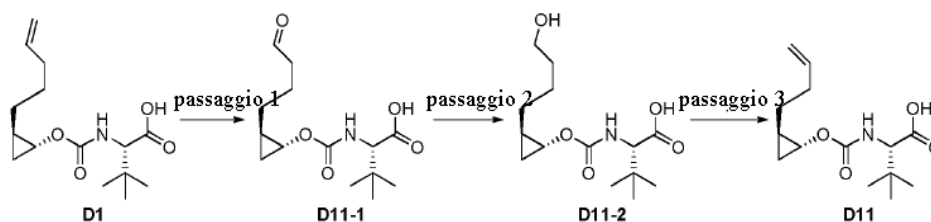


Passaggi 1 e 2: Preparazione di racemo **D9-1**: Magnesio metallico (1,32 g, 54,3 mmoli) è stato aggiunto a un pallone a 2 colli adattato con un condensatore di riflusso e il recipiente è stato irrorato con Ar. THF (42 mL) è stato aggiunto seguito da iodio (circa 5 mg). La sospensione agitata è stata riscaldata a 45 °C e 5-bromopent-1-ene è stato aggiunto (1,2 g, 8,1 mmoli) in una porzione. Dopo aver agitato diversi minuti, altro 5-bromopent-1-ene (5,5 g, 37 mmoli) è stato aggiunto ad un regime sufficiente per mantenere debole riflusso. La risultante

miscela è stata agitata a 50 °C per 15 min ed è stata poi raffreddata a temperatura ambiente e usata immediatamente nel seguente passaggio. Una sospensione di CuI (630 mg, 3,3 mmoli) in THF (24 mL) sotto Argon è stata raffreddata a -5 °C. Un'aliquota di pent-4-enilmagnesio bromuro (ca, 0,95 M, 20 mL, 19 mmoli) preparato in passaggio 1 è stato aggiunto in 5 min, e la risultante miscela è stata agitata per altri 15 min. La miscela di reazione è stata poi raffreddata a -20 °C, e (\pm)-exo-2,3-epossinorbornano (1,5 g, 14 mmoli) è stato aggiunto come una soluzione in THF (5 mL) in 1 min. Altre due porzioni di THF (2,5 mL ciascuna) sono state usate per garantire trasferimento completo, e la risultante miscela è stata agitata per 20 min. La reazione è stata poi rimossa dal bagno freddo e riscaldata a rt. Dopo aver agitato altre 1,75 h, la reazione è stata spenta con NH₄Cl acquoso saturo (5 mL) ed è stato filtrato con EtOAc (100 mL) e H₂O (100 mL) attraverso Celite. Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare (\pm)-**D9-1** come un residuo incolore (813 mg), ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5,90 - 5,67 (m, 1H), 5,04 - 4,86 (m, 2H), 3,12 (s, 1H), 2,20 - 1,92 (m, 5H), 1,69 - 1,57 (m, 1H), 1,55 - 1,12 (m, 9H), 1,03 - 0,84 (m, 1H).

Passaggio 3. Preparazione di Miscela di intermedi diastereomeri **D9** e **D10**: miscela di alcol (\pm)-**D9-1** (813 mg, 4,51 mmoli) è stata sciolta in DMF (4,5 mL). Piridina (370 μ L, 4,5 mmoli) è stata aggiunta seguita da DSC (1,5 g, 5,8 mmoli). La miscela di reazione è stata riscaldata a 45 °C ed è stata agitata per 4 h. La miscela di reazione è stata poi raffreddata a 0 °C e acqua (4,5 mL) è stata aggiunta a gocce in 2 min. La miscela di reazione è stata agitata per 5 min ed è stata rimossa dal bagno freddo. Dopo altri 5 min, la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e L-terz-leucina (835 mg, 6,37 mmoli) e K₃PO₄ (2,70 g, 12,7 mmoli) sono stati aggiunti. La miscela è stata agitata per 10 min ed è stata rimossa dal bagno freddo. Dopo aver agitato altre 24 h, la miscela è stata diluita con EtOAc (30 mL), acidificata con 1 M HCl acquoso (15 mL), e diluita con 0,2 M HCl acquoso (15 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata lavata con 0,2 M HCl acquoso (2 x 20 mL), seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare Miscela di intermedi diastereomeri **D9** e **D10** (1,64 g). LCMS-ESI⁻ (*m/z*): [M-H]⁻ calc. per C₁₉H₃₀NO₄: 336,2; osservato: 336,0.

Preparazione di Intermedio D11.



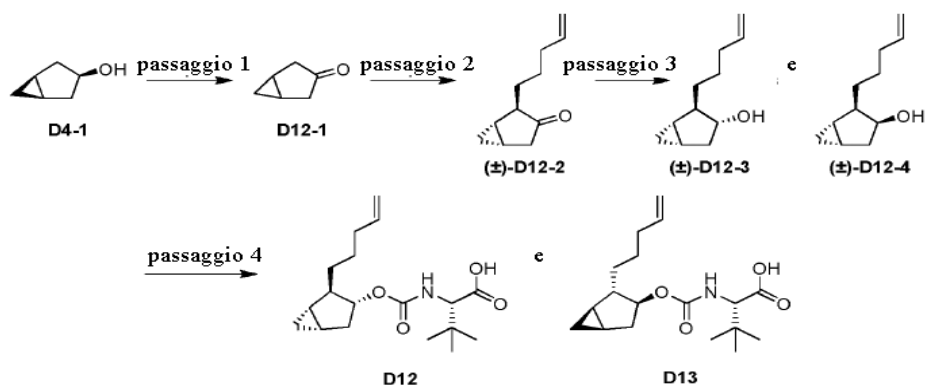
Passaggio 1. Preparazione di **D11-1**: Ad una miscela di **D1** (1,0 g, 3,53 mmoli), sodio periodato (2,26 g, 10,59 mmoli) in 24 mL THF e 12 mL acqua è stato aggiunto Os EnCat™ 40 (0,25 mmoli/g caricamento, 282 mg, 0,071 mmoli, Sigma-Aldrich). La miscela è stata agitata per 3 giorni. Acqua (50 mL) è stata aggiunta e la miscela è stata filtrata. Il pannello di filtrazione è stato lavato con acqua (volume totale 400 mL) e etil acetato (volume totale 600 mL). Gli strati di filtrato sono stati separati. La fase organica è stata seccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata per dare **D11-1** (1,56 g) che è stato usato senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₄H₂₄NO₅: 286,2 osservato: 286,1.

Passaggio 2. Preparazione di **D11-2**: Ad una soluzione di **D11-1** (3,05 g, 10,7 mmoli) in MeOH (50 mL) a 0 °C è stato aggiunto sodio boridruro in porzioni (809 mg, 21,4 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 6 h. La miscela è stata diluita con 50 mL etil acetato e 50 mL salamoia e gli strati sono stati separati. La fase organica è stata estratta con due 25 mL porzioni di etil acetato. La fase organica combinata è stata seccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata. La miscela di prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 10% fino a 100%) per dare **D11-2** (380 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₄H₂₆NO₅: 288,2; osservato: 288,1.

Passaggio 3. Preparazione di Intermedio **D11**: Ad una soluzione di **D11-2** (283 mg, 0,98 mmoli) in THF (2,8 mL) a 0 °C è stato aggiunto 1-nitro-2-selenocianatobenzene (336 mg, 1,47 mmoli) e tributilfosfina (363 µL, 1,47 mmoli). Il bagno refrigerante è stato rimosso e la miscela è stata agitata per 25 minuti a rt. La reazione è stata nuovamente raffreddata a 0 °C e è stata trattata con soluzione al 30% di perossido di idrogeno (0,665 mL, 5,85 mmoli) e agitata per 1 h a rt e poi riscaldata a 60 °C per 1 h. La reazione è stata diluita con EtOAc e il prodotto desiderato è stato estratto in bicarbonato di sodio acquoso. L'estratto in bicarbonato è stato acidificato con 2 N

HCl e estratto con etil acetato. La fase organica è stata seccata su solfato di sodio e concentrata per dare Intermedio **D11** (136 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₄H₂₄NO₄: 270,2; osservato: 270,1.

Preparazione di Miscela di intermedi D12 e D13.



Passaggio 1: Preparazione di **D12-1**: Ad una soluzione di K₂Cr₂O₇ (121 g, 0,41 moli) in H₂O (1,5 L) è stato aggiunto a gocce H₂SO₄ (143 g, 1,46 moli) a rt e la miscela è stata agitata per 1 h. La miscela è stata poi raffreddata a 0 °C e **D4-1** (80 g, 0,814 mol; preparato secondo Sezione A, Intermedio 1 di US '491, p 192,) in MTBE (1,5 L) è stato aggiunto a gocce. La miscela di reazione è stata agitata a rt per 2 h. La fase acquosa è stata estratta con MTBE (3 x 500 mL), seccata su MgSO₄, filtrata, e concentrata *sotto vuoto*. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante distillazione (20 mmHg, bp: 60 - 62 °C) per fornire **D12-1** come un liquido giallo chiaro (60 g), ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2,57 - 2,63 (m, 2H), 2,14 - 2,19 (d, *J* = 20 Hz, 2H), 1,52 - 1,57 (m, 2H), 0,89 - 0,94 (m, 1H), -0,05 - -0,02 (m, 1H).

Passaggio 2: Preparazione di (±)-**D12-2**: Sotto Ar, una miscela di THF (4,4 mL) e HMPA (1,8 mL) è stata raffreddata a -78 °C. Una soluzione 1 M di LiHMDS in THF (2,2 mL, 2,2 mmoli) è stata aggiunta. Chetone **D12-1** (202 mg, 2,10 mmoli) è stato aggiunto come una soluzione in THF (2 mL) in 1 min, lavando con altro THF (2 x 1 mL) per garantire trasferimento completo. Dopo 25 min, 5-iodopent-1-ene (preparato secondo Jin, J. et al. J. Org. Chem. 2007, 72, 5098-5103) (880 mg, 4,5 mmoli) è stato aggiunto in 30 s tramite siringa. Dopo 10 min, la reazione è stata posta in un bagno freddo a -45 °C e è stata riscaldata a -30 °C in 1,5 h. La reazione è stata spenta con NH₄Cl acquoso saturo (15 mL) ed è stata diluita con EtOAc (30 mL) e H₂O (15 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). Gli estratti organici combinati sono

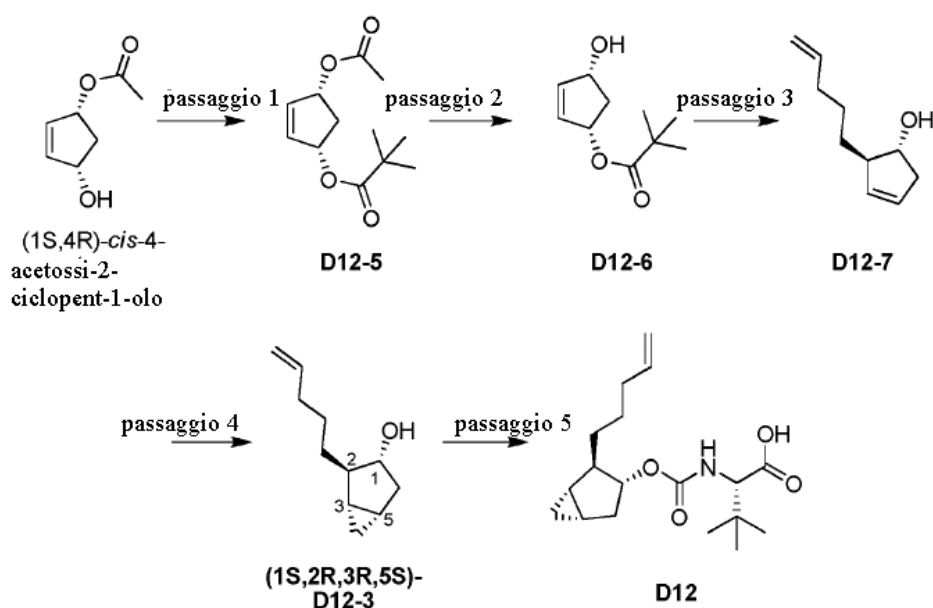
stati seccati su Na_2SO_4 , filtrati, e concentrati per dare un residuo grezzo che è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 15% EtOAc in esani) per fornire (+/-) **-D12-2** un olio incolore (162 mg), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 5,82 - 5,67 (m, 1H), 5,03 - 4,87 (m, 2H), 2,61 - 2,51 (m, 1H), 2,11 (d, $J = 19,1$ Hz, 1H), 2,08 - 1,99 (m, 3H), 1,61 - 1,40 (m, 5H), 1,36 - 1,28 (m, 1H), 0,92 - 0,81 (m, 1H), -0,03 - -0,11 (m, 1H).

Passaggio 3: Preparazione di (\pm)-**D12-3** e (\pm)-**D12-4**: Una soluzione di (\pm)-**D12-2** (142 mg, 0,865 mmoli) in THF (4 mL) è stata raffreddata a -78 °C. Una soluzione 1M in THF di LiBHEt_3 (1,3 mL, 1,3 mmoli) è stata aggiunta a gocce in 30 s. La reazione è stata agitata 15 min ed è stata rimossa dal bagno freddo. Dopo riscaldamento a rt (15 min), la reazione è stata spenta con NH_4Cl acquoso saturo (1 mL). La risultante miscela è stata diluita con Et_2O (20 mL) e H_2O (20 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con Et_2O (20 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO_4 , filtrati, e concentrati ad un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 10% EtOAc in esani) forniva 133 mg di una miscela di diastereomeri (\pm)-**D12-3** e (\pm)-**D12-4**. Il materiale combinato da due esperimenti (253 mg) è stato inoltre purificato mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 15% EtOAc in esani) per fornire (\pm)-**D12-3** (150 mg) e (\pm)-**D12-4** (58 mg) come oli incolori. $^1\text{H NMR}$ per (\pm)-**D12-3** (300 MHz, CDCl_3) δ 5,91 - 5,69 (m, 1H), 5,07 - 4,88 (m, 2H), 3,97 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 2,19 - 1,99 (m, 3H), 1,84 - 1,73 (m, 1H), 1,62 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 1,54 - 1,40 (m, 2H), 1,32 - 1,17 (m, 3H), 1,16 - 1,06 (m, 1H), 0,60 - 0,43 (m, 2H). $^1\text{H NMR}$ per (\pm)-**D12-4** (300 MHz, CDCl_3) δ 5,95 - 5,73 (m, 1H), 5,09 - 4,88 (m, 2H), 4,05 - 3,86 (m, 1H), 2,17 - 1,84 (m, 4H), 1,72 - 1,34 (m, 5H), 1,28 - 1,08 (m, 3H), 0,49 - 0,36 (m, 1H), 0,21 - 0,11 (m, 1H).

Passaggio 4: Preparazione di Miscela di intermedi diastereomeri **D12** e **D13**: Una miscela di (\pm)-**D12-3** (150 mg, 0,90 mmoli) è stata sciolta in DMF (1,0 mL). Piridina (75 μL , 0,92 mmoli) e DSC (302 mg, 1,18 mmoli) sono stati aggiunti, e la reazione è stata agitata a 45 °C per 21,5 h. La reazione è stata poi posta in un bagno di ghiaccio-acqua e H_2O (1,0 mL) è stata aggiunta a gocce tramite siringa in 1 min. La miscela è stata rimossa dal bagno freddo e lasciata agitare 5 min. La miscela è stata nuovamente raffreddata in un bagno di ghiaccio-acqua e L-terz-leucina (154 mg, 1,17 mmoli) è stata aggiunta seguita da K_3PO_4 (502 mg, 2,36 mmoli). La miscela di

reazione è stata rimossa dal bagno freddo e lasciata agitare a rt per 24 h. La miscela è stata poi diluita con EtOAc (40 mL) e 1 M HCl acquoso (20 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata lavata con 0,2 M HCl acquoso (2 x 20 mL), seccata su MgSO₄, filtrata, e concentrata per dare Miscela di intermedi diastereomeri **D12** e **D13** (300 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁻ (*m/z*): [M-H]⁻ calc. per C₁₈H₂₈NO₄: 322,2; osservato: 322,0).

Preparazione di Intermedio D12.



Passaggio 1: Preparazione di **D12-5**: Ad una soluzione di (1S,4R)-*cis*-4-acetossi-2-ciclopent-1-olo (Aldrich, 10 g, 70,4 mmoli), trietilammina (48,8 mL, 350 mmoli), e DMAP (4,29 g, 35,2 mmoli) in diclorometano (352 mL) è stato aggiunto pivaloil cloruro (10,8 mL, 87,75 mmoli) a gocce tramite siringa a 0 °C sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata diluita con soluzione acquosa saturata di bicarbonato di sodio (500 mL), e estratta con diclorometano (2 × 500 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto* per dare **D12-5** (15,0 g) come un olio incolore. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,08 (s largo, 2H), 5,54 (td, *J* = 8,0, 4,1 Hz, 2H), 2,88 (dt, *J* = 14,9, 7,5 Hz, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,69 (dt, *J* = 14,7, 4,1 Hz, 1H), 1,20 (s, 9H).

Passaggio 2: Preparazione di **D12-6**: Ad una soluzione di **D12-5** (15,0 g, 70,4 mmoli) in metanolo (352 mL) è stato aggiunto potassio carbonato (9,73 g, 70,4 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 5 h, la miscela di reazione è stata filtrata ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato sciolto in etil acetato (500 mL) e la risultante miscela è stata lavata con acqua (500 mL) e salamoia (500 mL), seccati su solfato di sodio anidro, e concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare **D12-6** (12,0 g) come un olio incolore, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6,11 (d largo, $J = 5,5$ Hz, 1H), 5,97 (d largo, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,48 (s largo, 1H), 4,73 (s largo, 1H), 2,82 (dt, $J = 14,6, 7,3$ Hz, 1H), 1,67 (s, 1H), 1,61 (dt, $J = 14,5, 4,0$ Hz, 1H), 1,20 (s, $J = 3,8$ Hz, 9H).

Passaggio 3: Preparazione di **D12-7**: Ad una soluzione di rame(I) cianuro (5,10 g, 57,0 mmoli) in dietil etere (95 mL) è stato aggiunto pent-4-enilmagnesio bromuro (Novel Chemical Solutions, 0,5 M in THF, 114 mL, 57,0 mmoli) a gocce tramite cannula in un periodo di 30 min a 0 °C sotto un'atmosfera di argon. Dopo 10 min, una soluzione di **D12-6** (3,50 g, 19,0 mmoli) in dietil etere (10 mL) è stata aggiunta lentamente tramite cannula. La miscela di reazione è stata poi lasciata riscaldare lentamente a rt. Dopo 16 h, la risultante miscela è stata spenta con soluzione acquosa satura di cloruro d'ammonio (400 mL) e la risultante miscela è stata estratta in etil acetato (2×400 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con salamoia (400 mL), seccate su solfato di sodio anidro, e concentrate sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare **D12-7** (2,4 g) come un olio incolore. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5,80 (ddt, $J = 16,9, 10,2, 6,7$ Hz, 1H), 5,69 (dd, $J = 5,8, 1,7$ Hz, 1H), 5,65 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 5,00 (dd, $J = 17,1, 1,3$ Hz, 1H), 4,94 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 4,12 - 4,05 (m, 1H), 2,69 (ddd, $J = 17,2, 6,4, 1,5$ Hz, 1H), 2,54 - 2,45 (m, 1H), 2,24 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 1,69 (s largo, 1H), 1,52 - 1,19 (m, 6H).

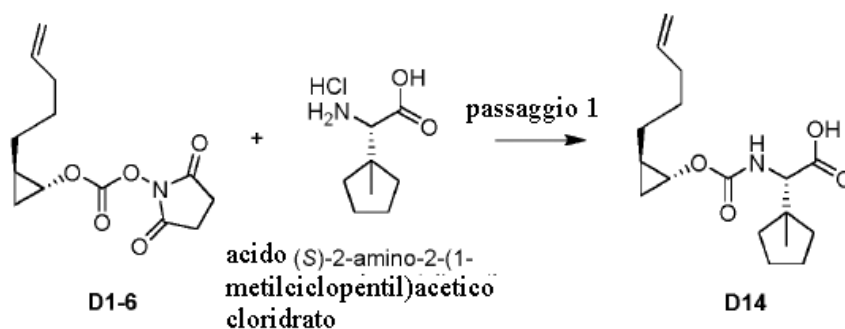
Passaggio 4: Preparazione di **(1S,2R,3R,5S)-D12-3**: Ad una soluzione di **D12-7** (20 mg, 0,13 mmoli), e dietil zinco (1 M in esani, 132 μL , 0,132 mmoli) in dietil etere (0,66 mL) è stato aggiunto diiodometano (21 μL , 0,26 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata spenta con soluzione acquosa 1 N di HCl (0,66 mL). Dopo 5 min, la risultante miscela gialla è stata diluita con soluzione acquosa satura di bicarbonato di sodio (5 mL) e la risultante miscela è stata estratta con diclorometano (3×5 mL). Gli estratti

organici combinati sono stati seccati su soluzione di solfato di sodio anidro, e sono stati concentrati sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare **(1S,2R,3R,5S)-D12-3** (10 mg) come un olio incolore.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5,83 (ddt, $J = 16,9, 10,2, 6,7$ Hz, 1H), 5,02 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 4,96 (d, $J = 11,3$ Hz, 1H), 4,00 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 2,19 - 2,02 (m, 3H), 1,82 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 1,64 (d, $J = 14,2$ Hz, 1H), 1,55 - 1,42 (m, 2H), 1,38 - 1,20 (m, 4H), 1,19 - 1,08 (m, 1H), 0,62 - 0,47 (m, 2H).

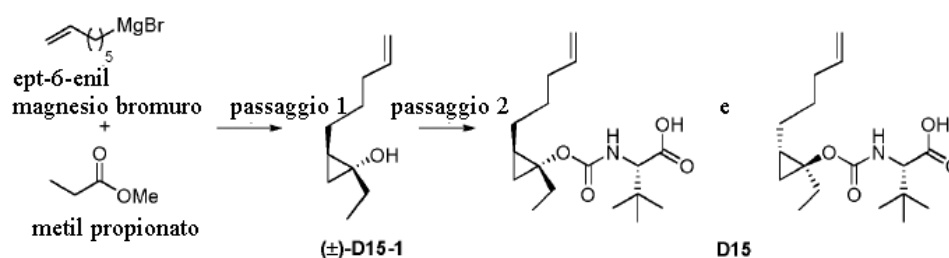
Passaggio 5: Preparazione di Intermedio **D12**: Alcol **(1S,2R,3R,5S)-D12-3** (0,450 g, 2,7 mmoli) è stato ripreso in DMF (2,7 mL) e trattato successivamente con DSC (0,92 g, 3,52 mmoli) e piridina (0,22 mL, 2,8 mmoli). La reazione è stata poi riscaldata a 50 °C o/n. La reazione è stata poi raffreddata a 0 °C e acqua (5,5 mL) è stata aggiunta a gocce in 1 min. La risultante sospensione opaca è stata agitata a rt per 10 min prima di raffreddare nuovamente a 0 °C. La reazione è stata poi trattata successivamente con L-terz-leucina (0,462 g, 3,5 mmoli) e K_3PO_4 (1,5 g, 7,0 mmoli) e lasciata riscaldare a rt durante la notte con agitazione vigorosa. La risultante sospensione opaca è stata diluita con EtOAc e 1 M HCl acquoso. Altro HCl (12 M) è stato aggiunto a gocce per regolare il pH a 3. Lo strato acquoso è stato estratto con EtOAc e gli estratti organici combinati sono stati lavati con salamoia e seccati su MgSO_4 anidro. Dopo concentrazione sotto vuoto, Intermedio **D12** è stato ottenuto (1,72 g) come un olio viscoso incolore che è contaminato con piccole quantità di DMF e EtOAc. Il materiale è stato usato in reazioni successive senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{NO}_4$: 324,2; osservato 324,7.

Preparazione di Intermedio D14.



Passaggio 1. Preparazione di Intermedio **D14**. Carbonato **D1-6** (862 mg, 3,23 mmoli) è stato trattato con acido (S)-2-ammino-2-(1-metilciclopentil)acetico cloridrato (750 mg, 3,87 mmoli; preparato secondo Robl, J.A., et al. J. Med. Chem., 2004, 47, 2587), THF (28 mL), H₂O (8,4 mL) e TEA (1,4 mL, 9,7 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata per 16 h e il THF è stato rimosso *sotto vuoto*. Il materiale restante è stato diluito con H₂O e il pH regolato a 10-12 per aggiunta di 10% NaOH acquoso. La fase acquosa è stata lavata due volte con EtOAc e poi acidificata a pH 1-2 con 10% HCl acquoso. La soluzione acida è stata estratta 3x con EtOAc. Gli estratti combinati sono stati seccati su MgSO₄ anidro, filtrati e concentrati *sotto vuoto*. I lavaggi di EtOAc iniziali (della soluzione acquosa basica) sono stati lavati con 10% HCl acquoso, seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati *sotto vuoto*. I concentrati combinati sono stati purificati mediante cromatografia su gel di silice (50% fino a 100% EtOAc/Es) per dare Intermedio **D14** (980 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₂₈NO₄: 310,2; osservato 310,0.

Preparazione di Miscela di intermedi **D15**.

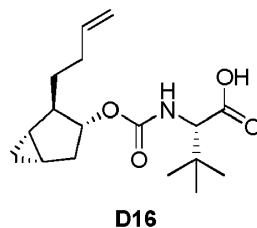


Passaggio 1. Preparazione di (±)-**D15-1**: Ad una soluzione di titanio(IV) isopropossido (11,3 g, 40,0 mmoli) in THF (160 mL) è stato aggiunto metil magnesio bromuro (3 M in Et₂O, 20 mL, 60,0 mmoli) a gocce tramite siringa a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 10 min, la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e una soluzione di metil propionato (3,80 mL, 40,0 mmoli) in THF (10 mL) è stato aggiunto lentamente tramite siringa. Dopo 5 min, ept-6-enilmagnesio bromuro (Novel Chemical Solutions, 0,5 M in THF, 160 mL, 80 mmoli) è stato aggiunto a gocce tramite imbuto per aggiunte in 1 h. Dopo 2,5 h, la miscela di reazione è stata spenta con 10% acido solforico acquoso (100 mL) e la risultante miscela è stata estratta con dietil etere (2 × 200 mL). La fase organica è stata seccata su solfato di sodio anidro ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare (±)-**D15-1**

(3,03 g, 50%) come un olio incolore. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5,77 (ddt, $J = 16,9, 10,2, 6,7$ Hz, 1H), 5,03 - 4,86 (m, 2H), 2,04 (q, $J = 6,1$ Hz, 2H), 1,75 - 1,14 (m, 6H), 1,04 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,01 - 0,91 (m, 1H), 0,89 - 0,71 (m, 2H), 0,02 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H).

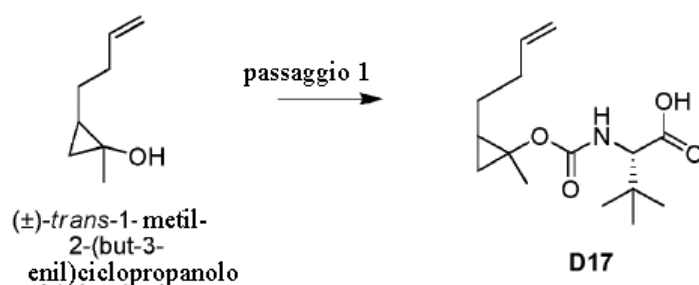
Passaggio 2. Preparazione di Miscela di intermedi diastereomeri **D15**: Miscela di alcol racemici (\pm)-**D15-1** (2,00 g, 13,0 mmoli) è stata sciolta in DMF (13,0 mL). Piridina (1,05 mL, 13,0 mmoli) è stata aggiunta seguita da DSC (4,00 g, 15,6 mmoli). La miscela di reazione è stata riscaldata a 50 °C ed è stata agitata per 20 h. La miscela di reazione è stata poi raffreddata a rt e acqua (13 mL) è stata aggiunta a gocce in 2 min. L-terz-leucina (2,17 g, 13,0 mmoli) e K_3PO_4 (8,28 g, 39,0 mmoli) sono stati poi aggiunti e la miscela di reazione è stata riscaldata a 50 °C. Dopo 5 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata diluita con acqua (500 mL). La risultante miscela è stata lavata con diclorometano (100 mL). La fase acquosa è stata poi acidificata a pH 2 con soluzione acquosa 2 N di HCl, ed è stata estratta con DCM (2×400 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati a pressione ridotta per dare Miscela di intermedi diastereomeri **D15** (4,5 g) come un olio arancione chiaro, che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione.

Preparazione di Intermedio D16:



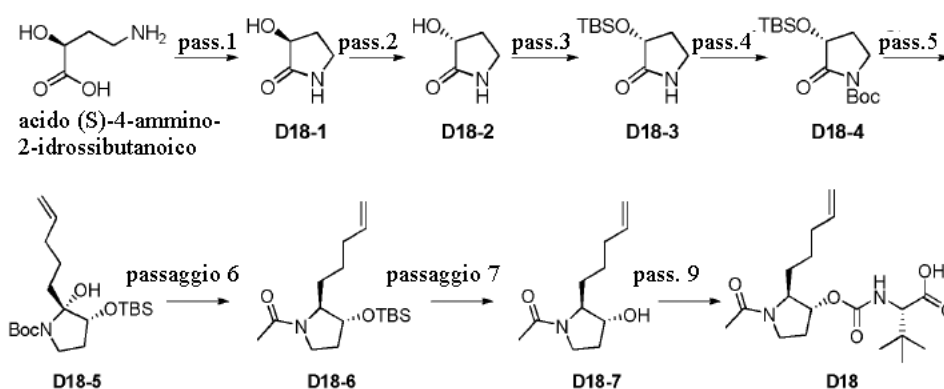
Intermedio **D16** è stato preparato in maniera simile alla preparazione di Intermedio **D12**, sostituendo but-3-enilmagnesio bromuro per pent-4-enilmagnesio bromuro in Passaggio 3. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{NO}_4$: 310,2; osservato 310,8.

Preparazione di Intermedio D17:



Passaggio 1. Preparazione di miscela di intermedi **D17**, (±)-*trans*-1-metil-2-(but-3-enil)ciclopropanolo (900 mg, 13 mmoli), preparato secondo procedura per Intermedio B2, Pubblicazione di brevetto internazionale N. WO 2012/40040 (di seguito "WO '040"), p. 38, è stato sciolto in DMF (6 mL). Piridina (577 μ L, 7,13 mmoli) è stata aggiunta seguita da DSC (2,37 g, 9,27 mmoli). La miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C ed è stata agitata per 18 h. La miscela di reazione è stata poi raffreddata a 0 °C e acqua (6 mL) è stato aggiunto a gocce in 5 min. La miscela di reazione è stata agitata per 5 min ed è stata rimossa dal bagno freddo. Dopo altre 5 min, la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e L-terz-leucina (1,21 g, 9,27 mmoli) e K_3PO_4 (4,69 g, 22,1 mmoli) sono stati aggiunti. La miscela è stata agitata per 10 min ed è stata rimossa dal bagno freddo. Dopo aver agitato altre 6 h, la miscela è stata diluita con EtOAc (30 mL), acidificata con 1 M HCl acquoso (25 mL), e diluita con 0,2 M HCl acquoso (25 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata lavata con 0,2 M HCl acquoso (2 x 20 mL), seccata su Na_2SO_4 , filtrata, e concentrata per dare miscela di carbammati diastereomeri **D17** (2,10 g). LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+Na]^+$ calc. per $C_{15}H_{25}NNaO_4$: 306,2; osservato: 306,1.

Preparazione di Intermedio D18:



Passaggio 1. Preparazione di **D18-1**: (Preparato secondo WO2011013141) Ad una soluzione di acido (S)-4-ammino-2-idrossibutanoico (15 g, 126 mmoli) in metanolo (95 mL) è stato aggiunto acido solforico concentrato (8 mL), e la reazione è stata riscaldata a riflusso. Dopo 18 h, la risultante miscela è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato impastato con etil acetato (95 mL) e **D18-1** è stato raccolto mediante filtrazione sotto vuoto. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,69 (s largo, 1H), 4,31 (ddd, *J* = 9,2, 8,1, 2,2 Hz, 1H), 3,49 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,41 (tt, *J* = 9,2, 1,7 Hz, 1H), 3,33 (td, *J* = 9,4, 6,5 Hz, 1H), 2,81 (s largo, 1H), 2,59 - 2,48 (m, 1H), 2,09 (dq, *J* = 12,9, 9,1 Hz, 1H).

Passaggio 2. Preparazione di **D18-2**: Ad una soluzione di **D18-1** (4,5 g, 44 mmoli), acido 4-nitrobenzoico (8,19 g, 49 mmoli), e trifenilfosfina (22,4 g, 132 mmoli) in tetraidrofurano (220 mL) è stato aggiunto diisopropil azodicarbossilato (12,1 mL, 61,6 mmoli) a gocce tramite siringa a 23 °C sotto un'atmosfera di argon. Dopo 20 h, la miscela di reazione arancione torbida risultante è stata concentrata *sotto vuoto* e metanolo (200 mL) seguito da potassio carbonato (15 g, 109 mmoli) sono stati aggiunti e la reazione è stata agitata a 23 °C. Dopo altre 5 h, la risultante miscela è stata diluita con cloroformio (200 mL) ed è stata filtrata. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* e il residuo grezzo è stato ripreso in acqua (150 mL) e 1 N soluzione acquosa di acido cloridrico (50 mL). Lo strato acquoso è stato lavato con etil acetato (3 × 200 mL) per rimuovere sotto-prodotti organici, ed è stata concentrata *sotto vuoto* per dare **D18-2** grezzo che è stato usato direttamente nel seguente passaggio. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 4,28 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,43 - 3,20 (m, 1H), 2,56 - 2,39 (m, 1H), 1,96 (dq, *J* = 12,7, 8,7 Hz, 1H).

Passaggio 3. Preparazione di **D18-3**: Ad una soluzione di **D18-2** grezzo (5 g, 49,5 mmoli) e imidazolo (3,4 g, 49,5 mmoli) in DMF (247 mL) è stato aggiunto TBSCI (7,5 g, 49,5 mmoli) a 0 °C sotto un'atmosfera di argon. La risultante miscela è stata lasciata riscaldare a 23 °C. Dopo 7 h, altro imidazolo (7 g, 102 mmoli) e TBSCI (16 g, 106 mmoli) sono stati aggiunti in sequenza. Dopo altre 16 h, la risultante miscela è stata diluita con 1 N soluzione acquosa di acido cloridrico (1 L) ed è stata estratta con etil acetato (1 L). Lo strato organico è stato separato e lavato con salamoia (1 L), è stato seccato con solfato di sodio anidro, ed è stato concentrato sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil

acetato/esani) per dare **D18-3**. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5,99 (s, 1H), 4,26 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 3,44 - 3,33 (m, 1H), 3,30 - 3,19 (m, 1H), 2,45 - 2,29 (m, 1H), 2,11 - 1,95 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,02 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

Passaggio 4. Preparazione di **D18-4**: Ad una soluzione di **D18-3** (1,00 g, 4,65 mmoli), DMAP (57,8 mg, 0,465 mmoli), e trietilammina (1,29 mL, 9,3 mmoli) in diclorometano (23,3 mL) è stato aggiunto di-*terz*-butil dicarbonato (1,5 g, 6,97 mmoli) a 23 °C sotto e atmosfera di argon. Dopo 20 h, la miscela di reazione è stata purificata direttamente mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **D18-4**, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4,31 (dd, $J = 9,4, 7,9$ Hz, 1H), 3,79 (ddd, $J = 11,0, 8,9, 2,2$ Hz, 1H), 3,53 - 3,41 (m, 1H), 2,34 - 2,21 (m, 1H), 1,92 (dq, $J = 12,2, 9,2$ Hz, 1H), 1,53 (s, 9H), 0,91 (s, 9H), 0,17 (s, 3H), 0,13 (s, 3H).

Passaggio 5. Preparazione di **D18-5**: Ad una soluzione di **D18-4** (700 mg, 2,22 mmoli) in tetraidrofurano (11,1 mL) è stato aggiunto pent-4-enilmagnesio bromuro (Novel Chemical Solutions, 0,5 M in 2-MeTHF, 4,89 mL, 2,44 mmoli) a -78 °C a gocce tramite siringa sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata spenta con soluzione acquosa satura di cloruro d'ammonio (50 mL) e è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente. La risultante miscela è stata estratta con etil acetato (2×100 mL), e gli estratti organici combinati sono stati lavati con salamoia (100 mL), sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **D18-5**, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5,77 - 5,62 (m, 1H), 4,95 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 4,92 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 4,26 (app t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,77 - 3,69 (m, 1H), 3,41 (td, $J = 10,4, 6,7$ Hz, 1H), 2,48 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,28 - 2,17 (m, 1H), 1,91 - 1,78 (m, 2H), 1,77 - 1,65 (m, 1H), 1,60 (quin, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,47 (s, 9H), 0,85 (s, 9H), 0,11 (s, 3H), 0,07 (s, 3H).

Passaggio 6. Preparazione di **D18-6**: Ad una soluzione di **D18-5** (740 mg, 1,92 mmoli) e trietilsilano (6,10 mL, 38,4 mmoli) in diclorometano (9,6 mL) è stato aggiunto boro trifluoruro dietil eterato (308 μL , 2,50 mmoli) a -78 °C a gocce tramite siringa sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente. Dopo altre 4 h, la reazione è stata spenta con soluzione acquosa satura di cloruro d'ammonio (10 mL), ed è stata diluita con soluzione satura di bicarbonato di sodio (50 mL). La risultante

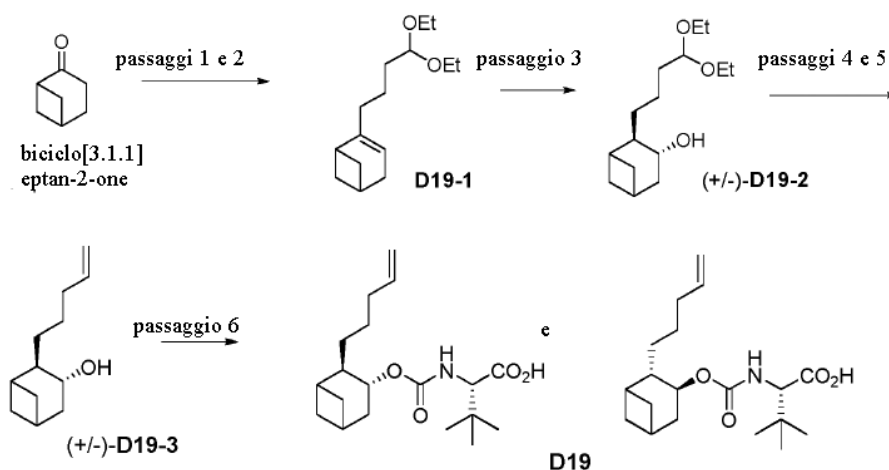
miscela è stata estratta con etil acetato (50 mL), e lo strato organico è stato seccato su solfato di sodio anidro ed è stata concentrata *sotto vuoto* per dare ammina libera grezza che è stata usata direttamente nel seguente passaggio. Ad una soluzione dell'ammina libera grezza, e trietilammina (535 μ L, 3,84 mmoli) in tetraidrofurano (9,6 mL) è stata aggiunta anidride acetica (146,5 μ L, 1,55 mmoli) a temperatura ambiente sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la risultante miscela è stata concentrata *sotto vuoto* e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **D18-6** (2:1 miscela di diastereomeri favorendo il 1-((2S,3R)-3-(terz-butildimetilsilossi)-2-(pent-4-enil)pirrolidin-1-il)etanone diastereomero desiderato). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , Diastereomero secondario indicato da *) δ 5,80 - 5,64 (m, 1H, 1H*), 5,01 - 4,82 (m, 2H, 2H*), 4,10 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H*), 4,04 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 3,82 (dd, $J = 10,3, 4,0$ Hz, 1H), 3,66 - 3,56 (m, 1H*), 3,55 - 3,29 (m, 2H, 1H*), 3,24 - 3,16 (m, 1H*), 2,37 - 2,25 (m, 1H*), 2,08 - 1,88 (m, 2H, 1H*), 2,03 (s, 3H*), 2,00 (s, 3H), 1,81 - 1,61 (m, 2H, 2H*), 1,50 - 1,01 (m, 4H, 4H*), 0,85 (s, 9H*), 0,80 (s, 9H), 0,10 (s, 3H*), 0,09 (s, 3H*), 0,00 (s largo, 6H).

Passaggio 7. Preparazione di **D18-7**: Ad una soluzione di **D18-6** (338 mg, 1,08 mmoli) in tetraidrofurano (21 mL) è stato aggiunto TBAF (1M in tetraidrofurano, 21 mL, 21 mmoli) a 0 °C sotto un'atmosfera di argon. Dopo 17 h, la miscela di reazione è stata concentrata *sotto vuoto* ed è stata direttamente purificata mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **D18-7** (102 mg, 2:1 miscela di diastereomeri favorendo il diastereomero 1 desiderato 1-((2S,3R)-3-idrossi-2-(pent-4-enil)pirrolidin-1-il)etanone). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 Diastereomero secondario indicato da *) δ 5,84 - 5,70 (m, 1H, 1H*), 5,06 - 4,91 (m, 2H, 2H*), 4,25 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H*), 4,20 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 3,98 (dd, $J = 9,2, 4,2$ Hz, 1H), 3,76 - 3,68 (m, 1H*), 3,67 - 3,59 (m, 1H, 1H*), 3,55 - 3,46 (m, 1H, 2H*), 3,02 - 2,94 (m, 1H), 2,22 - 1,85 (m, 2H, 2H*), 2,10 (s, 3H*), 2,07 (s, 3H), 1,82 - 1,59 (m, 2H, 2H*), 1,55 - 1,13 (m, 4H, 4H*).

Passaggio 8. Preparazione di **D18-8**: Ad una soluzione di **D18-7** (102 mg, 0,518 mmoli) e piridina (8 μ L, 0,104 mmoli) è stato aggiunto DSC (159,2 mg, 0,621 mmoli) a temperatura ambiente, e la risultante miscela è stata riscaldata a 45 °C. Dopo 16 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente e acqua (518 μ L), L-terz-leucina (86,5 mg, 0,518 mmoli), e K_3PO_4 (330 mg, 1,55 mmoli) sono stati aggiunti in sequenza,

e la risultante miscela è stata riscaldata a 50 °C. Dopo 6 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente ed è stata diluita con soluzione acquosa 1N di acido cloridrico (10 mL). La risultante miscela è stata estratta con diclorometano (2 × 10 mL), e gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto* per dare **D18-8** (2:1 miscela di diastereomeri favorendo l'acido (S)-2-(((2S,3R)-1-acetil-2-(pent-4-enil)pirrolidin-3-ilossi)carbonilammino)-3,3-dimetilbutanoico desiderato). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, Diastereomero secondario indicato da *) δ 5,85 - 5,65 (m, 1H, 1H*), 5,39 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H*), 5,34 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 5,07 - 4,87 (m, 3H, 3H*), 4,16 - 4,03 (m, 1H, 1H*), 3,83 - 3,45 (m, 3H, 3H*), 2,30 - 1,95 (m, 8H), 2,30 - 1,95 (m, 2H, 3H*), 1,82 - 1,65 (m, 2H, 1H*), 2,11 (s, 3H), 2,09 (s, 3H*), 1,58 - 1,13 (m, 4H, 4H*), 1,01 (s largo, 9H, 9H*).

Preparazione di Miscela di intermedi D19.



Passaggi 1 e 2: Preparazione di **D19-1**: Una soluzione 1,0 M in THF di KHMDS (10 mL, 10 mmoli) è stata diluita con THF (10 mL) sotto Ar e la risultante soluzione è stata raffreddata a -78 °C in un bagno di CO₂:acetone. Bicyclo[3.1.1]eptan-2-one (1,0 g, 9,1 mmoli, vedere: Yin, et al. J. Org. Chem. 1985, 50, 531) è stata aggiunta come una soluzione in THF (5 mL) in 2 min, lavando con altro THF (2 x 2,5 mL) per garantire trasferimento completo. La risultante miscela è stata agitata per 30 min, e *N*-(5-Cloro-2-piridil)bis(trifluorometansolfonimide) (3,8 g, 9,7 mmoli) è stato aggiunto come una soluzione in THF (10 mL) in 2 min, lavando con altro THF (2 x 2,5 mL). La risultante miscela è stata agitata per 5 min e rimossa dal bagno

freddo. Dopo aver agitato altri 30 min, la reazione è stata diluita con Et₂O (70 mL) e 1 M HCl acquoso (50 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata lavata con 1 M NaOH acquoso (2 x 30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo è stato filtrato attraverso un tappo di silice con 30% EtOAc in esani per dare un residuo grezzo di (1,24 g) che è stato usato direttamente nel seguente passaggio. Passaggio 2: Ad una soluzione di 3-butenal dietil acetale (1,4 mL, 8,3 mmoli) sotto Ar raffreddata in un bagno di ghiaccio-acqua è stata aggiunta una soluzione 0,5 M in THF di 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (15,9 mL, 7,95 mmoli) in 3 min. La reazione è stata agitata per 20 h, lasciando esaurire il bagno freddo durante la notte. Una soluzione acquosa 3 M di NaOH (2,9 mL, 8,7 mmoli) è stata poi aggiunta, e, dopo aver agitato 20 min, la risultante soluzione è stata trasferita completamente ad un pallone contenente il prodotto da Passaggio 1 (circa 5,16 mmoli) e PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (420 mg, 0,51 mmoli). La risultante miscela è stata riscaldata a 60 °C. Dopo aver agitato 14 h, la miscela di reazione è stata diluita con Et₂O (50 mL) e H₂O (50 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata seccata su MgSO₄, filtrata, e concentrata. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 10% EtOAc in esani dopo pre-equilibratura con 1% Et₃N in EtOAc) forniva intermedio **D19-1**. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 5,36 - 5,28 (m, 1H), 4,59 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,73 - 3,58 (m, 2H), 3,54 - 3,39 (m, 2H), 2,72 - 2,60 (m, 1H), 2,45 - 2,34 (m, 3H), 2,23 - 2,08 (m, 4H), 1,89 - 1,76 (m, 2H), 1,67 (dt, *J* = 16,1, 6,9 Hz, 2H), 1,58 - 1,47 (m, 2H), 1,23 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H).

Passaggio 3: Preparazione di **D19-2**: Una soluzione di olefina **D19-1** (660 mg, 2,77 mmoli) in THF (25 mL) è stata raffreddata in un bagno di ghiaccio-acqua. BH₃·Me₂S è stata poi aggiunta come soluzione 1 M in CH₂Cl₂ (2,9 mL, 2,9 mmoli) in 1 min. La risultante soluzione è stata agitata per 2 h nel bagno di acqua ghiacciata ed è stata poi lasciata riscaldare a r.t. Dopo aver agitato altre 3 h, la miscela di reazione è stata nuovamente raffreddata in un bagno di ghiaccio-acqua ed è stata diluita con 2 M NaOH acquoso (7 mL) seguito da 30% H₂O₂ acquoso (7 mL). La risultante miscela è stata agitata altre 16 h mentre il bagno freddo veniva lasciato esaurire gradualmente. La miscela è stata ripartita tra Et₂O (100 mL) e H₂O (50 mL), le fasi sono state separate, e la fase organica è stata lavata con 0,5 M NaOH acquoso (50 mL). La fase organica è stata seccata su MgSO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a

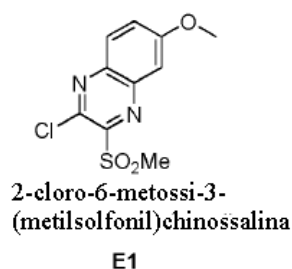
40% EtOAc in esani) per dare 570 mg di Intermedio **D19-2**, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 4,60 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,76 - 3,60 (m, 3H), 3,58 - 3,42 (m, 2H), 2,39 - 2,05 (m, 4H), 1,91 - 1,48 (m, 9H), 1,43 - 1,35 (m, 1H), 1,25 (t, $J = 7,0$ Hz, 6H), 1,06 - 0,98 (m, 1H).

Passaggi 4 e 5: Preparazione di **D19-3**: Acetale **D19-2** (360 mg, 1,4 mmoli) è stato sciolto in THF (8 mL) e H_2O (2 mL). Acido *para*-toluensolfonico monoidrato (40 mg, 0,2 mmoli) è stato aggiunto e la risultante soluzione è stata agitata 16 h a r.t. La reazione è stata diluita con Et_2O (50 mL) e H_2O (30 mL) e le fasi sono state separate. La fase acquosa è stata estratta con Et_2O (30 mL) e la fase organica combinata è stata lavata con NaHCO_3 acquoso saturo (15 mL). La fase organica è stata seccata su MgSO_4 , filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato usato immediatamente nel seguente passaggio. Passaggio 5: Metil trifetilfosfonio bromuro (1,66 g, 4,6 mmoli) è stato sospeso in THF (40 mL) sotto Ar ed è stato raffreddato tramite un bagno di CO_2 /acetone a -78 °C. Una soluzione 1 M di NaHMDS in THF (4,2 mL, 4,2 mmoli) è stata aggiunta a gocce e la risultante sospensione gialla è stata agitata per 5 min. La miscela è stata rimossa dal bagno freddo e l'agitazione proseguita per altri 30 min. La miscela è stata poi nuovamente raffreddata a -78 °C e il residuo grezzo dal precedente passaggio (circa 1,4 mmoli) è stato aggiunto come una soluzione in THF (5 mL) in 5 min, lavando con altro THF (2 x 2,5 mL) per garantire trasferimento completo. La risultante miscela è stata agitata per 5 min ed è stata poi posta in un bagno di ghiaccio-acqua e agitata altre 1 h. La reazione è stata spenta con NH_4Cl acquoso saturo (20 mL) ed è stata diluita con Et_2O (30 mL) e H_2O (20 mL). Le fasi sono state separate e la fase organica è stata seccata su MgSO_4 , filtrata, e concentrata su 5 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc in esani) forniva **D19-3**, $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6,01 - 5,81 (m, 1H), 5,22 - 5,05 (m, 2H), 3,79 - 3,66 (m, 1H), 2,43 - 2,25 (m, 2H), 2,24 - 2,04 (m, 4H), 1,83 - 1,16 (m, 10H).

Passaggio 6: Intermedio **D19-3** (270 mg, 1,5 mmoli) è stata sciolta in DMF (2,0 mL). Piridina (125 μL , 1,5 mmoli) e DSC (500 mg, 1,9 mmoli) sono stati aggiunti, e la reazione è stata agitata a 45 °C per 15 h. La reazione è stata poi posta in un bagno di ghiaccio-acqua e H_2O (2,0 mL) è stato aggiunto a gocce in 30 s. La miscela è stata rimossa dal bagno freddo e lasciata agitare 10 min. La miscela è stata nuovamente raffreddata in un bagno

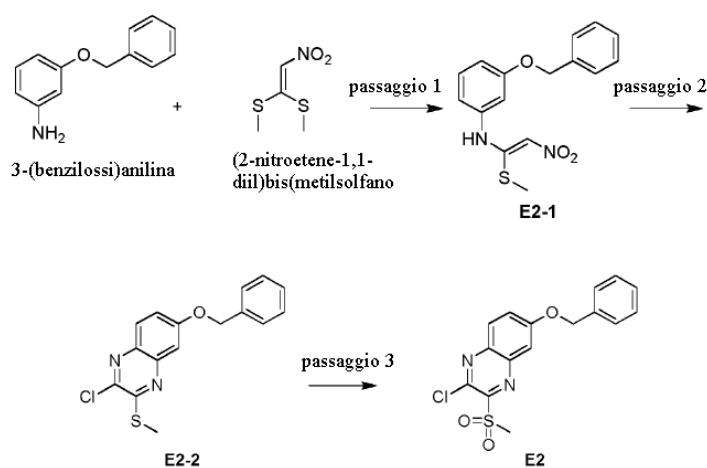
di ghiaccio-acqua e *L-terz-leucina* (259 mg, 1,97 mmoli) è stata aggiunta seguita da K_3PO_4 (835 mg, 3,93 mmoli). La miscela di reazione è stata rimossa dal bagno freddo e lasciata agitare a r.t. per 5,25 h. La miscela è stata poi diluita con EtOAc (40 mL), 1 M HCl acquoso (20 mL), e H_2O (15 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata lavata con 0,2 M HCl acquoso (2 x 25 mL), seccata su Na_2SO_4 , filtrata, e concentrata per dare una miscela di diastereomeri **D19** (505 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): $[M+H]^+$ calc. per $C_{19}H_{32}NO_4$: 338,2; osservato: 337,8.

Preparazione di Intermedio E1.



Intermedio **E1** (2-cloro-6-metossi-3-(metilsolfonil)chinossalina) è stato preparato secondo Mahata, P.K., et al. Org. Lett. 2005, 7, 2169.

Preparazione di Intermedio E2.



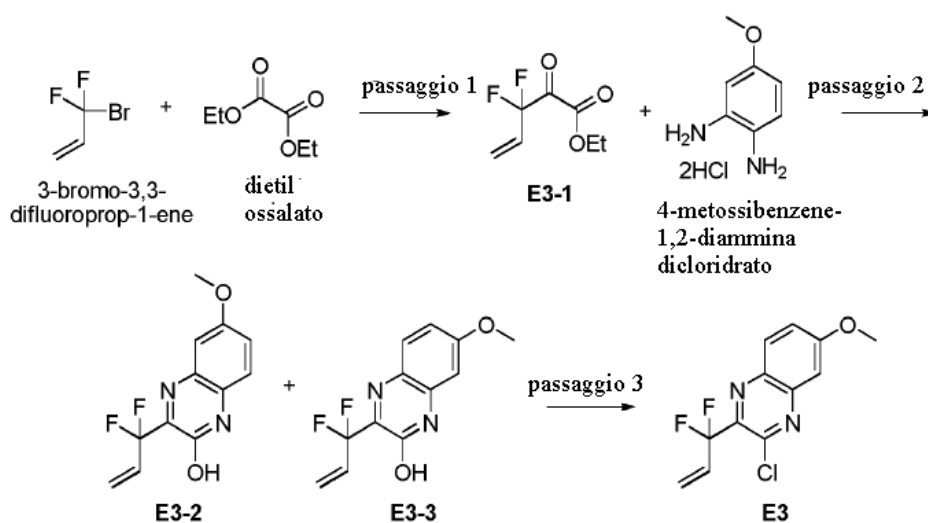
Passaggio 1. Preparazione di **E2-1**: In un pallone a fondo sferico, 3-(benzilossi)anilina (4,025 g, 20,20 mmoli) e 1,1-bis(metilio)-2-nitroetilene (3,338 g, 20,20 mmoli) in etanolo (40 mL) è stato tenuto a riflusso per 24 h con

agitazione costante. La miscela di reazione è stata poi raffreddata in un bagno di ghiaccio e diluita con etere (150 mL). La miscela è stata filtrata e lavata con etere per dare **E2-1** (3,32 g) come un solido giallo che è stato usato direttamente nel seguente passaggio. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₆H₁₇N₂O₃S: 317,1; osservato: 317,1.

Passaggio 2. Preparazione di **E2-2**: Ad una sospensione di **E2-1** (3,32 g, 10,49 mmoli) in 25 mL MeCN, POCl₃ (2,93 mL, 31,5 mmoli) è stato aggiunto a gocce in 15 min con agitazione costante. La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C e agitata per 5 h. La reazione è stata poi raffreddata a temperatura ambiente e neutralizzata con soluzione di NaHCO₃ acquoso saturo ghiacciata, estratta tre volte con CH₂Cl₂ (100 mL), lavata con acqua, salamoia e seccata su Na₂SO₄ anidro. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato eluito attraverso un tappo di silice con CH₂Cl₂. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il solido è stato lavato con MeCN per dare **E2-2** (1,56 g) come un solido biancastro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₆H₁₄CIN₂OS: 317,1; osservato: 317,3.

Passaggio 3. Preparazione di Intermedio **E2**. Una soluzione di *m*CPBA (1,87 g, 10,83 mmoli) in CH₂Cl₂ (40 mL) è stata aggiunta a gocce ad una soluzione agitata di **E2-2** (1,56 g, 4,92 mmoli) in CH₂Cl₂ (40 mL) a 0 °C in un periodo di 30 min. La miscela di reazione è stata inoltre agitata a temperatura ambiente per 5 h. Essa è stata poi versata in NaHCO₃ acquoso saturo ghiacciato e ripartita con CH₂Cl₂. Lo strato organico è stato poi lavato successivamente con acqua, salamoia e seccato su Na₂SO₄ anidro. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia in fase normale con CH₂Cl₂ per fornire il composto del titolo Intermedio **E2** come un solido giallo chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₆H₁₄CIN₂O₃S: 349,0; osservato: 349,0.

Preparazione di Intermedio E3.



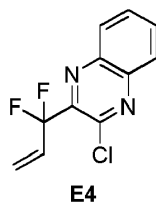
Passaggio 1. Preparazione di **E3-1**: Ad una soluzione di 3-bromo-3,3-difluoroprop-1-ene (25,0 g, 159 mmoli) e dietil ossalato (21,6 mL, 159 mmoli) in THF (380 mL), dietil etere (90 mL) e n-pentano (90 mL) a $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ è stato aggiunto a gocce *n*-butillitio (2,5 M in esano, 67 mL, 167,6 mmoli) in 30 min. La miscela di reazione è stata agitata a $-95\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 1 h e $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 2 h, e spenta con aq. NH_4Cl (11 g in 150 mL di acqua). La miscela è stata estratta con etere (tre volte). Gli strati organici sono stati lavati con 1 N HCl acquoso, salamoia, e seccati su Na_2SO_4 , e concentrati per dare il residuo grezzo, che è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 0% fino a 40%) per dare **E3-1** (7,0 g), $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5,98-6,18 (m, 1H), 5,78 (dd, $J = 0,9\text{ Hz}, 13\text{ Hz}$, 1H), 5,60 (dd, $J = 0,9\text{ Hz}, 11\text{ Hz}$, 1H), 4,38 (q, $J = 6,9\text{ Hz}$, 2H), 1,37 (t, $J = 7,2\text{ Hz}$, 3H).

Passaggio 2. Preparazione di **E3-2** e **E3-3**: Ad una soluzione di **E3-1** (14,0 g, 78,6 mmoli) e 4-metossibenzene-1,2-diammina dicloridrato (15,08 g, 71,4 mmoli) in EtOH (360 mL) a rt è stata aggiunta trietilammina (19,9 mL, 142,8 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt durante la notte. La miscela è stata concentrata. Impasto in diclorometano (30 mL) e filtrazione dava una qualche separazione di regioisomeri con **E3-2** come specie precipitata, (16,5 g resa totale da filtrazione e successiva cromatografia). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 11,940 (s largo, 1H), 7,850 (d, $J = 9\text{ Hz}$, 1H), 6,985 (dd, $J = 3\text{ Hz}, 9\text{ Hz}$, 1H), 6,754 (d, $J = 2\text{ Hz}$, 1H), 6,625-6,498 (m, 1H), 5,907 (dt, $J = 17, 2\text{ Hz}$, 1H), 5,601 (d, $J = 11\text{ Hz}$, 1H), 3,938 (s, 3H). La miscela è stata impastata, filtrata, e concentrata ancora una volta, poi è stata purificata mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 5%

fino a 34%) per dare **E3-3** (2,07 g) come primo componente ad eluire. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 12,05 (s largo, 1H), 7,850 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 6,986 (dd, $J = 3$ Hz, 9 Hz, 1H), 6,761 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 6,597-6,526 (m, 1H), 5,91 (dt, $J = 17, 2$ Hz, 1H), 5,601 (d, $J = 11$ Hz, 1H), 3,939 (s, 3H).

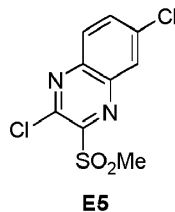
Passaggio 3. Preparazione di Intermedio **E3**: Una soluzione di **E3-3** (2,07 g, 8,2 mmoli in 1 mL DMF è stata trattata con POCl_3 (0,8 mL) e riscaldata a 65 °C per 2,5 h. La reazione è stata diluita con EtOAc e spenta versando in acqua ghiacciata. La fase organica è stata lavata successivamente con bicarbonato di sodio acquoso saturo e salamoia, seccata su solfato di sodio e concentrata per dare 2,1 g di Intermedio **E3**. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,028 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 7,46 (dd, $J = 3$ Hz, 9 Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 6,549-6,478 (m, 1H), 5,86 (dt, $J = 17, 2$ Hz, 1H), 5,67 (d, $J = 11$ Hz, 1H), 3,981 (s, 3H).

Preparazione di Intermedio **E4**.



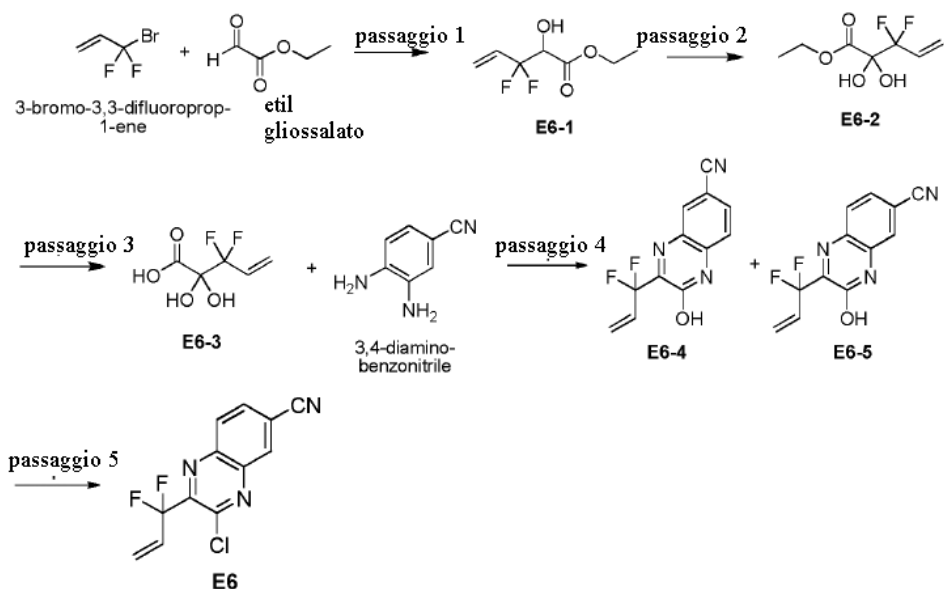
Intermedio **E4** (2-cloro-3-(1,1-difluoroallil)chinossalina) è stato preparato in maniera simile a Intermedio **E3**, sostituendo 1,2-diamminobenzene per 4-metossibenzene-1,2-diammina dicloridrato in Passaggio 2.

Preparazione di Intermedio **E5**.



Intermedio **E5** (2,6-dicloro-3-(metilsolfonil)chinossalina) è stata preparata secondo Mahata, P.K., et al. Org. Lett. 2005, 7, 2169.

Preparazione di Intermedio **E6**.



Passaggio 1. Preparazione di **E6-1**: Un pallone a fondo sferico a 3 colli da 1 L è stato caricato con una soluzione di 3-bromo-3,3-difluoroprop-1-ene (25 g, 159,3 mmoli) in DMF (360 mL) e acqua (90 mL). La risultante soluzione è stata trattata con etil 2-ossacetato (33 mL, 1 M in toluene), e In (25 g). La miscela di reazione è stata agitata durante la notte a rt e poi estratta con 3x300 mL di etere. Gli strati organici sono stati combinati, lavati con 1x100 mL di NH₄Cl acquoso saturo e 1x100 mL di salamoia, seccati su Na₂SO₄ anidro e concentrati *sotto vuoto* per dare **E6-1** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione.

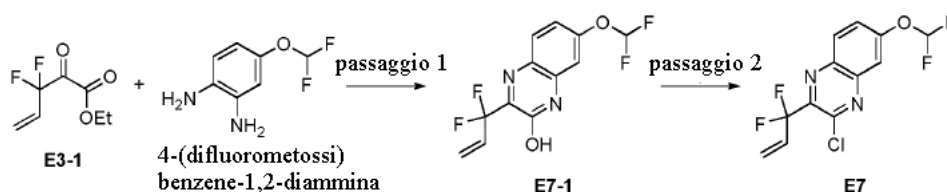
Passaggio 2. Preparazione di **E6-2**. A idrossiestere **E6-1** (58,1 g, 323 mmoli) è stato aggiunto DCM (700 mL) in un pallone da 2 L a 3 colli equipaggiato con agitazione meccanica e una sonda di temperatura interna. Poi TEMPO (5,4 g, 35 mmoli), soluzione tampone (preparata sciogliendo 4,2 g NaHCO₃ e 0,53 g Na₂CO₃ per 100 mL acqua, 700 mL, 7v), e NaOCl (Clorox 6,15% in peso, 422 mL, 395 mmoli) sono stati aggiunti in sequenza al pallone a 20 °C. Dopo 2 h lo strato organico è stato separato e la fase acquosa estratta con etil acetato (2 × 300 mL). Gli strati organici combinati sono stati seccati su Na₂SO₄ anidro e concentrati *sotto vuoto* per dare **E6-2**, ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5,98-6,18 (m, 1H), 5,78 (dd, J = 0,9 Hz, 13 Hz, 1H), 5,60 (dd, J = 0,9 Hz, 11 Hz, 1H), 4,38 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 1,37 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Passaggio 3. Preparazione di **E6-3**, Ad una soluzione di etil 3,3-difluoro-2,2-diidrossipent-4-enoato **E6-2** (57,4 g, 292 mmoli) in THF (725 mL) e acqua (131 mL) è stato aggiunto LiOH•H₂O (22 g, 529 mmoli) a 20 °C. Dopo 2,5 h, la miscela di reazione è stata concentrata *sotto vuoto*. Il residuo solido è stato sospeso in acqua (300 mL) e la risultante miscela è stata acidificata a pH = 1 con soluzione acquosa concentrata di acido cloridrico. La risultante miscela è stata agitata fino a sciogliere tutti i solidi (21,5 h), e poi sodio cloruro è stato aggiunto fino a quando la soluzione era satura. La risultante soluzione è stata estratta con MTBE (2 × 500 mL) e etil acetato (2 × 500 mL), e gli strati organici combinati sono stati seccati su Na₂SO₄ anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto*. Il residuo solido arancione grezzo è stato sospeso in DCM (100 mL) ed è stato agitato fino a quando i solidi erano finemente distribuiti prima che esani (75 mL) fossero lentamente aggiunti tramite imbuto per aggiunte. I risultanti solidi sono stati raccolti mediante filtrazione sotto vuoto attraverso un imbuto di frittina media e lavati con 1:1 diclorometano/ esani (2 × 10 mL) per dare il prodotto desiderato. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,17 (bs, 1H), 6,18-6,01 (m, 1H), 5,64-5,52 (m, 2H).

Passaggio 4. Preparazione di **E6-4** e **E6-5**: Una soluzione di **E6-3** (0,5 g, 3,3 mmoli) in EtOH (12 mL) è stata trattata con 3,4-diamminobenzonitrile (0,47 g, 3,5 mmoli). La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C per 1 h, poi concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato assorbito su gel di silice, poi è stato purificato mediante cromatografia su colonna per dare **E6-4** (0,5 g) come primo componente ad eluire. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,01 (d, 1H), 7,65 (dd, 2H), 6,49 (m, 1H), 5,80 (dt, 1H), 5,60 (d, 1H), **E6-5** (0,2 g) è stato recuperato come secondo componente ad eluire. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,25 (d, 1H), 7,87 (dd, 1H), 7,41 (d, 1H), 6,49 (m, 1H), 5,80 (dt, 1H), 5,59 (d, 1H).

Passaggio 5. Preparazione di Intermedio **E6**: Una soluzione di **E6-4** (0,5 g, 2 mmoli in 4,5 mL DMF) è stata trattata con POCl₃ (3 mL) e riscaldata a 65 °C per 3 h. La reazione è stata diluita con EtOAc e spenta versando in acqua ghiacciata. La fase organica è stata lavata successivamente con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, seccata su Na₂SO₄ anidro e concentrata *sotto vuoto* per dare 0,48 g di Intermedio **E6** (3-cloro-2-(1,1-difluoroallil)chinossalina-6-carbonitrile). ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,52 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,13 (dd, 1H), 6,55 (m, 1H), 5,84 (dt, 1H), 5,72 (d, 1H).

Preparazione di Intermedio E7



Passaggio 1. Preparazione di **E7-1**: Ad una soluzione di **E3-1** (1,84 g, 10,93 mmoli) e 4-(difluorometossi)benzene-1,2-diammina (1,90 g, 10,93 mmoli, preparata secondo Esempio di riferimento 30y di WO2003035065, p. 511,) in DMF (40 mL) a rt è stato aggiunto DIPEA (9,5 mL, 54,65 mmoli) e HATU (6,23 g, 16,4 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 24 h, diluita con etil acetato (100 mL), lavata con acqua (100 mL) e salamoia (50 mL). La miscela è stata concentrata *sotto vuoto*. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 20% fino a 60%) forniva **E7-1** (800 mg) come frazione ad eluizione tardiva di due con spettri di massa simili. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₂H₉F₄N₂O: 289,2; osservato: 289,0.

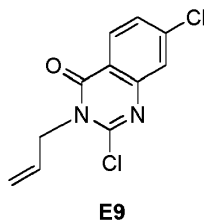
Passaggio 2: Preparazione di Intermedio **E7**: Idrossichinossalina **E7-1** (800 mg, 2,8 mmoli), POCl₃ (1,65 mL, 3,0 mmoli) e DMF (10 mL) sono combinati a rt e poi riscaldati a 65 °C per 2,5 h dopo di che altro POCl₃ (0,2 mL, 0,36 mmoli) è stato aggiunto. La reazione è stata riscaldata altre 3 h a 65 °C poi raffreddata a rt. La reazione è stata spenta per aggiunta di acqua fredda (30 mL), e ripresa in etil acetato (50 mL), lavata con Na₂CO₃ acquoso saturo (100 mL) seguito da salamoia (50 mL), e seccata su MgSO₄ anidro. La risultante soluzione è stata concentrata *sotto vuoto* per dare Intermedio **E7** (859 mg) che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₂H₈ClF₄N₂O: 307,0; osservato: 307,0.

Preparazione di Intermedio E8.



Intermedio **E8** (2-cloro-6-fluoro-3-(metilsolfonil)chinossalina) è stato preparato secondo Mahata, P.K., et al. Org. Lett. 2005, 7, 2169.

Preparazione di Intermedio E9.

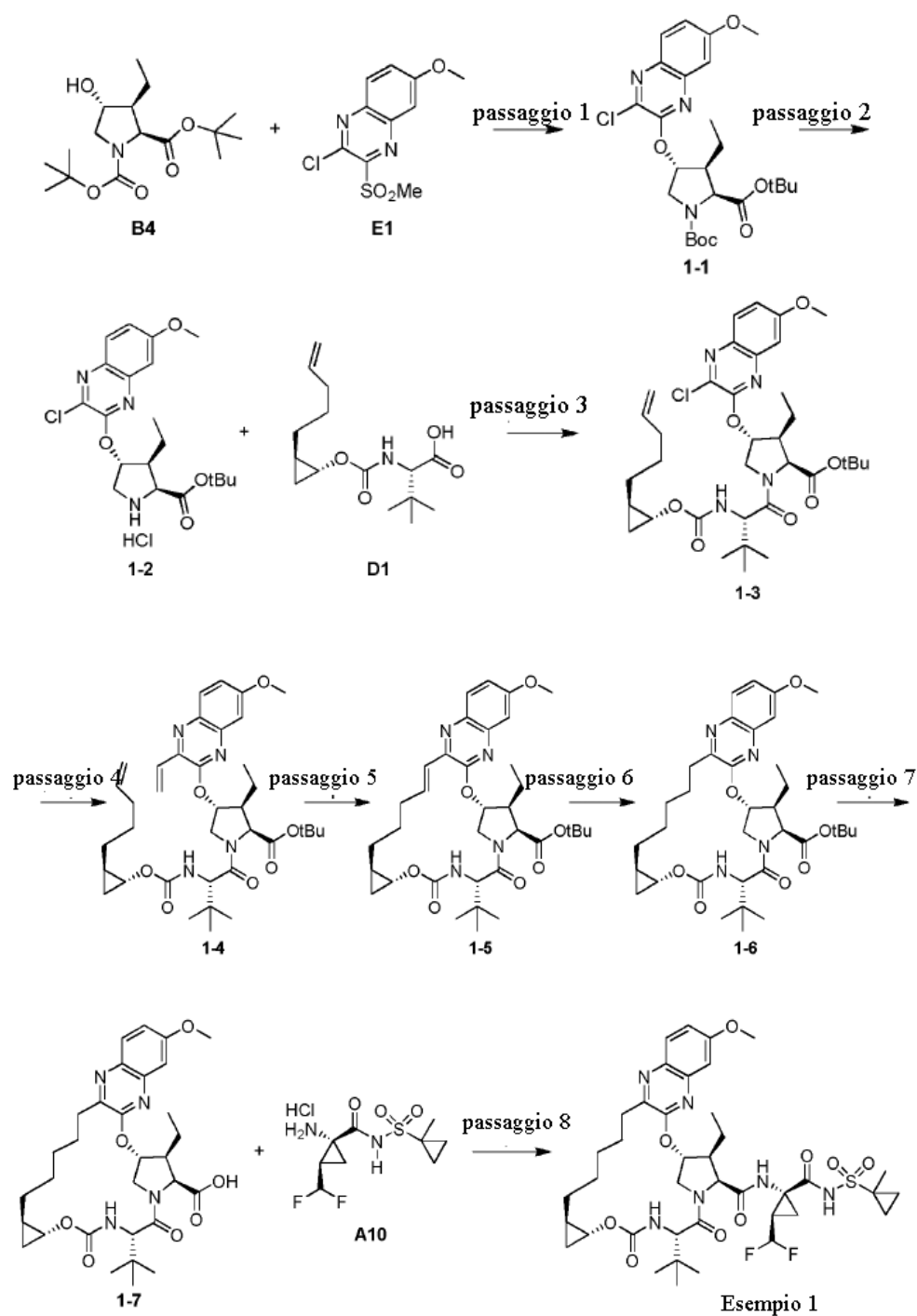


2,7-dicloro-3-(prop-2-en-1-il)chinazolin-4(3H)-one (Intermedio **E9**) è stato preparato secondo Passaggio 3 di Intermedio D5 di WO '040 p 53-4.

Preparazione di Esempi

Composti di Formula IV eccetto composti IVa-IVh sono secondo l'invenzione. Tutti gli altri composti sono esempi di riferimento.

Esempio 1. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide,



Passaggio 1. Preparazione di **1-1**: Una miscela contenente Intermedio **B4** (2,03 g, 6,44 mmoli), Intermedio **E1** (1,6 g, 5,85 mmoli), e cesio carbonato (3,15 g, 9,66 mmoli) in MeCN (40 mL) è stata agitata vigorosamente a rt

sotto un'atmosfera di Ar per 16 h. La reazione è stata poi filtrata attraverso un pannello di Celite e il filtrato concentrato sotto vuoto. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per fornire **1-1** come un solido bianco (2,5 g). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-Boc+2H]⁺ calc. per C₂₀H₂₇ClN₃O₄: 408,9; osservato: 408,6.

Passaggio 2. Preparazione di **1-2**: Ad una soluzione **1-1** (2,5 g, 4,92 mmoli) in diossano (10 mL) è stato aggiunto acido cloridrico in diossano (4 M, 25 mL, 98,4 mmoli) e la reazione agitata a rt per 5 h. La reazione grezza è stata concentrata *sotto vuoto* per dare **1-2** come un solido bianco (2,49 g) che è stato usato in successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M]⁺ calc. per C₂₀H₂₆ClN₃O₄: 407,9; osservato: 407,9.

Passaggio 3. Preparazione di **1-3**: Ad una soluzione in DMF (35 mL) di **1-2** (2,49 g, 5,61 mmoli), Intermedio **D1** (1,75 mg, 6,17 mmoli) e DIPEA (3,9 mL, 22,44 mmoli) è stato aggiunto COMU (3,12 g, 7,29 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 3 h. La reazione è stata spenta con soluzione acquosa al 5% di acido citrico e estratta con EtOAc, lavata successivamente con salamoia, seccata su MgSO₄ anidro, filtrata e concentrata per produrre **1-3** come una schiuma arancione (2,31 g) che è stata usata senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M]⁺ calc. per C₃₅H₄₉ClN₄O₇: 673,3; osservato: 673,7.

Passaggio 4. Preparazione di **1-4**: Ad una soluzione di **1-3** (2,31 g, 3,43 mmoli), TEA (0,72 mL, 5,15 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (0,69 mg, 5,15 mmoli) in EtOH (35 mL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (0,25 g, 0,34 mmoli, Frontier Scientific). La reazione è stata irrorata con Argon per 15 min e riscaldata a 80 °C per 2 h. La reazione è stata adsorbita direttamente su gel di silice e purificata usando cromatografia su gel di silice per dare **1-4** come un olio giallo (1,95 g). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₃N₄O₇: 665,4; osservato: 665,3.

Passaggio 5. Preparazione di **1-5**: Ad una soluzione di **1-4** (1,95 g, 2,93 mmoli) in DCE (585 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (0,215 g, 0,29 mmoli, Strem) e la reazione è stata irrorata con Ar per 15 min. La reazione è stata riscaldata a 80 °C per 1,5 h, lasciata raffreddare a rt e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per produrre **1-5** come un olio giallo (1,47 g; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉N₄O₇: 637,4; osservato: 637,3).

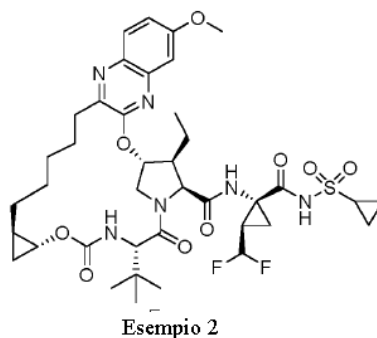
Passaggio 6. Preparazione di **1-6**: Una soluzione di **1-5** (0,97 g, 1,52 mmoli) in EtOH (15 mL) è stata trattata con

Pd/C (10% in peso Pd, 0,162 g). L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e agitata a rt per 2 h. La reazione è stata filtrata attraverso Celite, il pannello lavato con EtOAc e concentrato per dare **1-6** come un solido marrone schiumoso (0,803 g) che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₅₁N₄O₇: 639,4; osservato: 639,3.

Passaggio 7. Preparazione di **1-7**: Ad una soluzione di **1-6** (0,803 g, 1,26 mmoli) in DCM (10 mL) è stato aggiunto TFA (5 mL) e agitata a rt per 3 h. Altri 2 mL di TFA sono stati aggiunti e la reazione agitata per altre 1,5 h. La reazione è stata concentrata ad un olio marrone che è stato ripreso in EtOAc (35 mL). La soluzione organica è stata lavata con acqua. Dopo separazione degli strati, NaHCO₃ acquoso saturo è stato aggiunto con agitazione fino a che lo strato acquoso raggiungeva un pH \approx 7-8. Gli strati sono stati separati nuovamente e quello acquoso estratto con EtOAc due volte. Gli estratti organici combinati sono stati lavati con 1 M acido citrico acquoso, salamoia, seccati su MgSO₄ anidro, filtrati e concentrati per produrre **1-6** come un solido marrone schiumoso (0,719 g) che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₁H₄₃N₄O₇: 583,3; osservato: 583,4.

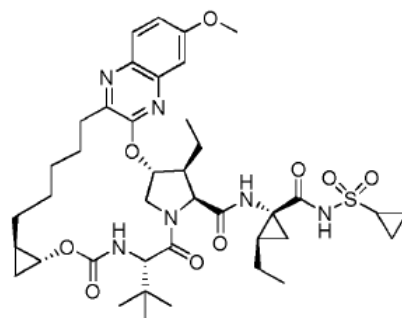
Passaggio 8. Preparazione di Esempio **1**: Ad una soluzione di **1-7** (0,200 g, 0,343 mmoli), Intermedio **A10** (0,157 g, 0,515 mmoli), DMAP (0,063 g, 0,51 mmoli) e DIPEA (0,3 mL, 1,72 mmoli) in DMF (3 mL) è stato aggiunto HATU (0,235 g, 0,617 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt o/n. La reazione è stata diluita con MeCN e purificata direttamente mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 30-100% MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **1** (118,6 mg) come sale di TFA solido. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,63 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₅F₂N₆O₉S: 833,4; osservato: 833,5. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,19 (s, 1H); 7,80 (d, J = 8,8 Hz, 1H); 7,23 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,89 (d, J = 3,6 Hz, 1H); 5,83 (td, J_{H-F} = 55,6 Hz, J = 6,4 Hz, 1H); 4,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,40 (s, 1H) 4,38 (ap d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,16 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H); 3,93 (s, 3H); 3,75 (dt, J = 7,2, 4 Hz, 1H); 3,00-2,91 (m, 1H); 2,81 (td, J = 12, 4,4 Hz, 1H); 2,63-2,54 (m, 1H); 2,01 (s largo, 2H); 1,88-1,64 (m, 3H); 1,66-1,33 (m, 11H) 1,52 (s, 3H); 1,24 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,10 (s, 9H); 1,02-0,96 (m, 2H); 0,96-0,88 (m, 2H); 0,78-0,68 (m, 1H); 0,55-0,46 (m, 1H).

Esempio 2. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide,



Esempio 2 è stato preparato in maniera simile a Esempio 1, sostituendo Intermedio A9 per Intermedio A10 in Passaggio 8. Esempio 2 è stato isolato (37,9 mg) in circa 85% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,54 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₃F₂N₆O₉S: 819,35; osservato: 819,51. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,26 (s, 1H); 7,90 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,26 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,10 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 6,68 (s largo, 1H); 6,01 (td, J_{H-F} = 55,6 Hz, J = 6,8 Hz, 1H); 5,87 (d, J = 3,6 Hz, 1H); 5,38, (d, J = 10 Hz, 1H); 4,50-4,40 (m, 3H); 4,10 (dd, J = 12, 3,6 Hz, 1H); 3,95 (s, 3H); 3,79-3,72 (m, 1H); 2,96-2,82 (m, 3H); 2,63-2,56 (m, 1H); 2,14 (t, J = 6,8 Hz, 1H); 1,98-1,86 (m, 1H); 1,84-1,28 (m, 13H); 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,16-0,92 (m, 3H); 1,09 (s, 9H); 0,74-0,64 (m, 1H); 0,48 (q, J = 6,4 Hz, 1H).

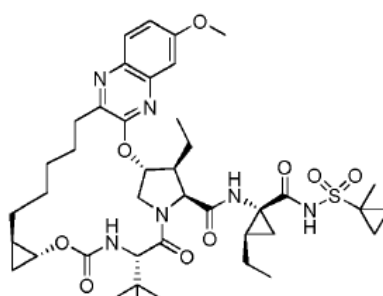
Esempio 3. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-etilciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide,



Esemplio 3

Esemplio 3 è stato preparato in maniera simile a Esemplio 1, sostituendo Intermedio A3 per Intermedio A10 in Passaggio 8. Esemplio 3 è stato isolato (0,035 g) in circa 88% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,63 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₇N₆O₉S: 797,4; osservato: 797,5. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,98 (s, 1H); 7,80 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,23 (d, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 2,8 Hz, 1H); 5,89 (d, J = 3,6 Hz, 1H); 4,58 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 4,41-4,32 (m, 2H); 4,16 (dd, J = 12,4 Hz, 3,6 Hz, 1H); 3,93 (s, 3H); 3,74 (dt, J = 6,8, 2,8 Hz, 1H); 3,20-2,91 (m, 2H); 2,86-2,76 (m, 1H); 2,61-2,53 (m, 1H); 1,88-1,68 (m, 4H); 1,66-1,34 (m, 9H); 1,34-1,20 (m, 5H); 1,18-1,04 (m, 3H); 1,10 (s, 9H); 1,00-0,92 (m, 7H); 0,79-0,69 (m, 1H); 0,50 (d largo, J = 7,2 Hz, 1H).

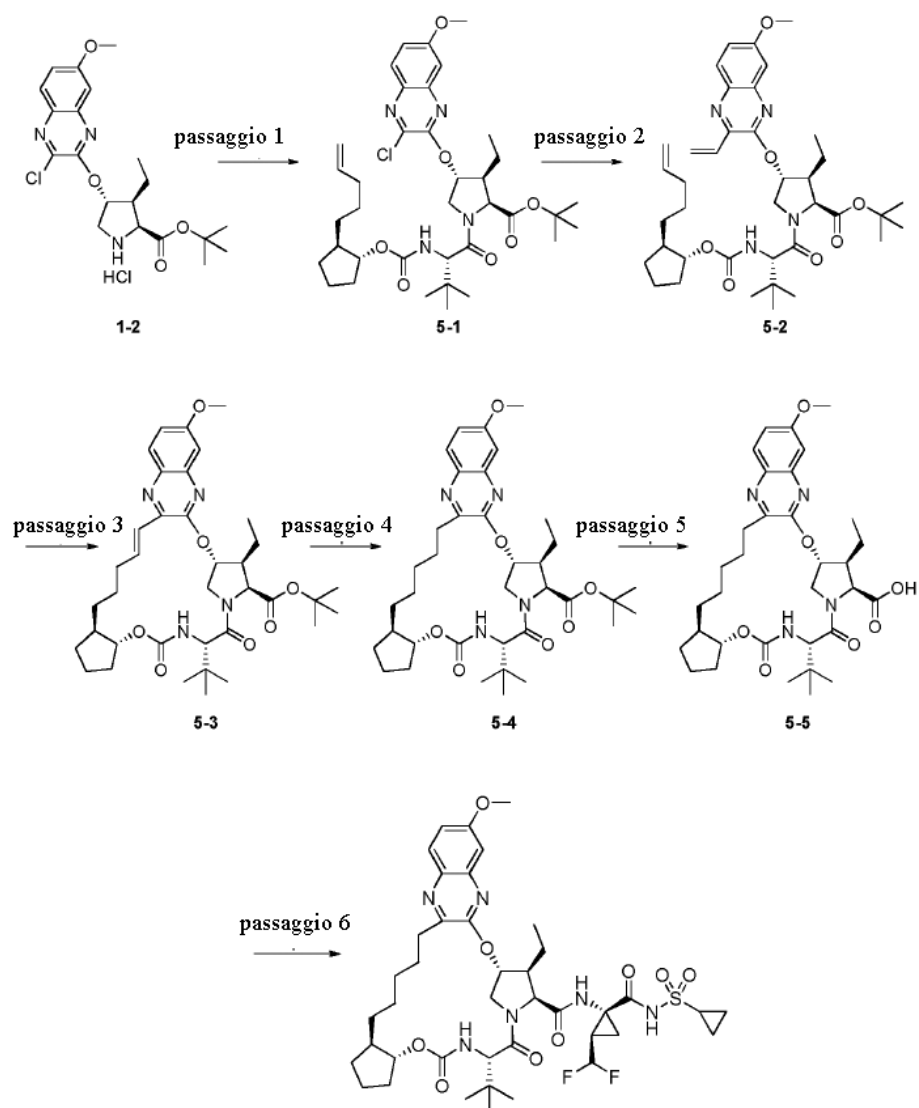
Esemplio 4. **Preparazione** di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-9-etil-N-[(1R,2R)-2-etil-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide,



Esemplio 4

Esempio 4 è stato preparato in maniera simile a Esempio 1, sostituendo Intermedio A4 per Intermedio A10 in Passaggio 8. Esempio 4 è stato isolato (0,018 g) in circa 88% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,75. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₉N₆O₉S: 811,4; osservato: 811,6. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,91 (s, 1H); 7,80 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,23 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H); 7,16 (d, J = 2,8 Hz, 1H); 5,90 (d, J = 3,6 Hz, 1H); 4,59 (d, J = 6,8 Hz, 1H); 4,38 (s, 1H); 4,37 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,16 (dd, J = 11,6, 6,8 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H); 3,74 (dt, J = 6,8, 3,6 Hz, 1H); 3,10-2,91 (m, 1H); 2,90-2,7 (m, 1H); 2,63-2,55 (m, 1H); 1,86-1,69 (m, 3H); 1,65-1,36 (m, 13H), 1,52 (s, 3H); 1,24 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,16-1,06 (m, 2H); 1,10 (s, 9H); 1,02-0,85 (m, 7H); 0,79-0,68 (m, 1H); 0,50 (d largo, J = 6,8 Hz, 1H).

Esempio 5. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-11-etil-16-metossi-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide,



Passaggio 1. Preparazione di **5-1**: HATU (555 mg, 1,46 mmoli, Oakwood) e DIPEA (1,10 mL, 6,35 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **1-2** (533 mg, 1,20 mmoli) e Intermedio **D5** (414 mg, 1,33 mmoli) in 12 mL di DMF sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata versata in acqua e estratta tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate (MgSO_4), filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di

silice (0-35% etil acetato in esani) per dare **5-1** (713 mg) come un solido bianco. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₄ClN₄O₇: 701,36; osservato: 701,58.

Passaggio 2. Preparazione di **5-2**: Pd(dppf)Cl₂•CH₂Cl₂ (94 mg, 0,115 mmoli, Strem) è stato aggiunto a una miscela deossigenata di **5-1** (710 mg, 1,01 mmoli), potassio viniltrifluoroborato (213 mg, 1,59 mmoli), e trietilammina (0,210 mL, 1,52 mmoli) in 11 mL di EtOH a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata riscaldata a 78 °C sotto argon per un'ora. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata versata in acqua e estratta tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate (MgSO₄), filtrate, e concentrate a pressione ridotta per dare **5-2** (699 mg), che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₇N₄O₇: 693,41; osservato: 693,47.

Passaggio 3. Preparazione di **5-3**: Una miscela di **5-2** (699 mg, 1,01 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (81 mg, 0,111 mmoli, Strem) in 200 mL di DCE è stata deossigenata sotto argon per 25 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a 95 °C per 45 minuti. La miscela di reazione è stata riscaldata a 95 °C per altri 10 minuti, è stata raffreddata a temperatura ambiente, e poi concentrata a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **5-3** (336 mg) come un solido marrone chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₃N₄O₇: 665,38; osservato: 665,53.

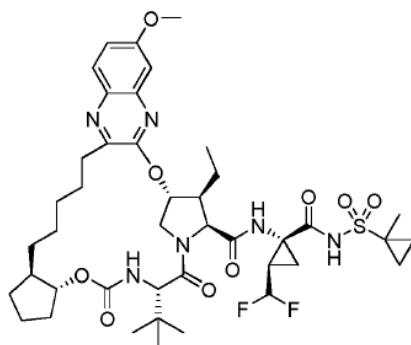
Passaggio 4. Preparazione di **5-4**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 102 mg, 0,096 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **5-3** (330 mg, 0,497 mmoli) in 8 mL di etanolo e 3,5 mL di etil acetato. La miscela è stata agitata sotto un'atmosfera di idrogeno per 100 minuti ed è stata poi filtrata su Celite, lavando con etil acetato. Il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta per dare **5-4** (64 mg) come una pellicola solida giallo chiaro-marrone, che è stata usata nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₅N₄O₇: 667,40; osservato: 667,52.

Passaggio 5. Preparazione di **5-5**: TMSOTf (0,53 mL, 2,91 mmoli) è stato aggiunto a gocce ad una soluzione di **5-4** (329 mg, 0,494 mmoli) in 10 mL di diclorometano sotto argon a temperatura ambiente. Dopo un'ora, altre 0,3 mL di TMSOTf è stato aggiunto. Dopo un'altra ora, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione

ridotta. La risultante pellicola è stata ripresa in 12 mL di toluene e concentrata a pressione ridotta. Questo procedimento è stato ripetuto una seconda volta per dare **5-5** (301 mg), che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₇N₄O₇: 611,34; osservato: 611,46.

Passaggio 6. Preparazione di Esempio 5: HATU (129 mg, 0,339 mmoli) e DIPEA (0,22 mL, 1,27 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **5-5** (134 mg, 0,22 mmoli) e Intermedio **A9** (95 mg, 0,328 mmoli) in 6,6 mL di MeCN sotto argon. Dopo aver agitato per 5 h, la miscela di reazione è stata versata in acqua e estratta tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate (MgSO₄), filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante HPLC preparativa in fase inversa (15-100% acetonitrile in acqua, con 0,1% acido trifluoroacetico come tampone) per dare Esempio **5** (43 mg) come un solido giallo chiaro, sale di acido trifluoroacetico, dopo liofilizzazione. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,11 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,38; osservato: 847,62. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,31 (s, 1H), 7,80 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,23 (dd, J = 15,4, 2,8 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,87 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 6 Hz, 1H), 5,87-5,83 (m, 1H), 4,59 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,38 (s, 1H), 4,23-4,14 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,06-2,94 (m, 2H), 2,77-2,67 (m, 1H), 2,65-2,58 (m, 1H), 2,07-2,01 (m, 2H), 1,98-1,74 (m, 4H), 1,72-1,52 (m, 4H), 1,50-1,20 (m, 12H), 1,18-1,02 (m, 8H), 1,06 (s, 9H).

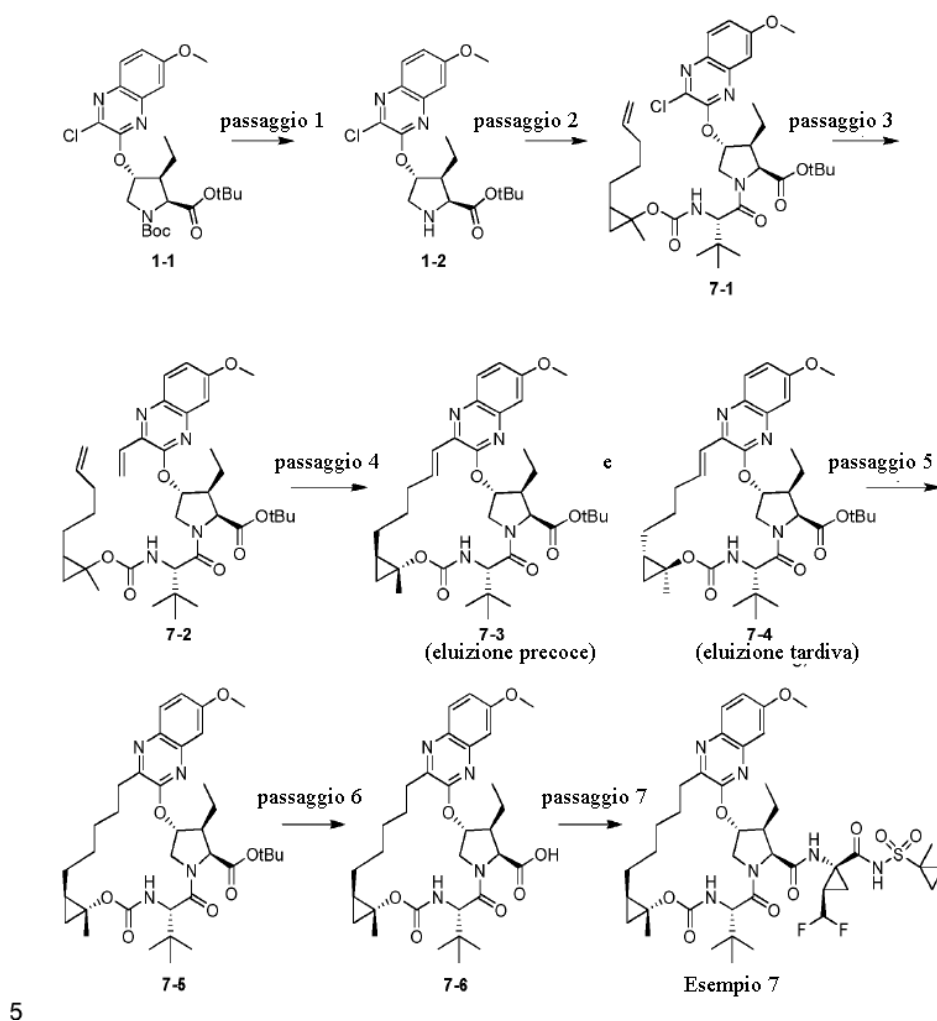
Esempio **6**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S, 12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-11-etil-16-metossi-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide,



Esempio **6**

Esempio 6 è stato preparato in maniera simile a Esempio 5, sostituendo Intermedio A10 per Intermedio A9 in Passaggio 6. Esempio 6 è stato isolato (29 mg) come un solido bianco. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,26 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₉F₂N₆O₉S: 861,40; osservato: 861,20. 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,91 (s, 1H), 7,82 (d, J = 12Hz, 1H), 7,18 (d, J = 12 Hz 1H), 7,13-7,06 (m, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,95 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 6 Hz, 1H), 5,82 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 5,33 (d, J = 10 Hz, 1H), 4,95-4,91 (m, 1H), 4,38-4,31 (m, 2H), 4,10-3,88 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 2,98-2,89 (m, 1H), 2,67-2,59 (m, 1H), 2,05-1,65 (m, 4H), 1,64-1,21 (m, 12H), 1,40 (s, 3H), 1,17-0,80 (m, 12H), 1,09 (s, 9H).

Esempio 7. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-1a-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide,



Passaggio 1. Preparazione di **1-2** (base libera): Carbammato **1-1** (350 mg, 0,689 mmoli) è stato aggiunto ad un pallone contenente una miscela 4:1 di t-butil acetato:DCM (3,5 mL). A questa soluzione è stato poi aggiunto acido metansolfonico (447 μ L, 6,89 mmoli). La miscela di reazione è stata lasciata agitare per 20 min a rt, poi diluita con cloruro di metilene (20 mL) e bicarbonato di sodio acquoso saturo (20 mL). La soluzione è stata lasciata agitare fino a quando lo sviluppo di gas cessava, poi gli estratti organici sono stati rimossi e lo strato acquoso è stato estratto due volte con cloruro di metilene (20 mL). Gli estratti organici combinati sono stati poi lavati con salamoia, seccati su Na_2SO_4 , filtrati, e concentrati *sotto vuoto*. Il risultante solido bianco **1-2** (base

libera, 280 mg) è stato usato nella successiva reazione senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₀H₂₇ClN₃O₄: 408,2; osservato: 408,1

Passaggio 2. Preparazione di miscela **7-1**: Ammina **1-2** (281 mg, 0,689 mmoli) è stata combinata con miscela di intermedi diastereomeri **D6** (266 mg, 0,895 mmoli), DIPEA (600 µL, 3,45 mmoli) e DMF (2 mL), HATU (340 mg, 0,895 mmoli) è stata poi aggiunta alla miscela di reazione, che è stata agitata a 40 °C per 5 h. La miscela di reazione è stata poi diluita con acqua (10 mL) e ripresa in cloruro di metilene (10 mL). Le fasi organiche sono state separate e lo strato acquoso è stato estratto una volta con cloruro di metilene (10 mL). Le fasi organiche combinate sono state poi lavate con salamoia, seccate su MgSO₄, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Residuo grezzo è stato poi purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare **7-1** come una miscela 1:1 di diastereomeri (280 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₂ClN₄O₇: 687,4; osservato: 687,3.

Passaggio 3. Preparazione di **7-2**: Pd(dppf)Cl₂ (29 mg, 0,0407 mmoli) è stato aggiunto a una miscela degassata di **7-1** (280 mg, 0,407 mmoli), potassio viniltrifluoroborato (55 mg, 0,733 mmoli), e trietilammina (91 µL, 0,651 mmoli) in 2 mL di etanolo a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C sotto N₂ per un'ora. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata diluita con toluene (10 mL), concentrata *sotto vuoto* ad un piccolo volume di solvente, e nuovamente diluita in toluene (1 mL). La miscela è stata poi caricata direttamente su una colonna di silice e purificata mediante cromatografia su gel di silice per dare **7-2** come una miscela 1:1 di diastereomeri che è stata portata avanti al seguente passaggio senza concentrare completamente ad essiccazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₅N₄O₇: 679,4; osservato: 679,4.

Passaggio 4. Preparazione di **7-3** e **7-4**: Miscela diastereomerica **7-2** (276 mg, 0,407 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (32 mg, 0,0407 mmoli, Strem) sono stati sciolti in 80 mL di DCE e degassati sotto N₂ per 25 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a 100 °C per 1 h. La reazione è stata poi raffreddata a temperatura ambiente e concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato tramite cromatografia su gel di silice (0% fino a 30% etil acetato in esani) per dare singoli diastereomeri **7-3** (20 mg, frazione ad eluizione precoce) e **7-4** (25 mg, frazione ad eluizione tardiva) come residui di colore marrone chiaro. Frazione ad eluizione precoce: LCMS-ESI⁺

(m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{36}H_{51}N_4O_7$: 651,4; osservato: 651,3. Frazione ad eluizione tardiva: LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{36}H_{51}N_4O_7$: 651,4; osservato: 651,3.

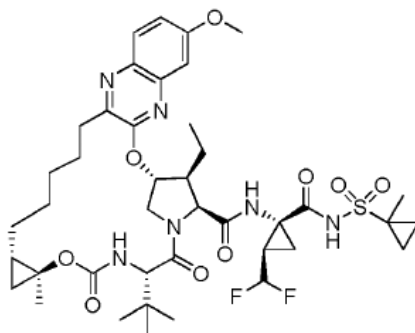
Passaggio 5. Preparazione di **7-5**: Palladio su carbone (10% p/p, 25 mg) è stato aggiunto ad una soluzione di **7-3** (20 mg, 0,0307 mmoli) in una miscela 1:1 di etil acetato e diossano (2 mL). La miscela è stata agitata sotto un'atmosfera di idrogeno per 30 min ed è stata poi filtrata attraverso un tappo di Celite, e lavata con etil acetato. Il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta per dare **7-5** (16 mg) come una pellicola marrone chiara, che è stata usata nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{36}H_{53}N_4O_7$: 653,4; osservato: 653,4.

Passaggio 6. Preparazione di **7-6**: Intermedio **7-5** (16 mg, 0,023 mmoli) è stato sciolto in 2 M HCl in diossano (2 mL) e riscaldato a 80 °C per 1,5 h tramite reattore a microonde. La miscela di reazione è stata poi concentrata *sotto vuoto* per dare **7-6** (15 mg) come un residuo marrone, che è stato usato nel successivo passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{32}H_{44}N_4O_7$: 597,3; osservato: 597,3.

Passaggio 7. Preparazione di Esempio 7: HATU (11,9 mg, 0,031 mmoli) e DIPEA (22 μ L, 0,126 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **7-6** (15 mg, 0,025 mmoli) e **A10** (11,5 mg, 0,0377 mmoli) in 1 mL di DMF. Dopo aver agitato durante la notte a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata versata in acqua, acidificata a pH 1 con 1 N HCl acquoso, e estratta tre volte con cloruro di metilene (15 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua, salamoia, seccate su $MgSO_4$, filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante HPLC preparativa in fase inversa (5-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) seguito da cromatografia su gel di silice per dare Esempio 7 (4,3 mg) come una pellicola solida bianca. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,07 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{41}H_{57}F_2N_6O_9S$: 847,4; osservato: 847,4. ¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,88 (s, 1H), 7,83 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,20 (dd, $J = 9,1$ Hz, 2,8 Hz, 1H), 7,07 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,98 (td, $J_{H-F} = 55,7$, $J = 6,7$ Hz, 1H), 5,95 (d, $J = 9,6$, 1H), 5,32 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 4,45 (dd, $J = 13,0$ Hz, 9,6 Hz, 2H), 4,32 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H), 4,13 (dd, $J = 15,5$ Hz, 8,8 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 2,99-2,84 (m, 1H), 2,82 - 2,68 (m, 1H), 2,62 - 2,47 (m 1H), 2,16 - 2,02 (m, 1H) 2,00-1,85 (m, 1H) 1,84-1,69 (m, 1H), 1,70 - 1,15 (m, 11H), 1,52 (s, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,20 (t, $J =$

7,3 Hz, 3H), 1,14 - 0,77 (m, 5H) 1,09 (s, 9H), 0,11 (m, 1H).

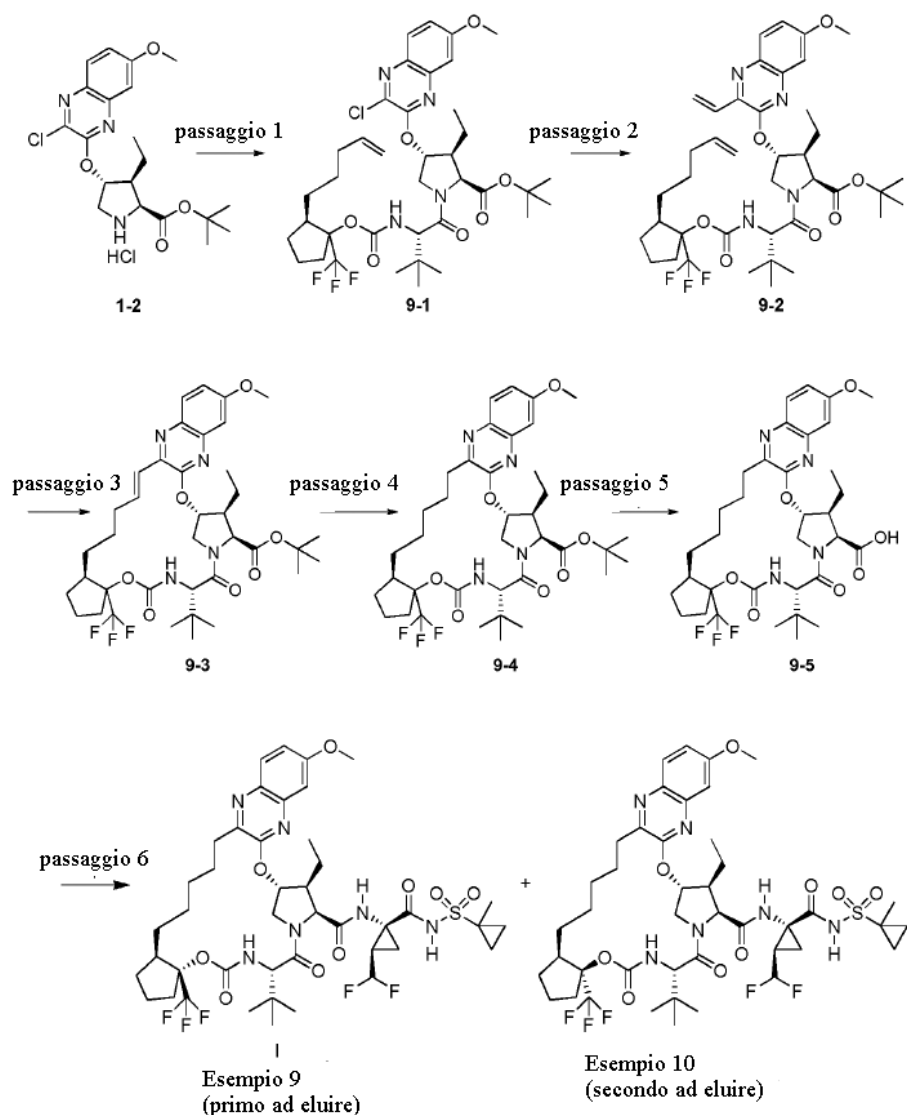
Esempio 8. Preparazione di (1aS,5S,8S,9S,10R,22aS)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-1a-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio 8

Esempio 8 è stato preparato in maniera simile a Esempio 7, sostituendo 7-4 ad eluizione precoce per 7-3 ad eluizione tardiva in Passaggio 5. Esempio 7 è stato isolato (2,9 mg) come un solido bianco. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,09 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,4; osservato: 847,4.

Esempi 9 e 10. Preparazione di (7S,10S,11S,12R)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-11-etil-16-metossi-5,8-diosso-3aR-(trifluorometil)-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopentano[18,19][1,10,3,6]diossiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide e (7S,10S,11S,12R)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-11-etil-16-metossi-5,8-diosso-3aS-(trifluorometil)-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopentano[18,19][1,10,3,6] diossiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **9-1**: Ad una soluzione di Intermedio **D8** (322 mg, 0,85 mmoli) e **1-2** (316 mg, 0,78 mmoli) in MeCN (3,9 mL) è stato aggiunto HATU (323 mg, 0,85 mmoli) seguito da DIPEA (678 μ L, 3,90 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare ammido **9-1** (476 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₆₃ClF₃N₄O₇: 769,4; osservato: 769,5.

Passaggio 2. Preparazione di **9-2**: Ad una soluzione di **9-1** (470 mg, 612 μmoli), TEA (128 μL , 918 μmoli), e potassio viniltrifluoroborato (123 mg, 918 μmoli) in EtOH (3,06 mL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (50 mg, 61 μmoli). La miscela di reazione è stata deossigenata con argon per 10 min e riscaldata a 78 °C. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare vinil chinossalina **9-2** (329 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio giallo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₆F₃N₄O₇: 761,4; osservato: 761,6.

Passaggio 3. Preparazione di **9-3**: Ad una soluzione di **9-2** (329 mg, 485 μmoli) in DCE (97 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (35 mg, 49 μmoli , Strem) e la miscela di reazione è stata deossigenata per 10 minuti con argon. La miscela di reazione è stata poi riscaldata a 100 °C. Dopo 30 min, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare macrociclo **9-3** (301 mg, 7:4 miscela di diastereomeri) come un olio giallo chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₂F₃N₄O₇: 733,4; osservato: 733,5.

Passaggio 4. Preparazione di **9-4**: Ad una soluzione di **9-3** (300 mg, 410 μmoli) in etanolo (2,00 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 43 mg, 41 μmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. L'atmosfera della reazione è stata sostituita con idrogeno gassoso e la miscela di reazione agitata vigorosamente a rt. Dopo 30 min, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (10 mL) e filtrata attraverso un pannello di Celite con lavaggi di etil acetato (3 × 5 mL). Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare macrociclo **9-4** (295 mg, 7:4 miscela di diastereomeri), che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₄F₃N₄O₇: 735,4; osservato: 735,5.

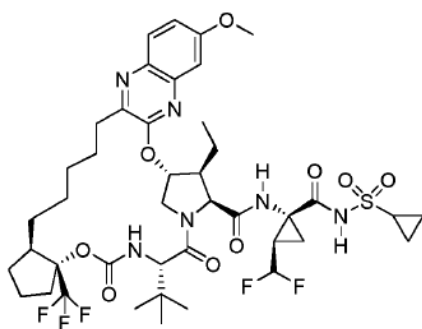
Passaggio 5. Preparazione di **9-5**: Ad una soluzione di **9-4** (295 mg, 401 μmoli) in DCM (2 mL) è stato aggiunto TMSOTf (72,6 μL , 401 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1,5 h, altro TMSOTf (362,9 μL , 2,00 mmoli) è stato aggiunto. Dopo 1 h, altro TMSOTf (362,9 μL , 2,00 mmoli) è stato aggiunto. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata aggiunta lentamente a una soluzione 0,25 N di NaOH acquoso (preraffreddata a 0 °C, 3 mL).

La risultante miscela è stata diluita con soluzione acquosa 1 N di HCl (5 mL), ed è stata estratta con DCM (3 × 5 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati per dare acido carbossilico **9-5** (353 mg, 7:4 miscela di diastereomeri) come un solido rossiccio, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₅F₃N₄O₇: 679,3; osservato: 679,5.

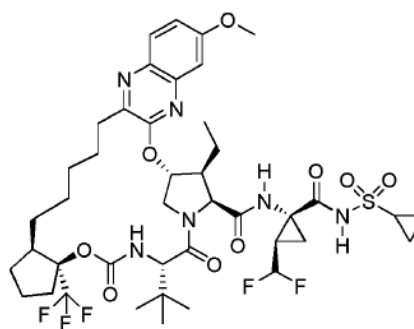
Passaggio 6. Preparazione di Esempio **9** e Esempio **10**: Ad una soluzione di acido **9-5** (150 mg, 220 μmoli) e Intermedio **A10** (101 mg, 330 μmoli) in MeCN (1,1 mL) è stato aggiunto HATU (127 mg, 330 μmoli) seguito da DIPEA (191 μL, 1,10 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani). Le frazioni contenenti il prodotto desiderato sono state combinate e sono state nuovamente purificate mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-50% acetone/esani) per dare Esempio **9** come primo ad eluire (40 mg) come una polvere bianca e Esempio **10** come secondo ad eluire (70 mg) come una polvere bianca. Primo ad eluire Esempio **9**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,42 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₅₈F₅N₆O₉S: 929,4; osservato: 929,5. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,83 (s, 1H), 7,92 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,0, 2,6 Hz, 1H), 7,13 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 5,99 (s largo, 1H), 5,96 (td, *J*_{H-F} 55,5, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,70 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,63 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 4,38 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,22 - 4,04 (m, 2H), 3,96 (s, 3H), 3,12 - 2,89 (m, 1H), 2,71 - 2,51 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,15 - 1,82 (m, 4H), 1,83 - 1,34 (m, 8H), 1,36 - 0,98 (m, 12H), 1,26 (s, 9H), 0,92 - 0,79 (m, 4H). Secondo ad eluire Esempio **10**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,55 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₅₈F₅N₆O₉S: 929,4; osservato: 929,5. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,61 (s, 1H), 7,91 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 9,0, 3,0 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 5,98 - 5,91 (m, 1H), 5,83 (td, *J*_{H-F} 55,5, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,33 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 4,72 - 4,63 (m, 1H), 4,46 - 4,38 (m, 1H), 4,32 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,25 - 4,14 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,73 (d largo, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,23 - 3,07 (m, 1H), 2,86 - 2,37 (m, 2H), 2,14 - 1,79 (m, 2H), 1,78 - 1,38 (m, 8H), 1,51 (s, 3H), 1,35 - 1,08 (m, 8H), 1,25 (s, 9H), 1,05 (s largo, 3H), 0,93 - 0,68 (m, 6H).

Esempi **11** e **12**. Preparazione di (7S,10S,11S,12R)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-

(difluorometil)ciclopropil]-11-etil-16-metossi-5,8-diosso-3aR-(trifluorometil)-
 1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-
 metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide e
 (7S,10S,11S,12R)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-11-
 etil-16-metossi-5,8-diosso-3aS-(trifluorometil)-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-
 metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Esemplio 11
(primo ad eluire)

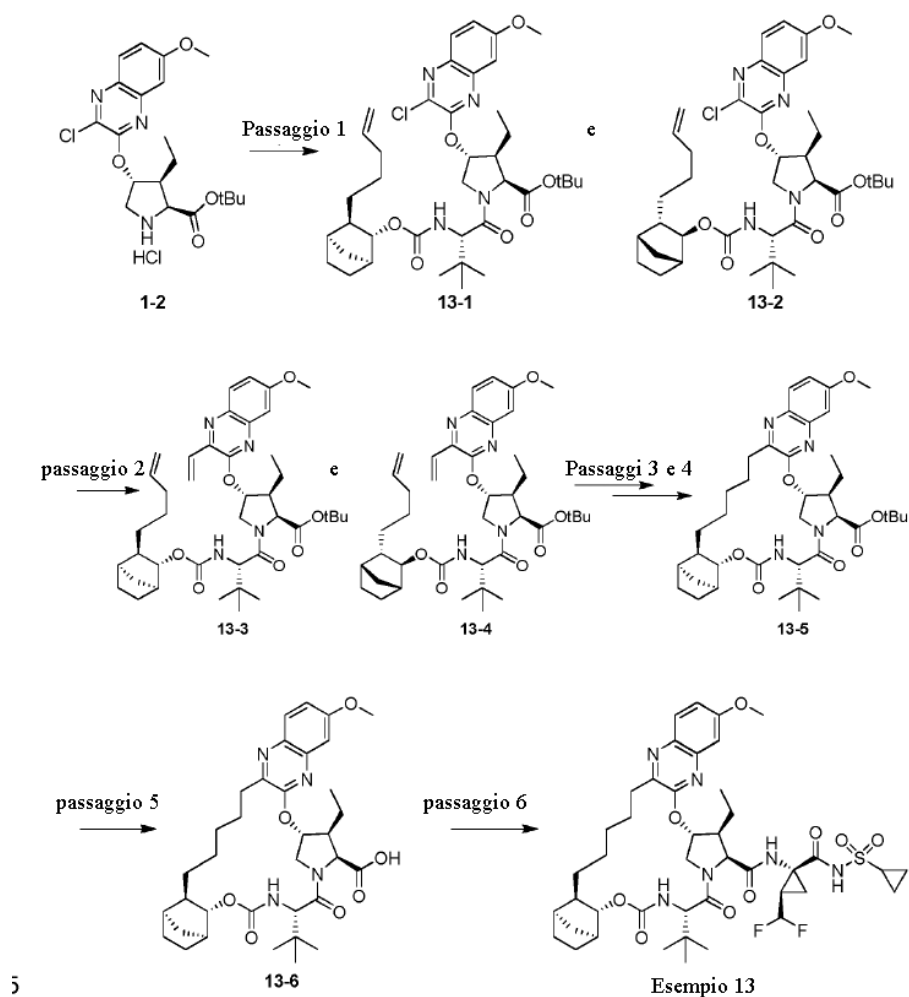


Esemplio 12
(secondo ad eluire)

Preparazione di Esemplio **11** e Esemplio **12**: Ad una soluzione di acido **9-5** (150 mg, 220 μ mol) e Intermedio **A9** (96 mg, 330 μ mol) in MeCN (1,1 mL) è stato aggiunto HATU (127 mg, 330 μ mol) seguito da DIPEA (191 μ L, 1,10 mmol) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-50% acetone/esani). Le frazioni contenenti il prodotto desiderato sono state combinate e sono state nuovamente purificate mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-50% acetone/esani) per dare il primo ad eluire Esemplio **11** (29 mg) come una polvere bianca e il secondo ad eluire Esemplio **12** (60,2 mg) come una polvere bianca. Primo ad eluire Esemplio **11**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,44 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. C₄₂H₅₆F₅N₆O₉S: 915,4; osservato: 915,6. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,17 (s largo, 1H), 7,83 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,21 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,17 - 7,07 (m, 1H), 5,99 (s largo, 1H), 5,97 (td, *J*_{H-F} 55,5, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,82 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 4,55 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,39 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,20 - 4,03 (m, 2H), 3,95 (s, *J* = 5,9 Hz, 3H), 2,97 - 2,82 (m, 2H), 2,79 - 2,49 (m, 3H), 2,24 - 1,81 (m, 8H), 1,80 - 1,11 (m, 12H), 1,10-0,98 (m, 4H), 1,07 (s, 9H),

0,95-0,81 (m, 3H). Secondo ad eluire Esempio **12**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,48 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. C₄₂H₅₆F₅N₆O₉S: 915,4; osservato: 915,6. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,07 (s, 1H), 7,93 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,28-7,20 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 6,17 - 5,68 (m, 3H), 4,67 - 4,55 (m, 1H), 4,37 - 4,23 (m, 2H), 4,17 - 4,05 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,75 - 3,66 (m, 1H), 3,22 - 3,04 (m, 1H), 3,02 - 2,31 (m, 6H), 2,30 - 1,83 (m, 10H), 1,85 - 1,13 (m, 13H), 1,06 (s, 9H), 0,95 - 0,79 (m, 1H).

Esempio **13**. Preparazione di (1R,4S,4aR,8S,11S,12S,13R,25aR)-8-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-12-etil-17-metossi-6,9-diosso-2,3,4,4a,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25a-esadecaidro-1H,11H-1,4:10,13-dimetanochinossalino[2,3-k][1,10,3,6]benzodiossadiazacilononadecin-11-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di miscela di diastereomeri **13-1** e **13-2**: Ad una soluzione di **1-2** (354 mg, 0,87 mmoli), Miscela di intermedi **D9** e **D10** (323 mg, 0,96 mmoli) e BEP (263 mg, 0,96 mmoli; TCI America) è stato aggiunto DIPEA (0,45 mL, 2,61 mmoli) e la reazione è stata agitata a 50 °C per 2 h. La reazione è stata spenta con soluzione di NaHCO₃ acquoso saturo e estratto con EtOAc, la fase organica è stata lavata con salamoia, seccata su solfato di magnesio e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-30% EtOAc/esani) per dare una miscela di diastereomeri non separabili **13-1** e **13-2** (338 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₉H₅₆ClN₄O₇: 727,38; osservato: 727,46.

Passaggio 2. Preparazione di miscela di diastereomeri **13-3** e **13-4**: Ad una soluzione della miscela di **13-1** e **13-2** (338 mg, 0,46 mmoli), TEA (0,10 mL, 0,69 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (93 mg, 0,69 mmoli) in EtOH (30 mL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (38 mg, 0,046 mmoli, Strem Chemicals). La reazione è stata deossigenata con N₂ per 10 min e riscaldata a 80 °C per 1 h. La reazione è stata spenta con soluzione di NaHCO₃ acquoso saturo e estratta con EtOAc, lavata successivamente con salamoia, seccata su solfato di magnesio e concentrata. Il residuo è stato purificato usando cromatografia su gel di silice per dare una miscela di diastereomeri non separabili **13-3** e **13-4** (285 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₉N₄O₇: 719,44; osservato: 719,70.

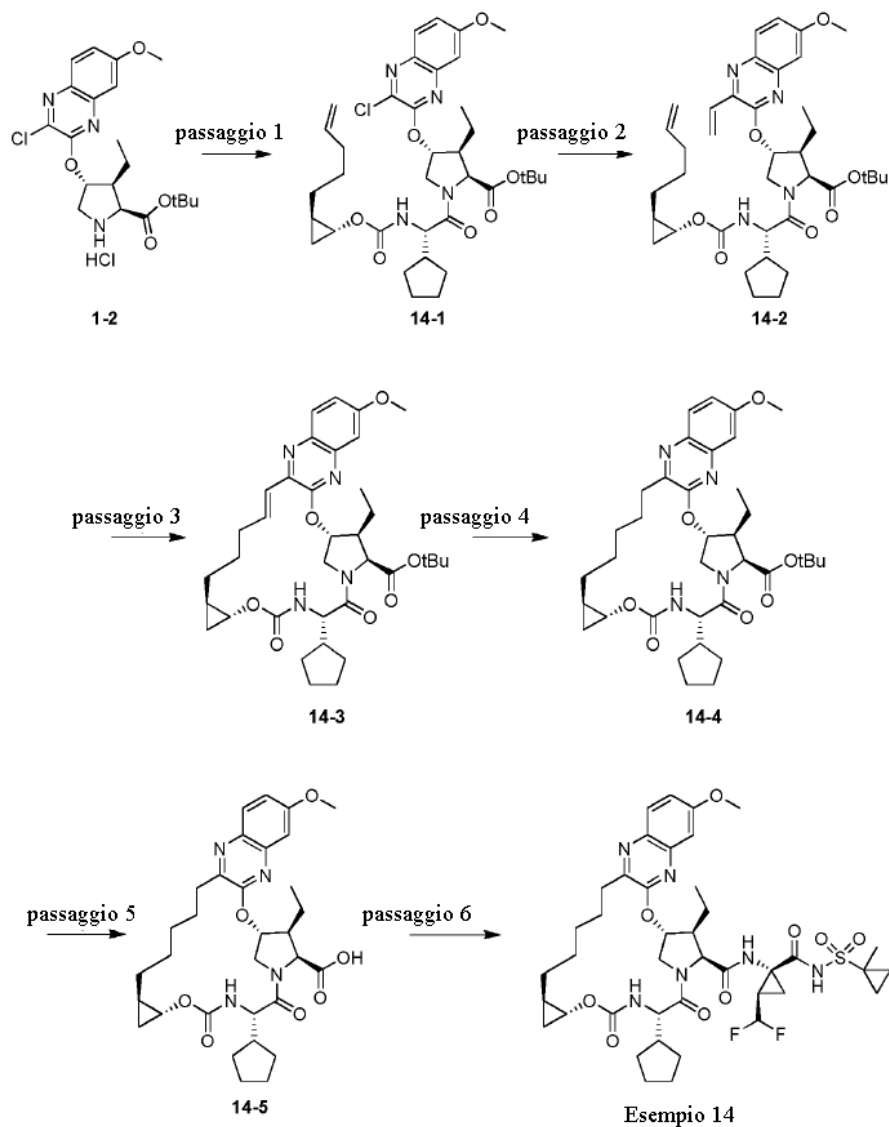
Passaggio 3 e 4. Preparazione di **13-5**: Ad una soluzione della miscela di diastereomeri **13-3** e **13-4** (285 mg, 0,40 mmoli) in DCE (100 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (30 mg, 0,04 mmoli, Strem) e la reazione è stata deossigenata per 30 minuti con N₂. La reazione è stata riscaldata a 100 °C per 45 min, lasciata raffreddare a rt e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per produrre prodotto olefinico macrociclico (125 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₅N₄O₇: 691,41; osservato: 691,58) che è stato ripreso in EtOH (6 mL) e trattato con Pd/C (10%, 120 mg). L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e agitata a rt per 1,5 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavata con EtOAc e concentrata per dare **13-5** come un olio (125 mg) che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₇N₄O₇: 693,42; osservato: 693,46.

Passaggio 5. Preparazione di **13-6**: Ad una soluzione di **13-5** (50 mg, 0,072 mmoli) in DCM (4 mL) è stato aggiunto TFA (1 mL) e agitata a rt per 6 h. La reazione è stata diluita con EtOAc, lavata con H₂O, tampone acquoso a pH 7, seccata su solfato di magnesio, e concentrata per dare **13-6** come un residuo che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉N₄O₇: 637,36; osservato: 637,40.

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **13**: Ad una soluzione di **13-6** (46 mg, 0,072 mmoli), Intermedio **A9** (28 mg, 0,11 mmoli), TBTU (34 mg, 0,10 mmoli) e DMAP (13 mg, 0,11 mmoli) in DCM (5 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,038 mL, 0,22 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 16 h. La reazione è stata spenta con acqua, diluita con EtOAc, lavata con NaHCO₃ acquoso saturo, salamoia, seccata su solfato di magnesio, e concentrata.

Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 30-85% MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **13** (14,5 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,39 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₅₉F₂N₆O₉S: 873,40; osservato: 873,42. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,28 (s, 1H), 7,82 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,26 (dd, J = 6,4, 2,8 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 6,04 - 5,74 (m, 2H), 5,50 (s, 1H), 4,55 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,47 (s, 1H), 4,26 - 4,16 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,03 - 2,95 (m, 2H), 2,78 - 2,66 (m, 2H), 2,17 (largo, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,90 - 1,85 (m, 1H), 1,76 - 1,74 (m, 2H), 1,61 - 1,21 (m, 20H), 1,15 - 1,11 (m, 2H), 1,08 (s, 9H), 0,93 - 0,90 (m, 1H).

Esempio **14**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-ciclopentil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di **14-1**: Ad una soluzione di **1-2** (223 mg, 0,50 mmoli) e Intermedio **D2** (221 mg, 0,75 mmoli) in acetonitrile (5 mL) è stato aggiunto HATU (306 mg, 0,80 mmoli) seguito da DIPEA (0,43 mL, 2,5 mmoli) a temperatura ambiente. Dopo 19 h, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il risultante residuo è stata diluita con etil acetato (15 mL). La risultante soluzione è stata lavata con 1 M HCl acquoso (10 mL). Lo strato acquoso è stato estratto con etil acetato (2 × 10 mL) e lo strato organico combinato è stato lavato con salamoia (15 mL), seccato su solfato di magnesio anidro e concentrato. Il risultante residuo grezzo è stato

purificato tramite cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **14-1** (173 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₀N₄O₇: 685,33; osservato: 685,49.

Passaggio 2. Preparazione di **14-2**: Ad una soluzione di **14-1** (173 mg, 0,25 mmoli) in EtOH (3 mL) è stato aggiunto potassio viniltrifluoroborato (51 mg, 0,38 mmoli), PdCl₂(dppf) (21 mg, 0,025 mmoli) e TEA (0,053 mL, 0,38 mmoli) in sequenza e la risultante miscela è stata riscaldata a 80 °C. Dopo 1 h, altro potassio viniltrifluoroborato (17 mg, 0,12 mmoli) è stato aggiunto e l'agitazione proseguita a 80 °C. Dopo 2,5 h, altro potassio viniltrifluoroborato (8 mg, 0,06 mmoli) è stato aggiunto e la reazione è stata agitata per altri 10 minuti a 80 °C. La reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, diluita con etil acetato (20 mL), e lavata con salamoia (20 mL). Lo strato acquoso è stato estratto con etil acetato (10 mL), e lo strato organico combinato è stato seccato su solfato di magnesio anidro e concentrato per dare **14-2** come un residuo che è stato usato senza purificazione nel seguente passaggio. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₃N₄O₇: 677,38; osservato: 677,50.

Passaggio 3. Preparazione di **14-3**: Ad una soluzione di **14-2** in DCE deossigenata (0,006 M) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (18 mg, 0,025 mmoli, Strem) e la reazione è stata deossigenata per altri 10 minuti con Ar. La reazione è stata riscaldata a 100 °C. Dopo 1,5 h, catalizzatore Zhan 1B (9 mg, 0,012 mmoli) è stato aggiunto e la reazione è stata agitata per altri 30 min. La miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt e concentrata a 4-5 mL di volume. Questa è stata direttamente purificata mediante cromatografia su gel di silice per dare **14-3** come un olio marrone (70 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉N₄O₇: 649,35; osservato: 649,50.

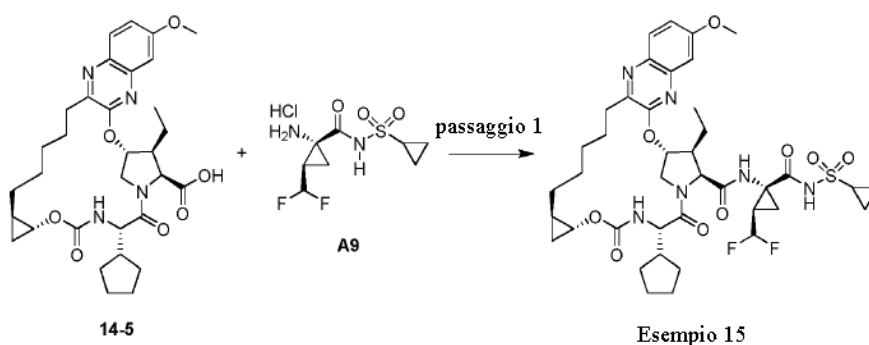
Passaggio 4. Preparazione di **14-4**: Ad una soluzione di **14-3** (70 mg, 0,11 mmoli) in EtOH (5 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 12 mg) sotto argon. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la reazione è stata agitata a rt per 16 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavata con EtOH e concentrata per dare **14-4** come un olio marrone che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,37; osservato: 651,60.

Passaggio 5. Preparazione di **14-5**: Ad una soluzione di **14-4** (70 mg, 0,11 mmoli) in DCM (3 mL) è stato aggiunto TMSOTf (0,103 mL, 0,53 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 1 h. La reazione è stata

concentrata per dare **14-5** che è stato usato per il seguente passaggio senza purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₃N₄O₇: 595,31; osservato: 595,43.

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **14**: Ad una soluzione di **14-5** (36,8 mg, 0,06 mmoli) e Intermedio **A10** (28 mg, 0,09 mmoli) in acetonitrile (1,5 mL) è stato aggiunto HATU (38 mg, 0,1 mmoli) seguito da DIPEA (0,065 mL, 0,37 mmoli) a temperatura ambiente. Dopo 20 minuti, la miscela di reazione è stata direttamente purificata mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini 5u C18 110A, 15-100% MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **14** come un solido giallo (24 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,03 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₂N₆O₉S: 845,4; osservato: 845,6. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,31 (s, 1H), 7,80 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,03 - 5,66 (m, 2H), 4,53 (dd, *J* = 13,2, 9,6 Hz, 2H), 4,18 (dd, *J* = 17,2, 7,1 Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,68 (dt, *J* = 6,8, 2,8 Hz, 1H), 3,13 (quin, *J* = 1,7 Hz, 1H), 3,02 - 2,92 (m, 1H), 2,85 - 2,78 (m, 1H), 2,62 - 2,55 (m, 1H), 2,30 - 2,17 (m, 1H), 2,02 (s, 2H), 1,97 - 1,86 (m, 3H), 1,86 - 1,79 (m, 1H), 1,80 - 1,41 (m, 17H), 1,40 - 1,28 (m, 3H), 1,22 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,03 - 0,87 (m, 4H), 0,76 - 0,68 (m, 1H), 0,51 - 0,44 (m, 1H).

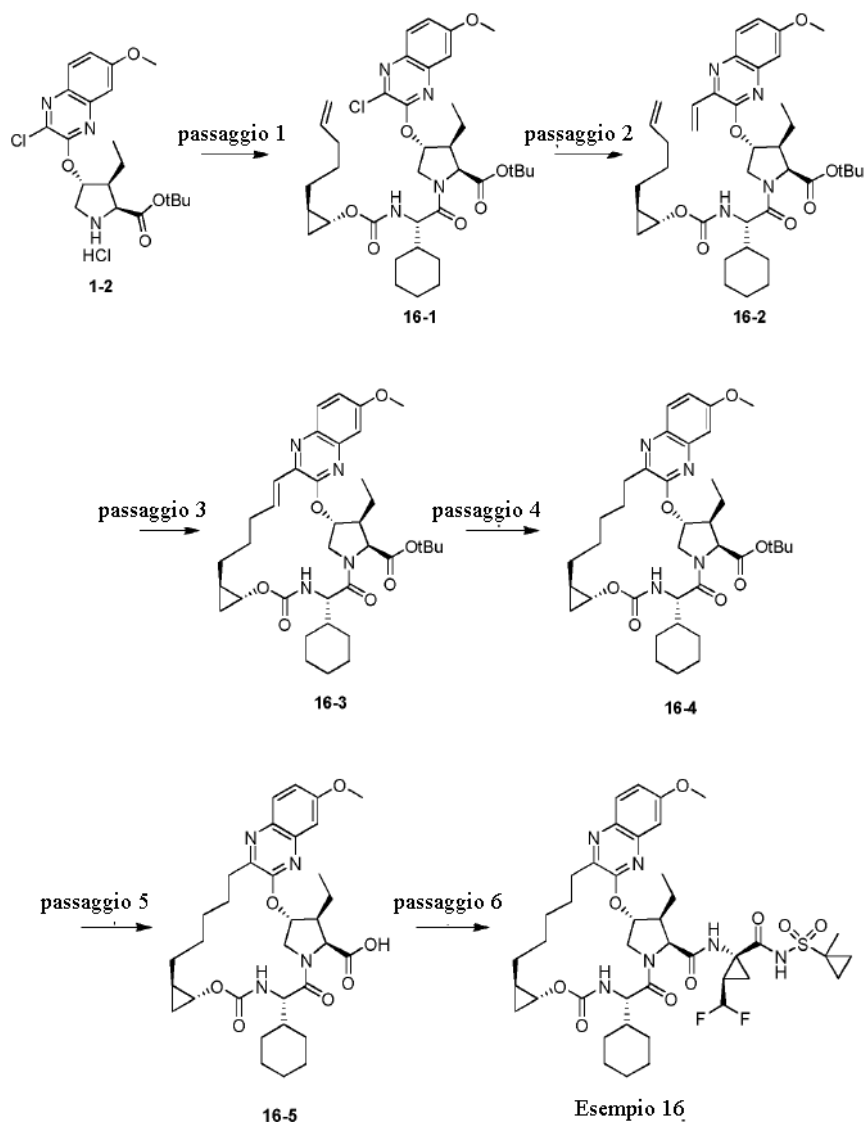
Esempio **15**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-ciclopentil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di Esempio **15**, Ad una soluzione di **14-5** (27 mg, 0,045 mmoli) e Intermedio **A9** (20 mg, 0,067 mmoli) in acetonitrile (1,3 mL) è stato aggiunto HATU (27 mg, 0,072 mmoli) seguito da DIPEA

(0,047 mL, 0,27 mmoli) a temperatura ambiente. Dopo 20 minuti, la miscela di reazione è stata direttamente purificata mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini 5u C18 110A, 15-100% MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **15** come un solido giallo (18,6 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,89 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃F₂N₆O₉S: 831,4; osservato: 831,6. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,32 (s, 1H), 7,79 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,03 - 5,66 (m, 2H), 4,53 (t, *J* = 10,0 Hz, 2H), 4,22 - 4,14 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,67 (dt, *J* = 6,5, 2,9 Hz, 1H), 3,13 (quin, 1,6 Hz, 1H), 3,04 - 2,92 (m, 3H), 2,85 - 2,77 (m, 1H), 2,63 - 2,55 (m, 1H), 2,26 - 2,19 (m, 1H), 2,05 - 2,02 (m, 2H), 1,99 - 1,86 (m, 3H), 1,84 - 1,42 (m, 12H), 1,41 - 1,25 (m, 4H), 1,22 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,15 - 1,03 (m, 3H), 1,01 - 0,90 (m, 2H), 0,76 - 0,68 (m, 1H), 0,49 - 0,45 (m, 1H).

Esempio **16**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-cicloesil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **16-1**: Ad una soluzione di Intermedio **D3** (190 mg, 0,60 mmoli) e **1-2** (264 mg, 0,60 mmoli) in DMF (5 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,31 mL, 1,8 mmoli) seguito da COMU (257 mg, 0,60 mmoli) a rt. Dopo 2 h, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il risultante residuo diluito con etil acetato (15 mL). La risultante soluzione è stata lavata con soluzione al 10% di acido citrico. Lo strato acquoso è stato estratto con etil acetato (2 × 10 mL) e lo strato organico combinato è stato lavato con salamoia (15 mL), seccato su solfato di magnesio anidro e concentrato. Il risultante residuo grezzo è stato purificato tramite cromatografia

su gel di silice per dare **16-1** (260 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₇H₅₁ClN₄O₇: 700,28; osservato: 700,03.

Passaggio 2. Preparazione di **16-2**: Ad una soluzione di **16-1** (260 mg, 0,37 mmoli) in EtOH (5 mL) sono stati aggiunti potassio viniltrifluoroborato (75 mg, 0,56 mmoli), PdCl₂(dppf) (30 mg, 0,037 mmoli) e TEA (0,079 mL, 0,56 mmoli) in sequenza. La reazione è stata deossigenata con Ar per 12 min ed è stata riscaldata a 78 °C per 2 h. La reazione è stata raffreddata a rt, diluita con etil acetato (20 mL), e lavata con salamoia (20 mL). Lo strato acquoso è stato estratto con etil acetato (10 mL), e gli strati organici combinati sono stati seccati su solfato di magnesio anidro e concentrati per dare residuo grezzo. Il risultante residuo grezzo è stato purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare **16-2** come un olio giallo (250 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₄N₄O₇: 691,87; osservato: 691,54.

Passaggio 3. Preparazione di **16-3**: Ad una soluzione di **16-2** (250 mg, 0,36 mmoli) in deossigenata DCE (0,005 M) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (26 mg, 0,036 mmoli, Strem) e la reazione è stata deossigenata per altri 10 minuti con Ar. La reazione è stata riscaldata a 70 °C per 2 h. La miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt e concentrata. Il risultante residuo è stato direttamente purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare **16-3** come un olio giallo (250 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₀N₄O₇: 663,82; osservato: 663,42.

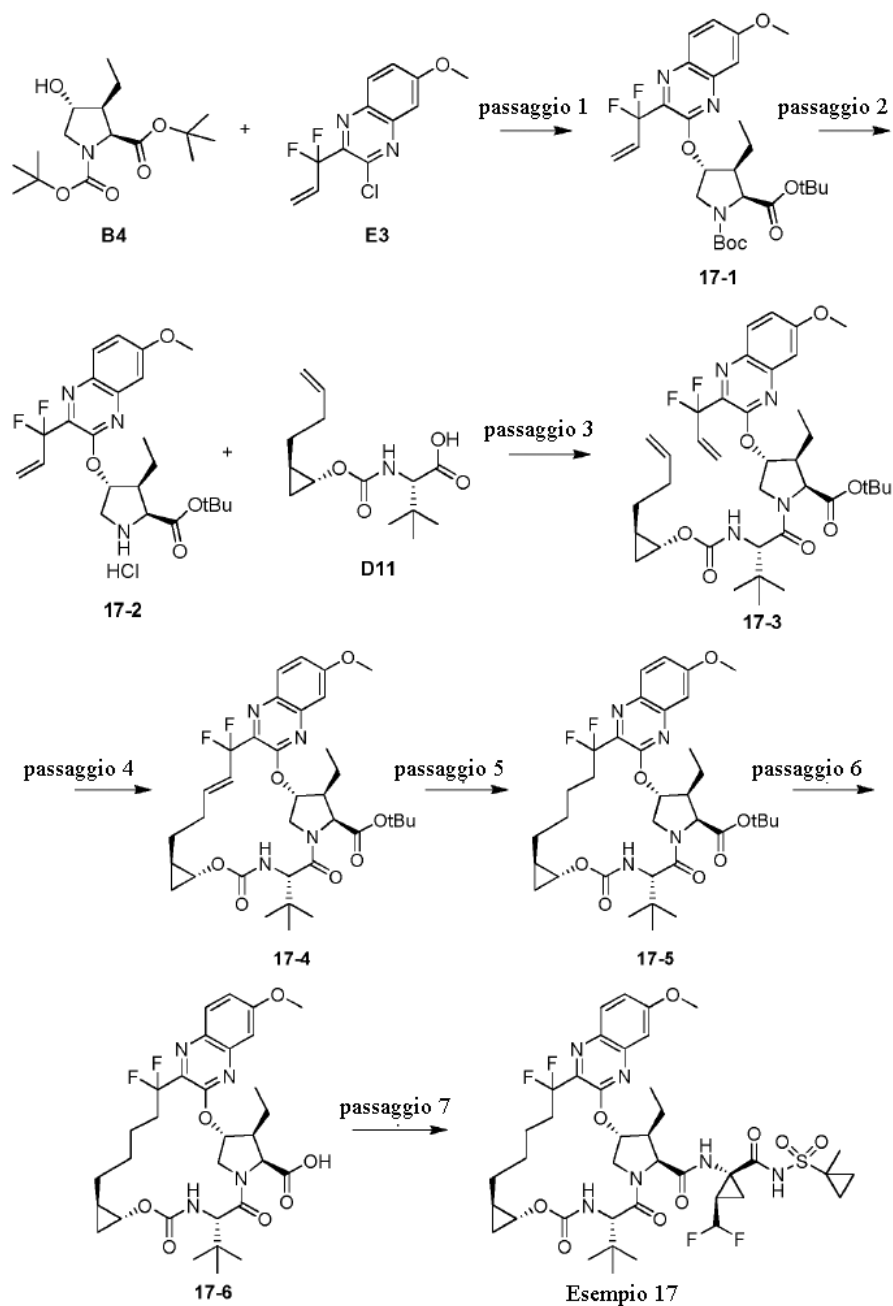
Passaggio 4. Preparazione di **16-4**: Ad una soluzione di **16-3** (200 mg, 0,3 mmoli) in EtOAc (10 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 100 mg) sotto argon. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la reazione è stata agitata a rt per 1,5 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavata con EtOH e concentrata per dare **16-4** come un olio (180 mg) che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₇H₅₂N₄O₇: 665,83; osservato: 665,36.

Passaggio 5. Preparazione di **16-5**: Ad una soluzione di **16-4** (165 mg, 0,25 mmoli) in DCM (5 mL) è stato aggiunto TFA (2 mL) e la reazione è stata agitata a rt per 4 h. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta la reazione è stata diluita con etil acetato (15 mL). La risultante soluzione è stata lavata con NaHCO₃ acquoso saturo e concentrata per dare **16-5** che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-

ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₄N₄O₇: 609,73; osservato: 609,47

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **16**: Ad una soluzione di **16-5** (70 mg, 0,12 mmoli) e Intermedio **A10** (65 mg, 0,21 mmoli) in DCM (1 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,08 mL, 0,46 mmoli) seguito da HATU (88 mg, 0,23 mmoli). La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 3 h. La reazione è stata diluita con EtOAc e lavata con NH₄Cl acquoso e salamoia. Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini, 58-98 % MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzato per dare Esempio **16** (40 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,21 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₆F₂N₆O₉S: 859,99; osservato: 859,60. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,28 (s, 1H), 7,76 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 5,97 - 5,82 (m, 2H), 4,88 (m, 2H), 4,51-4,46 (m, 3H), 4,19-4,11 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,70-3,29 (m, 6H), 2,97-2,52 (m, 3H), 2,06 - 1,41 (m, 20H), 1,39 - 1,17 (m, 4H), 1,09 - 0,89 (m, 4H), 0,65 (m, 1H), 0,46 - 0,44 (m, 1H).

Esempio **17**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggi 1 e 2. Preparazione di **17-2**: Una miscela di Intermedio **B4** (273 mg, 0,865 mmoli), Intermedio **E3** (234 mg, 0,865 mmoli), e cesio carbonato (310 mg, 0,952 mmoli) in MeCN (2,5 mL) è stata riscaldata a 85 °C per 36 ore. In un procedimento alternativo, DMF è stato usato come solvente. Acqua (10 mL) è stata aggiunta e la

miscela è stata estratta con etil acetato. La fase organica è stata seccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata per dare **17-1**, che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione o dopo purificazione per cromatografia. Il residuo è stato trattato con 35 equiv 4 N HCl in diossano a rt per 2,5 ore. Dopo aggiunta di dietil etere, il sale cloridrato di **17-2** precipitava. Il sale è stato raccolto mediante filtrazione sotto vuoto e seccato a pressione ridotta (375 mg). In un procedimento alternativo, la deprotezione è stata condotta in presenza di MSA in tBuOAc e DCM. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₃H₃₀F₂N₃O₄: 450,2; osservato: 450,1.

Passaggio 3. Preparazione di **17-3**: Una miscela di **17-2** (370 mg, 0,761 mmoli), Intermedio **D11** (205 mg, 0,761 mmoli), HATU (347 mg, 0,914 mmoli) e DIPEA (0,795 mL, 4,57 mmoli) in DMF (3 mL) è stata agitata a rt durante la notte. La miscela è stata diluita con 100 mL di acqua e estratta con diclorometano. La fase organica è stata seccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata. La miscela di prodotto grezzo è stata purificata mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 30%) per dare **17-3** (236 mg). In un procedimento alternativo, **17-2** e Intermedio **D11** sono stati mescolati con EDC e HOBT in presenza di NMM in DMF per dare **17-3**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₁F₂N₄O₇: 701,4; osservato: 701,3.

Passaggio 4. Preparazione di **17-4**: Una soluzione di **17-3** (236 mg, 0,34 mmoli) in DCE (67 mL) è stata deossigenata con argon per 40 minuti, catalizzatore Zhan 1B (25 mg, 0,034 mmoli, Strem) è stato aggiunto e la reazione è stata riscaldata in un bagno di olio a 100 °C per 40 minuti. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 5% fino a 65%) per dare **17-4** (229 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-F]⁺ calc. per C₃₅H₄₆FN₄O₇: 653,3; osservato: 653,2.

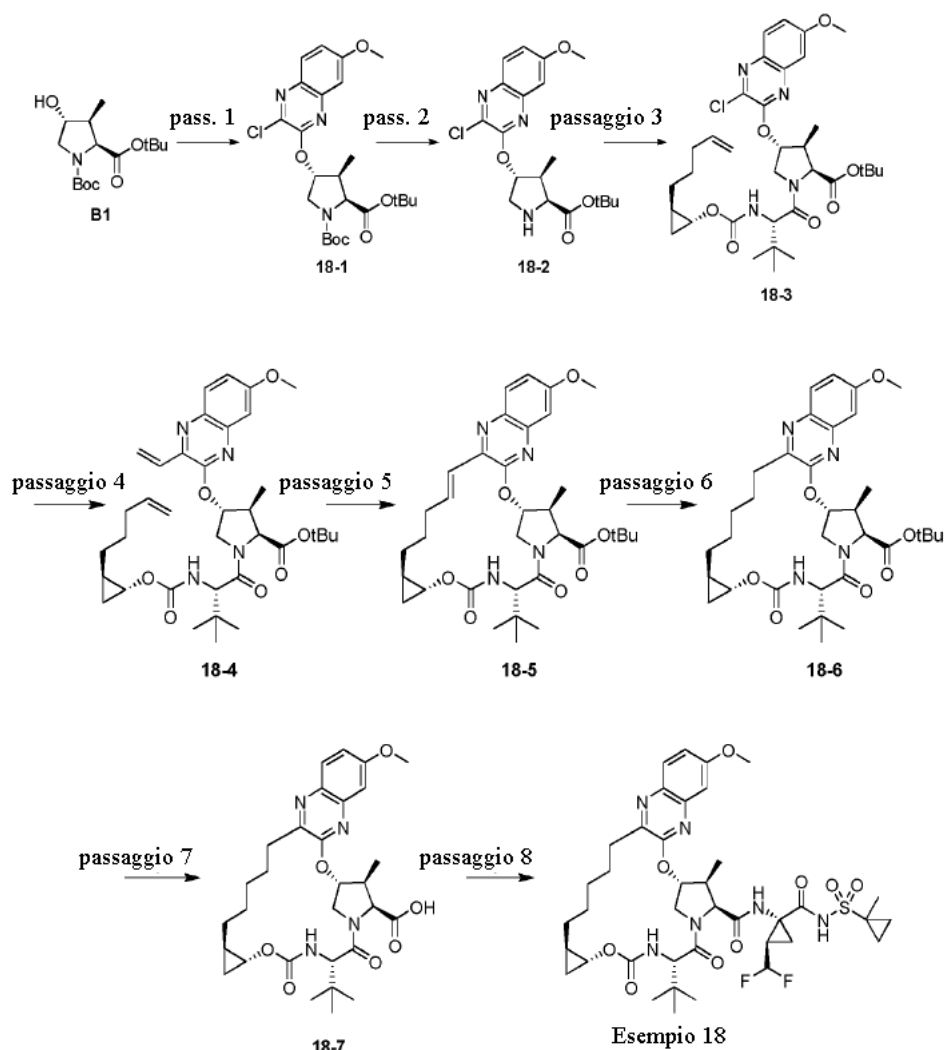
Passaggio 5. Preparazione di **17-5**: Una soluzione di **17-4** (229 mg, 0,34 mmoli) in 50 mL etanolo è stata idrogenata a 1 atm di idrogeno gassoso in 220 mg di 10% in peso Pd/C (umido) per 2,5 ore. Filtrazione attraverso Celite e concentrazione a pressione ridotta dava un residuo grezzo di **17-5** (184 mg). In un procedimento alternativo, **17-4** è stato idrogenato con idrogeno gassoso in presenza di Rh. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉F₂N₄O₇: 675,4; osservato: 675,3.

Passaggio 6. Preparazione di **17-6**: Estere **17-5** (184 mg, 0,27 mmoli) in 2 mL DCM è stato trattato con 1 mL di TFA e agitato a rt per 3 h. La miscela di reazione è stata concentrata e poi ripartita tra acqua e etil acetato. La

fase organica è stata lavata con acqua, seccata su solfato di sodio anidro, filtrata e concentrata per dare **17-6** (153 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₁H₄₁F₂N₄O₇: 619,3; osservato: 619,2.

Passaggio 7. Preparazione di Esempio **17**: Una miscela di acido carbossilico **17-6** (153 mg, 0,247 mmoli), Intermedio **A10** (90 mg, 0,297 mmoli), HATU (113 mg, 0,297 mmoli), DMAP (45 mg, 0,37 mmoli) e DIPEA (0,215 mL, 1,24 mmoli) in DMF (1,5 mL) è stata agitata a rt per 40 minuti. La miscela è stata diluita con 2 N HCl acquoso (2 mL) e estratta con diclorometano. La fase organica è stata seccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata. La miscela di prodotto grezzo è stata purificata mediante cromatografia su gel di silice (EtOAc in esani: 30% - 95%) per dare Esempio **17** (95 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,79 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃F₄N₆O₉S: 869,3; osservato: 869,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,948 (s largo, 1H), 7,99 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 6,57 (s largo, 1H), 5,97 (td, J_{H-F} = 52 Hz, J = 6,8 Hz, 1H), 5,92 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 5,322 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,42 (ap d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,40 (ap s, 1H), 4,34 (ap d, J = 10 Hz, 1H), 4,08 (dd, J = 12,0, 3,6 Hz, 1H), 3,99 - 3,94 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,67 (m, 1H), 2,52 (m, 2H), 2,06 (m, 1H), 1,93 (m, 2H), 1,77 (m, 2H), 1,63 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,56 - 1,42 (m, 4H), 1,25 (m, 1H), 1,19 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,10-0,93 (m, 2H), 0,85 (m, 2H), 0,69 (m, 1H), 0,49 (m, 1H).

Esempio **18**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **18-1**: Intermedio **B1** (1,94 g, 6,44 mmoli) è stato sciolto in MeCN (30 mL) sotto Ar, Intermedio **E1** (2,02 g, 7,4 mmoli) e Cs₂CO₃ (7,5 mmoli) sono stati aggiunti, e la risultante miscela è stata agitata per 8 h a rt. Altro Intermedio **E1** (200 mg, 0,73 mmoli) e Cs₂CO₃ (245 mg, 0,75 mmoli) sono stati aggiunti e la miscela di reazione è stata agitata altre 15 h. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso Celite con EtOAc e concentrata. Il risultante residuo grezzo è stato sciolto in CH₂Cl₂, concentrato su 12 g di gel di silice, e purificato mediante cromatografia su gel di silice (5% fino a 20% EtOAc in esani) per fornire **18-1** come una schiuma bianca (2,63 g). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₄H₃₃ClN₃O₆: 494,2; osservato: 494,1.

Passaggio 2. Preparazione di **18-2**: Chinossalina sostituita **18-1** (905 mg, 1,84 mmoli) è stata sciolta in *tert*-butil acetato (7 mL) e CH₂Cl₂ (1,75 mL), MeSO₃H (600 µL, 9,2 mmoli) è stato aggiunto a gocce in 45 s, e la risultante soluzione gialla è stata agitata a rt per 50 min. Altro MeSO₃H (100 µL, 1,5 mmoli) è stato aggiunto a gocce e la reazione è stata agitata altri 10 min. La miscela di reazione è stata trasferita ad una miscela agitata di EtOAc (20 mL) e NaHCO₃ acquoso saturo (30 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare ammina **18-2** come un residuo incolore (680 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₁₉H₂₅ClN₃O₄: 394,2; osservato: 394,2.

Passaggio 3. Preparazione di **18-3**: Ammina **18-2** (680 mg, 1,73 mmoli) e Intermedio **D1** (600 mg, 2,1 mmoli) sono stati sciolti in DMF (10 mL), DIPEA (925 µL, 5,30 mmoli) è stato aggiunto seguito da HATU (880 mg, 2,3 mmoli). La reazione è stata agitata 110 min a rt ed è stata diluita con NaHCO₃ acquoso saturo (30 mL) e EtOAc (30 mL). Le fasi sono state separate e la fase organica è stata lavata con salamoia semi-satura (2 x 40 mL), seccata su Na₂SO₄ anidro, filtrata e concentrata ad un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 20% EtOAc in esani) forniva **18-3** come un residuo incolore (703 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₄H₄₈ClN₄O₇: 659,3; osservato: 659,4.

Passaggio 4. Preparazione di **18-4**: Una miscela eterogenea agitata di **18-3** (703 mg, 1,07 mmoli), PdCl₂(dppf)•CH₂Cl₂ (48 mg, 0,059 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (290 mg, 2,16 mmoli) in EtOH (11 mL) è stata fatta gorgogliare con argon per 15 min. Trietilammina (320 µL, 2,3 mmoli) è stata aggiunta e la miscela è stata riscaldata a 75 °C per 70 min. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente ed è stata diluita con EtOAc (40 mL) e salamoia semi-satura (30 mL). Le fasi sono state separate e la fase organica è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 20% fino a 30% EtOAc in esani) forniva **18-4** come un residuo giallo (490 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,4; osservato: 651,3.

Passaggio 5. Preparazione di **18-5**: **18-4** (490 mg, 0,179 mmoli) è stato sciolto in DCE (250 mL) e la soluzione è stata irrorata con Ar per 15 min, catalizzatore Zhan 1B (66 mg, 0,090 mmoli, Strem) è stato aggiunto come una

soluzione in DCE (5 mL) e la risultante soluzione è stata agitata a 85 °C sotto Ar per 105 min. La miscela di reazione è stata raffreddata a rt ed è stata adsorbita su gel di silice (7,5 g). Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc in esani) forniva **18-5** come un residuo amorfo (290 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₇N₄O₇: 623,3; osservato: 623,3.

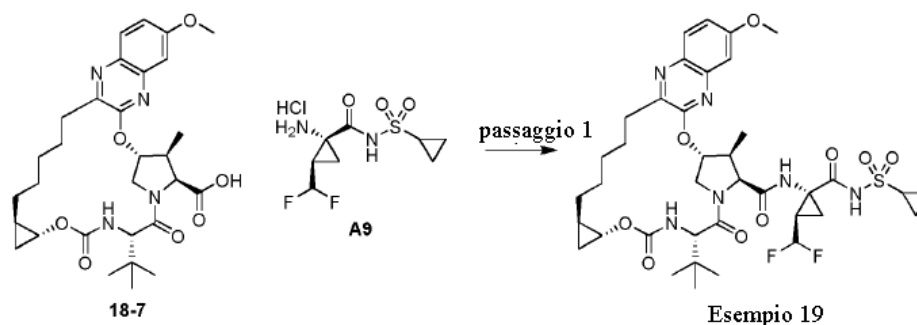
Passaggio 6: Preparazione di **18-6**: Olefina **18-5** (290 mg, 0,072 mmoli) è stata sciolta in EtOAc (5,5 mL) e EtOH (5,5 mL) e il recipiente di reazione è stato spurgato con Ar. Pd/C (10% in peso Pd, 92 mg) è stato aggiunto in una singola porzione e il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con H₂. La reazione è stata agitata a rt sotto 1 atm H₂ per 1,5 h ed è stato filtrato attraverso un pannello di Celite e concentrato per dare un residuo grezzo di **18-6** che è stato usato senza ulteriore purificazione (LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₉N₄O₇: 625,4; osservato: 625,0.

Passaggio 7. Preparazione di **18-7**: **18-6** (0,466 mmoli) è stato sciolto in CH₂Cl₂ (4,3 mL) sotto Ar. TMSOTf (210 µL, 1,16 mmoli) è stato aggiunto a gocce in 30 s. La reazione è stata agitata 65 min e un'altra porzione di TMSOTf (50 µL, 0,28 mmoli) è stata aggiunta. La reazione è stata agitata altre 100 min e un'altra porzione di TMSOTf (100 µL, 0,55 mmoli) è stata aggiunta. La reazione è stata agitata altre 105 min ed è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo grezzo è stato sciolto in CH₂Cl₂ (20 mL) e 0,2 M NaOH acquoso (10 mL) è stato aggiunto. La miscela è stata agitata per 5 min e è stata acidificata con 1 M HCl acquoso (20 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con CH₂Cl₂ (2 x 20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su MgSO₄, filtrata, e concentrata per dare **18-7** come un solido marrone (273 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₀H₄₁N₄O₇: 569,3; osservato: 568,9.

Passaggio 8. Preparazione di Esempio **18**: Ad una sospensione di acido **18-7** (28 mg, 0,049 mmoli) e Intermedio **A10** (26,5 mg, 0,087 mmoli) in MeCN (1,3 mL) è stato aggiunto DIPEA (55 µL, 0,31 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (30,5 mg, 0,080 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 1 h e un'altra porzione di Intermedio **A10** (3 mg, 0,01 mmoli) è stata aggiunta. Dopo altri 15 min, la reazione è stata diluita con EtOAc (30 mL) e 1 M HCl acquoso (20 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo

grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 40% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **18** come un solido amorfo bianco (26,4 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,42 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₉H₅₃F₂N₆O₉S: 819,4; osservato: 819,1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,68 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,14 - 5,70 (m, 1H), 5,65 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 5,56 - 5,50 (m, 1H), 4,53 - 4,40 (m, 3H), 4,12 (dd, *J* = 11,9, 4,3 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,81 - 3,74 (m, 1H), 3,06 - 2,64 (m, 4H), 2,10 - 1,35 (m, 13H), 1,13 (d, *J* = 7,5 Hz, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,04 - 0,65 (m, 6H), 0,52 - 0,41 (m, 1H).

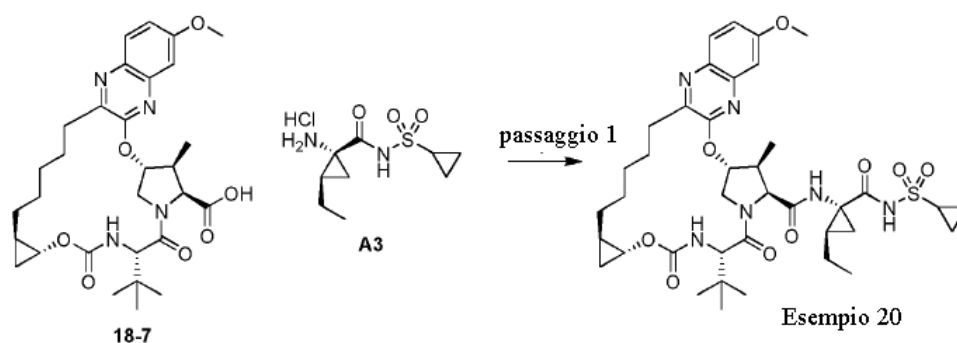
Esempio **19**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di Esempio **19**: Ad una sospensione di acido **18-7** (8,8 mg, 0,015 mmoli) e Intermedio **A9** (7,4 mg, 0,025 mmoli) in MeCN (0,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (14 µL, 0,08 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (9,1 mg, 0,024 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 1 h e un'altra porzione di Intermedio **A9** (5 mg, 0,02 mmoli) e HATU (5 mg, 0,01 mmoli) sono stati aggiunti. Dopo altre 1,5 h, la reazione è stata diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (10 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice

(10% fino a 40% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esemplio **19** come un solido amorfo bianco (8,5 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,69 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₁F₂N₆O₉S: 805,3; osservato: 805,2. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10,12 (s, 1H), 7,83 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,25 - 5,76 (m, 1H), 5,57 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 5,51 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,49 - 4,37 (m, 3H), 4,13 (dd, *J* = 12,2, 4,3 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,79 - 3,72 (m, 1H), 3,01 - 2,69 (m, 4H), 2,13 - 2,06 (m, 1H), 2,01 - 1,22 (m, 9H), 1,14 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,06 - 0,82 (m, 6H), 0,76 - 0,62 (m, 1H), 0,54 - 0,41 (m, 1H).

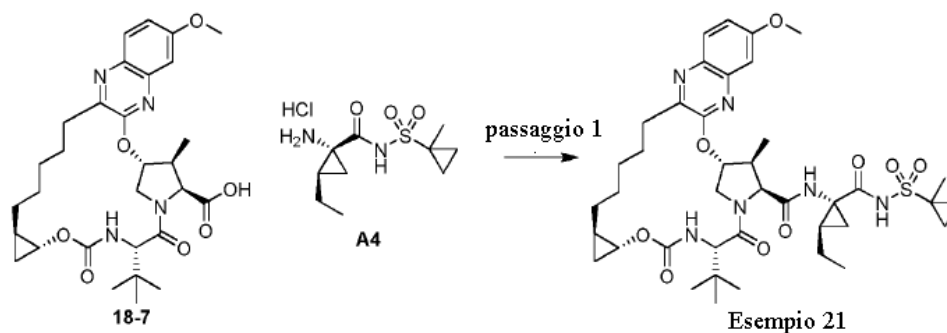
Esemplio **20**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-{(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-etilciclopropil}-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di Esemplio **20**: Ad una sospensione di acido **18-7** (10 mg, 0,018 mmoli) e Intermedio **A3** (6,3 mg, 0,023 mmoli) in MeCN (0,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (15 µL, 0,086 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (9,0 mg, 0,024 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 2,5 h e un'altra porzione di Intermedio **A3** (6,5 mg, 0,024 mmoli) è stato aggiunto. Dopo altre 45 min, la reazione è stata diluita con EtOAc (2 mL) e 1 M HCl acquoso (1,5 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (4 x 1,5 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (20% fino a 25% fino a 30% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esemplio **20** come un solido

amorfo bianco (8,0 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,40 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₅N₆O₉S: 783,4; osservato: 783,2. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,98 (s, 1H), 7,83 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,42 (s, 1H), 5,57 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 5,36 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,48 - 4,34 (m, 3H), 4,11 (dd, *J* = 11,8, 4,1 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,79 - 3,72 (m, 1H), 2,98 - 2,68 (m, 4H), 1,95 - 0,80 (m, 33H), 0,76 - 0,61 (m, 1H), 0,53 - 0,41 (m, 1H).

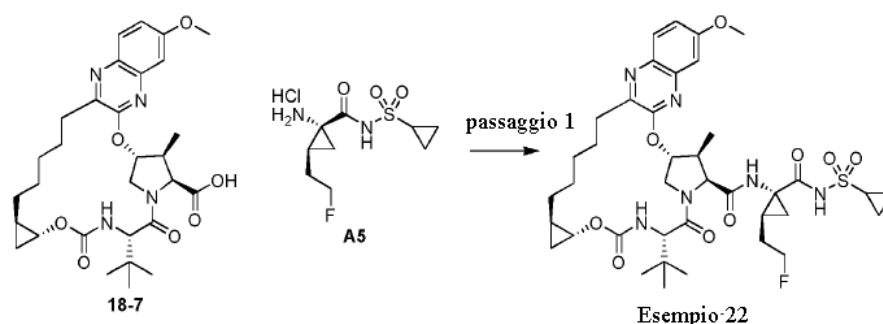
Esempio **21**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-etil-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossidiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di Esempio **21**: Ad una sospensione di acido **18-7** (94,9 mg, 0,167 mmoli) e Intermedio **A4** (74,5 mg, 0,263 mmoli) in MeCN (2,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (180 µL, 1,0 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (9,0 mg, 0,024 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 110 min e porzioni aggiuntive di Intermedio **A4** (31 mg, 0,11 mmoli) e DIPEA (50 µL, 0,29 mmoli) sono state aggiunte. Dopo altri 40 min, la reazione è stata diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (20 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 40% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **21** come un solido amorfo bianco (102,1 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,83 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₇N₆O₉S: 797,4; osservato: 797,5. ¹H NMR (400

MHz, CDCl₃) δ 9,76 (s, 1H), 7,80 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,17 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,07 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 5,58 - 5,42 (m, 2H), 4,48 - 4,36 (m, 3H), 4,09 (dd, *J* = 11,8, 4,2 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,79 - 3,74 (m, 1H), 2,97 - 2,66 (m, 4H), 1,80 - 0,88 (m, 33H), 0,84 - 0,77 (m, 1H), 0,77 - 0,61 (m, 2H), 0,52 - 0,40 (m, 1H).

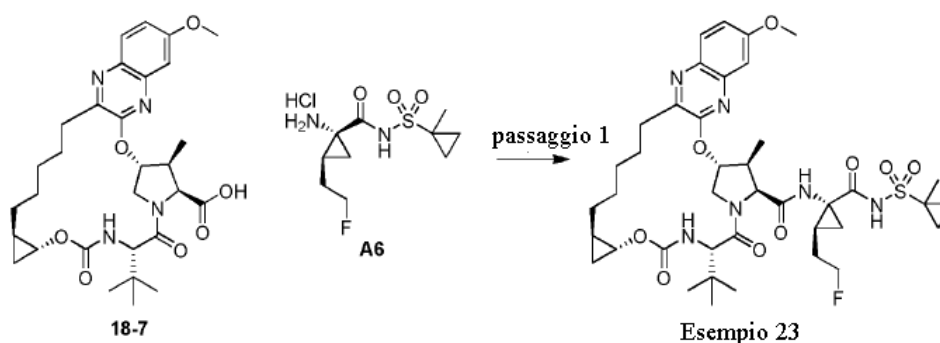
Esempio 22. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2S)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(2-fluoroetil)ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di Esempio 22: Ad una sospensione di acido **18-7** (30,1 mg, 0,0529 mmoli) e Intermedio **A5** (35 mg, 0,12 mmoli) in MeCN (0,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (85 µL, 0,49 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (34,5 mg, 0,0907 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 90 min ed è stata diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (20 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato sciolto in CH₂Cl₂ e adsorbita su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 55% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **22** come un solido amorfo bianco (35,5 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,54 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₄FN₆O₉S: 801,4; osservato: 801,3. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,95 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,68 (s, 1H), 5,56 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 5,43 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,57 - 4,29 (m,

5H), 4,12 (dd, $J = 11,8, 4,1$ Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,78 - 3,71 (m, 1H), 2,97 - 2,67 (m, 4H), 2,12 - 1,25 (m, 14H), 1,15 (d, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,10 (s, 9H), 1,06 - 0,89 (m, 4H), 0,76 - 0,62 (m, 1H), 0,53 - 0,42 (m, 1H).

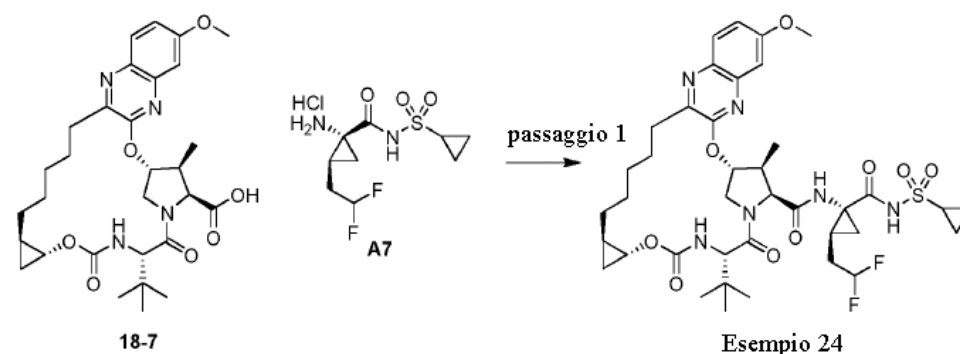
Esempio 23. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2S)-2-(2-fluoroetil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **Esempio 23**: Ad una sospensione di acido **18-7** (30,5 mg, 0,0536 mmoli) e Intermedio **A6** (24,8 mg, 0,0824 mmoli) in MeCN (0,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (60 μ L, 0,34 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (32,3 mg, 0,0850 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 75 min e un'altra porzione di Intermedio **A6** (9 mg, 0,03 mmoli) è stata aggiunta. Dopo altre 75 min la reazione è stata diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (20 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na_2SO_4 , filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato sciolto in CH_2Cl_2 e adsorbito su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 55% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire **Esempio 23** come un solido amorfo bianco (37,1 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,64 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{FN}_6\text{O}_9\text{S}$: 815,4; osservato: 815,6. ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,63 (s, 1H), 7,83 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,20 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,75 (s, 1H), 5,56 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 5,50 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,56 - 4,34 (m, 5H), 4,13 (dd, $J = 11,8, 4,2$ Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,82 - 3,75 (m, 1H), 2,98 - 2,70 (m, 4H), 2,07 - 2,00 (m, 1H), 2,00 - 1,93

(m, 1H), 1,88 - 1,44 (m, 12H), 1,32-1,26 (m, 1H), 1,17 (d, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,12 (d, $J = 10,6$ Hz, 9H), 1,07 - 0,83 (m, 4H), 0,81 - 0,65 (m, 2H), 0,52 - 0,44 (m, 1H).

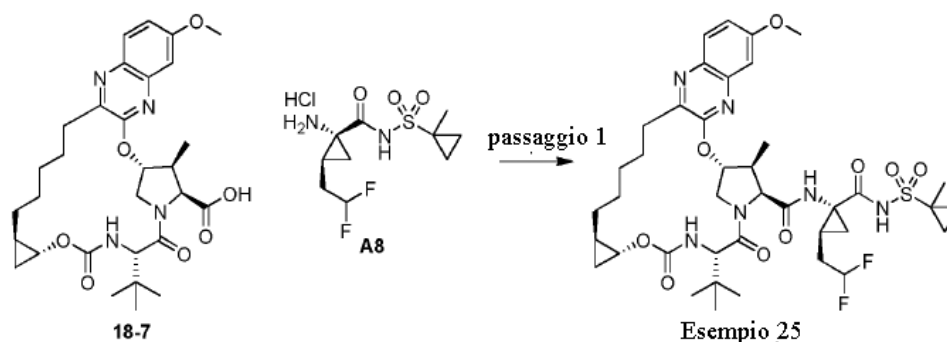
Esempio **24**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2S)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(2,2-difluoroetil)ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di Esempio **24**: Ad una sospensione di acido **18-7** (30,2 mg, 0,0531 mmoli) e Intermedio **A7** (25,9 mg, 0,0850 mmoli) in MeCN (0,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (60 μ L, 0,34 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (32 mg, 0,084 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 75 min e un'altra porzione di Intermedio **A7** (3,0 mg, 0,0098 mmoli) è stata aggiunta. Dopo altri 30 min la reazione è stata diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (20 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na_2SO_4 , filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato sciolto in CH_2Cl_2 e adsorbita su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 55% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **24** come un solido amorfo bianco (35,5 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,62 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$: 819,4; osservato: 819,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,99 (s, 1H), 7,82 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,19 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,08 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,69 (s, 1H), 5,99 - 5,64 (m, 1H), 5,56 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 5,40 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,47 - 4,39 (m, 3H), 4,14 - 4,08 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,78 - 3,72 (m, 1H), 2,96 - 2,67 (m, 4H), 2,29-2,16 (m, 2H),

1,83-1,24 (m, 12H), 1,15 (d, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,05 - 0,82 (m, 4H), 0,74 - 0,63 (m, 1H), 0,53 - 0,42 (m, 1H).

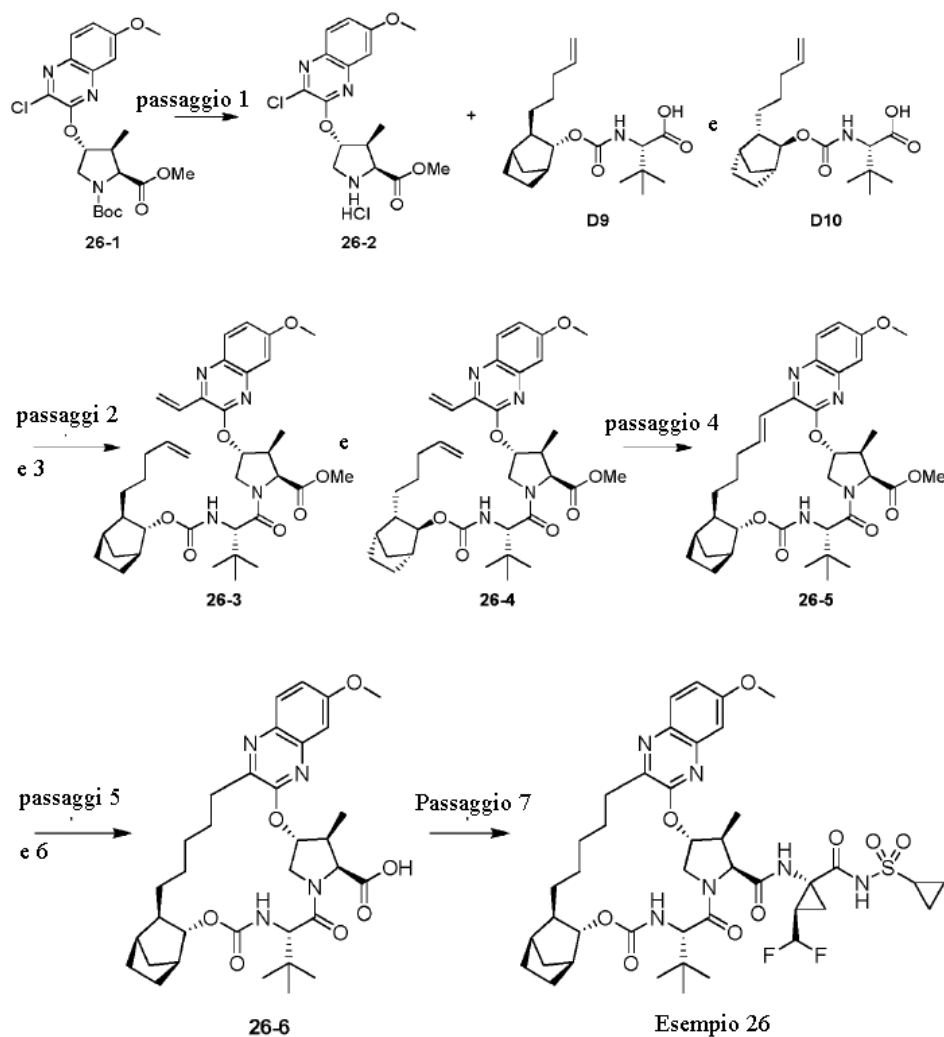
Esempio 25. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2S)-2-(2,2-difluoroetil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **Esempio 25**: Ad una sospensione di acido **18-7** (30,3 mg, 0,0532 mmoli) e Intermedio **A8** (28,3 mg, 0,0887 mmoli) in MeCN (0,5 mL) è stato aggiunto DIPEA (60 μ L, 0,34 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (32,4 mg, 0,0852 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 2,5 h ed è stata diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (20 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na_2SO_4 , filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato sciolto in CH_2Cl_2 e adsorbito su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 55% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire **Esempio 25** come un solido amorfo bianco (33,9 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,66 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{46}\text{H}_{53}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$: 833,4; osservato: 833,4. ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,62 (s, 1H), 7,82 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,18 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,08 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,04 - 5,66 (m, 1H), 5,54 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 5,47 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,50 - 4,38 (m, 3H), 4,11 (dd, $J = 11,8, 4,2$ Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,82 - 3,71 (m, 1H), 2,98 - 2,68 (m, 4H), 2,27 - 2,11

(m, 2H), 1,96 - 1,41 (m, 12H), 1,32 (dd, $J = 9,6, 5,4$ Hz, 1H), 1,15 (d, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,10 (s, 9H), 1,05 - 0,64 (m, 6H), 0,51 - 0,42 (m, 1H).

Esempio 26. Preparazione di (1R,4S,4aR,8S,11S,12S,13R,25aR)-8-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-17-metossi-12-metil-6,9-diosso-2,3,4,4a,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25a-esadecaidro-1H,11H-1,4:10,13-dimetanochinossalino[2,3-k][1,10,3,6]benzodiossadiazacilonadecin-11-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **26-2**: Ad una soluzione di **26-1** (311 mg, 0,710 mmoli; preparato in maniera simile a **18-1** di Esempio **18** sostituendo Intermedio **B2** a Intermedio **B1** in passaggio 1) in diossano (1,8 mL) è stato aggiunto 4 M HCl in diossano (1,8 mL, 7,2 mmoli). La reazione è stata agitata per 15,5 h a rt ed è stata poi concentrata a pressione ridotta per dare **26-2** come un solido amorfo bianco che è stato usato senza ulteriore purificazione nel seguente passaggio. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₆H₁₉ClN₃O₄: 352,1; osservato: 352,2.

Passaggi 2 e 3. Preparazione di miscela di diastereomeri **26-3** e **26-4**: Ammina cloridrato **26-2** (0,710 mmoli) è stato sciolto insieme a miscela 1:1 di miscela di intermedi **D9** e **D10** (266 mg, 0,788 mmoli) e DIPEA (600 µL, 3,4 mmoli) in DMF (4,5 mL), HATU (360 mg, 0,95 mmoli) è stato aggiunto in una porzione. La reazione è stata agitata 1,75 h a rt ed è stata diluita con NaHCO₃ acquoso saturo (20 mL), acqua (10 mL) e EtOAc (30 mL). Le fasi sono state separate e la fase organica è stata lavata due volte con una miscela di acqua (30 mL) e salamoia (5 mL). La fase organica è stata seccata su Na₂SO₄ anidro, filtrata e concentrata a un residuo grezzo che è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc in esani) per fornire un residuo incolore (380 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₈ClN₄O₇: 671,3; osservato: 671,6). Una miscela eterogenea agitata di questo residuo, PdCl₂(dppf)•CH₂Cl₂ (35 mg, 0,043 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (156 mg, 1,16 mmoli) in EtOH (7 mL) è stata fatta gorgogliare con argon per diversi minuti. Trietilammina (170 µL, 1,2 mmoli) è stata aggiunta e la miscela è stata riscaldata a 70 °C per 55 min. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, diluita con EtOAc (40 mL), e lavata con acqua (30 mL). Gli estratti organici sono stati seccati su Na₂SO₄ anidro, filtrati e concentrati per dare un residuo che è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 30% EtOAc in esani) per dare miscela di diastereomeri **26-3** e **26-4** come un residuo giallo (277 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₁N₄O₇: 663,4; osservato: 663,3.

Passaggio 4. Preparazione di **26-5**: Miscela diastereomerica **26-3** e **26-4** (277 mg, 0,419 mmoli) è stata sciolta in DCE (140 mL) e la soluzione è stata irrorata con Ar per 15 min, catalizzatore Zhan 1B (37 mg, 0,050 mmoli, Strem) è stato aggiunto e la risultante soluzione è stata agitata a 85 °C sotto Ar per 1,5 h. La miscela di reazione è stata poi concentrata e purificata mediante cromatografia su gel di silice (20% fino a 50% EtOAc in esani) per

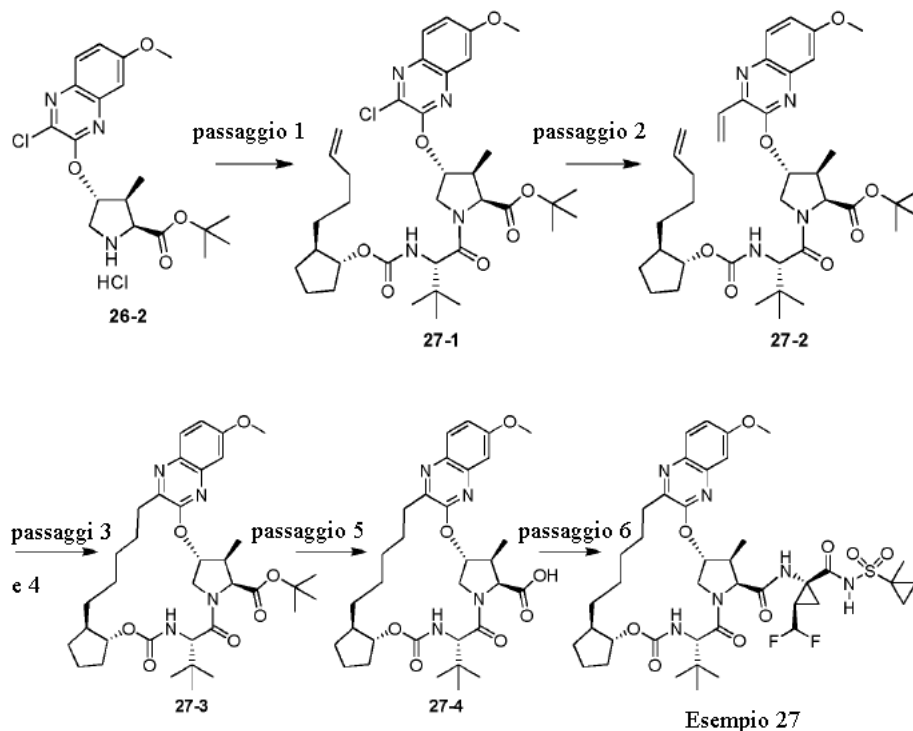
dare **26-5** come un residuo amorfo (105 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₅H₄₇N₄O₇: 635,3; osservato: 635,3.

Passaggi 5 e 6. Preparazione di **26-6**: Ad una soluzione di **26-5** (105 mg, 0,165 mmoli) in 1:1 EtOAc:EtOH (4 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 43 mg). Il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con H₂ ed è stato agitato a rt sotto 1 atm H₂ per 1 h. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso un pannello di Celite e concentrata per dare un residuo grezzo (106 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₅H₄₉N₄O₇: 637,4; osservato: 637,3). Questo residuo è stato poi sciolto in THF (0,8 mL), MeOH (0,4 mL), acqua (0,4 mL) e LiOH•H₂O (67 mg, 1,6 mmoli) sono stati aggiunti e la miscela è stata agitata a 45 °C per 14,5 h. La reazione è stata spenta a gocce con 1 N HCl acquoso (1,3 mL) ed è stata diluita con CH₂Cl₂ (30 mL) e 1 N HCl acquoso (20 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con CH₂Cl₂ (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata per dare **26-6** come un residuo (93,8 mg) che è stato usato direttamente in Passaggio 7. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₄H₄₇N₄O₇: 623,3; osservato: 623,3.

Passaggio 7. Preparazione di Esempio **26**: Ad una sospensione di acido **26-6** (93,8 mg, 0,151 mmoli) e Intermedio **A9** (58 mg, 0,20 mmoli) in MeCN è stato aggiunto DIPEA (120 µL, 0,69 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (73,5 mg, 0,193 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 100 min e un'altra porzione di Intermedio **A9** (6 mg, 0,02 mmoli) è stata aggiunta. Dopo altri 30 min, altro Intermedio **A9** (9 mg, 0,03 mmoli), HATU (9 mg, 0,02 mmoli) e DIPEA (10 µL, 0,06 mmoli) sono stati aggiunti. La reazione è stata agitata per altre 50 min ed è stata diluita con EtOAc (25 mL), 0,2 M HCl acquoso (20 mL) e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (25 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (25% fino a 40% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **26** come un solido amorfo bianco (113 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,19 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₄₂H₅₇F₂N₆O₉S: 859,4; osservato: 859,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,02 (s, 1H), 7,80 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,21 - 7,15 (m, 2H), 7,07 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,13 - 5,79 (m, 1H), 5,63 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 5,50 - 5,45 (m, 1H), 4,51 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 4,44 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,25 (s,

1H), 4,18-4,12 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,02 - 2,77 (m, 3H), 2,66 - 2,57 (m, 1H), 2,18 - 0,90 (m, 36H).

Esempio 27. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-16-metossi-11-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **27-1**: Ammina cloridrato **26-2** (217 mg, 0,504 mmoli), è stato trattato con BEP (207 mg, 0,756 mmoli), Intermedio **D5** (283 mg, 0,909 mmoli), EtOAc (9 mL), NMP (1 mL) e DIPEA (0,44 mL, 2,5 mmoli), poi riscaldato a 50 °C. Dopo 1,5 h, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc. La soluzione organica è stata lavata in successione con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (9% fino a 40% EtOAc/Es) per dare ammido **27-1** (235 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₂ClN₄O₇: 687,35; osservato: 688,13.

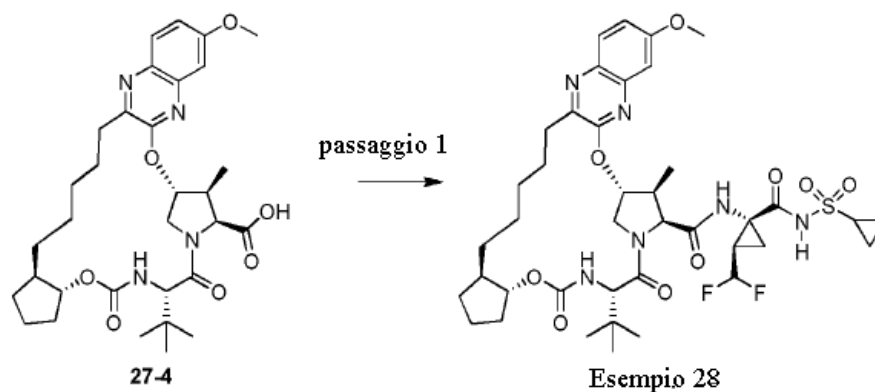
Passaggio 2. Preparazione di **27-2**: Ammide **27-1** (235 mg, 0,342 mmoli) è stata trattata con potassio viniltrifluoroborato (69 mg, 0,513 mmoli), Pd(dppf)Cl₂•DCM (28 mg, 0,0342 mmoli), EtOH (3,4 mL) e TEA (0,072 mL, 0,513 mmoli), poi riscaldata a refluxo. Dopo 50 min, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc e lavata con H₂O e salamoia. Gli estratti organici sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (9% fino a 40% EtOAc/Es) per dare vinil chinossalina **27-2** (219 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₅N₄O₇: 679,41; osservato: 679,49.

Passaggi 3 e 4. Preparazione di **27-3**: Vinil chinossalina **27-2** (219 mg, 0,323 mmoli) è stata sospesa in DCE (65 mL) e trattata con catalizzatore Zhan 1B (41 mg, 0,065 mmoli, Strem). La sospensione è stata deossigenata con gorgogliamento di N₂ per 17 min, poi riscaldata a refluxo per 90 min. La miscela di reazione è stata poi filtrata su Celite e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 50% EtOAc/Es) per dare il macrociclo desiderato (165 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,38; osservato: 651,40). Il prodotto macrociclico di passaggio 3 è stato sciolto in EtOH (10 mL) e EtOAc (2 mL) e trattato con 10% in peso Pd/C (95 mg). Idrogeno da un palloncino è stato fatto gorgogliare attraverso la sospensione per 1 min e la miscela è stata agitata sotto H₂ (1 atm) per altre 1,5 h. La miscela di reazione è stata filtrata su Celite e concentrata a pressione ridotta per dare il macrociclo desiderato **27-3** che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₃N₄O₇: 653,39; osservato: 653,32.

Passaggio 5. Preparazione di **27-4**: Il prodotto grezzo di passaggio 4 è stato sciolto in DCM e trattato con TMSOTf (0,23 mL, 1,3 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 1 h 15 min, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta. Il residuo è stato risolto in DCM e aggiunto mediante pipetta ad un imbuto separatore contenente 1 M NaOH acquoso. La miscela è stata agitata per 1 min, poi acidificata a pH 1-2 con 10% HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con DCM e gli estratti organici combinati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare acido carbossilico **27-4** (119 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₅N₄O₇: 597,33; osservato: 597,40.

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **27**: Acido carbossilico **27-4** (105 mg, 0,177 mmoli) e Intermedio **A10** (65 mg, 0,212 mmoli) sono stati trattati con TBTU (68 mg, 0,212 mmoli), DMAP (26 mg, 0,212 mmoli), DCM (1,8 mL) e DIPEA (0,31 mL, 1,8 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 30 min, poi altra ammina **A10** (40 mg, 0,131 mmoli) è stata aggiunta e la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso. Dopo altre 1,25 h, la miscela è stata concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante HPLC per dare Esempio **27** (80 mg) in circa 90% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,06 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,39; osservato: 847,69. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,23 (s, 1H), 7,87 - 7,72 (m, 1H), 7,31 - 7,14 (m, 2H), 5,84 (td, *J* = 55,6, 6,5 Hz, 1H), 5,58 (d, *J* = 22,6 Hz, 1H), 4,94 - 4,81 (m, 1H), 4,37 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H), 4,29 - 4,10 (m, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,01 (ddd, *J* = 15,1, 9,9, 5,3 Hz, 1H), 2,84 (p, *J* = 7,4 Hz, 1H), 2,75 (ddd, *J* = 13,3, 10,2, 6,0 Hz, 1H), 2,03 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 1,97 - 1,74 (m, 4H), 1,73 - 1,55 (m, 6H), 1,53 (s, 3H), 1,48 - 1,21 (m, 8H), 1,19 - 1,02 (m, 14H), 0,99 - 0,80 (m, 2H).

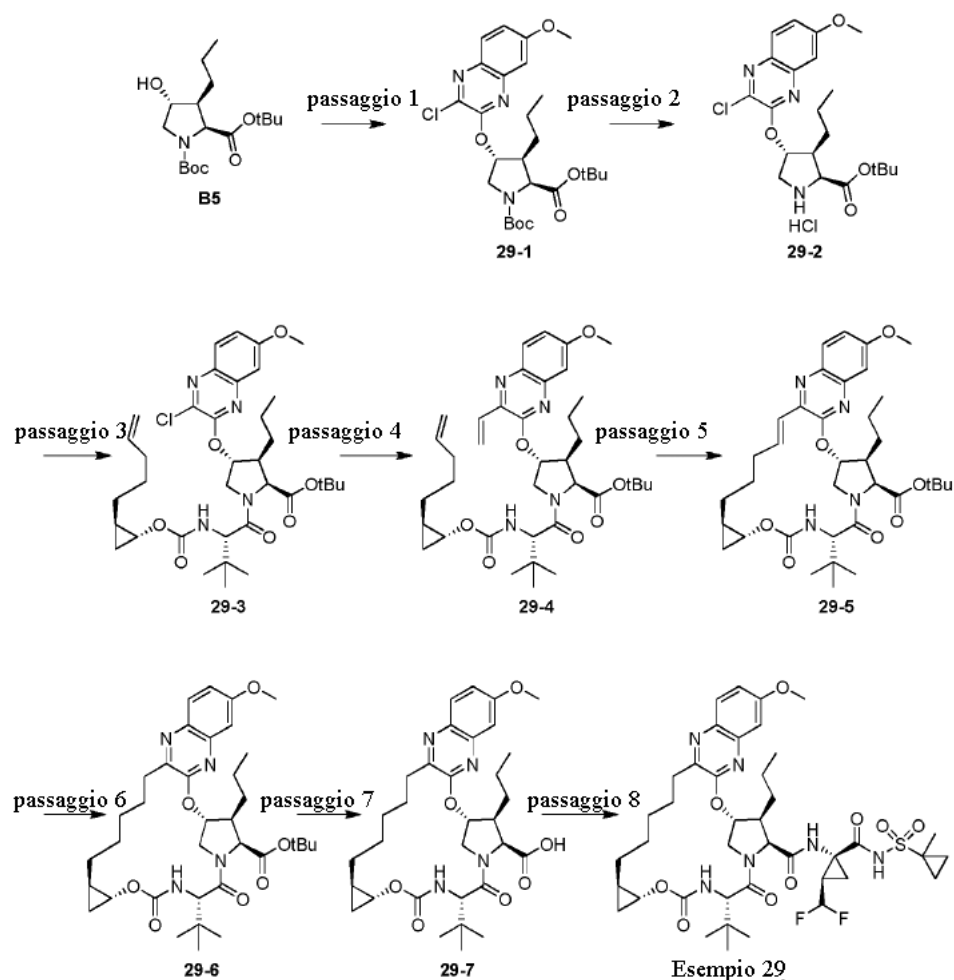
Esempio **28**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-16-metossi-11-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Passaggio 1. Acido carbossilico **27-4** (20 mg, 0,034 mmoli) e Intermedio **A9** (35 mg, 0,12 mmoli) sono stati trattati con TBTU (22 mg, 0,067 mmoli), DMAP (8 mg, 0,07 mmoli), DCM (1 mL) e DIPEA (0,117 mL, 0,674

mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 15 h, poi concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante HPLC per dare Esempio **28** (22 mg) in circa 90% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,90 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₅F₂N₆O₉S: 833,37; osservato: 833,61. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,23 (s, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,34 - 7,10 (m, 2H), 5,86 (td, *J* = 55,8, 6,5 Hz, 1H), 5,61 (s, 1H), 4,54 (t, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,36 (d, *J* = 16,5 Hz, 1H), 4,28 - 4,07 (m, 2H), 3,95 (d, *J* = 17,8 Hz, 3H), 3,08 - 2,91 (m, 2H), 2,90 - 2,79 (m, 1H), 2,73 (ddd, *J* = 13,3, 10,3, 6,0 Hz, 1H), 2,04 (s, 2H), 1,97 - 1,74 (m, 4H), 1,64 (ddd, *J* = 18,7, 11,6, 4,0 Hz, 4H), 1,49 - 1,19 (m, 11H), 1,18 - 0,94 (m, 14H), 0,94 - 0,80 (m, 1H).

Esempio **29**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-3,6-diosso-9-propil-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **29-1**: Ad una soluzione di Intermedio B5 (188 mg, 0,57 mmoli) e Intermedio **E1** (233 mg, 0,86 mmoli) in MeCN (2,85 mL) è stato aggiunto cesio carbonato (280 mg, 9,18 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 19 h, la miscela di reazione è stata poi filtrata attraverso un pannello di Celite e il filtrato concentrato sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare chinossalina sostituita **29-1** (240 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₆H₃₇ClN₃O₆: 522,2; osservato: 522,3.

Passaggio 2. Preparazione di **29-2**: Ad una soluzione **29-1** (240 mg, 0,46 mmoli) in diossano (1 mL) è stato aggiunto 4 M acido cloridrico in diossano (4 mL, 1 mmoli) e la reazione agitata a rt. Dopo 15 h, la miscela di reazione è stata concentrata *sotto vuoto* per dare ammina cloridrato **29-2** (200 mg) come un solido biancastro,

che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₁H₂₉ClN₃O₄: 422,2; osservato: 422,2.

Passaggio 3. Preparazione di **29-3**: Ad una soluzione di **29-2** (200 mg, 0,46 mmoli) e Intermedio **D1** (170 mg, 0,51 mmoli) in MeCN (2,3 mL) è stato aggiunto HATU (192 mg, 0,51 mmoli) seguito da DIPEA (400 µL, 2,30 mmoli) a rt sotto e atmosfera di argon. Dopo 1,5 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare ammido **29-3** (67 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₂ClN₄O₇: 687,3; osservato: 687,5.

Passaggio 4. Preparazione di **29-4**: Ad una soluzione di **29-3** (67 mg, 98 µmoli), TEA (20 µL, 150 µmoli) e potassio viniltrifluoroborato (19,7 mg, 150 µmoli) in EtOH (500 µL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (8 mg, 9,8 µmoli). La miscela di reazione è stata deossigenata con argon per 10 min ed è stata riscaldata a 78 °C. Dopo 40 min, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare vinil chinossalina **29-4** (40,2 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₅N₄O₇: 679,4; osservato: 679,6.

Passaggio 5. Preparazione di **29-5**: Ad una soluzione di **29-4** (40 mg, 59 µmoli) in DCE (11,8 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (4 mg, 6 µmoli, Strem) e la miscela di reazione è stata degassata per 10 minuti con argon. La miscela di reazione è stata poi riscaldata a 100 °C. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare macrociclo **29-5** (31 mg) come un olio giallo chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,4; osservato: 651,5.

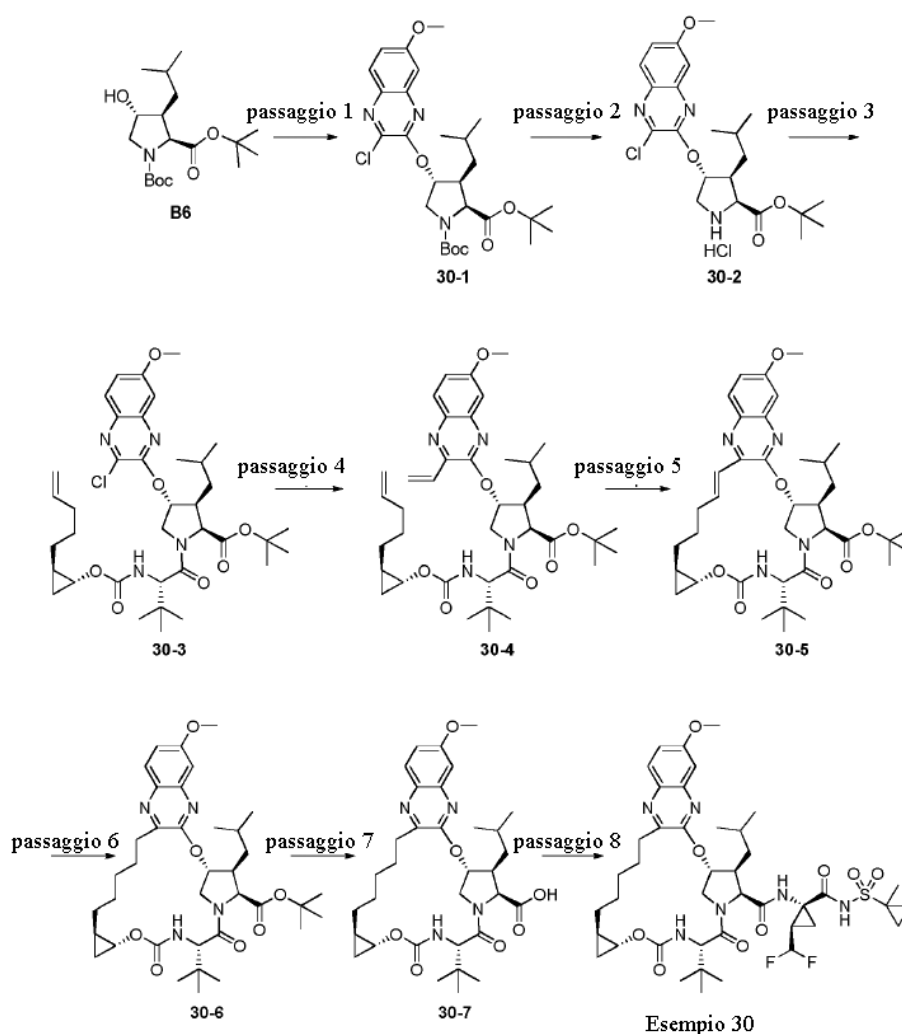
Passaggio 6. Preparazione di **29-6**: Ad una soluzione di macrociclo **29-5** (31 mg, 47 µmoli) in etanolo (500 µL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso, 5 mg, 5 µmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Il recipiente di reazione è stato evacuato e riempito con 1 atm di idrogeno gassoso (3 ×) e la miscela di reazione è stata agitata vigorosamente a rt. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (10 mL) ed è stata filtrata

attraverso un pannello di Celite con lavaggi di etil acetato (3×5 mL). Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare macrociclo **29-6** (31 mg), che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₃N₄O₇: 653,4; osservato: 653,5.

Passaggio 7. Preparazione di **29-7**: Ad una soluzione di **29-6** (31 mg, 47 μmoli) in DCM (0,5 mL) è stato aggiunto TMSOTf (44 μL, 0,25 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 25 min, la miscela di reazione è stata concentrata *sotto vuoto* ed è stata seccata come azeotropo da toluene (2×2 mL) per dare acido carbossilico **29-7** (35 mg) come un olio giallo, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₅N₄O₇: 597,3; osservato: 597,4.

Passaggio 8. Preparazione di Esempio **29**: Ad una soluzione di **29-7** (35 mg, 49 μmoli) e Intermedio **A10** (22 mg, 74 μmoli) in MeCN (245 μL) è stato aggiunto HATU (28 mg, 74 μmoli) seguito da DIPEA (43 μL, 250 μmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 3 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, è stata purificata mediante HPLC preparativa (colonna Gemini 5u C18 110A, 5-100% MeCN/H₂O, modificatore 0,1% di acido trifluoroacetico) ed è stata liofilizzata per dare Esempio **29** (22,3 mg) come una polvere bianca sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,81 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₆F₂N₆O₉S: 847,4; osservato: 847,5. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,83 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,93 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,97 (td, *J*_{H-F} = 55 Hz, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,84 (s largo, 1H), 5,41 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,66 - 4,34 (m, 3H), 4,13 (app d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,08 (s, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,78 - 3,71 (m, 1H), 3,09 - 2,65 (m, 5H), 2,14 - 2,04 (m, 1H), 1,87 - 1,34 (m, 8H), 1,52 (s, 3H), 1,12 (s, 9H), 1,08 - 0,84 (m, 10H), 0,76 - 0,62 (m, 1H), 0,50 (dd, *J* = 12,6, 6,6 Hz, 1H).

Esempio **30**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-9-(2-metilpropil)-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **30-1**: Una miscela di Intermedio **B6** (139 mg, 0,405 mmoli), Intermedio **E1** (170 mg, 0,625 mmoli), e cesio carbonato (203 mg, 0,623 mmoli) in 3,3 mL di acetonitrile è stata agitata a temperatura ambiente sotto argon durante la notte. La miscela di reazione è stata filtrata su Celite, lavando con etil acetato, e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **30-1** (170 mg) come una pellicola trasparente. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₇H₃₉ClN₃O₆: 536,24; osservato: 536,31.

Passaggio 2. Preparazione di **30-2**: Una soluzione di cloruro di idrogeno in diossano (4,0 M, 0,16 mL, 0,64 mmoli) è stata aggiunta ad una soluzione di **30-1** (168 mg, 0,314 mmoli) in 3,3 mL di diossano a temperatura

ambiente. Dopo trenta minuti, altri 4 equivalenti di HCl sono stati aggiunti e la miscela è stata agitata durante la notte. Altri 25 equivalenti di HCl sono stati poi aggiunti. Dopo trenta minuti, sono stati aggiunti altri 19 equivalenti di HCl. Dopo un'ora, sono stati aggiunti altri 29 equivalenti di HCl. Dopo trenta minuti, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta per dare **30-2** (148 mg, 85% di purezza), che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₂H₃₁ClN₃O₄: 436,19; osservato: 436,25.

Passaggio 3. Preparazione di **30-3**: HATU (144 mg, 0,379 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,28 mL, 1,58 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **30-2** (148 mg, 0,315 mmoli) e Intermedio **D1** (99 mg, 0,348 mmoli) in 3,5 mL di DMF sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata versata in acqua e estratta con etil acetato (3 x). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate (MgSO₄), filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) per dare **30-3** (136 mg) come un solido bianco. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₄ClN₄O₇: 701,36; osservato: 701,47.

Passaggio 4. Preparazione di **30-4**: Pd(dppf)₂Cl₂•CH₂Cl₂ (35 mg, 0,043 mmoli) è stato aggiunto a una miscela degassata di **30-3** (135 mg, 0,193 mmoli), potassio viniltrifluoroborato (41 mg, 0,306 mmoli), e trietilammina (0,040 mL, 0,289 mmoli) in 2,1 mL di etanolo a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata riscaldata a 78 °C sotto argon per 45 minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata versata in acqua e estratta con etil acetato (tre volte). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate (MgSO₄), filtrate, e concentrate a pressione ridotta per dare **30-4** (133 mg), che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₇N₄O₇: 693,41; osservato: 693,48.

Passaggio 5. Preparazione di **30-5**: Una miscela di **30-4** (133 mg, 0,192 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (16 mg, 0,022 mmoli, Strem) in 38 mL di DCE è stata deossigenata sotto argon per 25 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a 95 °C per 50 minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-

50% etil acetato in esani) per dare **30-5** (70 mg) come una pellicola gialla chiara. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₃N₄O₇: 665,38; osservato: 665,50.

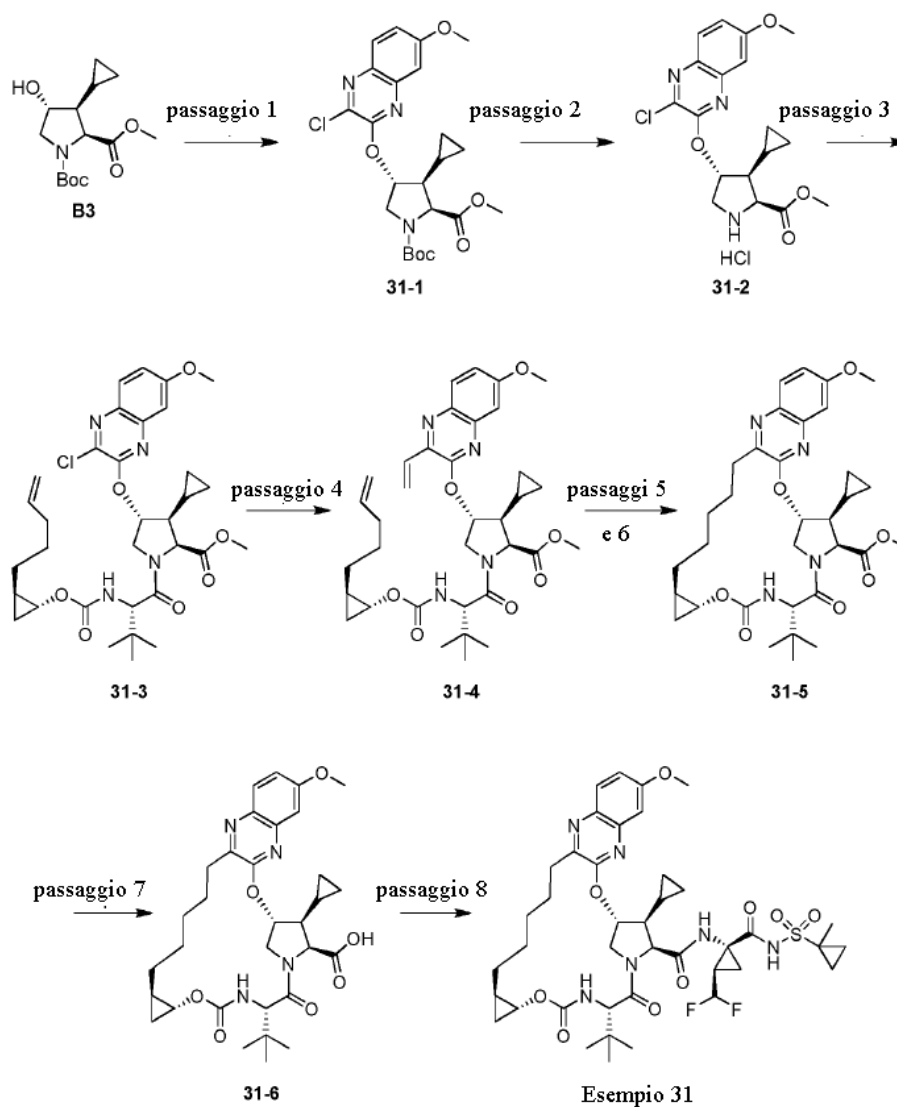
Passaggio 6. Preparazione di **30-6**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 22 mg, 0,0208 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **30-5** (69 mg, 0,104 mmoli) in 3 mL di etanolo. La miscela è stata poi agitata sotto un'atmosfera di idrogeno per 1 ora e poi è stata filtrata su Celite, lavando con etil acetato. Il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta per dare **30-6** (64 mg) come una pellicola solida gialla-marrone chiara, che è stata usata nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₅N₄O₇: 667,40; osservato: 667,43.

Passaggio 7. Preparazione di **30-7**: TMSOTf (0,050 mL, 0,274 mmoli) è stato aggiunto a gocce ad una soluzione di **30-6** (30 mg, 0,045 mmoli) in 1,2 mL di diclorometano sotto argon a temperatura ambiente. Dopo 45 minuti, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta. La risultante pellicola è stata ripresa in 5 mL di toluene e concentrata a pressione ridotta. Questo procedimento è stato ripetuto una seconda volta per dare **30-7** (27 mg), che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₇N₄O₇: 611,34; osservato: 611,41.

Passaggio 8. Preparazione di Esempio **30**: HATU (28 mg, 0,074 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,050 mL, 0,281 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **30-7** (27 mg, 0,045 mmoli) e Intermedio **A10** (22 mg, 0,072 mmoli) in 2,2 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata versata in acqua e estratta con etil acetato (3 x). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate (MgSO₄), filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase inversa (15-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare il sale di acido trifluoroacetico di Esempio **30** (18 mg) come un solido giallo chiaro, dopo liofilizzazione. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,96 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₉F₂N₆O₉S: 861,40; osservato: 861,30. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,17 (s, 1H), 7,80 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,23 (dd, J = 8,8, 2,8 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,81 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 7,6 Hz, 1H); 5,77 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,39 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 4,16

(dd, J = 11,8, 4 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,79-3,71 (m, 1H), 2,98-2,90 (m, 1H), 2,84 (dd, J = 12,6, 4,8 Hz, 1H), 2,79-2,72 (m, 1H), 2,06-1,91 (m, 3H), 1,77 (m, 3H), 1,64-1,44 (m, 6H), 1,51 (s, 3H), 1,44-1,32 (m, 3H), 1,15-1,07 (m, 1H), 1,10 (s, 9H), 1,06-0,96 (m, 3H), 1,04-1,01 (m, 6H), 0,93-0,89 (m, 2H), 0,79-0,68 (m, 1H), 0,52-0,47 (m, 1H).

Esempio **31**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-9-ciclopropil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **31-1**: Un campione non purificato di Intermedio **B3** è stato trattato con Intermedio **E1** (217 mg, 0,797 mmoli), MeCN (5,7 mL) e Cs₂CO₃ (371 mg, 1,14 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 17 h, la miscela di reazione è stata filtrata su Celite e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (20% fino a 40% EtOAc/Es) per dare chinossalina **31-1** (143 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-Boc+2H]⁺ calc. per C₁₈H₂₁ClN₃O₄: 378,12; osservato: 378,59.

Passaggio 2. Preparazione di **31-2**: Chinossalina **31-1** (143 mg, 0,299 mmoli) è stata sciolta in DCM (10 mL) e trattata con HCl (4,0 M in diossano, 5 mL, 20,0 mmoli). Dopo aver agitato per 2 h a rt, la miscela di reazione è stata concentrata e il grezzo **31-2** è stato portato avanti senza ulteriore purificazione.

Passaggio 3. Preparazione di **31-3**: Il grezzo di ammina cloridrato **31-2** è stato trattato con BEP (115 mg, 0,419 mmoli), Intermedio **D1** (120 mg, 0,423 mmoli), EtOAc (9 mL), NMP (1 mL) e DIPEA (0,37 mL, 2,1 mmoli), poi riscaldato a 50 °C. Dopo 1,5 h, la miscela di reazione è stata diluita con Et₂O. La soluzione organica è stata lavata in successione con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 30% EtOAc/Es) per dare ammido **31-3** (166 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₄ClN₄O₇: 643,29; osservato: 643,48.

Passaggio 4. Preparazione di **31-4**: Ammido **31-3** (166 mg, 0,258 mmoli) è stata trattata con potassio viniltrifluoroborato (52 mg, 0,387 mmoli), Pd(dppf)Cl₂•DCM (21 mg, 0,0258 mmoli), EtOH (2,6 mL) e TEA (0,054 mL), poi riscaldata a riflusso. Dopo 50 min, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc e lavata con H₂O e salamoia. Gli estratti organici sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 40% EtOAc/Es) per dare vinil chinossalina **31-4** (145 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₇N₄O₇: 635,34; osservato: 635,58.

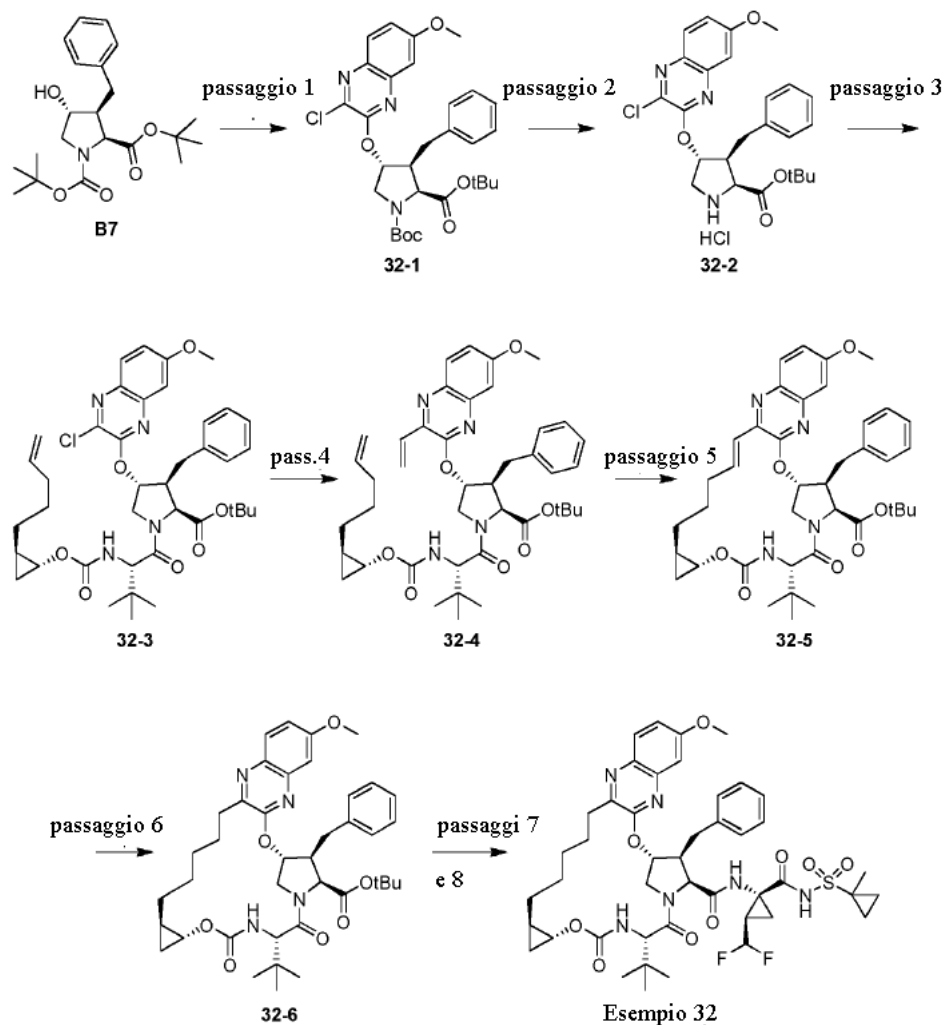
Passaggi 5 e 6. Preparazione di **31-5**: Vinil chinossalina **31-4** (145 mg, 0,228 mmoli) è stata sospesa in DCE (46 mL) e trattata con catalizzatore Zhan 1B (33 mg, 0,0456 mmoli, Strem). La sospensione è stata deossigenata con gorgogliamento N₂ per 22 min, poi riscaldata a riflusso per 50 min. La miscela di reazione è stata poi filtrata su Celite e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (25% fino a 35% EtOAc/Es) per dare il macrociclo desiderato (54 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M +H]⁺ calc. per C₃₃H₄₃N₄O₇: 607,31; osservato: 607,67). Il prodotto macrociclico di passaggio 5 è stato sciolto in EtOH (10 mL) e trattato con 10% Pd/C (45 mg). Idrogeno da un palloncino è stato fatto gorgogliare attraverso la sospensione per 1 min e l'idrogenazione (1 atm) è stata proseguita per altre 1,5 h. La miscela di reazione è stata filtrata su Celite e concentrata a pressione ridotta per dare il macrociclo desiderato **31-5** che è stato portato avanti

senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₅N₄O₇: 609,33; osservato: 609,95.

Passaggio 7. Preparazione di **31-6**: Il prodotto grezzo **31-5** è stato sciolto in THF e trattato con LiOH (1,0 M in H₂O, 5 mL, 5 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 3 d, la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso per 20 h. La miscela è stata poi versata in H₂O e acidificata a pH 1-2 con 10% HCl. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con DCM. Gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (80% fino a 100% EtOAc/Es) per dare acido carbossilico **31-6** (24 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M +H]⁺ calc. per C₃₂H₄₃N₄O₇: 595,31; osservato: 595,12.

Passaggio 8. Preparazione di Esempio **31**: Carbossilico **31-6** (24 mg, 0,040 mmoli) e Intermedio **A10** (25 mg, 0,081 mmoli) sono stati trattati con TBTU (23 mg, 0,081 mmoli), DMAP (10 mg, 0,081 mmoli), DCM (2 mL) e DIPEA (0,070 mL, 0,40 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 15 h poi concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante HPLC per dare Esempio **31** (13 mg, 34%) in circa 90% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,92 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₂N₆O₉S: 845,37; osservato: 845,67. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,13 (s, 1H), 7,79 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,13 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,05 - 5,65 (m, 2H), 4,55 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,47 (d, *J* = 11,7 Hz, 2H), 4,27 (dd, *J* = 12,0, 3,7 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,78 (dd, *J* = 6,8, 2,8 Hz, 1H), 2,99 - 2,86 (m, 1H), 2,80 (td, *J* = 13,2, 4,1 Hz, 1H), 1,98 (d, *J* = 28,8 Hz, 2H), 1,92 - 1,67 (m, 4H), 1,65 - 1,41 (m, 10H), 1,33 (d, *J* = 27,7 Hz, 3H), 1,20 - 1,06 (m, 9H), 1,04 - 0,84 (m, 6H), 0,82 - 0,62 (m, 3H), 0,61 - 0,41 (m, 2H), 0,06 (dd, *J* = 9,2, 4,9 Hz, 1H).

Esempio **32**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-9-benzil-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **32-1**: Ad una soluzione di Intermedio **B7** (390 mg, 1,00 mmoli) e Intermedio **E1** (272 mg, 1,00 mmoli) in MeCN (5 mL) è stato aggiunto cesio carbonato (390 mg, 1,00 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 24 h, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (50 mL). La risultante miscela è stata lavata con soluzione acquosa saturata di bicarbonato di sodio (50 mL) e salamoia (50 mL), è stata seccata su solfato di sodio anidro, ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare chinossalina **32-1** (550 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₀H₃₇ClN₃O₆: 570,2; osservato: 570,2.

Passaggio 2. Preparazione di **32-2**: Ad una soluzione di **32-1** (549 mg, 0,96 mmoli) in diossano (2 mL) è stato aggiunto 4 M acido cloridrico in diossano (2 mL, 1 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt. Dopo 24 h, la miscela di reazione è stata concentrata *sotto vuoto* per dare ammina cloridrato **32-2** (461 mg) come un solido biancastro, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₅H₂₉ClN₃O₄: 470,2; osservato: 470,2.

Passaggio 3. Preparazione di **32-3**: Ad una soluzione di **32-2** (461 mg, 0,96 mmoli) e Intermedio **D1** (369 mg, 1,10 mmoli) in MeCN (5 mL) è stato aggiunto HATU (418 mg, 1,10 mmoli) seguito da DIPEA (869 µL, 5,00 mmoli) a rt sotto e atmosfera di argon. Dopo 24 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **32-3** (202,6 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₂ClN₄O₇: 735,3; osservato: 735,4.

Passaggio 4. Preparazione di **32-4**: Ad una soluzione di **32-3** (202 mg, 276 µmoli), TEA (56 µL, 414 µmoli) e potassio viniltrifluoroborato (56 mg, 414 µmoli) in EtOH (2,76 mL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (22,5 mg, 27,6 µmoli). La miscela di reazione è stata degassata con argon per 10 min ed è stata riscaldata a 78 °C. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **32-4** (163 mg) come un olio giallo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₅N₄O₇: 727,4; osservato: 727,5.

Passaggio 5. Preparazione di **32-5**: Ad una soluzione di **32-4** (163 mg, 220 µmoli) in DCE (44 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (16 mg, 22 µmoli, Strem) e la miscela di reazione è stata degassata per 10 minuti con argon. La miscela di reazione è stata poi riscaldata a 100 °C. Dopo 45 min, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **32-5** (125 mg) come un olio giallo chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₁N₄O₇: 699,4; osservato: 699,4.

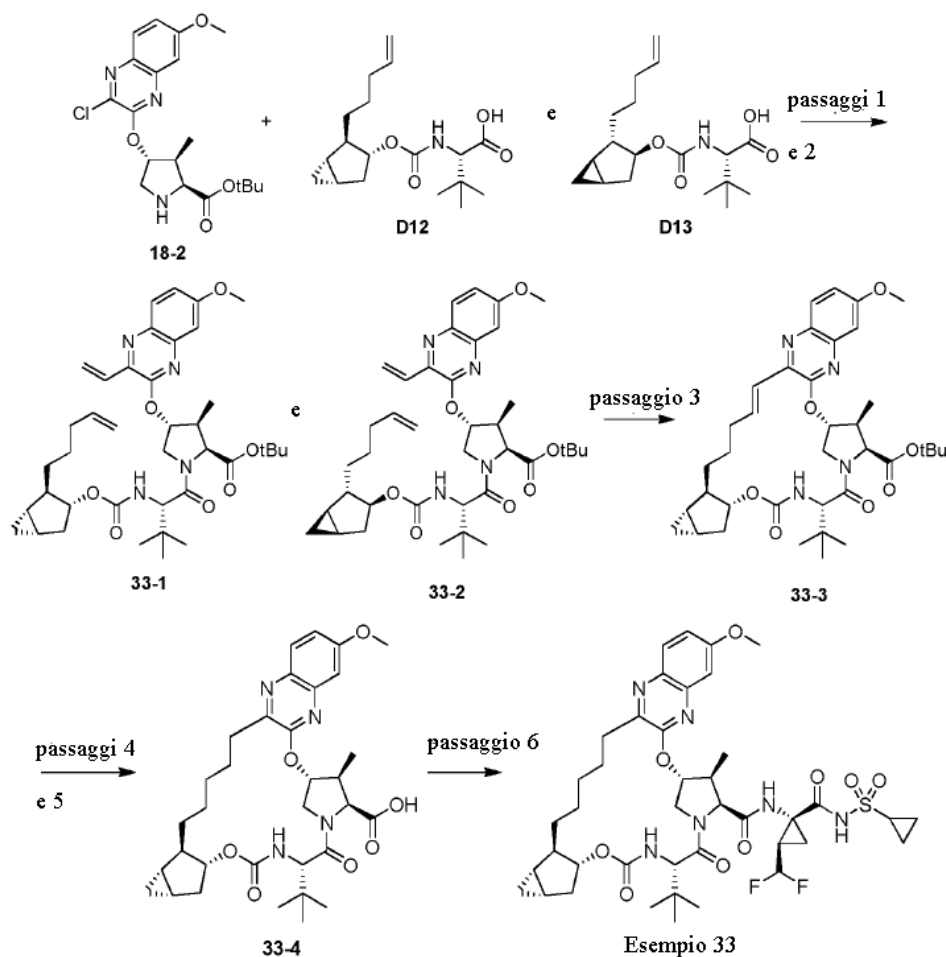
Passaggio 6. Preparazione di **32-6**: Ad una soluzione di macrociclo **32-5** (124 mg, 178 µmoli) in etanolo (890 µL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 19 mg, 18 µmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Il recipiente di

reazione è stato evacuato e riempito con idrogeno gassoso (3 ×) e la miscela di reazione è stata agitata vigorosamente a rt sotto 1 atm H₂. Dopo 2,5 h, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (5 mL) ed è stata filtrata attraverso un pannello di Celite con lavaggi di etil acetato (3 × 5 mL). Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare **32-6** (139 mg), che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃N₄O₇: 701,4; osservato: 701,5.

Passaggi 7 e 8. Preparazione di Esempio **32**: Ad una soluzione di **32-6** (124 mg, 178 μmoli) in DCM (3 mL) è stato aggiunto TFA (2 mL) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 3 h, la miscela di reazione è stata concentrata *sotto vuoto* ed è stata seccata come azeotropo da toluene (2 × 2 mL) per dare l'acido carbossilico desiderato come un olio giallo, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. (126 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₅N₄O₇: 645,3; osservato: 645,4). Ad una soluzione di questo acido carbossilico (120 mg, 178 μmoli) e Intermedio **A10** (119 mg, 392 μmoli) in MeCN (1 mL) è stato aggiunto HATU (151 mg, 392 μmoli) seguito da DIPEA (155 μL, 890 μmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 30 min, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani). Le frazioni contenenti il prodotto desiderato sono state combinate, sono state nuovamente purificate mediante HPLC preparativa (colonna Gemini 5u C18 110Å, 5-100% MeCN/H₂O, modificatore 0,1% di acido trifluoroacetico) e sono state liofilizzate per dare il sale di TFA di Esempio **32** (23 mg) come una polvere bianca. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,81 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₅H₅₇F₂N₆O₉S: 895,4; osservato: 895,6. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,24 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,47 - 7,27 (m, 4H), 7,21 - 7,12 (m, 1H), 6,65 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 5,83 (td, *J*_{H-F} = 55 Hz, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,77 (s largo, 1H), 4,63 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 4,50 - 4,28 (m, 3H), 3,93 (s, 2H), 3,79 - 3,71 (m, 1H), 3,11 - 2,99 (m, 1H), 2,97 - 2,85 (m, 1H), 2,82 - 2,61 (m, 3H), 1,92 (s largo, 2H), 1,82 - 1,70 (m, 2H), 1,63 - 1,44 (m, 4H), 1,52 (s, 3H), 1,15 (s, 9H), 1,04 (s largo, 2H), 1,02 - 0,96 (m, 2H), 0,95 - 0,88 (m, 4H), 0,78 - 0,66 (m, 1H), 0,56 - 0,46 (m, 1H).

Esempio **33**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butyl-N-[(1S,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-15-metossi-10-metil-4,7-diosso-

1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropa[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Passaggi 1 e 2. Preparazione di miscela di diastereomeri **33-1** e **33-2**: Chinossalina **18-2** (220 mg, 0,56 mmoli) è stata sciolta insieme a miscela 1:1 di diastereomeri di intermedi **D12** e **D13** (208 mg, 0,643 mmoli) in MeCN (5 mL), DIPEA (280 μ L, 1,6 mmoli) e HATU (360 mg, 0,95 mmoli) sono stati aggiunti, e la reazione è stata agitata per 1,25 h a rt. La reazione è stata poi diluita con EtOAc (30 mL), NaHCO₃ acquoso saturo (15 mL), H₂O (10 mL), e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica è stata seccata su Na₂SO₄ anidro, filtrata e concentrata a un residuo grezzo che è stato sciolto in

CH₂Cl₂ e adsorbito su gel di silice (5 g). Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc in esani) forniva una schiuma bianca (352 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₂N₄O₇: 699,4; osservato: 699,1). Una miscela eterogenea agitata di questo residuo, PdCl₂(dppf)•CH₂Cl₂ (30,7 mg, 0,0376 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (135 mg, 1,01 mmoli) in EtOH (5 mL) è stata fatta gorgogliare con argon per diversi minuti. Trietilammina (160 µL, 1,1 mmoli) è stata aggiunta e la miscela è stata riscaldata a 75 °C per 1 h. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente ed è stata diluita con EtOAc (30 mL), H₂O (15 mL) e salamoia (15 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). Gli estratti organici sono stati seccati su Na₂SO₄ anidro, filtrata e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato sciolto in CH₂Cl₂ e adsorbito su gel di silice (3 g). Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 40% EtOAc in esani) produceva miscela non separabile di **33-1** e **33-2** come un residuo giallo (258 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₅N₄O₇: 691,4; osservato: 691,7.

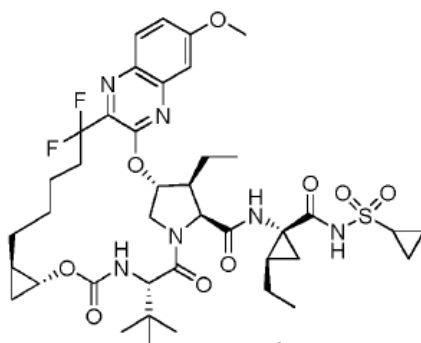
Passaggio 3: Preparazione di **33-3**: Miscela diastereomerica **33-1** e **33-2** (258 mg, 0,373 mmoli) è stata sciolta in DCE (125 mL) e la soluzione è stata irrorata con Ar per 10 min, catalizzatore Zhan 1B (41 mg, 0,056 mmoli, Strem) è stato aggiunto come una soluzione in DCE (3,3 mL) e la risultante soluzione è stata agitata a 85 °C sotto Ar per 105 min. La miscela di reazione è stata poi concentrata su 5 g di gel di silice ed è stata purificata mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 25% EtOAc in esani) per dare macrociclo **33-3** come un residuo amorfo (81,9 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₁N₄O₇: 663,4; osservato: 663,3.

Passaggi 4 e 5: Preparazione di **33-4**: Ad una soluzione di **33-3** (81,9 mg, 0,124 mmoli) in 1:1 EtOAc:EtOH (4 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 19 mg). Il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con H₂ ed è stato agitato a rt sotto 1 atm H₂ per 2,5 h. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso un pannello di Celite e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ (1,2 mL) e TMSOTf (90 µL, 0,50 mmoli) è stato aggiunto. La miscela è stata agitata a rt per 4,5 h. La reazione è stata poi concentrata *sotto vuoto* e sciolta in CH₂Cl₂ (5 mL), 0,2 M NaOH acquoso (5 mL) è stato aggiunto e la miscela bifasica è stata agitata a rt per 5 min. La miscela è stata poi acidificata con 1 M HCl acquoso (20 mL) ed è stata diluita con CH₂Cl₂ (20 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con CH₂Cl₂ (2 x 20 mL). La fase

organica combinata è stata seccata su MgSO₄, filtrata, e concentrata per dare **33-4** come un residuo grezzo (76,1 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₅N₄O₇: 609,3; osservato: 608,9.

Passaggio 6: Preparazione di Esempio **33**: Ad una sospensione di acido **33-4** (43 mg, 0,072 mmoli) e Intermedio **A9** (40,9 mg, 0,14 mmoli) in MeCN (800 µL) è stato aggiunto DIPEA (100 µL, 0,57 mmoli), HATU (37 mg, 0,097 mmoli) è stato aggiunto alla soluzione risultante, e la reazione è stata agitata a rt per 15 h. La reazione è stata poi diluita con EtOAc (20 mL), 0,2 M HCl acquoso (10 mL) e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ ed è stato concentrato su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 55% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **33** come un solido amorfo bianco (29,6 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,07 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₂N₆O₉S: 845,4; osservato: 845,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,21 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,21 - 5,76 (m, 1H), 5,65 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 5,29 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,99 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,47 - 4,29 (m, 4H), 4,16 - 4,09 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 2,99 - 2,85 (m, 2H), 2,80 - 2,64 (m, 2H), 2,24 - 2,16 (m, 1H), 2,13 - 2,05 (m, 1H), 2,01 - 0,95 (m, 29H), 0,56 - 0,45 (m, 1H), 0,45 - 0,35 (m, 1H).

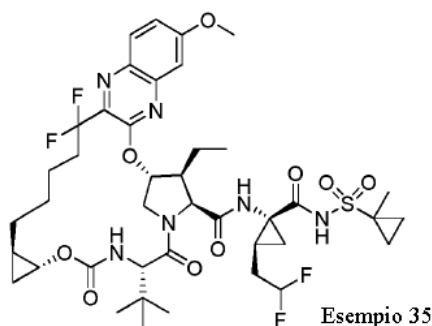
Esempio **34**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butyl-N-((1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-etilciclopropil}-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Esemplio 34

Esemplio **34** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **17**, sostituendo Intermedio **A3** per Intermedio **A10** in Passaggio 7. Esemplio **34** è stato isolato (5,7 mg) in circa 95% di purezza. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,81 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₅F₂N₆O₉S: 833,4; osservato: 833,25. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,027 (s largo, 1H), 7,98 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 6,32 (s largo, 1H), 5,92 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 5,30 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 4,42 - 4,33 (m, 3H), 4,08 (dd, J = 11,6, 4,0 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,65 (m, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,51 (m, 2H), 2,02 (m, 1H), 1,86 - 1,40 (m, 11H) 1,34 - 1,14 (m, 7H), 1,09 (s, 9H), 1,10 - 0,82 (m, 6H), 0,72 (m, 1H), 0,48 (m, 1H).

Esemplio **35**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2S)-2-(2,2-difluoroetil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.

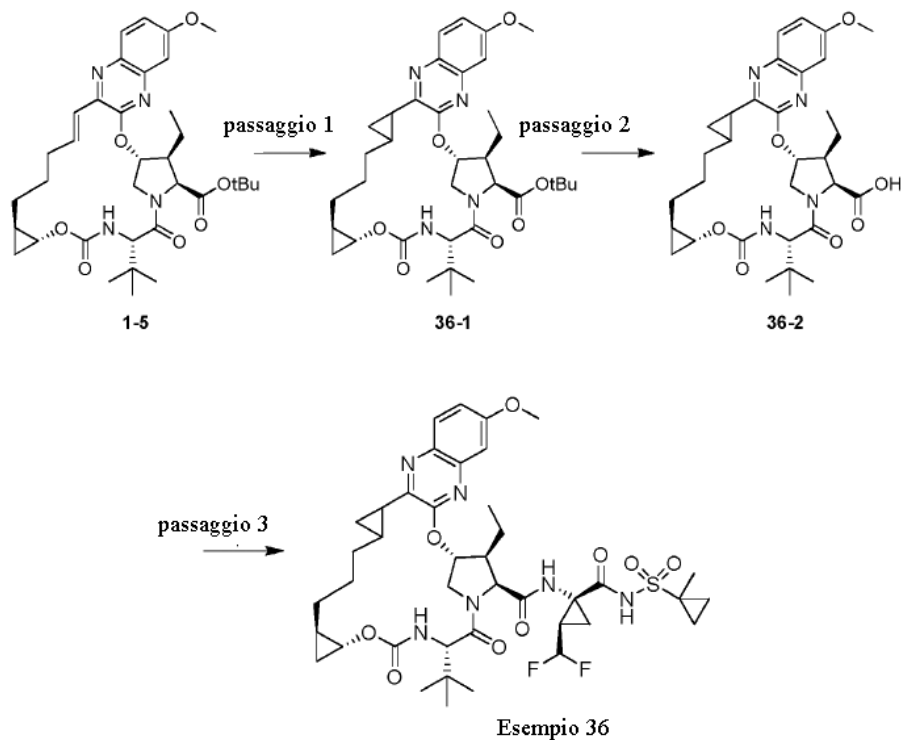


Esemplio 35

Esemplio **35** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **17**, sostituendo Intermedio **A8** per Intermedio **A10** in Passaggio 7. Esemplio **35** è stato isolato (12,8 mg) in circa 90% di purezza. Tempo di ritenzione di HPLC

analitica: 8,78 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₄N₆O₉S: 883,4; osservato: 883,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,69 (s largo, 1H), 7,98 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 6,53 (s largo, 1H), 5,91 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 5,84 (tt, J_{H-F} = 56 Hz, J = 3,6 Hz, 1H), 5,33 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,43 (m, 2H), 4,34 (ap d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,08 (dd, J = 11,6, 4,0 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,99 - 3,94 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 2,58 - 2,52 (m, 3H), 2,20 (m, 2H), 1,82 - 1,58 (m, 7H) 1,54 - 1,40 (m, 5H), 1,36 - 1,18 (m, 6H), 1,09 (s, 9H), 1,10 - 1,00 (m, 1H), 0,85 (m, 2H), 0,69 (m, 1H), 0,49 (m, 1H).

Esempio 36. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,21aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1a,3,4,5,6,9,10,17b,18,18a,19,20,21,21a-tetradecaidro-1H,8H-7,10-metanodicyclopropa[13,14:18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



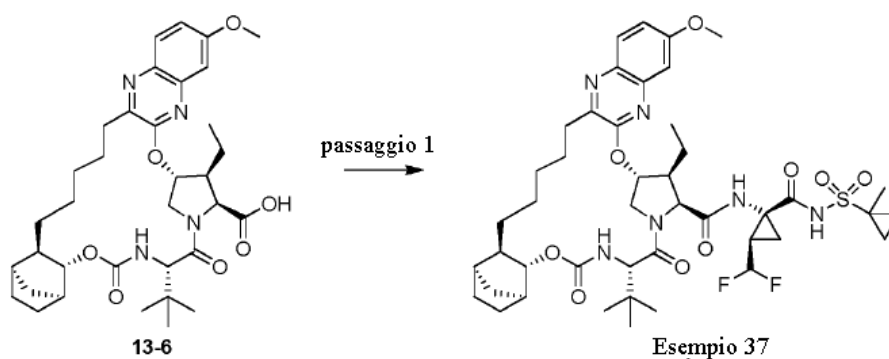
Passaggio 1. Preparazione di **36-1**: Ad una soluzione di trimetilsolfossonio ioduro (72 mg, 0,32 mmoli) in DMSO/THF (1:1, 2 mL) è stato aggiunto sodio idruro (60%, 12 mg, 0,32 mmoli) e agitata a rt per 2 h.

Macrocielo **1-5** (103 mg, 0,16 mmoli) è stato aggiunto a gocce in THF (3 mL). La miscela è stata riscaldata a 65 °C e agitata per 16 h. Dopo aver raffreddato a rt, la miscela è stata diluita con EtOAc/H₂O, estratta con EtOAc, seccata su MgSO₄ anidro, e concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-25% EtOAc/esani) per dare **36-1** (27 mg) come un residuo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,38; osservato: 651,52.

Passaggio 2. Preparazione di **36-2**: Ad una soluzione di **36-1** (26 mg, 0,04 mmoli) in DCM (1 mL) è stato aggiunto TMSOTf (0,036 mL, 0,2 mmoli) e agitato a rt per 2 h. La reazione è stata pipettata in 1 N NaOH in agitazione (2 mL). Dopo 10 min, la miscela è stata diluita con DCM e acidificata a pH 3 con 1 N HCl acquoso. In seguito ad estrazione dello strato acquoso con DCM, gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO₄ anidro e concentrati sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-10% EtOAc/MeOH) per dare **36-2** (24 mg) come un residuo che è stato usato senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₃N₄O₇: 595,31; osservato: 595,43.

Passaggio 3. Preparazione di Esempio **36**: Ad una soluzione di **36-2** (24 mg, 0,041 mmoli), Intermedio **A10** (16 mg, 0,053 mmoli), TBTU (19 mg, 0,06 mmoli) e DMAP (8 mg, 0,06 mmoli) in DCM (2 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,021 mL, 0,12 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 16 h. Altro Intermedio **A10** (16 mg, 0,053 mmoli), TBTU (19 mg, 0,06 mmoli), DMAP (8 mg, 0,06 mmoli), e DIPEA (0,021 mL, 0,12 mmoli) sono stati aggiunti e la reazione è stata agitata a rt per 4 h. La reazione è stata spenta con acqua, diluita con EtOAc, lavata con NaHCO₃ acquoso saturo, salamoia, seccata su MgSO₄ anidro e concentrata sotto vuoto. Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 45-85% MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **36** (3 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,06 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₂N₆O₉S: 845,37; osservato: 845,43. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,31 (s, 1H), 7,72 (d, J = 10 Hz, 1H), 7,20 - 7,17 (m, 2H), 5,60 - 5,82 (m, 2H), 5,51 (s, 1H), 4,72 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,43 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,31 (s, 1H), 4,26 - 4,22 (dd, J = 11,6, 4 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,78 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,27 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,68 (m, 3H), 1,59 (m, 2H), 1,54 - 1,15 (m, 11H), 1,09 (s, 9H), 0,95 - 0,86 (m, 8H), 0,47 (m, 1H).

Esempio 37. Preparazione di (1R,4S,4aR,8S,11S,12S,13R,25aR)-8-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-12-etil-17-metossi-6,9-diosso-2,3,4,4a,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25a-esadecaidro-1H,11H-1,4:10,13-dimetanochinossalino[2,3-k][1,10,3,6]benzodiossiazaciclonoadecin-11-carbossammide.

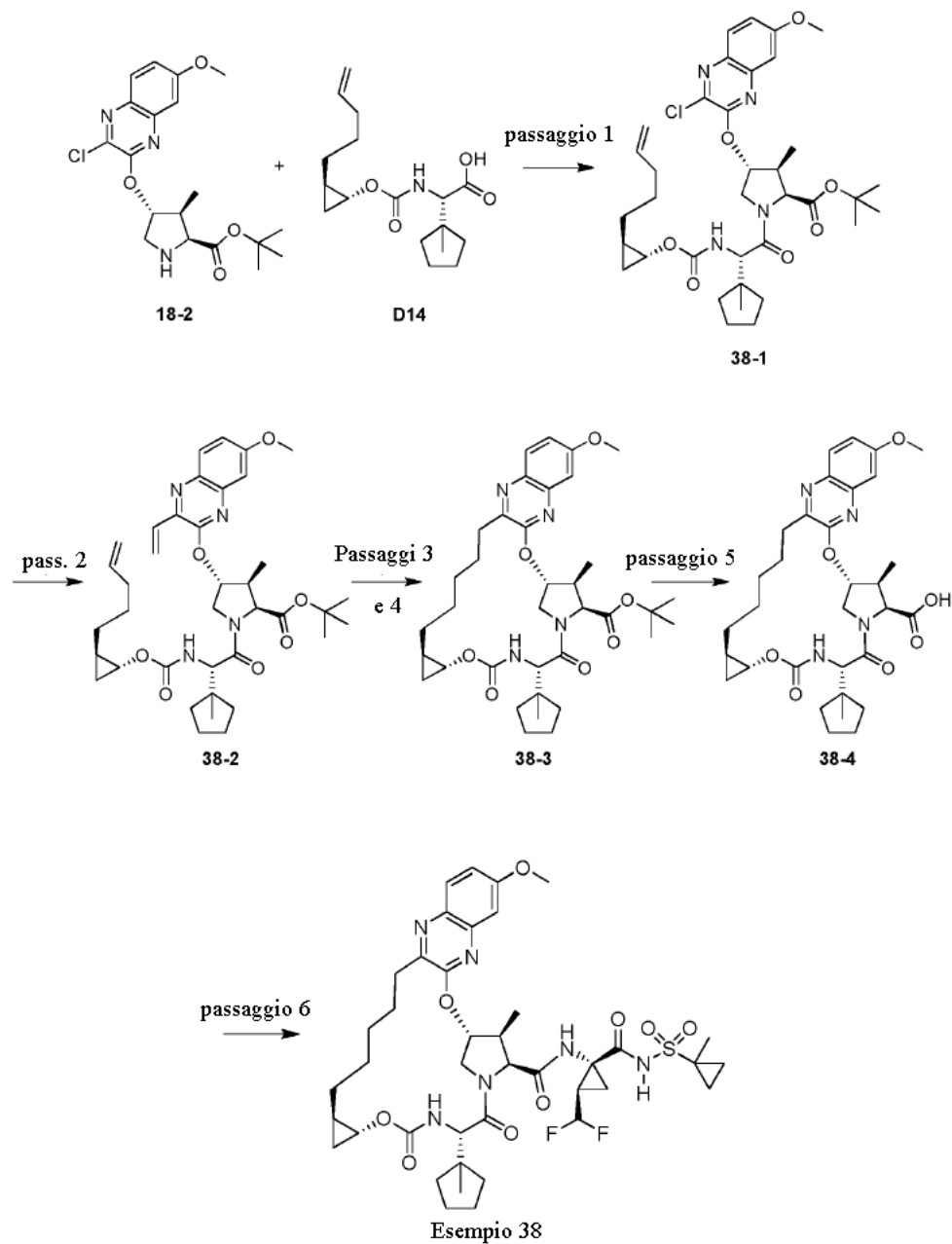


Passaggio 1. Preparazione di **Esempio 37**: Ad una soluzione di **13-6** (76 mg, 0,12 mmoli), Intermedio **A10** (44 mg, 0,14 mmoli), HATU (55 mg, 0,14 mmoli) e DMAP (21 mg, 0,18 mmoli) in DMF (2 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,11 mL, 0,6 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 16 h. Altro Intermedio **A10** (44 mg, 0,14 mmoli), HATU (55 mg, 0,14 mmoli), DMAP (21 mg, 0,18 mmoli), seguito da DIPEA (0,11 mL, 0,6 mmoli) è stato aggiunto e la reazione è stata agitata a 40 °C per 50 h. La reazione è stata spenta con acqua, diluita con EtOAc, lavata con NaHCO₃ acquoso saturo, salamoia, seccata su MgSO₄ anidro e concentrata sotto vuoto. Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 45-85% MeCN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzato per dare **Esempio 37** (30 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,44 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₄H₆₁F₂N₆O₉S: 887,42; osservato: 887,50. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,24 (s, 1H), 7,76 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,20 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,12 (m, 1H), 5,95 - 5,66 (m, 2H), 5,43 (s, 1H), 4,51 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,41 (s, 1H), 4,20 - 4,10 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 2,94 - 2,88 (m, 1H), 2,73 - 2,63 (m, 2H), 2,11 (largo, 2H), 2,02 - 0,83 (m, 41H).

Esempio 38. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-9-metil-5-(1-metilciclopentil)-3,6-diosso-

1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide



Passaggio 1. Preparazione di **38-1**: Ammina **18-2** (192 mg, 0,487 mmoli) è stata trattata con BEP (246 mg, 0,898 mmoli), Intermedio **D14** (278 mg, 0,898 mmoli), EtOAc (9 mL), NMP (1 mL) e DIPEA (0,42 mL, 2,4 mmoli),

poi riscaldata a 50 °C. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc. La soluzione organica è stata lavata in successione con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 35% EtOAc/Es) per dare ammidine **38-1** (264 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₀N₄O₇: 685,34; osservato: 685,82.

Passaggio 2. Preparazione di **38-2**: Ammidine **38-1** (264 mg, 0,385 mmoli) è stata trattata con potassio viniltrifluoroborato (82 mg, 0,615 mmoli), Pd(dppf)Cl₂•DCM (33 mg, 0,041 mmoli), EtOH (4,0 mL) e TEA (0,086 mL, 0,62 mmoli), poi riscaldata a riflusso. Dopo 55 min, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc e lavata con H₂O e salamoia. Gli estratti organici sono stati seccati su MgSO₄ anidro, filtrati e concentrati sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 30% EtOAc/Es) per dare vinil chinossalina **38-2** (168 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₃N₄O₇: 677,39; osservato: 677,38.

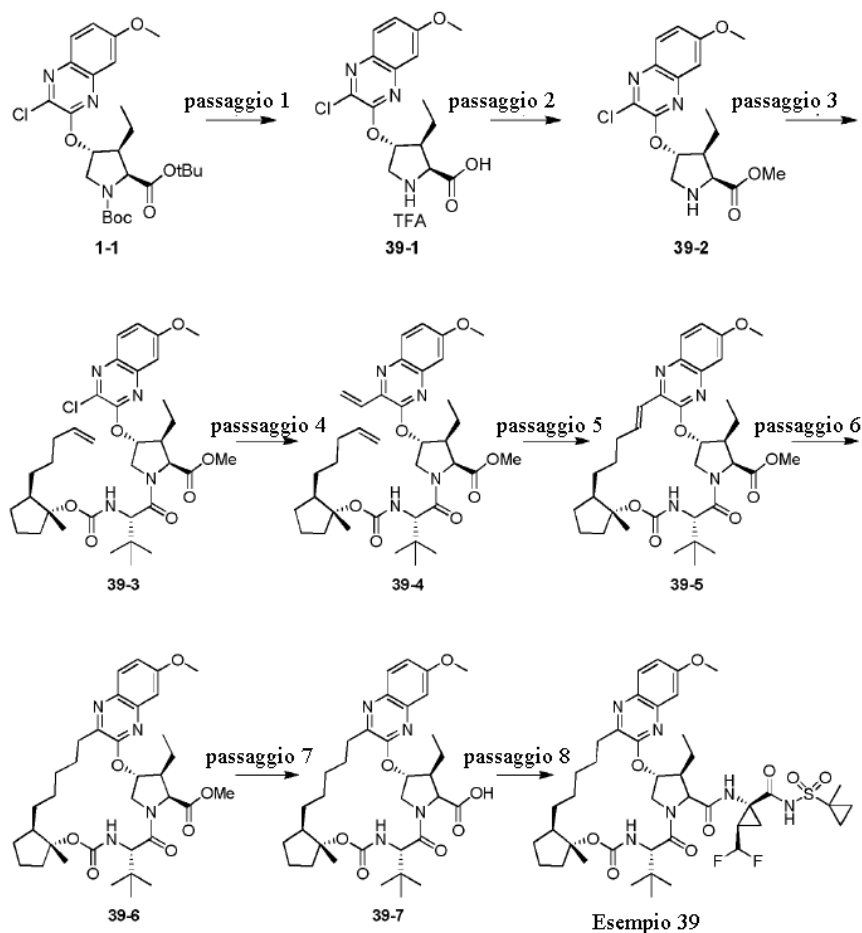
Passaggi 3 e 4. Preparazione di **38-3**: Vinil chinossalina **38-2** (225 mg, 0,332 mmoli) è stata sospesa in DCE (66 mL) e trattata con catalizzatore Zhan 1B (42 mg, 0,067 mmoli, Strem). La sospensione è stata degassata con gorgogliamento N₂ per 28 min, poi riscaldata a riflusso per 90 min. La miscela di reazione è stata poi filtrata su Celite e concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15% fino a 30% EtOAc/Es) per dare il macrociclo desiderato (168 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉N₄O₇: 649,36; osservato: 649,33). Il macrociclo è stato sciolto in EtOH (25 mL) e EtOAc (5 mL) e trattato con Pd/C (10% in peso Pd, 95 mg). Idrogeno da un palloncino è stato fatto gorgogliare attraverso la sospensione per 1 min la reazione è stata agitata sotto un'atmosfera di H₂ per altre 1,5 h. Dopo completamento, la miscela di reazione è stata filtrata su Celite e concentrata *sotto vuoto* per dare il macrociclo desiderato **38-3** che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,38; osservato: 651,42.

Passaggio 5. Preparazione di **38-4**: **38-3** non purificato dal precedente passaggio è stato sciolto in DCM (10 mL) e trattato con TMSOTf (0,23 mL, 1,3 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 1 h 15 min, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato risolto in DCM e pipettato in 1 M NaOH acquoso. La miscela è stata agitata per 1 min, poi acidificata a pH ≈ 1-2 con 10% HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre

volte con DCM e gli estratti organici combinati seccati su MgSO₄ anidro, filtrati e concentrati sotto vuoto. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0% fino a 20% MeOH/EtOAc) per dare acido carbossilico **38-4** (131 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₃N₄O₇: 595,31; osservato: 595,29.

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **38**: Acido carbossilico **38-4** (131 mg, 0,220 mmoli) e Intermedio **A10** (81 mg, 0,264 mmoli) sono stati trattati con TBTU (85 mg, 0,264 mmoli), DMAP (32 mg, 0,264 mmoli), DCM (2,6 mL) e DIPEA (0,38 mL, 2,2 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 14 h, poi concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante HPLC per dare Esempio **38** (74 mg) in circa 90% di purezza come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,93 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₂N₆O₉S: 845,37; osservato: 845,57. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,12 (s, 1H), 7,77 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,20 (dd, *J* = 9,0 Hz, 2,7 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,81 (td, *J* = 55,9, 6,6 Hz, 1H), 5,59 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 4,52 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,50 (s, 1H), 4,40 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,18 (dd, *J* = 11,9 Hz, 3,9 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,74 (m, 1H), 2,97-2,90 (m, 1H), 2,85-2,75 (m, 2H), 2,01 (m, 2H), 1,85-1,41 (m, 21H), 1,12 (s, 3H), 1,08 (d, *J* = 7,4 Hz, 3H), 0,96 (m, 2H), 0,91 (t, *J* = 4,3 Hz, 2H), 0,70 (m, 1H), 0,48 (m, 1H).

Esempio **39**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-11-etil-16-metossi-3a-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **39-1**: Chinossalina etero **1-1** (588,7 mg, 1,159 mmoli) è stato sciolto in TFA (5 mL). La soluzione è stata agitata a temperatura ambiente per 3 h. The TFA è stata rimossa *sotto vuoto* per dare il sale di TFA di **39-1** (631,2 mg) come una polvere incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₆H₁₉ClN₃O₄: 352,1; osservato: 352,1.

Passaggio 2. Preparazione di **39-2**: Il sale di TFA di **39-1** (631,2 mg, 1,159 mmoli) è stato sciolto in CH₂Cl₂/MeOH (3 mL/3 mL). Alla soluzione è stata aggiunta una soluzione di TMSCHN₂ (2 M esano, 3 mL, 5,177 mmoli) a rt. La soluzione è stata agitata per 30 min per produrre una sospensione che è stata filtrata attraverso un imbuto di frittata di vetro per rimuovere solidi. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare un residuo che è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (100% etil acetato) per produrre metil estere

39-2 (213,0 mg) come cristalli incolori. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₇H₂₁ClN₃O₄: 366,1; osservato: 366,1.

Passaggio 3. Preparazione di **39-3**: Intermedio **D7** (191,2 mg, 0,587 mmoli) e metil estere **39-2** (414,1 mg, 1,132 mmoli) sono stati trattati con HATU (860,0 mg, 2,264 mmoli) e DIPEA (0,59 mL, 3,396 mmoli) in DMF (8 mL) a rt per 4 h. La reazione è stata spenta con H₂O (50 mL) e estratta con EtOAc (50 mL tre volte). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con salamoia (50 mL) e seccati su Na₂SO₄ anidro. Dopo rimozione di agente essiccante per filtrazione, il solvente è stato rimosso sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (20% etil acetato in esani) per dare l'ammide desiderata **39-3** (573,9 mg) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+Na]⁺ calc. per C₃₃H₄₉ClN₄NaO₇: 695,3; osservato: 695,3.

Passaggio 4. Preparazione di **39-4**: Ammide **39-3** (573,9 mg, 0,8524 mmoli), potassio trifluorovinilborato (171,3 mg, 1,279 mmoli) e PdCl₂dppf•CH₂Cl₂ (62,4 mg, 0,085 mmoli) sono stati trattati con Et₃N (0,18 mL, 1,279 mmoli) in EtOH (8 mL) sotto un'atmosfera di azoto e tenuti a blando riflusso per 30 min. La reazione è stata diluita con PhMe (30 mL) e il solvente è stato rimosso sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (20% etil acetato in esani) per dare la vinil chinossalina desiderata **39-4** (542,0 mg, 0,8152 mmoli) come una schiuma arancione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₂N₄NaO₇: 687,4; osservato: 687,3.

Passaggio 5. Preparazione di **39-5**: La vinil chinossalina **39-4** (542,0 mg, 0,8152 mmoli) è stata trattata con catalizzatore Zhan 1b (59,8 mg, 0,08 mmoli, Strem) in DCE (41 mL). La miscela è stata riscaldata a 80 °C per 1 h. Altro catalizzatore Zhan 1b (59,8 mg, 0,08 mmoli, Strem) è stato aggiunto e la miscela riscaldata a 80 °C per altri 30 min. Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* e il residuo purificato mediante cromatografia su gel di silice (20% etil acetato in esani) per produrre macrociclo **39-5** (401,0 mg, 0,6297 mmoli) come un olio arancione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉N₄O₇: 637,4; osservato: 637,3.

Passaggio 6. Preparazione di **39-6**: Macrociclo **39-5** (401,0 mg, 0,6297 mmoli) è stato ripreso in 1,4-diossano (15 mL) e trattato con Pd/C (10% in peso Pd, 200,0 mg) e MgO (200,0 mg) agitato sotto un'atmosfera di idrogeno. La miscela è stata agitata a rt per 1 h. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso Celite (5 g)

usando EtOAc (80 mL). Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* per dare macrociclo **39-6** (425,3 mg) come un olio arancione chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₅₁N₄O₇: 639,4; osservato: 639,3.

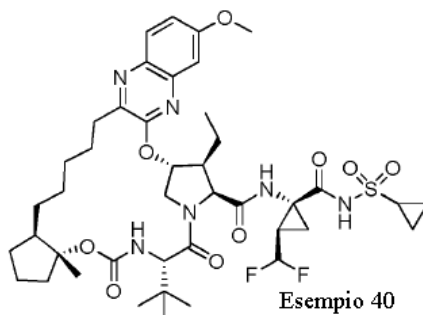
Passaggio 7. Preparazione di **39-7**: Macrociclo **39-6** (74,8 mg, 0,110 mmoli) è stato trattato con 2 M LiOH soluzione acquosa (1,6 mL, 3,15 mmoli) in MeOH/THF (4 mL /4 mL) a rt per 8 h, 50 °C per 2 h e poi 60 °C per 3 h. La miscela è stata raffreddata a 0 °C usando bagno di acqua ghiacciata. Alla miscela è stata aggiunta salamoia (30 mL). Il tutto è stato estratto con CH₂Cl₂ (30 mL tre volte). Lo strato organico è stato lavato con salamoia (30 mL) e seccato su Na₂SO₄ anidro. Dopo rimozione dell'agente essiccante per filtrazione, il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* per dare acido carbossilico **39-7** (370,6 mg, 0,5932 mmoli) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₉N₄O₇: 625,4; osservato: 625,3.

Passaggio 8. Preparazione di Esempio **39**: Acido carbossilico **39-7** (100,0 mg, 0,1601 mmoli) e Intermedio **A10** (73,2 mg, 0,2401 mmoli) sono stati trattati con HATU (91,3 mg, 0,2401 mmoli) e DIPEA (0,14 mL, 0,8005 mmoli) in DMF (3 mL) a rt per 5 h. La reazione è stata spenta con H₂O (30 mL) e estratta con EtOAc (30 mL tre volte). Lo strato organico è stato lavato con salamoia (30 mL) e seccato su Na₂SO₄ anidro. Dopo rimozione dell'agente essiccante per filtrazione, il solvente è stato rimosso sotto vuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (25 fino a 100% etil acetato in esani). Frazioni contenenti prodotto desiderato sono state concentrate *sotto vuoto* e il residuo inoltre purificato mediante cromatografia su colonna a fluido supercritico (DAICEL Chiralpak IC 10x250 mm, 18,9 mL/min, 35% MeOH, 15 atm, 40 °C) per dare Esempio **39** (80,5 mg, 0,0920 mmoli, 57%) come una polvere incolore. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,35 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₆₁F₂N₆O₉S: 875,4; osservato: 875,4. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,81 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 7,24 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,74-6,30 (m, 3H), 4,73 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,73 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,40-4,60 (m, 1H), 4,22 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,61 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,16-3,30 (m, 1H), 2,50-2,77 (m, 2H), 2,20-0,60 (m, 21H), 1,35 (s, 3H) 1,12 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,18 (s, 3H), 1,02 (s, 9H).

Esempio **40**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[[ciclopropilsolfonil]carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-11-etil-16-metossi-3a-metil-5,8-diosso-

1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-

metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide

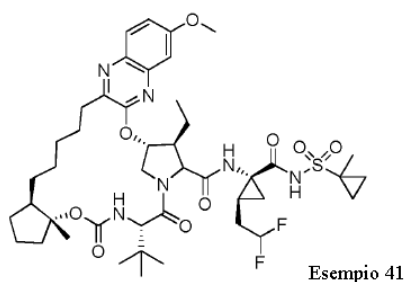


Esemplio **40** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **39**, sostituendo Intermedio **A9** per Intermedio **A10** in Passaggio 8. Esemplio **40** è stato isolato (70,9 mg) in circa 92% di purezza. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,24 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₉F₂N₆O₉S: 861,4; osservato: 861,4. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,80 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,23 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,70 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,60-6,10 (m, 3H), 4,69 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,39 (dd, *J* = 12,0, 6,0 Hz, 1H), 4,2 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,03-4,10 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,12-3,28 (m, 1H), 2,89-3,05 (m, 1H), 2,50-2,76 (m, 2H), 2,30-0,80 (m, 19H), 1,36 (s, 3H), 1,25 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,10 (s, 3H), 1,04 (s, 9H).

Esemplio **41**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-[(1R,2S)-2-(2,2-difluoroetil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-11-etil-16-metossi-3a-metil-5,8-diosso-

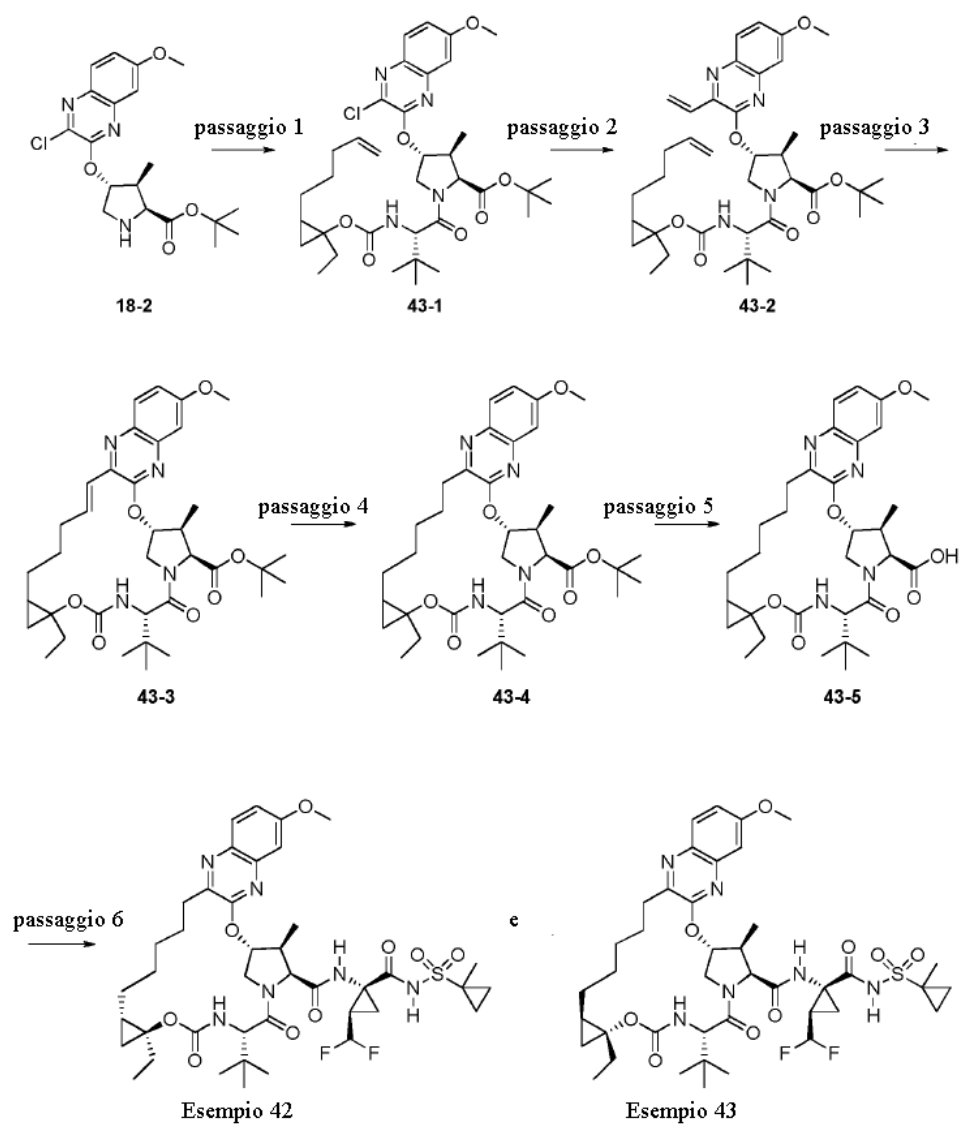
1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-

metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Esempio **41** è stato preparato in maniera simile a Esempio **39**, sostituendo Intermedio **A8** per Intermedio **A10** in Passaggio 8. Esempio **41** è stato isolato (4,3 mg) in circa 92% di purezza. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,36 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₉F₂N₆O₉S: 889,4; osservato: 889,5. ¹H NMR (300 MHz, CD₃COCD₃) δ 7,83 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 7,19-7,30 (m, 1H), 5,74-6,30 (m, 3H), 4,70 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,19 (dd, *J* = 12,0, 6,0 Hz, 1H), 4,24 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,12 (d, *J* = 12,0, 9,6 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,10-3,26 (m, 1H), 2,56-2,80 (m, 2H), 2,30-0,80 (m, 25H), 1,54 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,12 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,06 (s, 9H).

Esempio **42** e Esempio **43**. Preparazione di (1aS,5S,8S,9S,10R,22aS)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-1a-etil-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide e (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-1a-etil-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **43-1**: Ad una soluzione di Miscela di intermedi **D15** (281 mg, 0,81 mmoli) e Intermedio **18-2** (290 mg, 0,74 mmoli) in MeCN (3,7 mL) è stato aggiunto HATU (308 mg, 0,81 mmoli) seguito da DIPEA (640 μ L, 3,68 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 17 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare **43-1** (121 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio incolore. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₂ClN₄O₇: 687,3; osservato: 687,5.

Passaggio 2. Preparazione di **43-2**: Ad una soluzione di miscela di diastereomeri **43-1** (121 mg, 176 μ mol), TEA (38 μ L, 264 μ mol) e potassio viniltrifluoroborato (35,4 mg, 264 μ mol) in EtOH (0,88 mL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (14,4 mg, 17,6 μ mol). La miscela di reazione è stata degassata con argon per 10 min e riscaldata a 78 °C. Dopo 25 min, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare **43-2** (105 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio giallo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₅N₄O₇: 679,4; osservato: 679,5.

Passaggio 3. Preparazione di **43-3**: Ad una soluzione di miscela di diastereomeri **43-2** (105 mg, 155 μ mol) in DCE (31 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (11,3 mg, 15,5 μ mol, Strem) e la miscela di reazione è stata degassata per 10 minuti con argon. La miscela di reazione è stata poi riscaldata a 100 °C. Dopo 15 min, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani) per dare **43-3** (52,3 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un olio giallo chiaro. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,4; osservato: 651,5.

Passaggio 4. Preparazione di **43-4**: Ad una soluzione di miscela di diastereomeri **43-3** (52 mg, 80 μ mol) in etanolo (0,4 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 9 mg, 8 μ mol) a rt sotto un'atmosfera di argon. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la miscela di reazione è stata agitata vigorosamente a rt. Dopo 45 min, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (1 mL) ed è stata filtrata attraverso un pannello di Celite con lavaggi di etil acetato (3 \times 1 mL). Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare **43-4** (49 mg, miscela 1:1 di diastereomeri), che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₂N₄O₇: 653,4; osservato: 653,6.

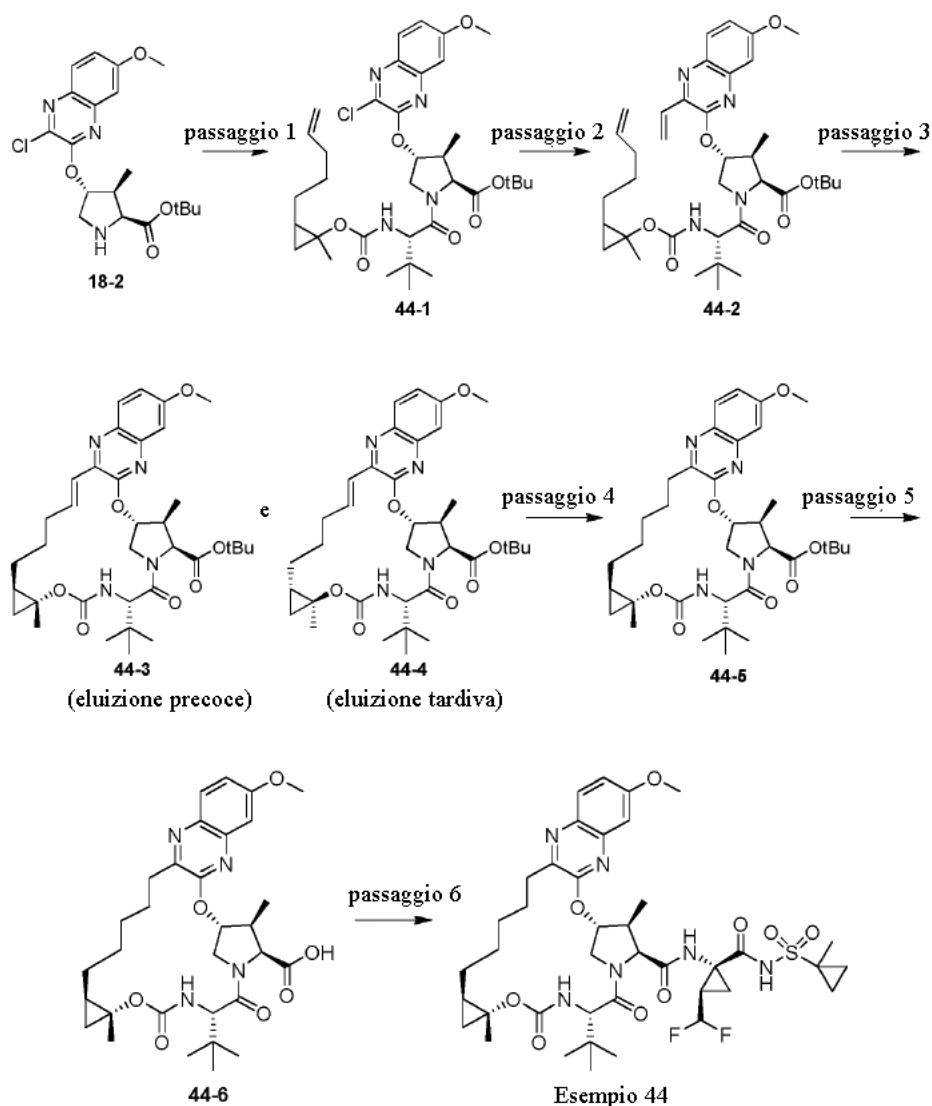
Passaggio 5. Preparazione di **43-5**: Ad una soluzione di miscela di diastereomeri **43-4** (49 mg, 67 μ mol) in DCM (0,5 mL) è stato aggiunto TMSOTf (60 μ L, 0,34 mmol) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 3 h, la miscela di reazione è stata aggiunta lentamente a una soluzione 0,25 N di NaOH acquoso (preraffreddata a 0 °C, 1 mL). La risultante miscela è stata diluita con soluzione acquosa 1 N di HCl (5 mL), ed è stata estratta con

DCM (3 × 5 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati per dare **43-5** (71 mg, miscela 1:1 di diastereomeri) come un solido rossiccio, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₂H₄₅N₄O₇: 597,3; osservato: 597,5.

Passaggio 6. Preparazione di Esempi **42** e **43**: Ad una soluzione di miscela di diastereomeri **43-5** (71 mg, 67 μmoli) e Intermedio **A10** (54 mg, 178 μmoli) in MeCN (1,00 mL) è stato aggiunto HATU (69 mg, 178 μmoli) seguito da DIPEA (155 μL, 0,89 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-100% etil acetato/esani). Le frazioni contenenti il prodotto desiderato sono state combinate e ri-purificate mediante HPLC preparativa (colonna Gemini 5u C18 110A, 50-100% MeCN/H₂O, modificatore 0,1% di acido trifluoroacetico) e sono state liofilizzate per dare Esempio **42** (10 mg) e Esempio **43** (10 mg) come polveri biancastre. Esempio **42**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,04 min, [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,4; osservato: 847,6. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,98 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,20 - 7,13 (m, 2H), 5,70 (td, *J* = 55,8, 6,4 Hz, 1H), 5,65 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 5,44 (s largo, 1H), 4,55 - 4,42 (m, 1H), 4,20 - 4,03 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,17 - 3,08 (m, 1H), 2,85 - 2,72 (m, 1H), 2,71 - 2,59 (m, 1H), 2,18 - 2,06 (m, 1H), 2,03 - 1,83 (m, 4H), 1,80 - 1,53 (m, 5H), 1,50 (s largo, 3H), 1,46 (s, 3H), 1,40 - 1,31 (m, 1H), 1,33 - 1,09 (m, 5H), 1,06 (s, 9H), 1,05 - 0,95 (m, 6H), 0,92 - 0,73 (m, 3H). Esempio **43**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,17 min, [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,4; osservato: 847,6. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,03 (s, 1H), 7,68 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,14 - 7,09 (m, 2H), 5,68 (td, *J*_{H-F} = 55,5, 6,7 Hz, 1H), 5,59 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,29 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,12 (s, 1H), 4,08 (dd, *J* = 12,1, 4,3 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,90 - 2,79 (m, 1H), 2,79 - 2,70 (m, 1H), 2,66 - 2,56 (m, 1H), 2,43 - 2,31 (m, 1H), 1,95 - 1,85 (m, 2H), 1,75 - 1,62 (m, 1H), 1,61 - 1,42 (m, 5H), 1,44 (s largo, 3H) 1,40 (s, 3H), 1,34 - 1,02 (m, 8H), 1,00 (s, 9H), 0,99 - 0,89 (m, 5H), 0,85 - 0,74 (m, 3H).

Esempio **44**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-1a,9-dimetil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **44-1**: HATU (544 mg, 1,43 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,83 mL, 4,76 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **18-2** (429 mg, 1,09 mmoli) e una miscela di intermedi **D6** (395 mg, 1,33 mmoli) in 12 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-

30% etil acetato in esani) per produrre **44-1** (545 mg; miscela 1:1 di diastereomeri) come un solido bianco.

LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₅₀N₄O₇: 673,33; osservato: 673,47.

Passaggio 2. Preparazione di **44-2**: Pd(dppf)Cl₂•CH₂Cl₂ (74 mg, 0,091 mmoli, Strem) è stato aggiunto a una miscela deossigenata di **44-1** (542 mg, 0,805 mmoli), potassio viniltrifluoroborato (168 mg, 1,25 mmoli), e trietilammina (0,170 mL, 1,21 mmoli) in 9 mL di EtOH a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata riscaldata a 78 °C sotto argon per 75 minuti. Dopo aver raffreddato a rt, 6 mL di toluene è stato aggiunto e la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-35% etil acetato in esani) per dare **44-2** (438 mg; miscela 1:1 di diastereomeri) come una pellicola gialla. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₃N₄O₇: 665,38; osservato: 665,55.

Passaggio 3. Preparazione di **44-3** e **44-4**: Una miscela di diastereomeri **44-2** (437 mg, 0,658 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (81 mg, 0,072 mmoli, Strem) in 131 mL di DCE è stata deossigenata sotto argon per 25 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a 95 °C per 50 minuti. Altri 7 mg di catalizzatore Zhan 1B sono stati aggiunti e la miscela di reazione è stata riscaldata a 95 °C per 10 minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-40% etil acetato in esani) per dare singoli diastereomeri **44-3** (143 mg, componente ad eluizione precoce) come una pellicola gialla chiara e **44-4** (118 mg, componente ad eluizione tardiva) come un solido giallo chiaro. Eluizione precoce **44-3**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉N₄O₇: 637,35; osservato: 637,45. Eluizione tardiva **44-4**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉N₄O₇: 637,35; osservato: 637,59.

Passaggio 4. Preparazione di **44-5**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 48 mg, 0,045 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **44-3** (143 mg, 0,225 mmoli) in 6 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la reazione agitata per 90 minuti. La miscela di reazione è stata filtrata su Celite e lavata con etil acetato. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare **44-5** (130 mg) come una pellicola solida marrone, che è stata usata nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₅₁N₄O₇: 639,37; osservato: 639,53.

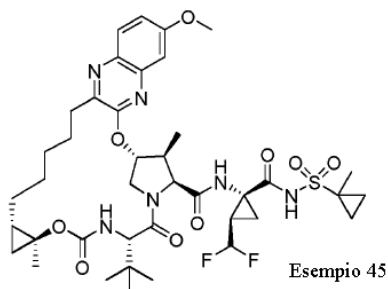
Passaggio 5. Preparazione di **44-6**: TMSOTf (0,53 mL, 2,91 mmoli) è stato aggiunto a gocce ad una soluzione di **44-5** (130 mg, 1,27 mmoli) in 3,8 mL di diclorometano sotto argon a temperatura ambiente. Dopo un'ora, sono stati aggiunti altri 0,22 mL di TMSOTf. Dopo un'altra ora, sono stati aggiunti 0,20 mL di TMSOTf. Dopo 40 minuti, sono stati aggiunti 0,25 mL di TMSOTf. Dopo un'ora, la miscela di reazione è stata ripresa in 10 mL di diclorometano e spenta per aggiunta di 20 mL di 1 N HCl acquoso con agitazione. Gli strati sono stati separati e quello acquoso è stato estratto con diclorometano (3 x 30 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate *sotto vuoto* per dare **44-6** (113 mg) come un solido biancastro, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₁H₄₃N₄O₇: 583,31; osservato: 583,45.

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **44**: HATU (53 mg, 0,139 mmoli) e DIPEA (0,080 mL, 0,459 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **44-6** (51 mg, 0,088 mmoli) e Intermedio **A10** (49 mg, 0,161 mmoli) in 1,5 mL di MeCN sotto argon. Dopo aver agitato per durante la notte, sono stati aggiunti altri 13 mg di Intermedio **A10**. Dopo un'ora, la miscela di reazione è stata ripresa in 15 mL di etil acetato e versata in 20 mL di 1 N HCl acquoso. Gli strati sono stati separati e quello acquoso è stato estratto tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-40% etil acetato in esani) per dare Esempio **44** (41 mg) come un solido biancastro. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,86 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₆H₅₅F₂N₆O₉S: 833,36; osservato: 833,51. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7,79 (d, J = 10 Hz, 1H), 7,28-7,21 (m, 2H), 6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,81 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 6,4 Hz, 1H), 5,73-5,70 (m, 1H), 4,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,40 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,26-4,16 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,05-2,91 (m, 1H), 2,90-2,82 (m, 1H), 2,77-2,68 (m, 1H), 2,06-1,94 (m, 2H), 1,88-1,74 (m, 1H), 1,72-1,58 (m, 3H), 1,58-1,44 (m, 4H), 1,53 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,43-1,36 (m, 1H), 1,12-1,02 (m, 2H), 1,09 (s, 9H), 1,07 (d, J = 4 Hz, 3H), 1,00-0,94 (m, 2H), 0,92-0,84 (m, 3H), 0,16-0,11 (m, 1H).

Esempio **45**. Preparazione di (1aS,5S,8S,9S,10R,22aS)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-1a,9-dimetil-3,6-diosso-

1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **45** è stato preparato in maniera simile a Esempio **44**, sostituendo il composto ad eluizione tardiva **44-4** per quello ad eluizione precoce **44-3** in passaggio 4. Esempio **45** è stato isolato (23 mg) come un solido biancastro. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,92 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₆H₅₅F₂N₆O₉S: 833,36; osservato: 833,54. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7,79 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,25-7,19 (m, 2H), 6,55 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,78 (td, *J*_{H-F} = 61 Hz, *J* = 6Hz, 1H), 5,52-5,48 (m, 1H), 4,58 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,52 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 4,17-4,10 (m, 1H), 4,04 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,22-3,14 (m, 1H), 2,88-2,80 (m, 1H), 2,78-2,66 (m, 1H), 2,08-1,90 (m, 2H), 1,76-1,64 (m, 1H), 1,63-1,50 (m, 7H), 1,51 (s, 3H), 1,47-1,36 (m, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,18-1,06 (m, 1H), 1,12 (s, 9H), 1,07 (m, 3H), 1,00-0,80 (m, 4H), 0,10-0,04 (m, 1H).

Esempio **46** e **47**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18,18-difluoro-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-

1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

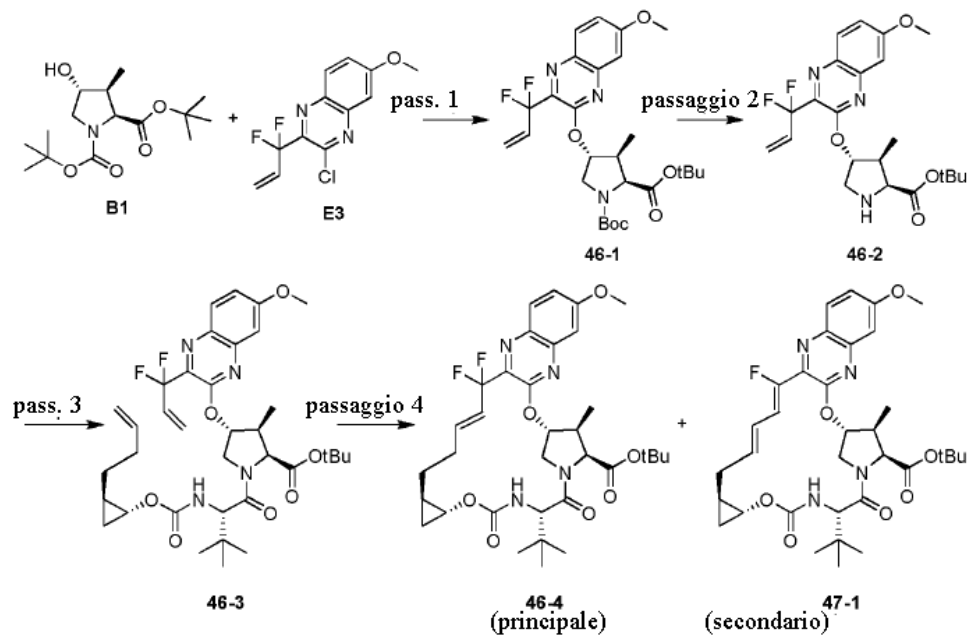
metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide e

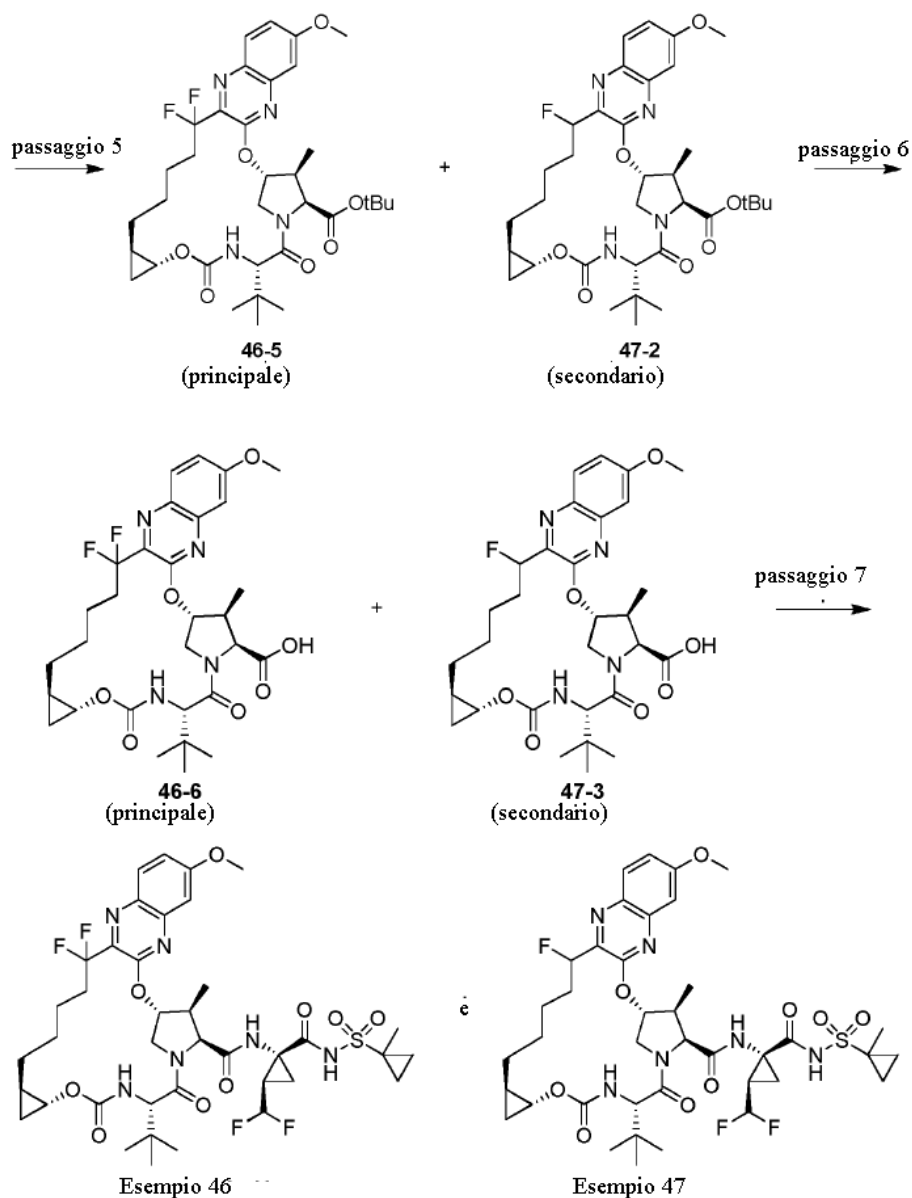
(1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-

metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18-fluoro-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-

1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.





Passaggio 1. Preparazione di **46-1**: Una miscela di Intermedio **B1** (627 mg, 2,08 mmoli), Intermedio **E3** (548 mg, 1,91 mmoli) e cesio carbonato (744 mg, 2,28 mmoli) in 7 mL di DMF è stata agitata a 85 °C sotto argon per 36 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e versata in 30 mL di acqua e la fase acquosa è stata estratta con etil acetato (3 x 30 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua, salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato

mediante cromatografia su gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **46-1** (891 mg) come un solido bianco. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₇H₃₆F₂N₃O₆: 536,25; osservato: 536,35.

Passaggio 2. Preparazione di **46-2**: Chinossalina etere **46-1** (478 mg, 0,893 mmoli) è stato sciolto in 4,2 mL di terz-butil acetato e 1,1 mL di diclorometano a temperatura ambiente, MeSO₃H (0,30 mL, 4,67 mmoli) è stato aggiunto a gocce e la miscela di reazione agitata a rt per 2 h. La miscela di reazione è stata trasferita ad una miscela agitata di EtOAc (20 mL) e NaHCO₃ acquoso saturo (30 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (2 x 20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄ anidro, filtrata, e concentrata *sotto vuoto* per dare ammina **46-2** come una pellicola solida gialla (346 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₂H₂₈F₂N₃O₄: 436,20; osservato: 436,29.

Passaggio 3. Preparazione di **46-3**: HATU (396 mg, 1,04 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,57 mL, 3,29 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **46-2** (345 mg, 0,793 mmoli) e Intermedio **D11** (260 mg, 0,965 mmoli) in 9 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-40% etil acetato in esani) per dare **46-3** (545 mg) come una pellicola solida trasparente. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉F₂N₄O₇: 687,35; osservato: 687,57.

Passaggio 4. Preparazione di **46-4**: Una miscela di **46-3** (480 mg, 0,699 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (61 mg, 0,083 mmoli, Strem) in 140 mL di DCE è stata deossigenata con argon per 18 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a 95 °C per 70 minuti. Altri 20 mg di catalizzatore Zhan 1B sono stati aggiunti e la miscela agitata a 95 °C per un'ora. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-35% etil acetato in esani) per dare una miscela non separabile di **46-4** (principale), e circa 15% di **47-1** (secondario; 233 mg in totale) come un solido biancastro. Componente principale **46-4**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₅F₂N₄O₇: 665,38; osservato: 665,50. Componente secondario **47-1**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₄FN₄O₇: 639,31; osservato: 639,49.

Passaggio 5. Preparazione di miscela di **46-5** e **47-2**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 70 mg, 0,066 mmoli)

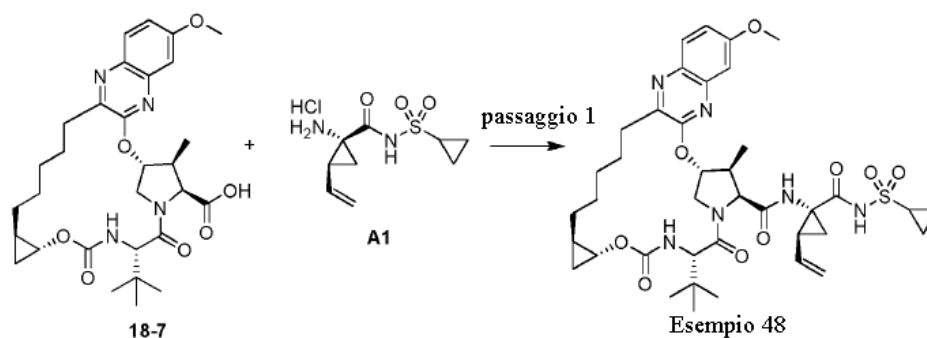
è stato aggiunto ad una soluzione della miscela di **46-4** e **47-1** (232 mg, 0,353 mmoli) dal precedente passaggio in 9 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e agitata per 7 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavando con etanolo. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare una miscela di **46-5** (principale) e **47-2** (secondario; 216 mg in totale) come un solido biancastro, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. Componente principale **46-5**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₇F₂N₄O₇: 661,33; osservato: 661,52. Componente secondario **47-2**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₈FN₄O₇: 643,34; osservato: 643,57.

Passaggio 6. Preparazione di miscela di **46-6** e **47-3**: TMSOTf (0,35 mL, 1,90 mmoli) è stato aggiunto a gocce ad una soluzione di una miscela di **46-5** e **47-2** (215 mg, 0,326 mmoli) dal precedente passaggio in 6,5 mL di diclorometano sotto argon a rt. Dopo 1 h, sono stati aggiunti altri 0,18 mL di TMSOTf. Dopo un'altra ora, sono stati aggiunti 0,30 mL di TMSOTf. Dopo 2 h, sono stati aggiunti 0,18 mL di TMSOTf. Dopo 1 h, sono stati aggiunti altri 0,18 mL di TMSOTf. Dopo 45 minuti, la miscela di reazione è stata ripresa in 25 mL di diclorometano e spenta per aggiunta di 30 mL di 1 N HCl acquoso con agitazione. Lo strato acquoso è stato estratto con diclorometano (3 x 40 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate *sotto vuoto* per dare una miscela non separabile di **46-6** (principale) e **47-3** (secondario; 187 mg in totale), che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. Componente principale **46-6**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₀H₃₉F₂N₄O₇: 605,27; osservato: 605,44. Componente secondario **47-3**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₀H₃₉FN₄O₇: 587,28; osservato: 587,38.

Passaggio 7. Preparazione di Esempio **46** e Esempio **47**: HATU (160 mg, 0,421 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,25 mL, 1,44 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **46-6** e **47-3** (150 mg, 0,248 mmoli) dal precedente passaggio e Intermedio **A10** (150 mg, 0,496 mmoli) in 6,5 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato per durante la notte, la miscela di reazione è stata ripresa in 30 mL di etil acetato e versata in 30 mL di 1 N HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua e salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase

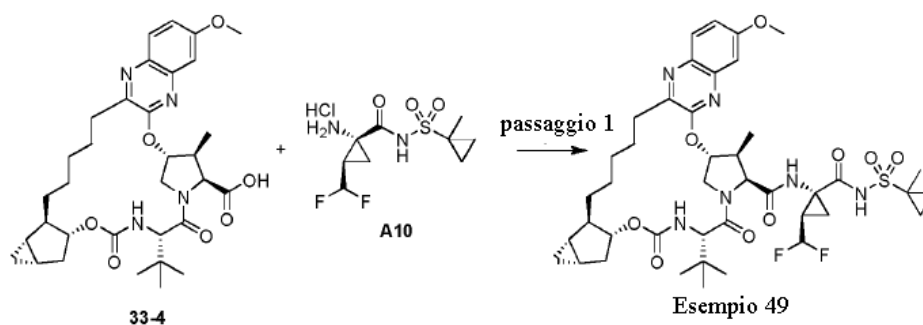
inversa (50-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare il sale di acido trifluoroacetico di Esempio **46** (107 mg) come un solido giallo chiaro e il sale di acido trifluoroacetico della miscela 1:1 di diastereomeri di Esempio **47** (12 mg) come un solido giallo chiaro. Esempio **46**: Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,60 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₉H₅₁F₄N₆O₉S: 855,33; osservato: 855,63. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,23 (s, 1H), 7,94 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,31 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,78 (td, J_{H-F} = 66 Hz, J = 6,8 Hz, 1H), 5,68-5,66 (m, 1H), 4,57 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,41 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,35 (s, 1H), 4,22-4,16 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,72-3,66 (m, 1H), 2,86-2,76 (m, 1H), 2,64-2,48 (m, 1H), 2,11-1,94 (m, 3H), 1,86-1,74 (m, 3H), 1,73-1,62 (m, 1H), 1,58-1,54 (m, 2H), 1,50 (s, 3H), 1,49-1,44 (m, 1H), 1,42-1,38 (m, 1H), 1,11-1,04 (m, 4H), 1,09 (s, 9H), 1,02-0,94 (m, 2H), 0,93-0,86 (m, 2H), 0,78-0,66 (m, 1H), 0,54-0,46 (m, 1H). Esempio **47** (1:1 miscela di diastereomeri): Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,45 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₉H₅₂F₃N₆O₉S: 837,34; osservato: 837,63. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,13 (s, 1H), 7,89 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,27 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,99-5,43 (m, 1H), 5,79 (td, J_{H-F} = 55 Hz, J = 6,8 Hz, 1H), 5,53-5,50 (m, 1H), 4,57-4,44 (m, 2H), 4,11 (s, 1H), 4,35 (s, 1H), 4,22-4,13 (dd, J = 12,4, 4 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,83-3,79 (m, 1H), 2,94-2,80 (m, 2H), 2,28-2,14 (m, 1H), 2,06-1,96 (m, 2H), 1,88-1,69 (m, 4H), 1,58-1,54 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,44-1,36 (m, 1H), 1,32-1,26 (m, 1H), 1,14-1,04 (m, 4H), 1,10 (s, 9H), 1,02-0,86 (m, 4H), 0,74-0,64 (m, 1H), 0,58-0,48 (m, 1H).

Esempio **48**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-N-{(1R,2S)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoi]-2-etenilciclopropil}-14-metossi-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



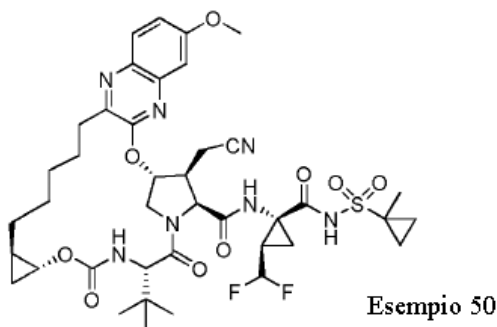
Passaggio 1: Preparazione di Esemplio **48**: Ad una sospensione di acido **18-7** (9,7 mg, 0,017 mmoli) e Intermedio **A1** (13 mg, 0,049 mmoli) in MeCN (0,4 mL) è stato aggiunto DIPEA (40 μ L, 0,23 mmoli). Alla risultante soluzione è stato aggiunto HATU (12,5 mg, 0,033 mmoli). La reazione è stata agitata a rt per 1 h ed è stata diluita con EtOAc (2 mL), 0,2 M HCl acquoso (1 mL), e salamoia (1 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (3 x 2 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na_2SO_4 anidro, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo che è stato sciolto in CH_2Cl_2 e adsorbito su 1 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 50% acetone in esani) forniva un residuo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esemplio **48** come un solido amorfo bianco (8,4 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,52 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$: 781,4; osservato: 781,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,91 (s, 1H), 7,83 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,19 (dd, $J = 9,1, 2,7$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,73 (s, 1H), 5,86 - 5,72 (m, 1H), 5,57 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 5,48 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 5,27 - 5,15 (m, 1H), 5,15 - 5,07 (m, 1H), 4,48 - 4,35 (m, 3H), 4,12 (dd, $J = 11,8, 4,1$ Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,81 - 3,71 (m, 1H), 2,98 - 2,75 (m, 4H), 2,16 - 2,09 (m, 1H), 1,94 (dd, $J = 8,2, 5,8$ Hz, 1H), 1,87 - 1,24 (m, 9H), 1,17 (d, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,04 - 0,91 (m, 5H), 0,75 - 0,65 (m, 1H), 0,52 - 0,42 (m, $J = 6,0$ Hz, 1H).

Esemplio **49**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butyl-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[1-metilciclopropil]solfonil]carbamoil]ciclopropil]-15-metossi-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropano[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



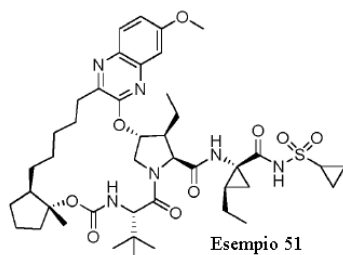
Passaggio 1: Preparazione di Esempio **49**: Ad una sospensione di acido **33-4** (30 mg, 0,049 mmoli) e Intermedio **A10** (31 mg, 0,10 mmoli) in MeCN (700 μ L) è stato aggiunto DIPEA (70 μ L, 0,40 mmoli), HATU (32 mg, 0,084 mmoli) è stato aggiunto alla soluzione risultante, e la reazione è stata agitata a rt per 1,5 h. Un'altra porzione di Intermedio **A10** (6 mg, 0,02 mmoli) è stata poi aggiunta. La reazione è stata agitata altre 30 min ed è stata poi diluita con EtOAc (30 mL), 0,2 M HCl acquoso (15 mL) e salamoia (15 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (30 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na_2SO_4 anidro, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH_2Cl_2 e adsorbito su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 50% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **49** come un solido amorfo bianco (30,5 mg). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,15 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per $\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$: 859,4; osservato: 859,2. ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,86 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,18 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,14 - 5,71 (m, 1H), 5,61 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 5,28 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 5,00 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,49 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,42 - 4,31 (m, 2H), 4,12 (dd, *J* = 11,6, 4,0 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,00 - 2,63 (m, 4H), 2,25 - 2,16 (m, 1H), 2,09 - 1,90 (m, 4H), 1,81 - 0,95 (m, 26H), 0,92 - 0,75 (m, 3H), 0,57 - 0,45 (m, 1H), 0,44 - 0,36 (m, 1H).

Esempio **50**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-9-(cianometil)-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Esempio **50** è stato preparato in maniera simile a Esempio **1**, sostituendo Intermedio **B8** per Intermedio **B4** in passaggio 1. Esempio **50** è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini, 58-98 % ACN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzato per dare solido (5 mg) come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,29 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₁F₂N₇O₉S: 844,94; osservato: 844,58. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,71 (s, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,22 (m, 2H), 6,25 (m, 1H), 6,08 - 5,80 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,29 (m, 2H), 4,13 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,65 (m, 1H), 3,06 - 2,83 (m, 4H), 2,55 (m, 1H), 2,14 - 1,47 (m, 17H), 1,03 (s, 9H), 0,92 (m, 4H), 0,65 (m, 1H), 0,45 - 0,43 (m, 1H).

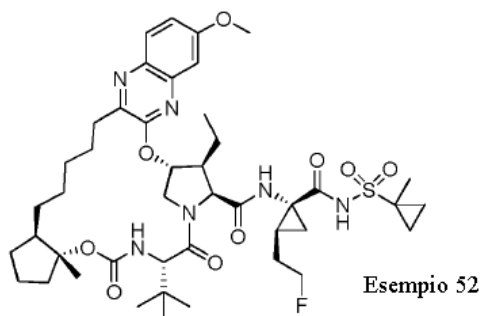
Esempio **51**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-N-((1R,2R)-1-((ciclopropilsolfonil)carbamoil)-2-etilciclopropil)-11-etil-16-metossi-3a-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



Esempio **51** è stato preparato in maniera simile a Esempio **39**, sostituendo Intermedio **A3** per Intermedio **A10** in passaggio 8. Esempio **51** è stato isolato (12,3 mg) in circa 96,5% di purezza. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,38 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₆₃N₆O₉S: 839,4; osservato: 839,5. 1H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,60 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,98-7,08 (m, 2H), 6,53 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,57-5,83 (m, 2H), 4,52

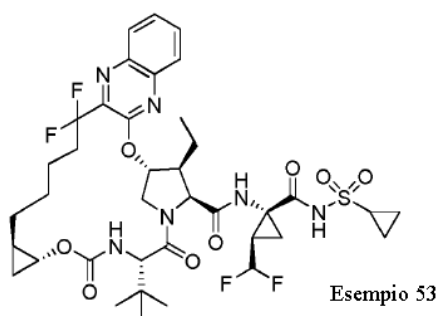
(d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,24 (dd, $J = 10,8, 6,0$ Hz, 1H), 4,02 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 3,82 (dd, $J = 10,8, 2,4$ Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,93-3,10 (m, 1H), 2,80-2,90 (m, 2H), 2,30-2,58 (m, 2H), 0,60-2,10 (m, 32H), 0,84 (s, 9H).

Esempio 52. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-11-etil-N-[(1R,2S)-2-(2-fluoroetil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-16-metossi-3a-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide.



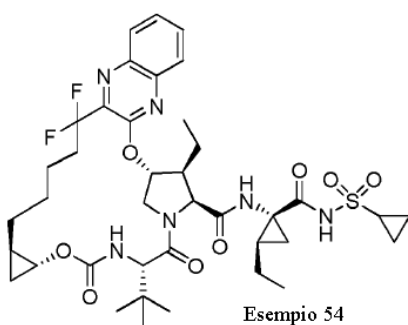
Esempio 52 è stato preparato in maniera simile a **Esempio 39**, sostituendo **Intermedio A6** per **Intermedio A10** in passaggio 8. **Esempio 52** è stato isolato (12,3 mg) in circa 96,5% di purezza. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,60 min. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,31 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{44}H_{64}FN_6O_9S$: 871,4; osservato: 871,5. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,81 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,20-7,30 (m, 2H), 6,73 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 5,75-6,02 (m, 2H), 4,74 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,54 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 4,36-4,49 (m, 1H), 4,23 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 4,04 (dd, $J = 12,0, 2,4$ Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,28-3,16 (m, 1H), 2,50-2,70 (m, 2H), 2,30-0,80 (m, 35H), 1,04 (s, 9H).

Esempio 53. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **53** è stato preparato in maniera simile a Esempio **17** sostituendo Intermedio **E4** per Intermedio **E3** in Passaggio 1 e Intermedio **A9** per Intermedio **A10** in Passaggio 7. Esempio **53** è stato isolato (8,8 mg) come un solido bianco. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₄₈F₄N₆O₈S: 825,32; osservato: 825,75. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,13 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,91 - 7,74 (m, 2H), 7,69 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 5,47 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,48 (t, *J* = 10,3 Hz, 2H), 4,36 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,12 (dd, *J* = 12,1, 3,6 Hz, 1H), 3,70 - 3,59 (m, 1H), 3,08 - 2,75 (m, 1H), 2,58 - 2,38 (m, 1H), 2,14 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,95 - 1,67 (m, 4H), 1,47 (tt, *J* = 13,9, 7,1 Hz, 4H), 1,35 (s, 2H), 1,20 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H), 1,15 - 0,64 (m, 19H), 0,51 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H).

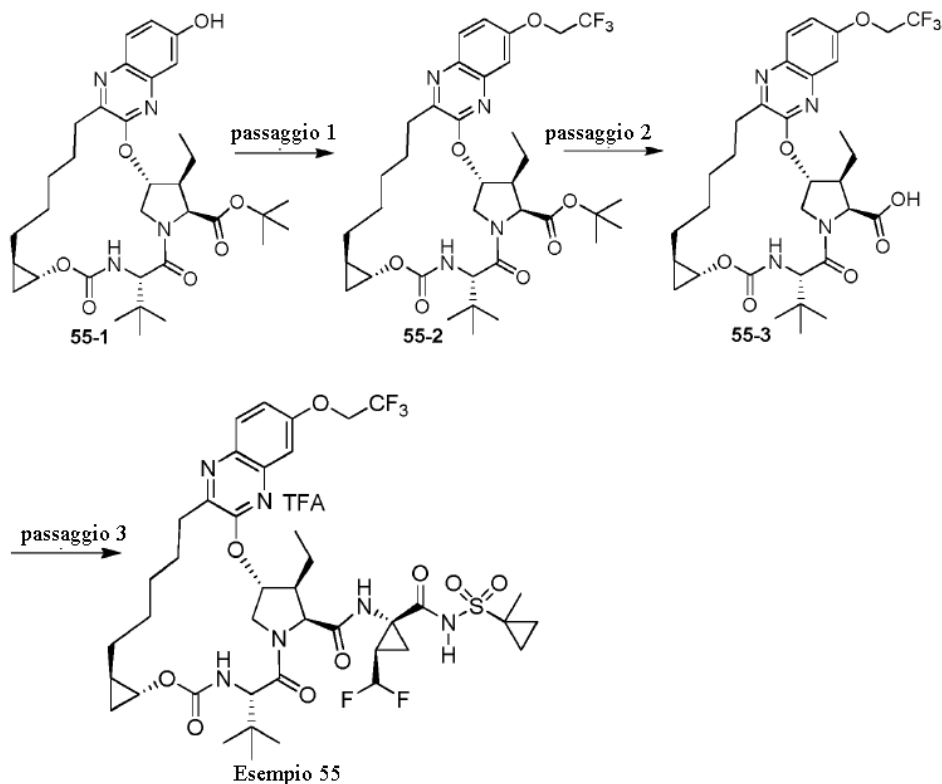
Esempio **54**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-{(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-etilciclopropil}-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **54** è stato preparato in maniera simile a Esempio **53** sostituendo Intermedio **A9** con Intermedio **A3**. Esempio **54** è stato isolato (10,0 mg) come un solido bianco. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₂F₂N₆O₈S: 803,35; osservato: 803,79. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,88 (s, 1H), 8,12 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H),

7,88 - 7,69 (m, 2H), 7,66 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,68 (s, 1H), 5,95 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H), 5,46 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,45 (dd, $J = 13,8, 9,7$ Hz, 2H), 4,09 (dd, $J = 12,0, 3,6$ Hz, 2H), 3,71 - 3,57 (m, 1H), 2,53 (dd, $J = 21,4, 14,6$ Hz, 1H), 1,85 - 1,39 (m, 10H), 1,38 - 0,96 (m, 20H), 1,01 (dd, $J = 17,2, 9,5$ Hz, 3H), 1,04 - 0,78 (m, 6H), 0,70 (s, 1H), 0,49 (dd, $J = 12,7, 6,3$ Hz, 1H).

Esempio 55. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil}ciclopropil]-9-etil-3,6-diosso-14-(2,2,2-trifluoroetossi)-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Intermedio **55-1** è stato preparato seguendo Passaggi 1 fino a 6 di Esempio 1, sostituendo Intermedio **E2** per Intermedio **E1** in Passaggio 1. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per C₃₄H₄₉N₄O₇: 625,36; osservato: 625,25.

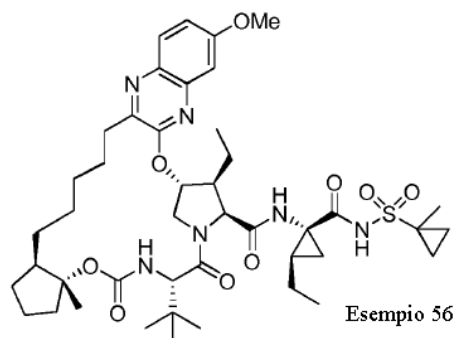
Passaggio 1. Preparazione di **55-2**. Chinossalino **55-1** (24 mg, 0,038 mmoli) è stato sospeso in DMF (2 mL) e trattato con Cs₂CO₃ (63 mg, 0,19 mmoli) e 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansolfonato (0,055 mL, 0,38 mmoli).

La miscela di reazione è stata agitata a RT per 5 h, poi diluita con EtOAc. Lo strato organico è stato lavato con H₂O e salamoia, seccato su MgSO₄, filtrato e concentrato a pressione ridotta per dare **55-2**, che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₀F₃N₄O₇: 707,36; osservato: 707,38.

Passaggio 2. Preparazione di **55-3**, Trifluoroetil etere **55-2** (0,038 mmoli teoriche) è stato trattato con DCM (4 mL) e TMSOTf (0,14 mL, 0,77 mmoli) a RT. Dopo 1 h, la reazione è stata spenta per aggiunta di 1M NaOH (2 mL). Dopo aver agitato vigorosamente per 5 min, la miscela è stata versata in un imbuto separatore seguito da 10% HCl (20 mL). Lo strato acquoso è stato estratto 3x con DCM. Gli estratti organici combinati sono stati seccati su MgSO₄, filtrati e concentrati a pressione ridotta per dare **55-3**, che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₂F₃N₄O₇: 651,30; osservato: 651,18.

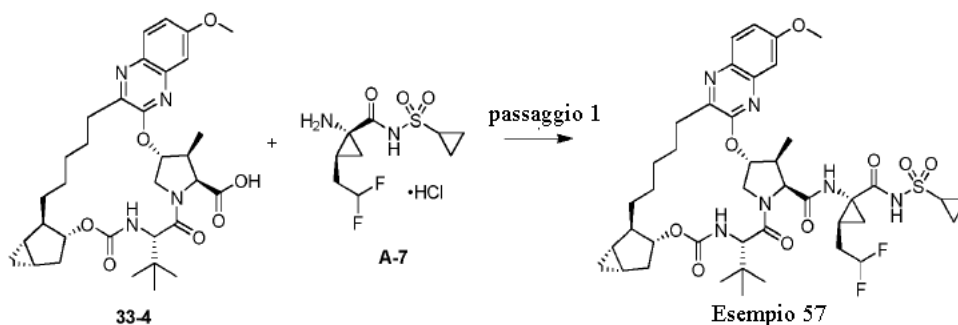
Passaggio 3. Preparazione di Esempio **55**. Acido carbossilico **55-3** (0,038 mmoli teoriche) è stato trattato con intermedio **A10** (23 mg, 0,077 mmoli), TBTU (25 mg, 0,077 mmoli), DMAP (9 mg, 0,077 mmoli), DCM (1 mL) e DIPEA (0,134 mL, 0,768 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a RT per 20 h, poi concentrata a pressione ridotta e purificata mediante HPLC in fase inversa per dare Esempio **55** come sale di TFA (7 mg, 18% in 3 passaggi). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₄F₅N₆O₉S: 901,36; osservato: 902,08. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,18 (s, 1H), 7,86 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,32 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,02 - 5,63 (m, 2H), 4,76 - 4,62 (m, 2H), 4,56 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,39 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 4,15 (dt, *J* = 17,2, 8,6 Hz, 1H), 3,74 (dd, *J* = 6,7, 2,8 Hz, 1H), 3,05 - 2,89 (m, 1H), 2,82 (td, *J* = 13,2, 4,2 Hz, 1H), 2,65 - 2,50 (m, 1H), 2,02 (d, *J* = 10,4 Hz, 2H), 1,78 (dt, *J* = 23,5, 10,7 Hz, 3H), 1,68 - 1,26 (m, 14H), 1,22 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H), 1,10 (s, 9H), 0,97 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H), 0,95 - 0,84 (m, 2H), 0,71 (s, 1H), 0,51 (t, *J* = 9,8 Hz, 1H).

Esempio **56**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R,24aR)-7-terz-butil-11-etil-N-[(1R,2R)-2-etil-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-16-metossi-3a-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanociclopenta[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide



Esemplio **56** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **39**, sostituendo Intermedio **A9** per Intermedio **A3** in Passaggio 8. Esemplio **56** è stato isolato (8,8 mg, 0,0103 mmoli, 53,7%). Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,56 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₄H₆₅N₆O₉S: 853,45; osservato: 853,5. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,81 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,20-7,30 (m, 2H), 6,73 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,76-6,01 (m, 2H), 4,75 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,46 (dd, *J* = 12,0, 6,0 Hz, 1H), 4,23 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,00-4,08 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,50-2,78 (m, 3H), 0,80-2,30 (m, 30H), 1,54 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,05 (s, 9H).

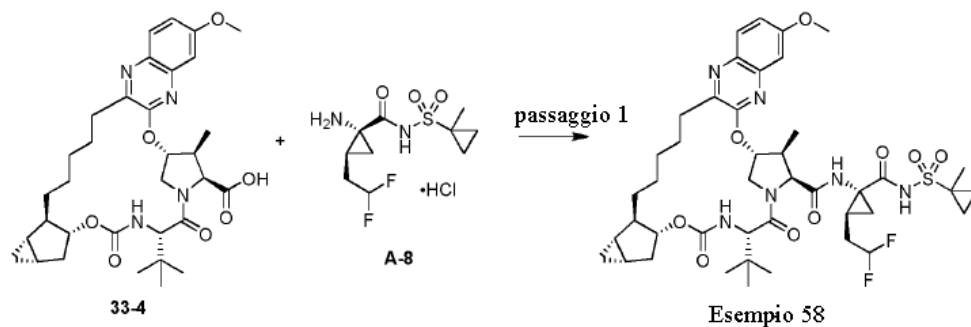
Esemplio **57**. Preparazione di (1a*S*,2a*R*,6*S*,9*S*,10*S*,11*R*,23a*R*,23b*S*)-6-terz-butil-N-[(1*R*,2*S*)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(2,2-difluoroetil)ciclopropil]-15-metossi-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1*H*,9*H*-8,11-metanociclopropano[4',5']ciclopentano[1',2':18,19][1,10,3,6]diossodiazaciclononadecino[11,12-*b*]chinossalina-9-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di Esemplio **57**. Ad una sospensione di acido **33-4** (14,9 mg, 0,0245 mmoli) e ammina cloridrato **A-7** (16,3 mg, 0,0535 mmoli) in MeCN (500 μL) è stato aggiunto DIPEA (40 μL, 0,23 mmoli),

HATU (15,5 mg, 0,0408 mmoli) è stato aggiunto alla soluzione risultante, e la reazione è stata agitata a rt per 17 h. La reazione è stata poi diluita con EtOAc (2 mL), 0,2 M HCl acquoso (1,5 mL) e salamoia (1,5 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (4 x 1,5 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ ed è stato concentrato su 1,5 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 40% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio 57. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₇F₂N₆O₉S: 859,4; osservato: 859,0. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10,00 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,07 - 5,57 (m, 2H), 5,26 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 5,01 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,50 - 4,29 (m, 3H), 4,12 (dd, *J* = 11,7, 3,9 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,00 - 2,62 (m, 4H), 2,34 - 0,96 (m, 33H), 0,95 - 0,78 (m, 1H), 0,51 (dd, *J* = 13,0, 7,9 Hz, 1H), 0,39 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H).

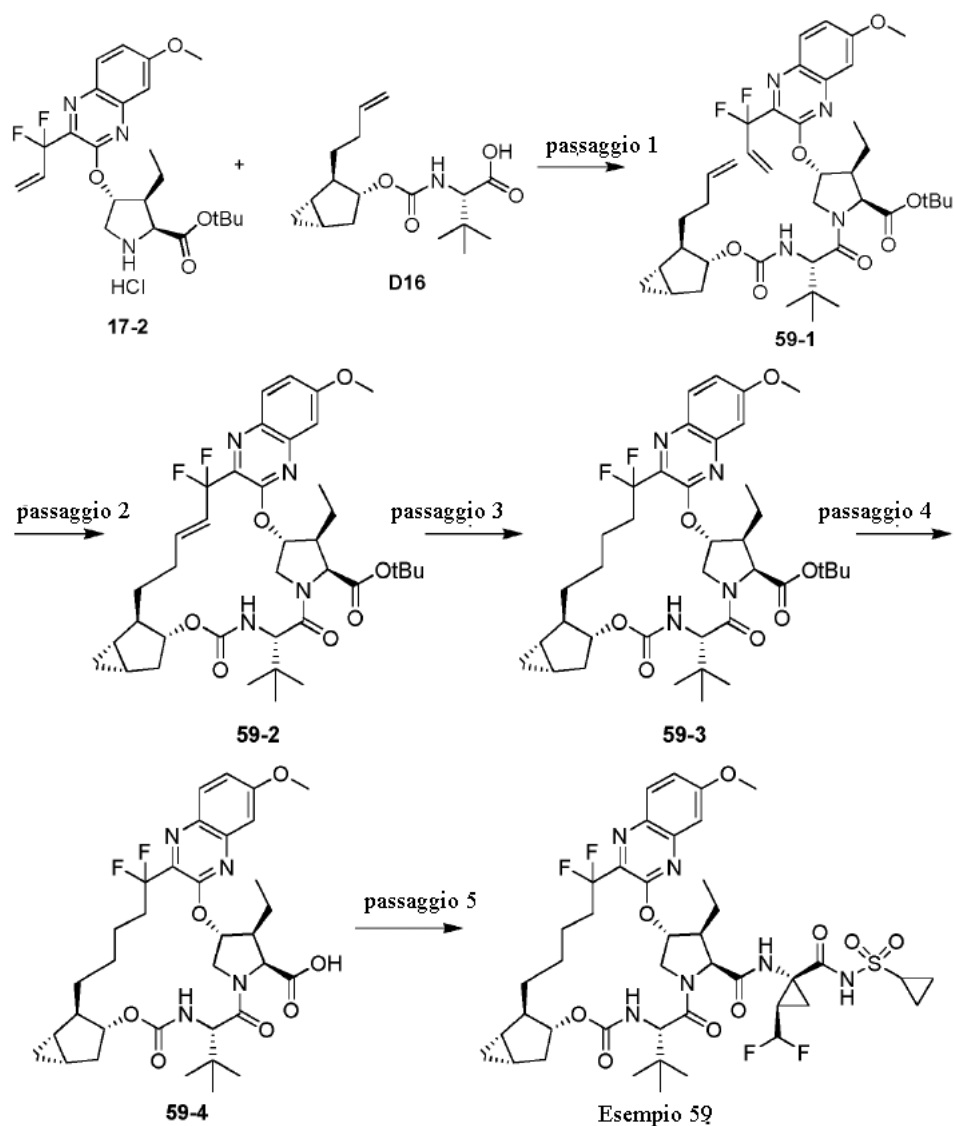
Esempio 58. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-N-[(1R,2S)-2-(2,2-difluoroetil)-1-[[[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-15-metossi-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di Esempio 58. Ad una sospensione di acido 33-4 (14,5 mg, 0,0238 mmoli) e ammina cloridato A-8 (16,0 mg, 0,0502 mmoli) in MeCN (500 µL) è stato aggiunto DIPEA (40 µL, 0,23 mmoli), HATU (15,5 mg, 0,0408 mmoli) è stato aggiunto alla soluzione risultante, e la reazione è stata agitata a rt per 17

h. La reazione è stata poi diluita con EtOAc (2 mL), 0,2 M HCl acquoso (1,5 mL) e salamoia (1,5 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (4 x 1,5 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ ed è stato concentrato su 1,5 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 40% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **58**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₅₉F₂N₆O₉S: 873,4; osservato: 873,3. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,72 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,7 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,12 - 5,54 (m, 2H), 5,25 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 5,01 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,50 - 4,30 (m, 3H), 4,13 (dd, *J* = 11,7, 4,2 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,03 - 2,65 (m, 4H), 2,34 - 0,97 (m, 33H), 0,94 - 0,76 (m, 3H), 0,60 - 0,45 (m, 1H), 0,45 - 0,34 (m, 1H).

Esempio **59**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-10-etil-19,19-difluoro-15-metossi-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropano[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **59-1**. Una soluzione di Intermedio **D16** (0,50 g, 1,6 mmoli) in DMF (7 mL) è stata trattata successivamente con COMU (0,80 g, 1,9 mmoli), DIPEA (1,2 mL, 6,7 mmoli) e Intermedio **17-2** (0,65 g, 1,3 mmoli) e agitata durante la notte a rt. La reazione è stata spenta con soluzione 1 M di acido citrico (5 mL) e estratta con EA. Gli estratti organici combinati sono stati lavati con salamoia, seccati su MgSO₄ anidro e concentrati sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (15-100% EA/es) per dare **59-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₅F₂N₄O₇: 741,88; osservato: 741,51.

Passaggio 2. Preparazione di **59-2**. Una soluzione di **59-1** (0,51 g, 0,69 mmoli) in DCE (140 mL) viene irrorata con argon per 30 min prima dell'aggiunta di catalizzatore Zhan 1B (0,051 g, 0,07 mmoli). La reazione è stata riscaldata a 85 °C per 45 min, e un'altra porzione di catalizzatore Zhan 1B è stata aggiunta. Dopo altri 30 min, la reazione è stata raffreddata a rt, concentrata *sotto vuoto* e purificata mediante cromatografia su gel di silice (5-100% EA/es) per produrre **59-2**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₁F₂N₄O₇: 713,83; osservato: 713,54.

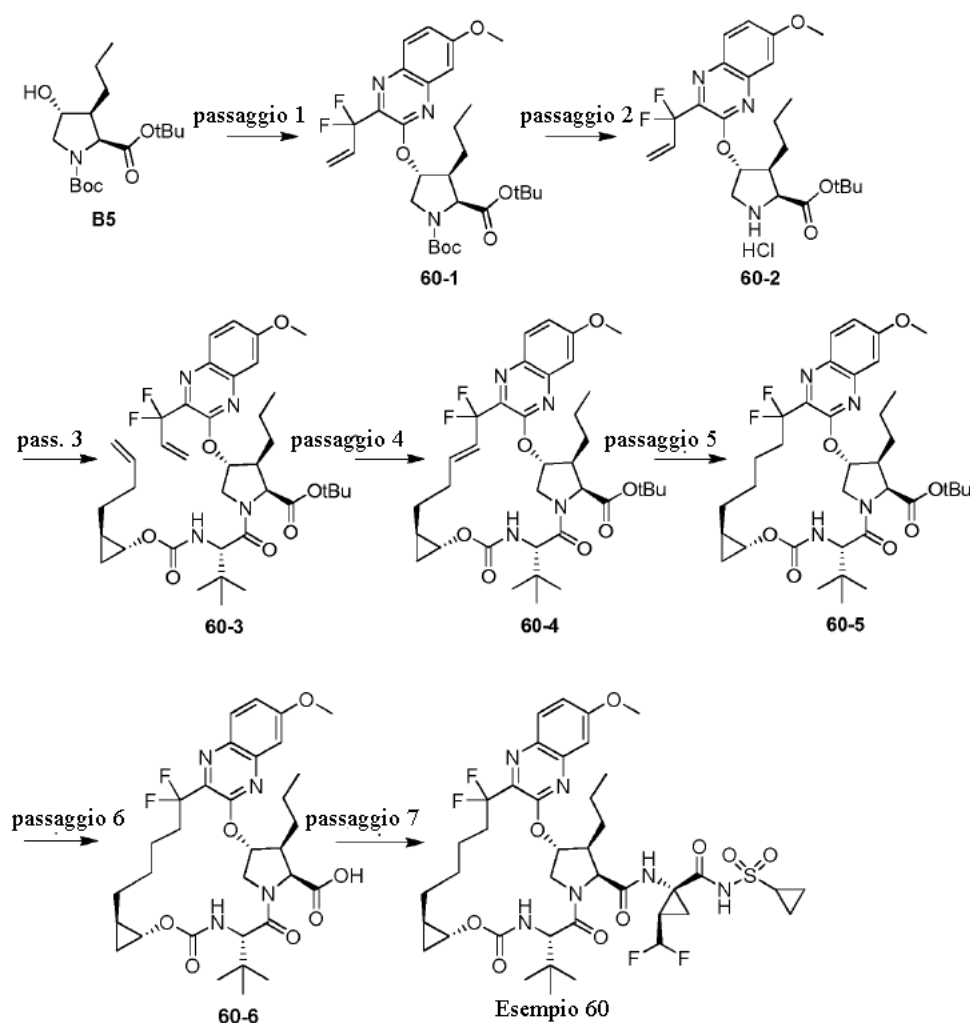
Passaggio 3. Preparazione di **59-3**. Una soluzione di **59-2** è stato ripreso in EtOH (8 mL), Pd/C (0,072 g, 10% p/p) è stato aggiunto e l'atmosfera sostituita con H₂. Dopo 1 h, altro catalizzatore è stato aggiunto. Dopo 4 h, EA e altro catalizzatore è stato aggiunto. Dopo altre 3 h, la reazione è stata filtrata, concentrata sotto vuoto, e il residuo ripreso in EtOH (8 mL) e trattato con 0,5 g Pd/C (10% p/p) e l'atmosfera sostituita con H₂. La reazione è stata agitata durante la notte, e poi elaborata nuovamente come descritto precedentemente per produrre di **59-3** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₃F₂N₄O₇: 715,85; osservato: 715,52.

Passaggio 4. Preparazione di **59-4**. Una soluzione di **59-3** (0,40 g, 0,56 mmoli) in DCM (1,5 mL) è stata trattata con 2,5 mL di TFA a rt. Dopo 1,5 h, la reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo è stato ripreso in EA, lavato con NaHCO₃ acquoso saturo, salamoia e poi seccato su MgSO₄ anidro. Concentrazione *sotto vuoto* produceva **59-4** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₅F₂N₄O₇: 659,74; osservato: 659,56.

Passaggio 5. Preparazione di Esempio **59**: Una soluzione di **59-4** (0,20 g, 0,30 mmoli) in DMF (2 mL) è stata trattata successivamente con HATU (0,21 g, 0,55 mmoli), DIPEA (0,27 mL, 1,5 mmoli), DMAP (0,056 g, 0,46 mmoli), e Intermedio **A9** (0,13 g, 0,46 mmoli) e agitata per 5 h a rt. La miscela di reazione è purificata mediante HPLC preparativa per produrre il sale di TFA di Esempio **59**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,20 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₅F₄N₆O₉S: 895,98; osservato: 895,60. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,31 (s, 1H); 7,94 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,32 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,21 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,98 (s largo, 1H); 5,85 (td, J_{H-F} = 55,2 Hz, J = 6 Hz, 1H); 4,94 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 4,58 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,35 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,33 (s largo, 1H); 4,18 (dd, J = 12, 3,6 Hz, 1H); 3,97 (s largo, 3H); 2,98 (m, 1H); 2,64-2,41 (m, 2H); 2,22

(m, 1H); 2,15-1,92 (m, 4H); 1,84-1,22 (m, 14H); 1,18 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H); 1,14-0,98 (m, 2H); 1,08 (s, 9H); 0,60-0,48 (m, 2H).

Esempio **60**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-9-propil-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossiazaciclonoicodina[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di **60-1**: Ad una soluzione di Intermedio **B5** (160 mg, 0,590 mmoli) e Intermedio **E3** (194 mg, 0,590 mmoli) in MeCN (2,95 mL) è stato aggiunto cesio carbonato (192 mg, 0,590 mmoli) a rt sotto

un'atmosfera di argon. Dopo 24 h, la miscela di reazione è stata poi filtrata attraverso un pannello di Celite e il filtrato concentrato sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare chinossalina sostituita **60-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₉H₄₀F₂N₃O₆: 564,28; osservato: 564,44.

Passaggio 2. Preparazione di **60-2**: Ad una soluzione **60-1** (193 mg, 0,343 mmoli) in *tert*-butil acetato (1,36 mL) è stata aggiunta una soluzione di acido metansolfonico (111 µL, 1,72 mmoli) in diclorometano (0,34 mL) e la reazione è stata agitata a rt. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata diluita con soluzione satura di bicarbonato di sodio (20 mL) e la risultante miscela è stata estratta con etil acetato (2 × 20 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto* per dare ammina cloridrato **60-2**, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₄H₃₂F₂N₃O₄: 464,23; osservato: 464,35.

Passaggio 3. Preparazione di **60-3**: Ad una soluzione di **60-2** (133 mg, 0,289 mmoli) e Intermedio **D11** (133 mg, 0,412 mmoli) in MeCN (1,7 mL) è stato aggiunto HATU (157 mg, 0,412 mmoli) seguito da DIPEA (298 µL, 1,72 mmoli) a rt sotto e atmosfera di argon. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, e il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare ammido **60-3**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₃F₂N₄O₇: 715,38; osservato: 715,55.

Passaggio 4. Preparazione di **60-4**: Ad una soluzione di **60-3** (188 mg, 264 µmoli) in DCE (52,8 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (19,4 mg, 26,4 µmoli) e la miscela di reazione è stata degassata per 10 minuti con argon. La miscela di reazione è stata poi riscaldata a 100 °C. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a rt ed è stata concentrata sotto vuoto. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare macrociclo **60-4**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉F₂N₄O₇: 687,35; osservato: 687,54.

Passaggio 5. Preparazione di **60-5**: Ad una soluzione di macrociclo **60-4** (119 mg, 173 µmoli) in etanolo (1,0 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso, 18,4 mg, 17,3 µmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Il recipiente di reazione è stato evacuato e riempito con 1 atm di idrogeno gassoso (3 ×) e la miscela di reazione è stata agitata

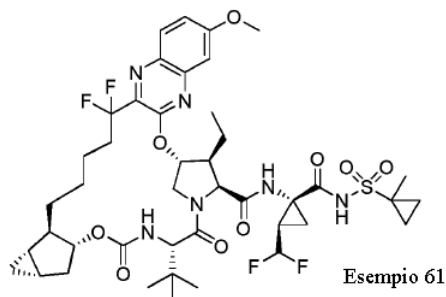
vigorosamente a rt. Dopo 1 h, la miscela di reazione è stata filtrata attraverso un pannello di Celite con lavaggi di etil acetato (3×2 mL). Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare macrociclo **60-5**, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁F₂N₄O₇: 689,36; osservato: 689,56.

Passaggio 6. Preparazione di **60-6**: Ad una soluzione di **60-5** (150 mg, 218 μmoli) in DCM (1,1 mL) è stato aggiunto TMSOTf (197 μL, 1,09 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 2 h, la miscela di reazione è stata trasferita ad una soluzione 0,5 N di NaOH (5 mL) preraffreddata a 0 °C. La risultante miscela è stata acidificata con soluzione 1N di HCl a pH = 2 ed è stata estratta con diclorometano (3×5 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati *sotto vuoto* per dare acido carbossilico **60-6**, che è stato usato direttamente nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₃F₂N₄O₇: 633,30; osservato: 633,49.

Passaggio 7. Preparazione di Esempio **60**: Ad una soluzione di **60-6** (100 mg, 158 μmoli) e Intermedio **A9** (69,0 mg, 237 μmoli) in MeCN (790 μL) è stato aggiunto HATU (91,5 mg, 237 μmoli) seguito da DIPEA (137 μL, 790 μmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 3 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, è stata purificata mediante HPLC preparativa (colonna Gemini 5u C18 110Å, 5-100% MeCN/H₂O, modificatore 0,1% di acido trifluoroacetico) ed è stata liofilizzata per dare Esempio **60** come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,89 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃F₄N₆O₉S: 869,35; osservato: 859,66. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,29 (s largo, 1H), 7,94 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,19 (s largo, 1H), 5,87 (s largo, 1H), 5,84 (td, *J*_{H-F} = 55,8 Hz, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,40 (d, *J* = 12,6 Hz, 1H), 4,36 (s, 1H), 4,17 (dd, *J* = 11,9, 3,4 Hz, 1H), 3,96 (s largo, 4H), 3,68 (s largo, 1H), 3,01 - 2,91 (m, 1H), 2,71 - 2,61 (m, 1H), 2,61 - 2,43 (m, 1H), 2,02 (s largo, 4H), 1,88 - 1,59 (m, 4H), 1,59 - 1,35 (m, 4H), 1,33 - 1,20 (m, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,04 - 0,95 (app t, *J* = 7,0 Hz, 5H), 0,79 - 0,65 (m, 1H), 0,49 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H).

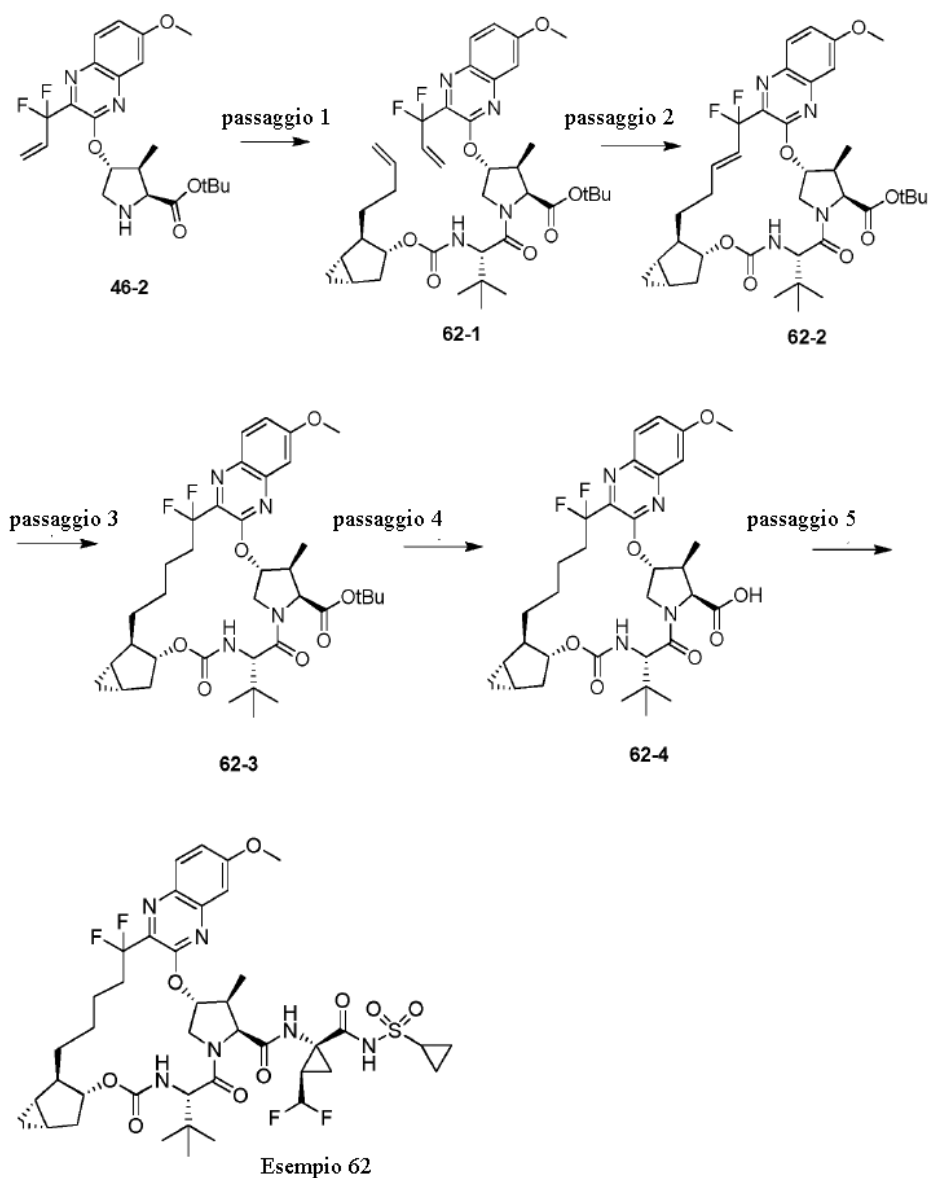
Esempio **61**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butyl-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[1-metilciclopropil]solfonil]carbamoil]ciclopropil]-10-etil-19,19-difluoro-15-metossi-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-

metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Esemplio **61** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **59** sostituendo Intermedio **A10** per Intermedio **A9** in Passaggio 5. Il sale di TFA di Esemplio **61** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,28 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₅₇F₄N₆O₉S: 909,38; osservato: 909,59. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,28 (s, 1H); 7,95 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,33 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,23 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 6,0 (s largo, 1H); 5,83 (s largo, 1H); 5,83 (td, J_{H-F} = 55 Hz, J = 6 Hz, 1H); 4,94 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 4,61 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 4,34 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 4,32 (s largo, 1H); 4,18 (m, 1H); 3,97 (s, 3H); 2,63-2,47 (m, 2H); 2,28-2,17 (m, 1H); 2,12-1,96 (m, 4H); 1,83-1,26 (m, 14H); 1,53 (s, 3H); 1,19 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,08 (s, 9H); 0,94-0,88 (m, 2H); 0,62-0,48 (m, 2H).

Esemplio **62**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-19,19-difluoro-15-metossi-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **Esemplio 62-1**: HATU (214 mg, 0,563 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,30 mL, 1,72 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **46-2** (186 mg, 0,428 mmoli) e Intermedio **D16** (157 mg, 0,508 mmoli) in 10 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-

30% etil acetato in esani) per dare Intermedio **62-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₃F₂N₄O₇: 727,38; osservato: 727,51.

Passaggio 2. Preparazione di **62-2**: Una miscela di **62-1** (275 mg, 0,378 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (34 mg, 0,046 mmoli, Strem) in 75 mL di DCE è stata deossigenata con argon per 17 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a riflusso per 80 minuti. Sono stati aggiunti altri 8 mg di catalizzatore Zhan 1B e la miscela agitata a riflusso per venti minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-25% etil acetato in esani) per dare intermedio **62-2**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₄₉F₂N₄O₇: 699,35; osservato: 669,50.

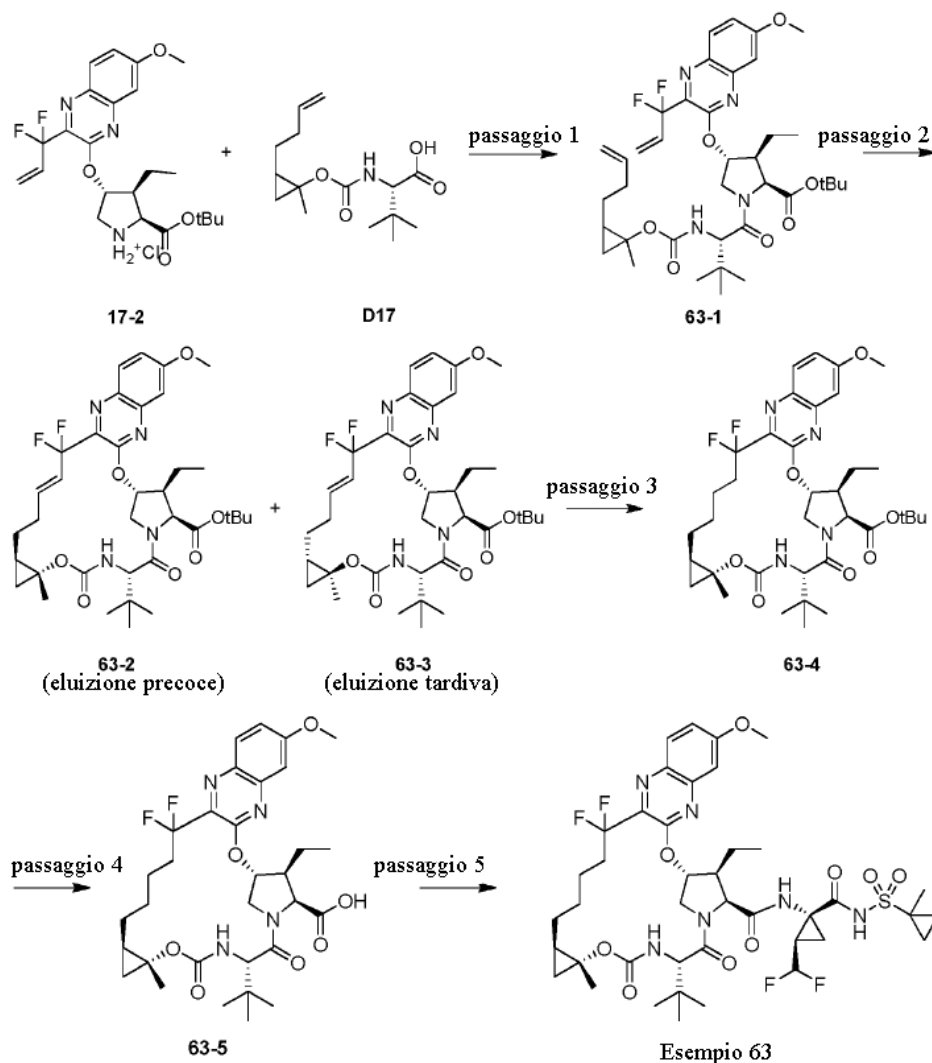
Passaggio 3. Preparazione di miscela di **62-3**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 60 mg, 0,057 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **62-2** (207 mg, 0,297 mmoli) in 7 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la miscela è stata agitata durante la notte. La reazione è stata filtrata su Celite, lavando con etanolo. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare intermedio **62-3**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₁F₂N₄O₇: 701,36; osservato: 701,65.

Passaggio 4. Preparazione di **62-4**: TFA (1,6 mL, 20,9 mmoli) è stato aggiunto lentamente ad una soluzione di **62-3** (202 mg, 0,289 mmoli) in 4,5 mL di diclorometano. Dopo 3,5 ore, miscela è stata concentrata a pressione ridotta quasi ad essiccazione. Il risultante residuo è stato ripreso in 30 mL di etil acetato, lavato con 20 mL di acqua, 20 mL di sat. NaHCO₃ (aq), e separato. Gli strati acquosi sono stati estratti con etil acetato (3 x 20 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con 30 mL di salamoia, seccate su MgSO₄ anidro, filtrate, e concentrate *sotto vuoto* per dare intermedio **62-4**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₃F₂N₄O₇: 645,30; osservato: 645,53.

Passaggio 5. Preparazione di Esempio **62**: HATU (113 mg, 0,297 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,17 mL, 0,978 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **62-4** (120 mg, 0,186 mmoli) e Intermedio **A9** (110 mg, 0,379 mmoli) in 6 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato per durante la notte, la miscela di reazione è stata ripresa in 30 mL di etil acetato e lavata con 20 mL di 1 N HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con etil

acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con 50% salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase inversa (50-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare il sale di acido trifluoroacetico di Esempio **62**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,03 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₃F₄N₆O₉S: 881,35; osservato: 881,57. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,27 (s, 1H), 7,94 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,33 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,27 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,84 (td, J_{H,F} = 56 Hz, J = 6,8 Hz, 1H), 5,75 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,94 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,35 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,32 (s, 1H), 4,22-4,16 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,01-2,94 (m, 1H), 2,81-2,72 (m, 1H), 2,66-2,40 (m, 1H), 2,36-2,28 (m, 1H), 2,10-1,94 (m, 4H), 1,82-1,72 (m, 2H), 1,70-1,22 (m, 10H), 1,14-1,02 (m, 7H), 1,10 (s, 9H), 0,61-0,49 (m, 2H).

Esempio **63**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-1a-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **63-1**: Ammina cloridrato **17-2** (500 mg, 1,03 mmoli) è stata combinata con miscela di intermedi **D17** (378,5 mg, 1,34 mmoli), DIPEA (1,8 mL, 10,3 mmoli) e DMF (3 mL), HATU (587,1 mg, 1,55 mmoli) è stata poi aggiunta alla miscela di reazione, che è stata agitata a temperatura ambiente per 18 ore. La miscela di reazione è stata poi diluita con acqua (20 mL) e 1N HCl (10,5 mL) e ripresa in cloruro di metilene (20 mL). Le fasi organiche sono state separate e lo strato acquoso è stato estratto tre volte con cloruro di metilene (10 mL). Le fasi organiche combinate sono state poi lavate con salamoia, seccate su MgSO_4 , filtrate, e concentrate

sotto vuoto. Residuo grezzo è stato poi purificato tramite cromatografia su gel di silice per dare **63-1** come una miscela 1:1 di diastereomeri. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₃F₂N₄O₇: 715,4; osservato: 715,4.

Passaggio 2. Preparazione di **63-2** e **63-3**: Miscela diastereomerica **63-1** (496 mg, 0,695 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (53,8 mg, 0,0695 mmoli, Strem) sono stati sciolti in 140 mL di DCE anidro e irrorati con N₂ per 30 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a 100 °C per 90 minuti, e un'altra porzione di catalizzatore Zhan 1B è stata aggiunta (54 mg, 0,695 mmoli, Strem). La reazione è stata poi raffreddata a temperatura ambiente e concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato tramite cromatografia su gel di silice (0% fino a 40% etil acetato in esani) per dare singoli diastereomeri **63-2** (frazione ad eluizione precoce) e **63-3** (frazione ad eluizione tardiva). Frazione ad eluizione precoce: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉F₂N₄O₇: 687,4; osservato: 687,2. Frazione ad eluizione tardiva: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉F₂N₄O₇: 687,4; osservato: 687,3.

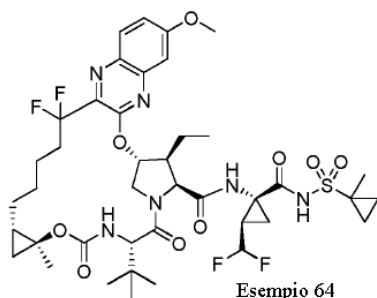
Passaggio 3. Preparazione di **63-4**: Palladio su carbone (10% p/p, 155 mg) è stato aggiunto ad una soluzione di **63-2** (155 mg, 0,226 mmoli) in etanolo (3 mL). La miscela è stata agitata sotto un'atmosfera di idrogeno per 1 ora ed è stata poi filtrata attraverso un tappo di Celite, e lavata con etil acetato. Il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta per dare **63-4**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁F₂N₄O₇: 689,4; osservato: 689,3.

Passaggio 6. Preparazione di **63-5**: Intermedio **63-4** (153,5 mg, 0,222 mmoli) è stato sciolto in una miscela di 1:1 TFA:DCM (6 mL) e agitato a temperatura ambiente per 3 ore. La miscela di reazione è stata poi concentrata *sotto vuoto* per dare **63-5**, che è stato usato nel successivo passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₄N₄O₇: 633,3; osservato: 633,2.

Passaggio 7. Preparazione di Esempio **63**: HATU (99,2 mg, 0,261 mmoli) e DIPEA (271 µL, 2,1 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **63-5** (140,5 mg, 0,222 mmoli) e **A10** (100 mg, 0,316 mmoli) in 1 mL di DMF. Dopo aver agitato durante la notte a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata versata in acqua, acidificata a pH 1 con 1 N HCl acquoso, e estratta tre volte con cloruro di metilene (15 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua, salamoia, seccate su MgSO₄, filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il

risultante residuo è stato purificato mediante HPLC preparativa in fase inversa (5-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare Esempio **63**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,951 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₄N₆O₉S: 883,4; osservato: 883,2. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,96 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,33 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,23 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 6,03 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 5,80 (td, *J* = 55,8, 6,7 Hz, 1H), 4,61 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,46 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,26 - 4,14 (m, 2H), 4,01 - 3,91 (m, 3H), 2,65 - 2,47 (m, 2H), 2,11 - 1,85 (m, 5H), 1,84 - 1,61 (m, 3H), 1,61 - 1,46 (m, 10H), 1,46 - 1,32 (m, 3H), 1,33 - 1,17 (m, 4H), 1,09 (d, *J* = 15,9 Hz, 10H), 1,04 - 0,95 (m, 1H), 0,94 - 0,84 (m, 2H), 0,21 - 0,12 (m, 1H).

Esempio **64**. Preparazione di (1aS,5S,8S,9S,10R,22aS)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-1a-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide

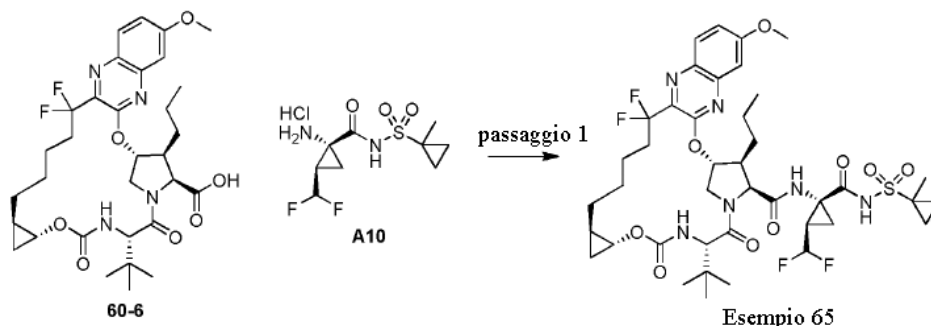


Esempio **64** è stato preparato in maniera simile a Esempio **63**, sostituendo il composto ad eluizione tardiva **63-3** per quello ad eluizione precoce **63-2** in Passaggio 3. Esempio **64** è stato poi isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,535 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 883,4; osservato: 883,3. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,97 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,45 - 7,16 (m, 2H), 5,97 - 5,52 (m, 2H), 4,74 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,50 - 4,16 (m, 1H), 4,06 - 3,86 (m, 5H), 2,77 - 2,57 (m, 1H), 2,51 - 2,18 (m, 2H), 2,16 - 1,86 (m, 5H), 1,75 - 1,32 (m, 16H), 1,33 - 1,03 (m, 14H), 1,02 - 0,76 (m, 2H), 0,42 - -0,09 (m, 1H).

Esempio **65**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-9-propil-

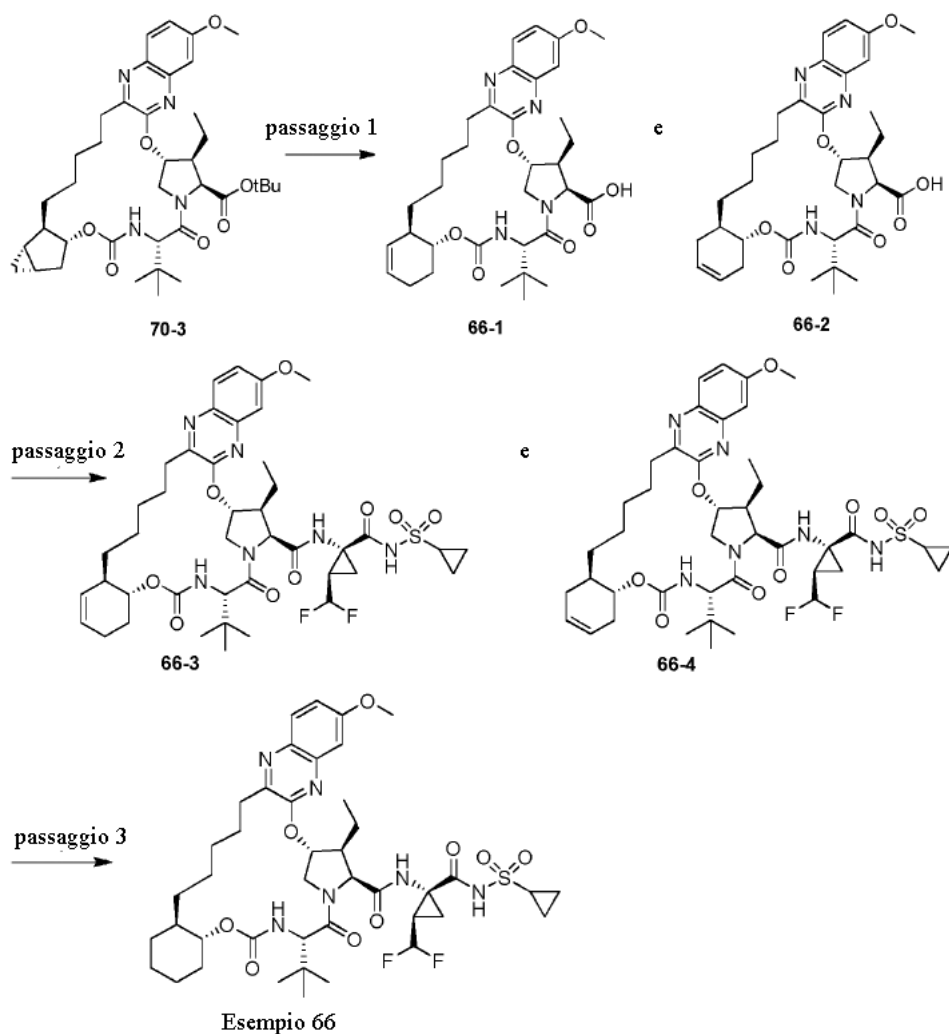
1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide



Passaggio 1. Preparazione di Esemplio **65**: Ad una soluzione di **60-6** (52 mg, 82 μ mol) e Intermedio **A10** (37,5 mg, 123 μ mol) in MeCN (411 μ L) è stato aggiunto HATU (47,5 mg, 123 μ mol) seguito da DIPEA (73 μ L, 411 μ mol) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 20 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, è stata purificata mediante HPLC preparativa (colonna Gemini 5u C18 110A, 5-100% MeCN/H₂O, modificatore 0,1% di acido trifluoroacetico) ed è stata liofilizzata per dare Esemplio **65** come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,99 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₅F₄N₆O₉S: 883,36; osservato: 883,60. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,26 (s, 1H), 7,95 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,33 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,89 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 5,81 (td, *J*_{H-F} = 55,5 Hz, *J* = 6,5 Hz, 1H), 4,59 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,40 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 4,36 (s, 1H), 4,17 (dd, *J* = 12,2, 3,8 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,73 - 3,66 (m, 1H), 2,73 - 2,64 (m, 1H), 2,63 - 2,45 (m, 1H), 2,01 (s largo, 3H), 1,85 - 1,62 (m, 4H), 1,62 - 1,53 (m, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,48 - 1,22 (m, 5H), 1,08 (s, 9H), 1,01 (app t, *J* = 7,3 Hz, 4H), 0,94 - 0,87 (m, 2H), 0,80 - 0,69 (m, 1H), 0,50 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H).

Esemplio **66**. Preparazione di (4aR,8S,11S,12S,13R,25aR)-8-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-12-etil-17-metossi-6,9-diosso-2,3,4,4a,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25a-esadecaidro-1H,11H-10,13-metanochinossalino[2,3-k][1,10,3,6]benzodiossadiazacilononadecin-11-carbossamide.



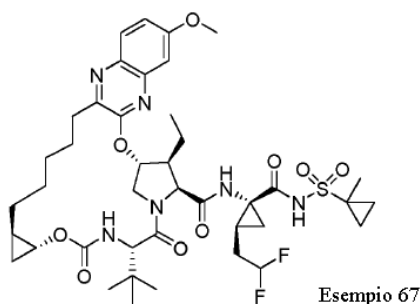
Passaggio 1. Preparazione di **66-1** e **66-2**. Ad una soluzione di Intermedio **70-3** (283 mg, 0,42 mmoli) in CH_2Cl_2 (5 mL) è stato aggiunto TMSOTf (380 μL , 2,1 mmoli). Dopo aver agitato per 2 h, la miscela di reazione è stata versata in 1 N NaOH in agitazione (12 mL). La miscela è stata trasferita ad un imbuto separatore, acidificata a pH 3 con 1N HCl, estratta con CH_2Cl_2 , seccata su solfato di magnesio, e concentrata. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-10% MeOH/EtOAc) per dare una miscela di **66-1** e **66-2**.
LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_7$: 623,34; osservato: 623,66.

Passaggio 2. Preparazione di **66-3** e **66-4**. Ad una soluzione di **66-1** e **66-2** (58 mg, 0,09 mmoli), intermedio **A9** (32 mg, 0,11 mmoli), TBTU (42 mg, 0,13 mmoli) e DMAP (16 mg, 0,14 mmoli) in DMF (3 mL) è stato

aggiunto DIPEA (47 μ L, 0,27 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 23 h. La reazione è stata spenta con acqua, diluita con EtOAc, lavata con sat. NaHCO_3 , salamoia, seccata su solfato di magnesio, e concentrata. Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 30-85% ACN/ H_2O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare il sale di TFA di miscela di Intermedio **66-3** e **66-4**. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$: 859,39; osservato: 859,65.

Passaggio 3. Preparazione di Esempio **66**: A **66-3** e **66-4** (5 mg, 0,005 mmoli) che è stato ripreso in EtOH (2 mL) e trattato con Pd/C (10%, 5 mg). L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e agitata a rt per 2,5 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavata con EtOAc e concentrata. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-10% MeOH/EtOAc) e liofilizzata per dare il composto progenitore. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,15 min, LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$: 862,01; osservato: 862,37. ¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,94 - 7,73 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,87 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 6,05 (m, 2H), 4,83 - 4,74 (m, 1H), 4,70 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,52 - 4,28 (m, 2H), 4,16 (m, 2H), 4,05 - 3,86 (m, 4H), 3,86 - 3,45 (m, 4H), 3,22 - 3,00 (m, 1H), 2,89 (s, 1H), 2,77 - 2,55 (m, 1H), 2,25 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 2,09 - 0,81 (m, 35H).

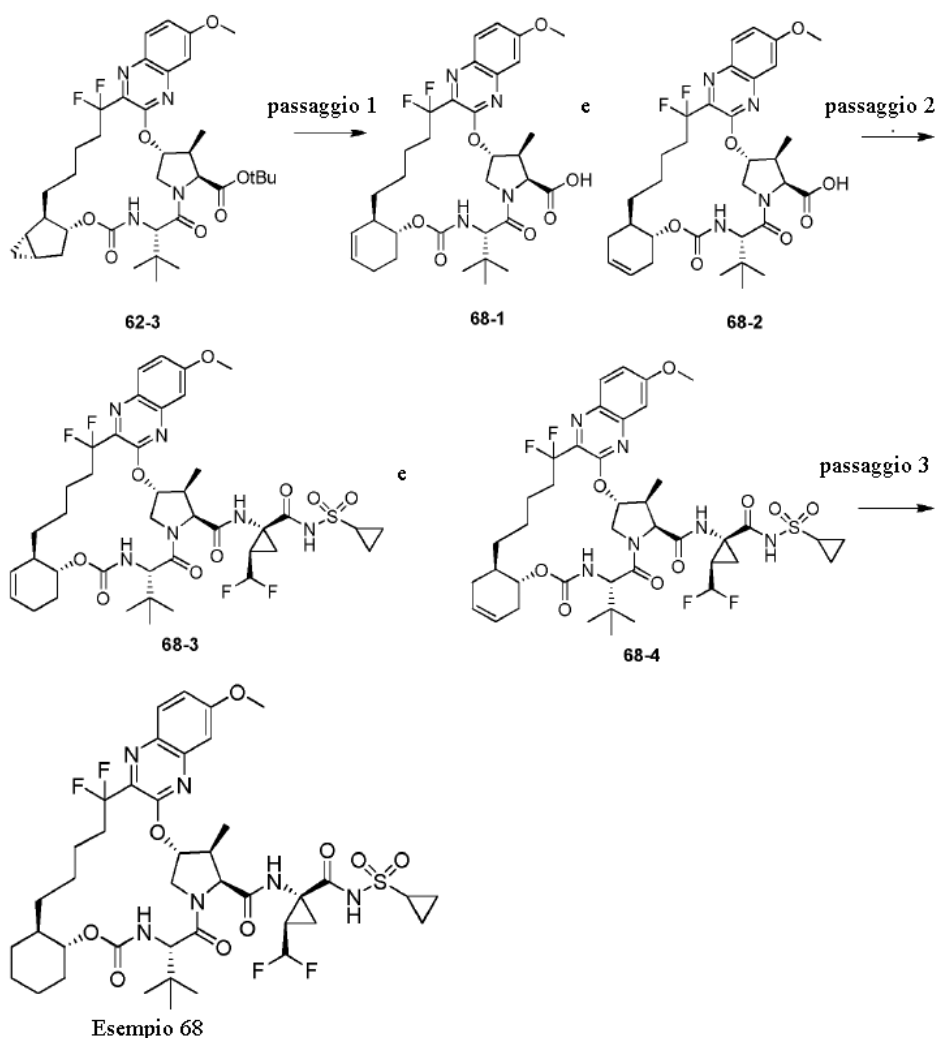
Esempio **67**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2S)-2-(2,2-difluoroetil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **67** è stato preparato in maniera simile a Esempio **1** sostituendo Intermedio **A8** per Intermedio **A10** in Passaggio 8. Il sale di TFA di Esempio **67** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,85 min.

LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,99; osservato: 847,64. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,00 (s, 1H); 7,79 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,23 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,89 (tt, J_{H-F} = 54 Hz, J = 4,4 Hz, 1H); 5,89 (s largo, 1H); 4,61 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,39 (s largo, 1H); 4,37 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 4,16 (dd, J = 9,2 Hz, 7,2 Hz, 1H); 3,92 (s, 3H); 3,78-3,72 (m, 1H); 3,10-2,88 (m, 1H); 2,86-2,74 (td, J = 12, 4,4 Hz, 1H); 2,62-2,53 (m, 1H); 2,18-2,04 (m, 1H); 1,88-1,46 (m, 14H); 1,53 (s, 3H); 1,28-1,20 (m, 4H); 1,10 (s, 9H); 1,02-0,96 (m, 2H); 0,96-0,86 (m, 2H); 0,78-0,67 (m, 1H); 0,54-0,47 (m, 1H).

Esempio **68.** Preparazione di (4aR,8S,11S,12S,13R,25aS)-8-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-21,21-difluoro-17-metossi-12-metil-6,9-diosso-2,3,4,4a,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25a-esadecaidro-1H,11H-10,13-metanochinossalino[2,3-k][1,10,3,6]benzodiossadiazacilononadecin-11-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **68-1** e **68-2** (miscela): TMSOTf (0,6 mL, 3,3 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di intermedio **62-3** (424 mg, 0,606 mmoli) in 7 mL di diclorometano a temperatura ambiente. Dopo 1 ora, altre 0,2 mL di TMSOTf è stato aggiunto. Dopo a total di tre ore, la miscela di reazione è stata concentrata per dare una miscela di isomeri **68-1** e **68-2**, che è stata usata nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₃F₂N₄O₇: 645,30; osservato: 645,49.

Passaggio 2. Preparazione di **68-3** e **68-4** (miscela): HATU (209 mg, 0,550 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,25 mL, 1,43 mmoli) sono stati aggiunti alla miscela di **68-1** e **68-2** dal precedente passaggio (176 mg, 0,273 mmoli) e Intermedio **A9** (161 mg, 0,555 mmoli) in 4 mL di acetonitrile e 2 mL di DMF sotto argon. Dopo un'ora, sono

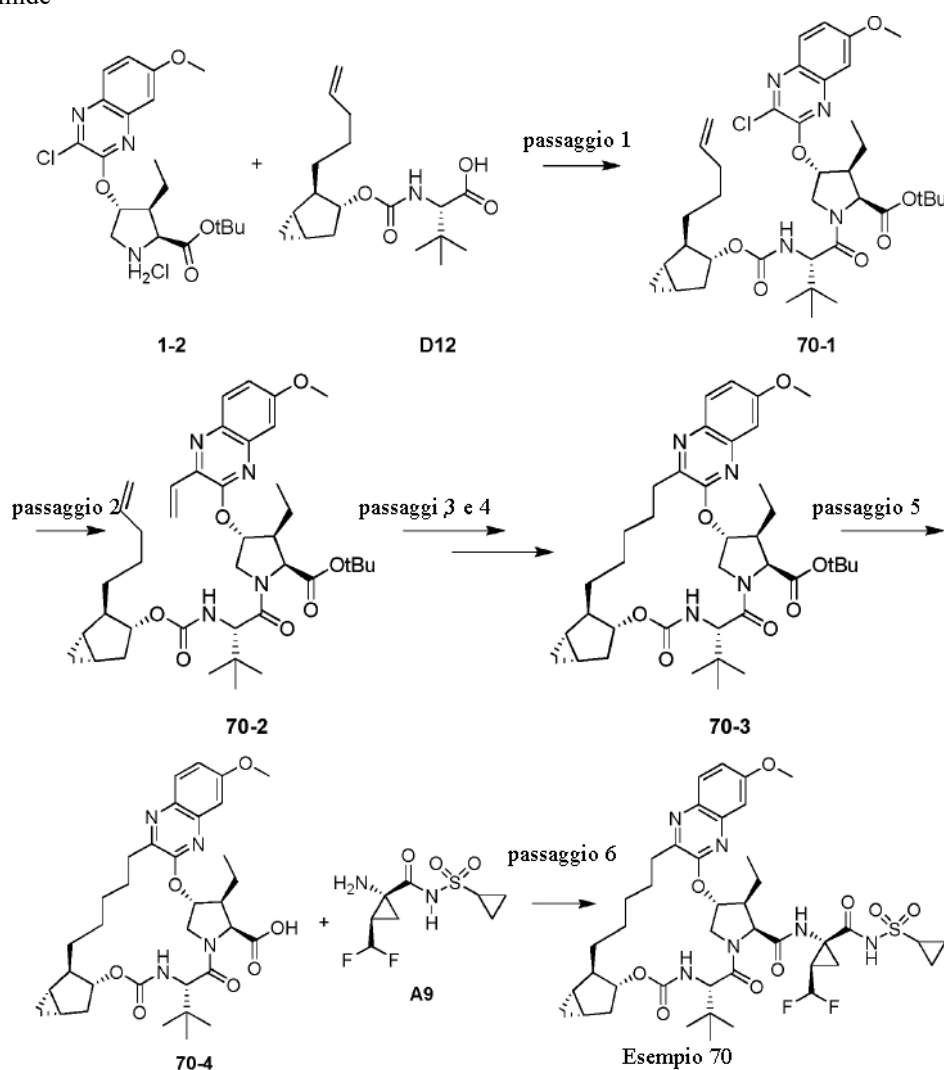
stati aggiunti altri 100 mg di Intermedio **A9**. Dopo due ore, la miscela di reazione è stata ripresa in 30 mL di etil acetato e lavata con 20 mL di 1 N HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con 50% salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase inversa (50-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare i sali di acido trifluoroacetico di una miscela di **68-3** e **68-4**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₃F₄N₆O₉S: 881,35; osservato: 881,50.

Passaggio 3. Preparazione di Esempio **68**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 2 mg, 0,0019 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione della miscela di **68-3** e **68-4** dal precedente passaggio (4,5 mg, 0,0045 mmoli) in 1 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la miscela è stata agitata per due ore. La reazione è stata filtrata su Celite, lavando con etanolo. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare Esempio **68**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,81 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₃F₄N₆O₉S: 883,36; osservato: 883,64. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,94 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,34-7,30 (m, 2H), 6,13 (td, J_{H-F} = 57 Hz, J = 6,8 Hz, 1H), 5,88-5,84 (m, 1H), 4,62 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,38-4,30 (m, 2H), 4,20-4,05 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 2,87-2,76 (m, 2H), 2,34-2,16 (m, 2H), 1,92-1,54 (m, 6H), 1,46-1,36 (m, 3H), 1,34-1,12 (m, 8H), 1,20 (d, J = 7,6 Hz, 3H), 1,08-0,96 (m, 4H), 1,04 (s, 9H), 0,93-0,78 (m, 4H).

Esempio **69**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-{{(1-metilciclopropil)solfonil}carbamoil}ciclopropil]-14-etossi-9-etil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide

mL) e DIPEA (0,075 mL, 0,432 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a RT per 20 h, poi concentrata a pressione ridotta e purificata mediante HPLC in fase inversa per dare Esempio **69** come sale di TFA. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₆F₂N₆O₉S: 846,38; osservato: 847,75.

Esempio **70**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-10-etil-15-metossi-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **70-1**: Ad una soluzione di **1-2** (575 mg, 1,41 mmoli), **D12** (410 mg, 1,26 mmoli) e HATU (696 mg, 1,80 mmoli) in DMF (12 mL) è stato aggiunto DIPEA (1,0 mL, 5,64 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt. Dopo aver agitato per 2 h, altro HATU (350 mg, 0,92 mmoli) e DIPEA (0,5 mL, 2,8 mmoli) è stato aggiunto alla reazione, e la miscela è stata agitata per 14 h. La reazione è stata spenta con soluzione satura di NaHCO₃ e estratta con EtOAc, lavata successivamente con salamoia, seccata su solfato di magnesio e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (10-30% EtOAc/esani) per dare intermedio **70-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₄ClN₄O₇: 713,37; osservato: 713,95.

Passaggio 2. Preparazione di **70-2**: Ad una soluzione di **70-1** (542 mg, 0,76 mmoli), TEA (0,16 mL, 1,14 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (153 mg, 1,14 mmoli) in EtOH (10 mL) è stato aggiunto PdCl₂(dppf) (62 mg, 0,08 mmoli). La reazione è stata degassata con N₂ per 10 min e riscaldata a 80 °C per 1 h. La reazione è stata spenta con soluzione satura di NaHCO₃ e estratta con EtOAc, lavata successivamente con salamoia, seccata su solfato di magnesio e concentrata. Il residuo è stato purificato usando cromatografia su gel di silice (0-20% EtOAc/esani) per dare intermedio **70-2**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₇N₄O₇: 705,42; osservato: 705,05.

Passaggio 3 e 4. Preparazione di **70-3**: Ad una soluzione di **70-2** (470 mg, 0,66 mmoli) in DCE (100 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (49 mg, 0,07 mmoli) e la reazione è stata degassata per 30 minuti con N₂. La reazione è stata riscaldata a 100 °C per 1 h, lasciata raffreddare a rt e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice per dare prodotto (358 mg; LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₃N₄O₇: 677,39; osservato: 677,52) che è stato ripreso in EtOH (6 mL) e EtOAc (2 mL) e trattato con Pd/C (10%, 350 mg). L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e agitata a rt per 1,5 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavata con EtOAc e concentrata (358 mg intermedio **70-3**) che è stata usata successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₅N₄O₇: 679,41; osservato: 679,44.

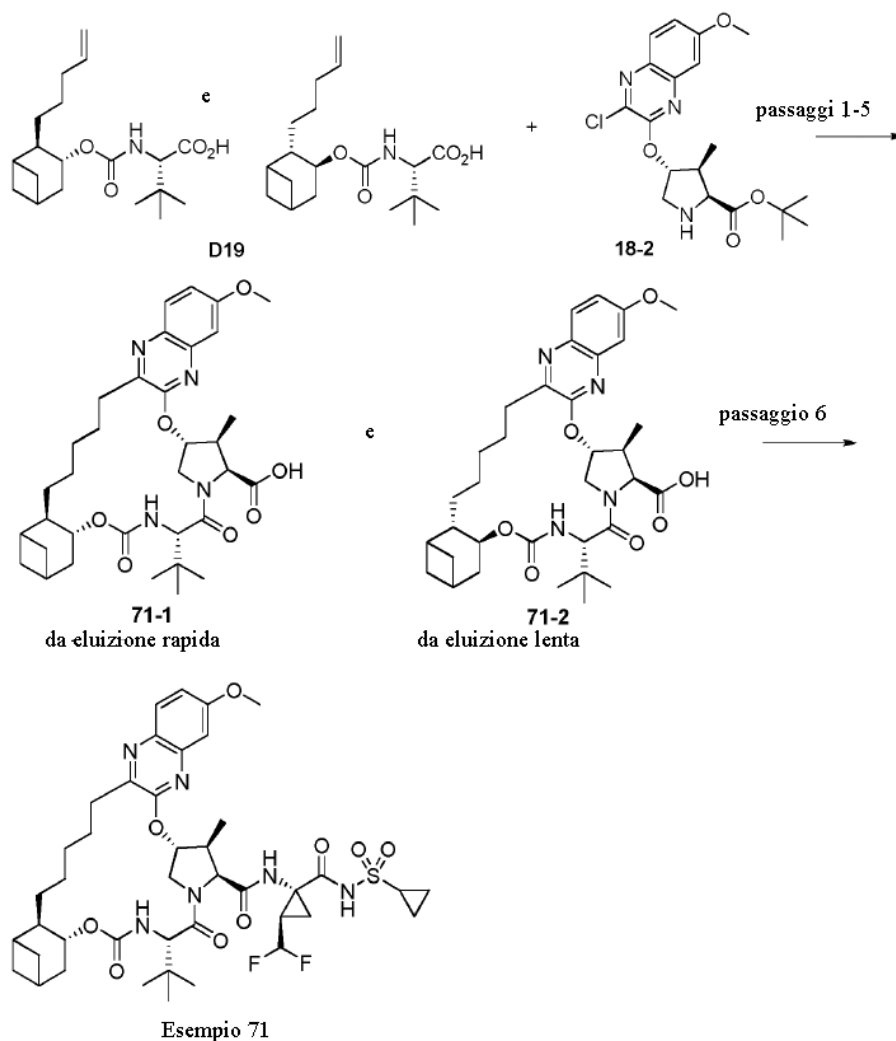
Passaggio 5. Preparazione di **70-4**: Ad una soluzione di **70-3** (100 mg, 0,15 mmoli) in DCM (1 mL) è stato aggiunto TFA (1 mL) e agitata a rt per 2 h. La reazione è stata diluita con EtOAc, lavata con H₂O, basificata a pH 7 con soluzione satura di NaHCO₃, seccata su solfato di magnesio, e concentrata per dare un residuo di

intermedio **70-4** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione LCMS-ESI+ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{34}H_{47}N_4O_7$: 623,34; osservato: 623,44 .

Passaggio 6. Preparazione di Esempio **70**: Ad una soluzione di **70-4** (94 mg, 0,15 mmoli), intermedio **A9** (65 mg, 0,22 mmoli), TBTU (87 mg, 0,27 mmoli) e DMAP (27 mg, 0,22 mmoli) in DCM (3 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,13 mL, 0,75 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 2 h. La reazione è stata spenta con acqua, diluita con EtOAc, lavata con sat. $NaHCO_3$, salamoia, seccata su solfato di magnesio, e concentrata. Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 30-85% ACN/ H_2O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **70** (23 mg) come sale di TFA.

Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,32 min, LCMS-ESI+ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{42}H_{57}F_2N_6O_9S$: 859,39; osservato: 859,54. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9,31 (s, 1H), 7,83 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,26 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 7,20 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,09 - 5,68 (m, 2H), 5,51 (s, 1H), 5,07 - 4,97 (m, 1H), 4,70 - 4,55 (m, 1H), 4,42 - 4,29 (m, 2H), 4,22 (dd, $J = 12,0, 4,1$ Hz, 1H), 3,96 (s, 2H), 3,75 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 3,02 (m, 2H), 2,93 - 2,67 (m, 1H), 2,56 (m, 1H), 2,13 - 1,04 (m, 30H), 1,00 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 0,90 (m, 3H), 0,65 - 0,46 (m, 2H).

Esempio **71**. Preparazione di (4aR,8S,11S,12S,13R,25aR)-8-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-17-metossi-12-metil-6,9-diosso-2,3,4,4a,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25a-esadecaidro-1H,11H-1,3:10,13-dimetanochinossalino[2,3-k][1,10,3,6]benzodiossadiazacilononadecin-11-carbossammide e



Passaggio 1: Ad una soluzione di ammina **18-2** (315 mg, 0,80 mmoli), DIPEA (350 μ L, 2,0 mmoli) e una miscela 1:1 di acidi **D19** (270 mg, 0,80 mmoli) in MeCN (8 mL) è stato aggiunto HATU (400 mg, 1,05 mmoli). La risultante soluzione è stata agitata per 2,5 h a r.t., dopo di che essa è stata diluita con EtOAc (50 mL) e 0,2 N HCl acquoso (30 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata seccata su $MgSO_4$, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (10% fino a 30% EtOAc in esani) forniva 474 mg di un olio incolore che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

Passaggio 2: Una sospensione del prodotto da passaggio 1 (474 mg, ca, 0,65 mmoli), $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$ (40 mg, 0,049 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (189 mg, 1,41 mmoli) in EtOH (8 mL) è stata fatta gorgogliare

con Ar per diversi minuti e Et₃N (200 µL, 1,4 mmoli) è stato aggiunto. La risultante miscela è stata riscaldata sotto Ar a 75 °C tramite bagno d'olio. Dopo aver agitato 2,25 h, la miscela di reazione è stata raffreddata a r.t. ed è stata diluita con EtOAc (35 mL) e salamoia semi-satura (20 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice forniva un olio giallo che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

Passaggio 3: Una soluzione del prodotto da Passaggio 3 (395 mg, 0,56 mmoli) in 1,2-DCE (180 mL) è stata fatta gorgogliare con Ar per 10 min. Catalizzatore di metatesi Zhan 1B (61 mg, 0,083 mmoli) è stato poi aggiunto come una soluzione in DCE (4 mL), e la risultante soluzione è stata riscaldata a 85 °C. Dopo aver agitato 1,75 h, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, concentrata su gel di silice (5 g), e purificata mediante cromatografia su gel di silice (10 to 15 fino a 25% EtOAc in esani) per dare 116 mg di un prodotto ad eluizione rapida e 84 mg di un prodotto ad eluizione lenta.

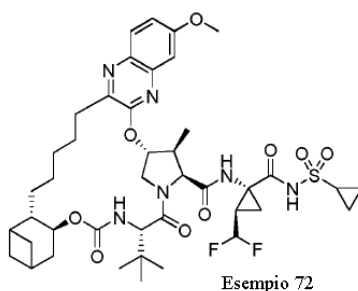
Passaggio 4-5 (diastereomero ad eluizione rapida): Il prodotto ad eluizione rapida da Passaggio 3 è stato sciolto in 1:1 EtOAc:EtOH (4 mL), Pd/C (10% in peso Pd, 45 mg) è stato aggiunto, e il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con 1 atm H₂. La miscela di reazione è stata agitata per 2,5 h sotto 1 atm H₂ ed è stata poi filtrata attraverso celite con EtOAc per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ (1 mL) ed è stato trattato con TFA (2 mL). Dopo aver agitato 2 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto ed è stata ripartita tra EtOAc (15 mL) e 15% NaHCO₃ acquoso saturo (10 mL). Le fasi sono state separate, e la fase organica è stata lavata con salamoia (10 mL), seccati su Na₂SO₄, e filtrata per fornire **71-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₇N₄O₇: 623,3; osservato: 623,2.

Passaggio 4-5 (diastereomero ad eluizione lenta): Il prodotto ad eluizione lenta da Passaggio 3 è stato sciolto in EtOAc (1 mL) e EtOH (7 mL), Pd/C (10% in peso Pd, 85 mg) è stato aggiunto, e il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con 1 atm H₂. La miscela di reazione è stata agitata per 3 h sotto 1 atm H₂ ed è stata poi filtrata attraverso celite con EtOAc per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ (1 mL) ed è stato trattato con TFA (2 mL). Dopo aver agitato 2 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto ed è stata ripartita tra EtOAc (15 mL) e 15% NaHCO₃ acquoso saturo (10 mL). Le fasi sono state separate, e la

fase organica è stata lavata con salamoia (10 mL), seccata su Na₂SO₄, e filtrata per fornire **71-2**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₄H₄₇N₄O₇: 623,3; osservato: 623,2.

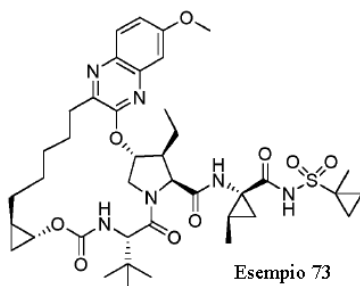
Passaggio 6: Preparazione di Esempio **71**: Ad una sospensione di acido **71-1** (49 mg, 0,079 mmoli) e ammina cloridrato **A9** (41 mg, 0,14 mmoli) in MeCN (1 mL) è stato aggiunto DIPEA (100 µL, 0,57 mmoli), HATU (45 mg, 0,12 mmoli) è stato aggiunto alla soluzione risultante, e la reazione è stata agitata a rt per 14,5 h. La reazione è stata poi diluita con EtOAc (20 mL), 0,2 M HCl acquoso (10 mL) e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ ed è stato concentrato su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (4% fino a 45% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **71**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₇F₂N₆O₉S: 859,4; osservato: 859,1. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,13 (s, 1H), 7,81 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,19 (dd, *J* = 9,1, 2,8 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 5,97 (td, *J* = 55,5, 6,9 Hz, 1H), 5,59 - 5,45 (m, 2H), 4,96 (dd, *J* = 14,4, 6,2 Hz, 1H), 4,51 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,42 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 4,13 (dt, *J* = 12,0, 7,7 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 2,99 - 2,63 (m, 4H), 2,40 - 2,23 (m, 2H), 2,15 - 0,83 (m, 34H).

Esempio **72**. Preparazione di (4*a*S,8*S*,11*S*,12*S*,13*R*,25*a*S)-8-terz-butil-N-[(1*R*,2*R*)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-17-metossi-12-metil-6,9-diosso-2,3,4,4*a*,6,7,8,9,12,13,21,22,23,24,25,25*a*-esadecaidro-1*H*,11*H*-1,3:10,13-dimetanochinossalino[2,3-*k*][1,10,3,6]benzodiossadiazacilononadecin-11-carbossammide.



Passaggio 1: Preparazione di Esempio **72**: Ad una sospensione di acido **71-2** (49 mg, 0,079 mmoli) e ammina cloridrato **A9** (38 mg, 0,13 mmoli) in MeCN (1 mL) è stato aggiunto DIPEA (100 µL, 0,57 mmoli), HATU (41 mg, 0,11 mmoli) è stato aggiunto alla soluzione risultante, e la reazione è stata agitata a rt per 14,5 h. La reazione è stata poi diluita con EtOAc (20 mL), 0,2 M HCl acquoso (10 mL) e salamoia (10 mL). Le fasi sono state separate e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄, filtrata, e concentrata per dare un residuo grezzo. Questo residuo è stato sciolto in CH₂Cl₂ ed è stato concentrato su 2 g di gel di silice. Purificazione mediante cromatografia su gel di silice (4% fino a 45% acetone in esani) forniva un residuo amorfo che è stato liofilizzato da acqua e MeCN per fornire Esempio **72**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₇F₂N₆O₉S: 859,4; osservato: 859,0. 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,72 (s, 1H), 9,36 (s, 1H), 7,86 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,28 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 7,25 - 7,17 (m, 2H), 5,98 - 5,88 (m, 1H), 5,69 (td, *J* = 55,4, 6,9 Hz, 1H), 4,81 - 4,69 (m, 1H), 4,68 - 4,56 (m, 2H), 4,33 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,35 (dd, *J* = 9,7, 7,0 Hz, 1H), 3,24 - 3,13 (m, 1H), 2,97 - 2,87 (m, 1H), 2,87 - 2,72 (m, 2H), 2,57 - 2,45 (m, 1H), 2,38 - 2,28 (m, 1H), 2,17 - 0,71 (m, 34H).

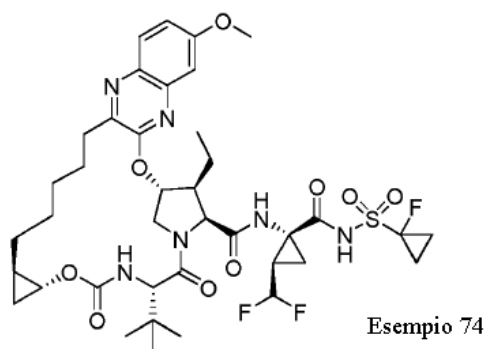
Esempio **73**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-9-etil-14-metossi-N-[(1R,2R)-2-metil-1-[[[1-metilciclopropil]solfonil]carbamoil]ciclopropil]-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclonoadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **73** è stato preparato in maniera simile a Esempio **1** sostituendo Intermedio **A11** per Intermedio **A10** in Passaggio 8. Il sale di TFA di Esempio **73** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,72 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₇N₆O₉S: 797,98; osservato: 797,54. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ

8,84 (s, 1H); 7,79 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,22 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,13 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,87 (d, J = 3,2 Hz, 1H); 4,57 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,39 (s largo, 1H); 4,37 (d largo, J = 10 Hz, 1H); 4,15 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H); 3,92 (s, 3H); 3,74 (m, 1H); 3,10-2,88 (m, 1H); 2,80 (td, J = 12,4, 4 Hz, 1H); 2,58 (m, 1H); 1,89-1,66 (m, 3H); 1,66-1,38 (m, 11H); 1,52 (s, 3H); 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,16 (d, J = 6 Hz, 3H); 1,10 (s, 9H); 1,02-0,84 (m, 4H); 0,78-0,66 (m, 1H); 0,55-0,20 (m, 1H).

Esempio 74. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-fluorociclopropil)solfonil]carbamoil}ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.

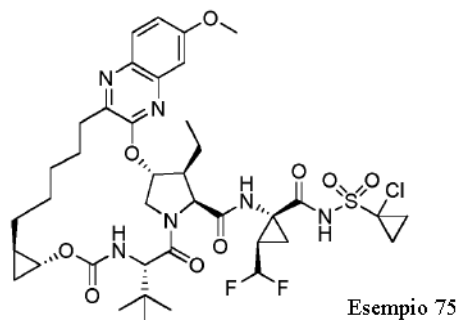


Esempio 74 è stato preparato in maniera simile a **Esempio 1** sostituendo **Intermedio A12** per **Intermedio A10** in **Passaggio 8**. Il sale di TFA di **Esempio 74** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,81 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₂F₃N₆O₉S: 837,35; osservato: 837,54. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,26 (s, 1H); 7,79 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,22 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,14 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,89 (d, J = 3,6 Hz, 1H); 5,82 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 6,4 Hz, 1H); 4,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,39 (s, 1H); 4,38 (d, J = 12 Hz, 1H); 4,16 (dd, J = 12, 7,2 Hz, 1H); 3,92 (s, 3H); 3,78-3,72 (m, 1H); 3,10-2,89 (m, 1H); 2,80 (td, J = 12, 4 Hz, 1H); 2,63-2,54 (m, 1H); 2,02 (m, 2H); 1,95-1,66 (m, 3H); 1,66-1,36 (m, 9H); 1,22 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,14-1,04 (m, 2H); 1,09 (s, 9H); 1,04-0,92 (m, 2H); 0,78-0,68 (m, 1H); 0,57-0,46 (m, 1H).

Esempio 75. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-1-[(1-clorociclopropil)solfonil]carbamoil}-2-(difluorometil)ciclopropil]-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-

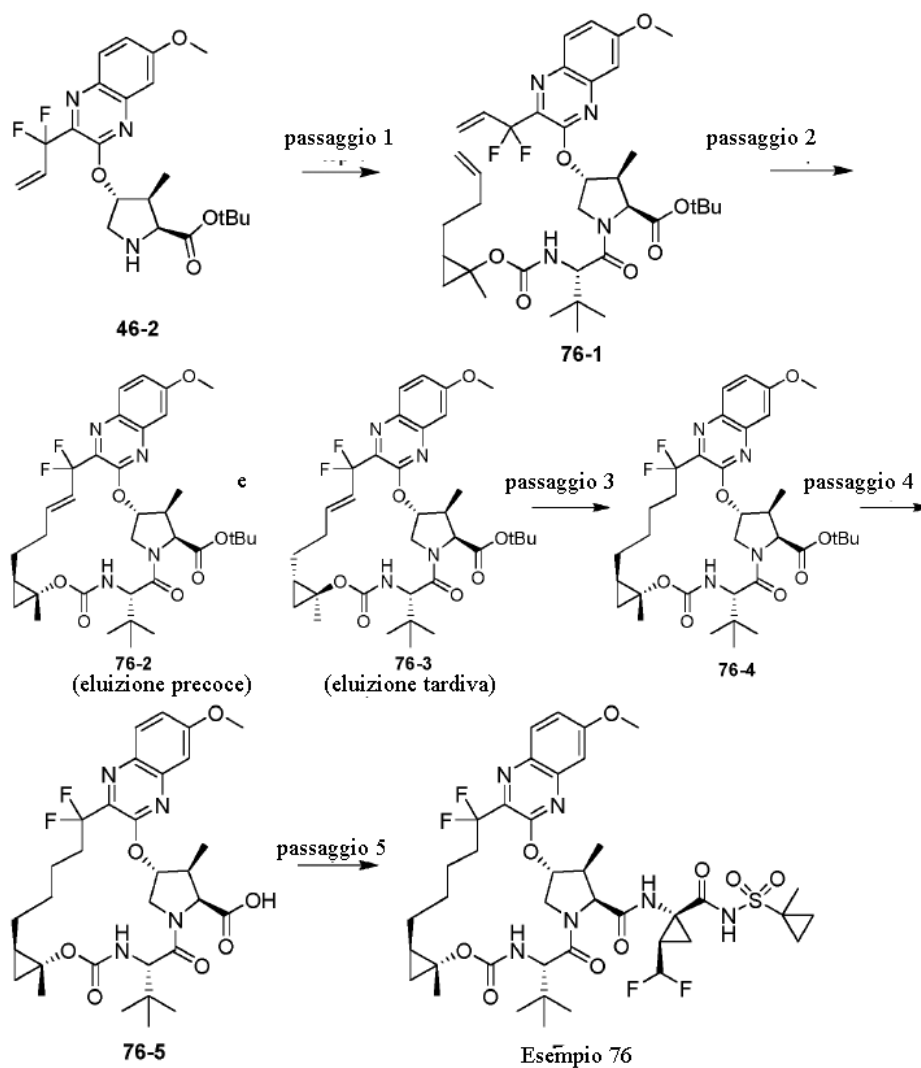
1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-

metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Esempio **75** è stato preparato in maniera simile a Esempio **1** sostituendo Intermedio **A13** per Intermedio **A10** in Passaggio 8. Il sale di TFA di Esempio **75** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,89 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₂ClF₂N₆O₉S: 853,32; osservato: 853,94. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,24 (s, 1H); 7,79 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,22 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,13 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,88 (d, J = 3,2 Hz, 1H); 5,84 (td, J_{H-F} = 55,6 Hz, J = 6,8 Hz, 1H); 4,57 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 4,39 (s largo, 1H); 4,38 (d, J = 12 Hz, 1H); 4,16 (dd, J = 12, 7,2 Hz, 1H); 3,92 (s, 3H); 3,77-3,73 (m, 1H); 3,00-2,88 (m, 1H); 2,86-2,75 (m, 1H); 2,64-2,54 (m, 1H); 2,10-1,90 (m, 4H); 1,90-1,37 (m, 12H); 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,10 (s, 9H); 1,02-0,96 (m, 2H); 0,78-0,64 (m, 1H); 0,56-0,45 (m, 1H).

Esempio **76**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18,18-difluoro-14-metossi-1a,9-dimetil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.



Passaggio 1. Preparazione di **76-1**: HATU (502 mg, 1,32 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,70 mL, 4,02 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **46-2** (434 mg, 0,998 mmoli) e Intermedio **D17** (350 mg, 1,24 mmoli) in 16 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-25% etil acetato in esani) per dare **76-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₁F₂N₄O₇: 701,36; osservato: 701,57.

Passaggio 2. Preparazione di **76-2** e **76-3**: Una miscela di diastereomeri **76-1** (550 mg, 0,786 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (69 mg, 0,094 mmoli, Strem) in 157 mL di DCE è stata deossigenata sotto argon per 25 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a riflusso per 90 minuti, Altre 35 mg di catalizzatore Zhan 1B è stato aggiunto e la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso per 45 minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-35% etil acetato in esani) per dare singoli diastereomeri **76-2** (componente ad eluizione precoce) come una pellicola solida bianca e **76-3** (componente ad eluizione tardiva) come una pellicola solida marrone. Eluizione precoce **76-2**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₇F₂N₄O₇: 673,33; osservato: 673,45. Eluizione tardiva **76-3**: LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₇F₂N₄O₇: 673,33; osservato: 673,47.

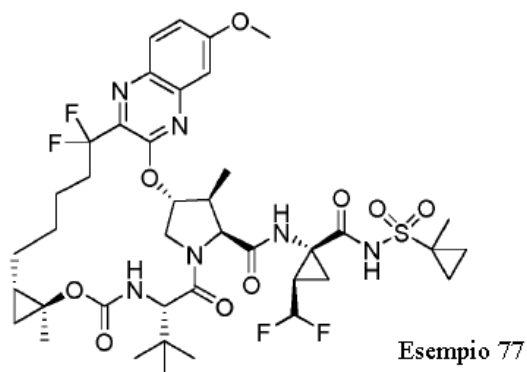
Passaggio 3. Preparazione di **76-4**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 51 mg, 0,048 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **76-2** (175 mg, 0,260 mmoli) in 9 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la reazione agitata durante la notte. La miscela di reazione è stata filtrata su Celite e lavata con etanolo. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare **76-4**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₉F₂N₄O₇: 675,35; osservato: 675,53.

Passaggio 4. Preparazione di **76-5**: TFA (1,2 mL, 15,6 mmoli) è stato aggiunto lentamente ad una soluzione di **76-4** (155 mg, 0,230 mmoli) in 3,4 mL di diclorometano. Dopo 4 ore, miscela è stata concentrata a pressione ridotta quasi ad essiccazione. Il risultante residuo è stato ripreso in 25 mL di etil acetato, lavato con 15 mL di acqua, 15 mL di sat. NaHCO_{3(aq)}, e separato. Gli strati acquosi sono stati estratti con etil acetato (3 x 20 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con 30 mL di salamoia, seccate su MgSO₄ anidro, filtrate, e concentrate *sotto vuoto* per dare **76-5**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₁H₄₁F₂N₄O₇: 619,29; osservato: 619,44.

Passaggio 5. Preparazione di Esempio **76**: HATU (160 mg, 0,421 mmoli) e DIPEA (0,20 mL, 1,15 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **76-5** (140 mg, 0,226 mmoli) e Intermedio **A10** (139 mg, 0,457 mmoli) in 7,5 mL di MeCN sotto argon. Dopo aver agitato per durante la notte, la miscela di reazione è stata ripresa in 30 mL di etil acetato e lavata con 20 mL di 1 N HCl acquoso. Gli strati sono stati separati e quello acquoso è stato estratto

tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con salamoia, seccate su MgSO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-45% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase inversa (50-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare il sale di acido trifluoroacetico di Esempio 76 (Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,80 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃F₄N₆O₉S: 869,35; osservato: 869,59. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 9,19 (s, 1H), 7,94 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,32 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,27 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,78 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 7,2 Hz, 1H), 5,76-5,74 (m, 1H), 4,56 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,48 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,27-4,19 (m, 1H), 4,22 (s, 1H), 3,97 (s, 3H), 2,76-2,70 (m, 1H), 2,62-2,43 (m, 1H), 2,14-1,94 (m, 3H), 1,90-1,80 (m, 1H), 1,80-1,62 (m, 3H), 1,56-1,52 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,41-1,36 (m, 1H), 1,27-1,18 (m, 1H), 1,11 (s, 9H), 1,09-1,04 (m, 5H), 1,03-0,94 (m, 2H), 0,87-0,81 (m, 3H), 0,17-0,12 (m, 1H).

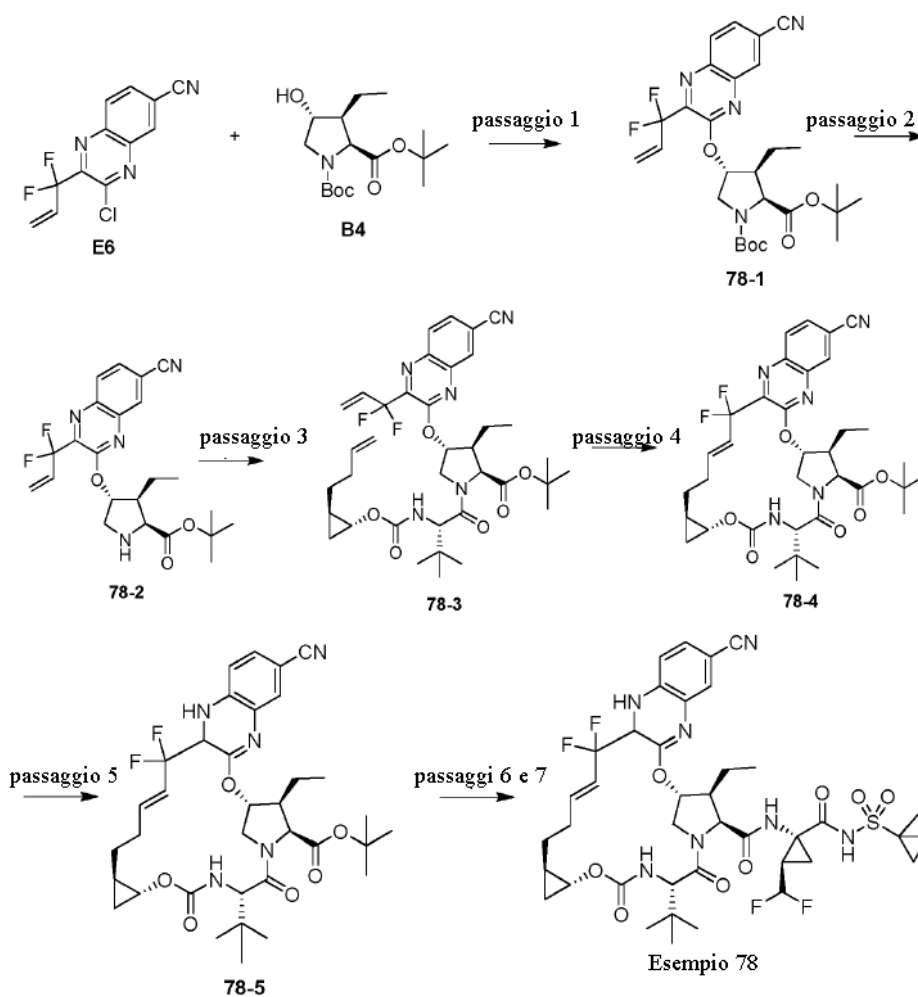
Esempio 77. Preparazione di (1aS,5S,8S,9S,10R,22aS)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18,18-difluoro-14-metossi-1a,9-dimetil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio 77 è stato preparato in maniera simile a Esempio 76, sostituendo il composto ad eluizione tardiva 76-3 per quello ad eluizione precoce 76-2 in passaggio 3. Esempio 76 è stato poi isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,46 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃F₄N₆O₉S: 869,35; osservato: 869,53. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7,95 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 6,58-6,54 (m, 1H), 5,75 (td, J_{H-F} = 55 Hz, J = 6,8 Hz, 1H), 5,54-5,50 (m, 1H), 4,65 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 4,46 (d, J = 12,8 Hz, 1H),

4,26-4,18 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 2,92-2,71 (m, 1H), 2,50-1,94 (m, 6H), 1,68-1,57 (m, 2H), 1,56-1,52 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,50-1,47 (m, 1H), 1,46-1,38 (m, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,27-1,18 (m, 2H), 1,17-1,01 (m, 3H), 1,09 (s, 9H), 0,94-0,82 (m, 4H), 0,17-0,12 (m, 1H).

Esempio **78**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,19E,22aR)-5-terz-butil-14-ciano-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,17,17a,18,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono[nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossamide.

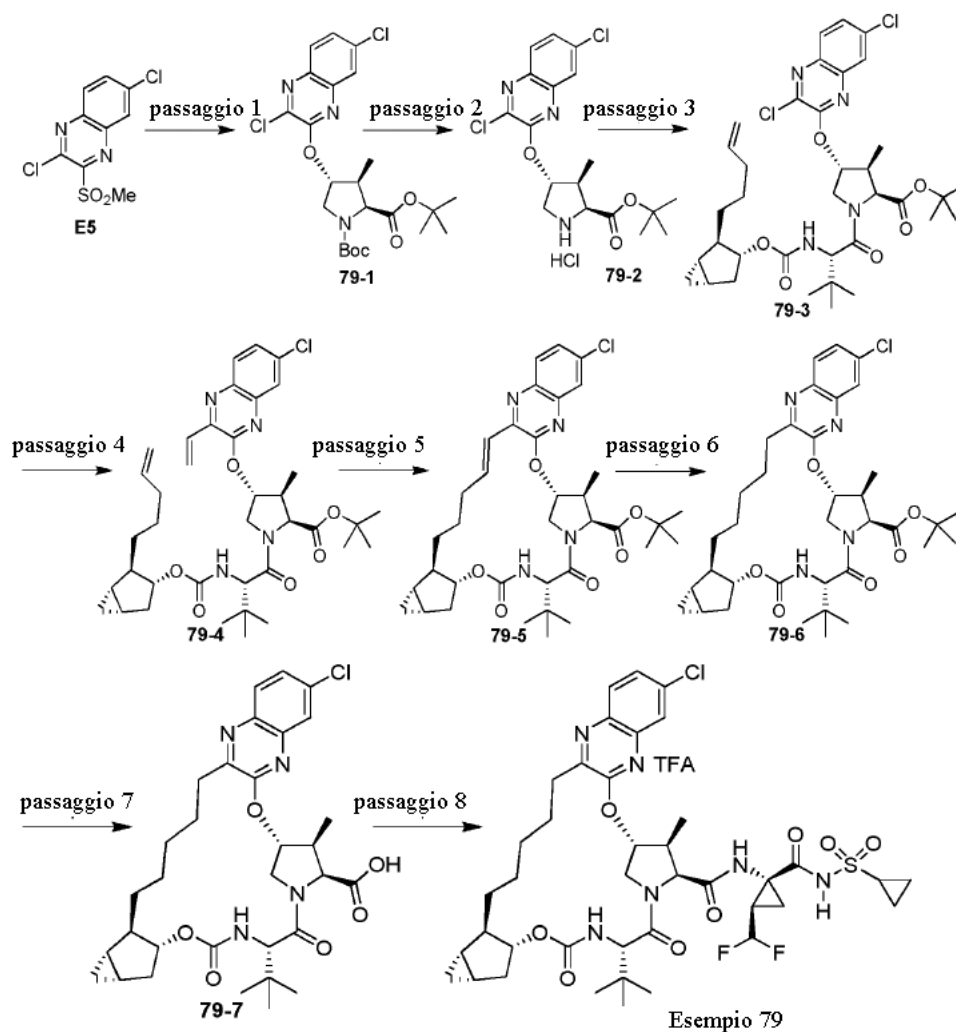


Passaggi 1-4, Intermedio **78-4** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **17-4**, usando **E6** al posto di **E3**.

Passaggio 5: Ad una soluzione di **78-4** (90 mg, 0,135 mmoli) in EtOH (0,7 mL) è stato aggiunto NaBH₄ (21 mg, 0,54 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a rt per 1 h. Dopo di che la miscela di reazione è stata filtrata attraverso un pannello di celite e concentrata per dare intermedio **78-5**, che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₅F₂N₅O₆ : 669,76; osservato: 669,73.

Passaggi 6 e 7: Preparazione di **Esempio 78**: Ad una soluzione di **78-5** (35 mg, 0,31 mmoli) in DCM (0,4 mL), TFA (0,2 mL) è stato aggiunto e la miscela è stata agitata a 20 °C per 3 h. I solventi sono stati rimossi *sotto vuoto* per dare un residuo è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. Ad una sospensione di questo residuo (33 mg, 0,05 mmoli) e Intermedio **A10** (27 mg, 0,1 mmoli) in DCM (0,3 mL) è stato aggiunto TBTU (26 mg, 0,08 mmoli) e DIPEA (35 µL, 0,2 mmoli) a rt. Dopo 1h, la soluzione è stata direttamente purificata mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini 5u C18 110A, 50-100% ACN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare il sale di TFA di **Esempio 78**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 7,994 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₄₉F₄N₇O₈S: 863,92; osservato: 864,20.. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,35 (s, 1H), 7,29 (d, 1H), 7,18 (dd, 1H), 6,64 (d, 1H), 6,01-5,82 (m, 2H), 5,41 (m, 2H), 4,57 - 4,07 (m, 5H), 3,52 (m, 1H), 2,55-2,28 (m, 2H), 2,06 - 1,98 (m, 2H), 1,85 (m, 1H), 1,69 - 1,37 (m, 9H), 1,33 (m, 2H), 1,06-0,87 (m, 16H), 0,70 (m, 2H), 0,49 (m, 1H).

Esempio 79. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butyl-15-cloro-N-[(1R,2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropa[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **79-1**. Solfonil chinossalina **E5** (920 mg, 3,32 mmoli) è stata sospesa in MeCN (17 mL), poi trattata con intermedio **B1** (1,00 g, 3,32 mmoli) e Cs₂CO₃. Dopo 17 h, la miscela di reazione è stata filtrata su celite e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (10% fino a 30% EtOAc/Es) per dare etere **79-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M-Boc+2H]⁺ calc. per C₁₈H₂₂Cl₂N₃O₃: 398,10; osservato: 398,12.

Passaggio 2. Preparazione di **79-2**, *terz*-Butil carbammato **79-1** (513 mg, 1,03 mmoli) è stato sciolto in DCM (10 mL) e trattato con HCl (4,0 mL in diossano, 5 mL, 20 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a RT per 1,5

h, poi concentrata a pressione ridotta per dare ammina cloridrato **79-2**, che è stato portato avanti senza purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₈H₂₂Cl₂N₃O₃: 398,10; osservato: 398,16.

Passaggio 3. Preparazione di **79-3**, Ammina cloridrato **79-2** (1,03 mmoli teoriche) e intermedio **D12** (336 mg, 1,04 mmoli) sono stati combinati e trattati con BEP (285 mg, 1,04 mmoli), EtOAc (9 mL), NMP (1 mL) e DIPEA (0,90 mL, 5,2 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a 50 °C per 3 h, poi raffreddata a RT. Dopo altre 15 h, la miscela di reazione è stata diluita con EtOAc. La soluzione organica è stata lavata con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (10% fino a 25% EtOAc/Es) per dare ammine **79-3**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉Cl₂N₄O₆: 703,30; osservato: 703,91.

Passaggio 4. Preparazione di **79-4**. Cloro chinossalina **79-3** (541 mg, 0,769 mmoli) è stata trattata con potassio viniltrifluoroborato (154 mg, 1,15 mmoli), Pd(dppf)Cl₂ addotto con diclorometano (63 mg, 0,077 mmoli), EtOH (8 mL) e trietilammina (0,16 mL, 1,15 mmoli). La miscela agitata è stata riscaldata a riflusso per 1 h, poi raffreddata a RT e diluita con EtOAc. La soluzione organica è stata lavata con NaHCO₃ acquoso saturo e salamoia, poi seccata su MgSO₄, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (10% fino a 30% EtOAc/Es) per dare vinil chinossalina **79-4**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₅₂ClN₄O₆: 695,36; osservato: 695,10.

Passaggio 5. Preparazione di **79-5**. Vinil chinossalina **79-4** (390 mg, 0,561 mmoli) è stata trattata con DCE (112 mL) e catalizzatore Zhan-B (38 mg, 0,0561 mmoli). La miscela agitata è stata degassata con gorgogliamento N₂ per 25 min, poi riscaldata a riflusso sotto un'atmosfera di Ar. Dopo 1,5 h, la miscela è stata raffreddata a RT e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (10% fino a 30% EtOAc/Es) per dare macrociclo **79-5**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₈ClN₄O₆: 667,33; osservato: 667,86.

Passaggio 6. Preparazione di **79-6**. Macrociclo **79-5** (198 mg, 0,297 mmoli) è stato trattato con EtOAc (100 mL) e 5% Rh/allumina (100 mg). H₂ gas è stato fatto gorgogliare attraverso la soluzione per 1 min e la miscela di reazione è stata agitata a RT sotto un'atmosfera di H₂. Dopo 45 min, è stata aggiunta un'altra porzione di 5%

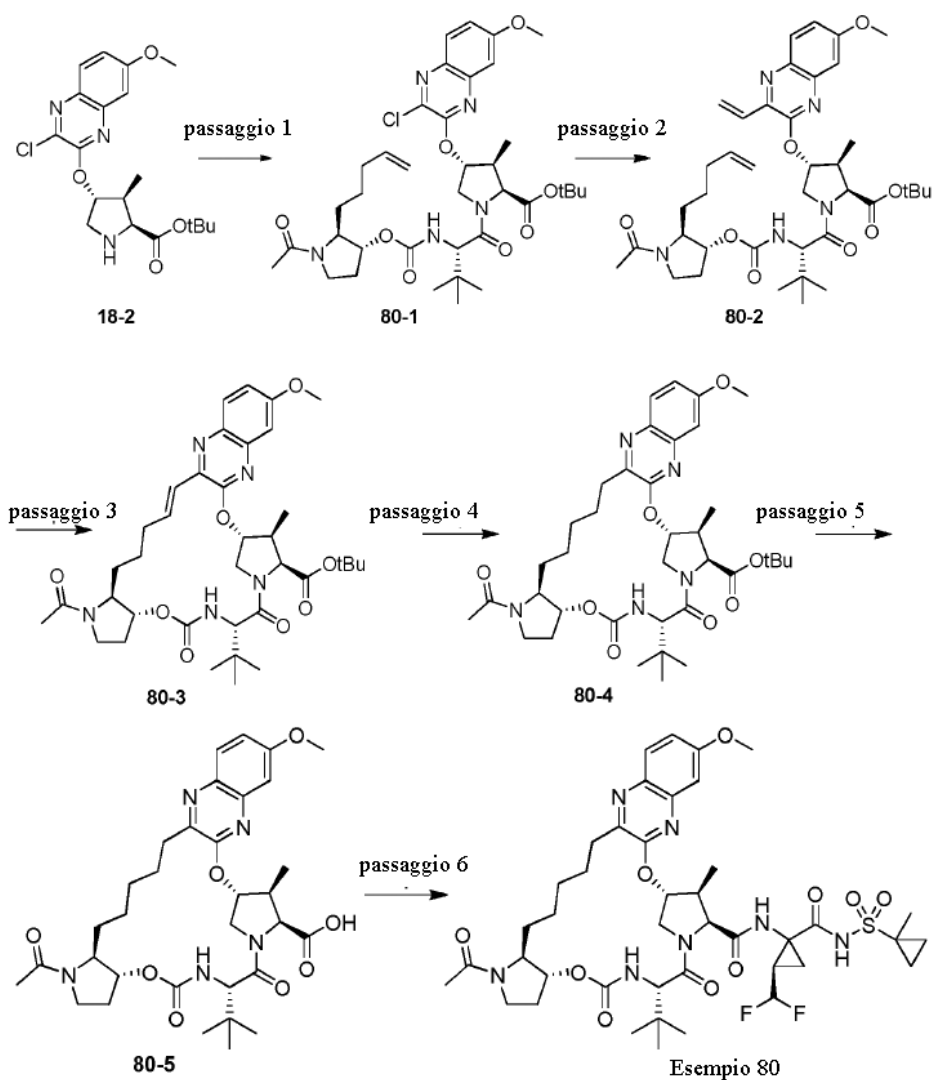
Rh/allumina (200 mg). Nuovamente, H₂ gassoso è stato fatto gorgogliare attraverso la soluzione per 1 min e la miscela di reazione è stata agitata a RT sotto un'atmosfera di H₂. Dopo ancora 1 h, la miscela di reazione è stata filtrata su celite e concentrata a pressione ridotta. Il materiale (**79-6**) è stato portato avanti senza purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₀ClN₄O₆: 669,34; osservato: 669,63.

Passaggio 7. Preparazione di **79-7**. Macrocielo **79-6** (0,297 mmoli teoriche) è stato trattato con DCM (10 mL) e TFA (10 mL). La miscela di reazione è stata agitata a RT per 14 h, poi concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato sciolto in EtOAc e la soluzione organica è stata lavata con NaHCO₃ acquoso saturo e 1 M acido citrico. Salamoia è stata aggiunta dopo il lavaggio con acido citrico per rompere l'emulsione che si era formata. Lo strato organico è stato seccato su MgSO₄, filtrato e concentrato a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (100% EtOAc) per dare **79-7** impuro che è stato portato avanti senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₂ClN₄O₆: 613,28; osservato: 613,22.

Passaggio 8. Preparazione di Esempio **79**. Acido carbossilico **79-7** (0,264 mmoli teoriche) è stato trattato con intermedio **A9** (156 mg, 0,537 mmoli), TBTU (170 mg, 0,528 mmoli), DMAP (65 mg, 0,528 mmoli), DCM (2 mL) e DIPEA (0,23 mL, 1,3 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a RT per 19 h poi concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa per dare Esempio **79** come sale di TFA. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₂ClF₂N₆O₈S: 849,32; osservato: 849,16. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,17 (s, 1H), 7,86 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,77 (t, *J* = 3,5 Hz, 1H), 7,55 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 5,84 (td, *J* = 55,7, 6,7 Hz, 1H), 5,62 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 4,98 (t, *J* = 10,6 Hz, 1H), 4,53 (t, *J* = 9,3 Hz, 1H), 4,42 - 4,26 (m, 2H), 4,19 (dd, *J* = 12,0, 3,9 Hz, 1H), 3,34 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,99 (tt, *J* = 8,2, 4,8 Hz, 2H), 2,78 (ddt, *J* = 21,6, 14,2, 5,7 Hz, 2H), 2,28-2,12 (m, 1H), 2,08-1,16 (m, 19H), 1,16-0,96 (m, 17H), 0,58 (dd, *J* = 8,3, 4,1 Hz, 1H), 0,55 - 0,44 (m, 1H).

Esempio **80**. Preparazione di (3aR,7S,10S,11S,12R)-1-acetil-7-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-16-metossi-11-metil-5,8-diosso-1,2,3,3a,5,6,7,8,11,12,20,21,22,23,24,24a-esadecaidro-10H-9,12-metanopirrolo[2',3':18,

19[1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-10-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **80-1**: Ammina **18-2** (195 mg, 0,495 mmoli) e Intermedio **D18** (192,8 mg, 0,544 mmoli) sono stati sciolti in DMF (10 mL), DIPEA (430 μ L, 2,48 mmoli) è stato aggiunto seguito da HATU (207 mg, 0,544 mmoli) a temperatura ambiente. Dopo 1,5 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto e il residuo grezzo è stato direttamente purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **80-1** (rapporto diastereomerico 2:1 a favore del desiderato). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₃ClN₅O₈: 730,3; osservato: 730,48.

Passaggio 2. Preparazione di **80-2**: Una miscela eterogenea agitata di **80-1** (314 mg, 0,431 mmoli), PdCl₂(dppf)•CH₂Cl₂ (35,2 mg, 0,043 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (86,6 mg, 0,646 mmoli) in EtOH (2,2 mL) è stata fatta gorgogliare con argon per 15 min. Trietilammina (320 µL, 2,3 mmoli) è stata aggiunta e la miscela è stata riscaldata a 80 °C. Dopo 40 min, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente ed è stata diluita con toluene (5 mL). La risultante miscela è stata concentrata e il residuo grezzo è stato direttamente purificato mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **80-2** (rapporto di diastereomeri 2:1 a favore del desiderato). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₉H₅₆N₅O₈: 722,4; osservato: 722,54.

Passaggio 3. Preparazione di **80-3**: **80-2** (228 mg, 0,320 mmoli) è stato sciolto in DCE (64 mL) e la soluzione è stata irrorata con Ar per 15 min, catalizzatore Zhan 1B (23 mg, 0,032 mmoli) è stato aggiunto e la risultante soluzione è stata agitata a 100 °C sotto Ar. Dopo 45 min, la miscela di reazione è stata raffreddata a rt, è stata concentrata *sotto vuoto* ed è stata direttamente purificata mediante cromatografia su gel di silice (gradiente di 0-100% etil acetato/esani) per dare **80-3** (5:2 rapporto di diastereomeri a favore del desiderato). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₇H₅₂N₅O₈: 694,37; osservato: 694,53.

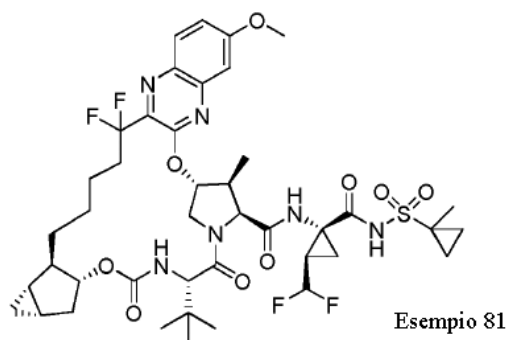
Passaggio 4: Preparazione di **80-4**: Olefina **80-3** (164 mg, 0,237 mmoli) è stata sciolta in etanolo (1,19 mL) e il recipiente di reazione è stato spurgato con Ar. Pd/C (10% in peso Pd, 25 mg) è stato aggiunto in una singola porzione e il recipiente di reazione è stato spurgato tre volte con H₂. La reazione è stata agitata a rt sotto 1 atm H₂ per 2h ed è stata diluita con etil acetato (10 mL). La risultante miscela è stata filtrata attraverso un pannello di Celite e concentrata per dare un residuo grezzo di **80-4** (5:2 rapporto di diastereomeri a favore del desiderato) che è stato usato senza ulteriore purificazione (LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₇H₆₄N₆O₈: 696,39; osservato: 696,56.

Passaggio 5. Preparazione di **80-5**: Ad una soluzione di **80-4** (164 mg, 240 µmoli) in DCM (1,2 mL) è stato aggiunto TFA (0,45 mL) a rt. Dopo 7 h, la miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (50 mL) e la risultante miscela è stata estratta con soluzione acquosa 1N di idrossido di sodio (40 mL). Lo strato acquoso è stato poi lentamente acidificato a pH=3 con acido cloridrico concentrato, ed è stato estratto con etil acetato (2 ×

50 mL). Gli estratti organici combinati sono stati seccati su solfato di sodio anidro e sono stati concentrati sotto vuoto. Il residuo è *stato* seccata come azeotropo con toluene (3 × 5 mL) per dare **80-5** (5:2 rapporto di diastereomeri a favore del desiderato) che è stato usato senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₆N₆O₈: 640,33; osservato: 640,48.

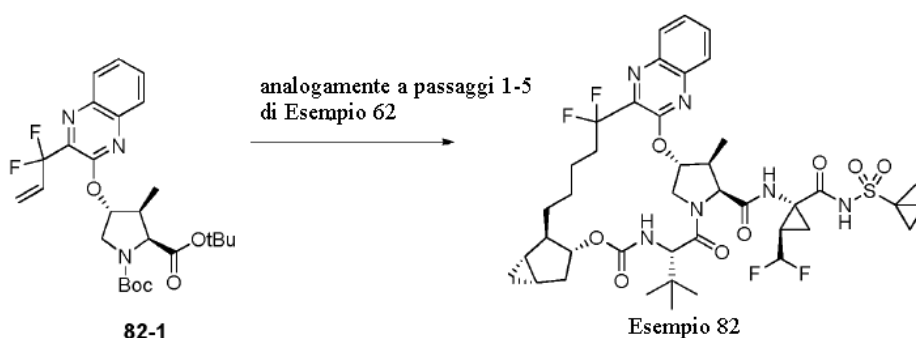
Passaggio 6. Preparazione di Esempio **80**: Ad una soluzione di **80-5** (140 mg, 219 μmoli) e Intermedio **A10** (133 mg, 438 μmoli) in MeCN (1,1 mL) è stato aggiunto HATU (169 mg, 438 μmoli) seguito da DIPEA (190 μL, 1,09 mmoli) a rt sotto un'atmosfera di argon. Dopo 15 h, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto, è stata purificata mediante HPLC preparativa (colonna Gemini 5u C18 110A, 5-100% MeCN/H₂O, modificatore 0,1% di acido trifluoroacetico) ed è stata liofilizzata per dare Esempio **80** (5:2 rapporto di diastereomeri a favore del desiderato) come un solido giallo chiaro sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 7,91 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₈F₂N₇O₁₀S: 890,39; osservato: 890,64. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD, Diastereomero secondario indicato da *) δ 9,18 (s, 1H), 9,14 (s, 1H*), 7,78 (d largo, *J* = 9,0 Hz, 1H, 1H*), 7,21 (d largo, *J* = 9,0 Hz, 1H, 1H*), 7,18 (s largo, 1H, 1H*), 5,80 (td largo, *J*_{H-F} = 55,8 Hz, *J* = 6,8 Hz, 1H, 1H*), 5,64 (s largo, 1H, 1H*), 5,23 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H*), 5,15 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H, 1H*), 4,46 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H*), 4,41 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,30 - 4,22 (m, 1H, 1H*), 4,22 - 4,07 (m, 1H, 1H*), 4,02 - 3,79 (m, 1H, 1H*) 3,92 (s largo, 3H, 3H*), 3,73 - 3,52 (m, 2H, 2H*), 3,05 - 2,68 (m, 3H, 3H*), 2,40 - 2,21 (m, 1H, 1H*), 2,13 - 1,94 (m, 4H, 4H*), 1,83 (s, 2H, 2H*), 1,75 - 1,20 (m, 12H, 12H*), 1,12 (s, 9H*), 1,10 (s, 9H), 1,06 (d largo, *J* = 7,3 Hz, 3H, 3H*), 0,92-0,85 (m, 4H, 4H*).

Esempio **81**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-19,19-difluoro-15-metossi-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropano[4',5']ciclopentano[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Esemplio **81** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **62**, sostituendo Intermedio **A10** per Intermedio **A9** in Passaggio 5. Esemplio **81** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,36 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₅F₄N₆O₉S: 895,36; osservato: 895,59. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,23 (s, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,26 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,80 (td, *J*_{H-F} = 56 Hz, *J* = 6,8 Hz, 1H), 5,73 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 4,94 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,36 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,32 (s, 1H), 4,22-4,16 (dd, *J* = 12, 4 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 2,79-2,71 (m, 1H), 2,61-2,52 (m, 1H), 2,26-2,16 (m, 1H), 2,08-1,92 (m, 4H), 1,82-1,64 (m, 3H), 1,60-1,54 (m, 3H), 1,53-1,46 (m, 1H), 1,52 (s, 3H), 1,44-1,26 (m, 5H), 1,08 (s, 9H), 1,07-0,98 (m, 4H), 0,94-0,84 (m, 3H), 0,60-0,48 (m, 2H).

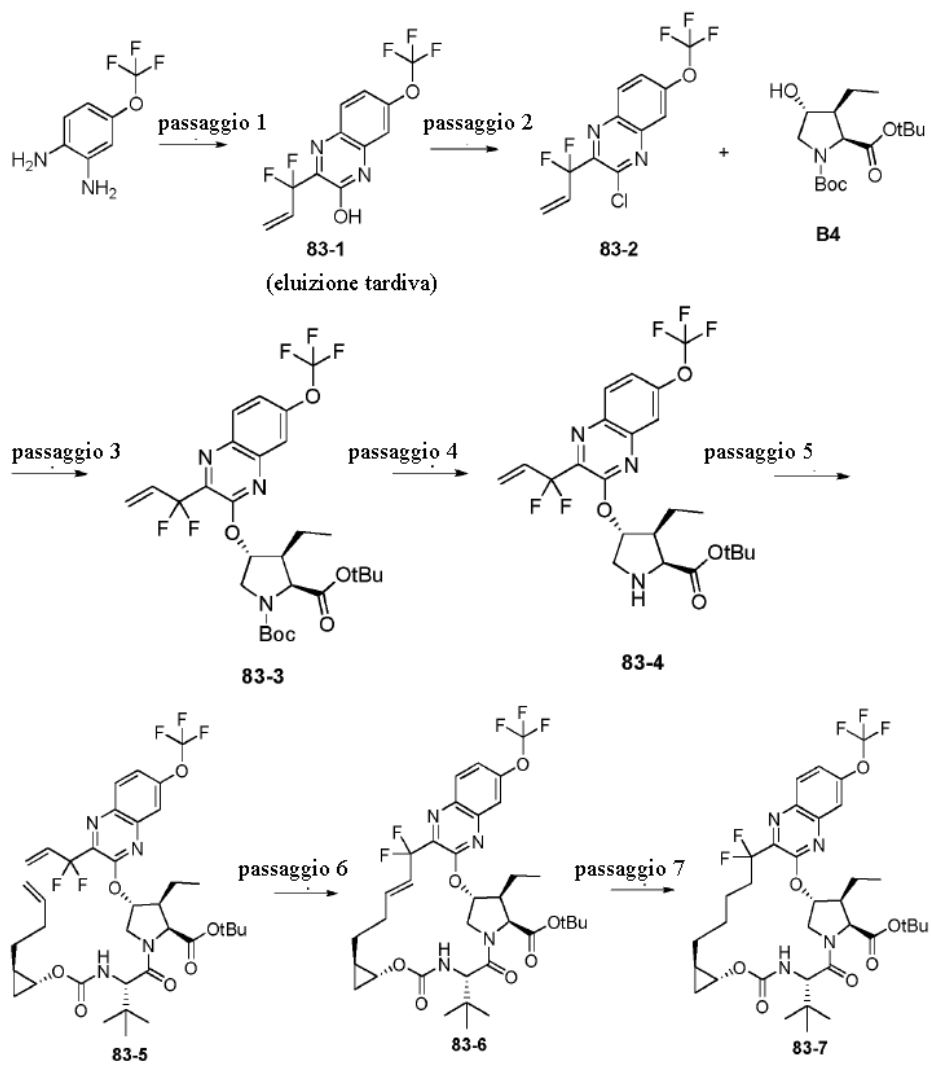
Esemplio **82**. Preparazione di (1a*S*,2a*R*,6*S*,9*S*,10*S*,11*R*,23a*R*,23b*S*)-6-terz-butil-N-[(1*R*,2*R*)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-19,19-difluoro-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1*H*,9*H*-8,11-metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-*b*]chinossalina-9-carbossammide

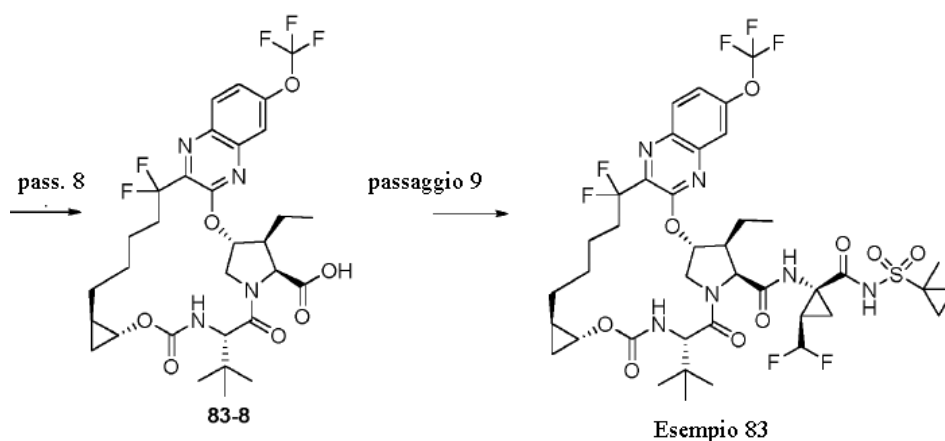


Intermedio **82-1** è stato preparato in maniera simile a intermedio **46-2**, sostituendo intermedio **E3** con **E4** in Passaggio 1. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₆H₃₄F₂N₃O₆: 506,25; osservato: 506,59.

Esempio **82** è stato preparato in maniera simile a Esempio **62**, sostituendo Intermedio **82-1** per Intermedio **46-2** in Passaggio 1. Esempio **82** è stato isolato. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₂F₄N₆O₈S: 864,35; osservato: 865,43. ¹H NMR (400 MHz, cdCl₃) δ 9,82 (s, 1H), 7,89 - 7,72 (m, 2H), 7,67 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,12 - 5,65 (m, 2H), 5,34 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,90 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,45 (t, *J* = 9,3 Hz, 2H), 4,27 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,13 (dd, *J* = 11,9, 3,9 Hz, 1H), 2,77 - 2,64 (m, 2H), 2,27 - 2,12 (m, 1H), 2,13 - 1,86 (m, 4H), 1,82 - 1,19 (m, 15H), 1,18 - 0,98 (m, 13H), 0,89 - 0,77 (m, 2H), 0,53 (dd, *J* = 13,3, 8,1 Hz, 1H), 0,43 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H).

Esempio **83**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-14-(trifluorometossi)-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.





Passaggio 1. Preparazione di **83-1**: HATU (3,06 g, 8,05 mmoli) è stato aggiunto lentamente ad una soluzione di acido 3,3-difluoro-2-ossopent-4-enoico (1,03 g, 6,86 mmoli) in 10 mL di DMF. Una miscela di 4-(trifluorometossi)benzene-1,2-diammina (1,29 g, 6,71 mmoli) e DIPEA (1,4 mL, 8,05 mmoli) in 12 mL di DMF è stata poi aggiunta. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata versata in 175 mL di acqua e estratta con etil acetato (4 x 100 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con 50% salamoia, seccate su Na_2SO_4 anidro, filtrate, e concentrate a pressione ridotta. Il solido risultante è stato purificato tramite cromatografia su colonna di gel di silice (0-25% etil acetato in esani) per dare intermedio **83-1**, il prodotto ad eluizione tardiva. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_2$: 307,04; osservato: 307,29.

Passaggio 2. Preparazione di **83-2**: Una soluzione di **83-1** (924 mg, 3,01 mmoli) in 2 mL DMF è stata trattata con POCl_3 (0,56 mL, 6,04 mmoli) e riscaldata a 80 °C per 2,5 ore. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata diluita con 25 mL di EtOAc e aggiunta lentamente a 20 mL di acqua con agitazione vigorosa. Gli strati sono stati separati e quello acquoso è stato estratto con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate successivamente con bicarbonato di sodio acquoso saturo e salamoia, seccate su solfato di sodio anidro e concentrate a pressione ridotta per dare intermedio **83-2**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{ClF}_5\text{N}_2\text{O}$: 324,01; osservato: 324,13.

Passaggio 3. Preparazione di **83-3**: Cs_2CO_3 (606 mg, 1,86 mmoli) è stato aggiunto a una miscela di intermedio **83-2** (460 mg, 1,54 mmoli) e intermedio **B4** (564 mg, 1,79 mmoli) in 12 mL di DMF a temperatura ambiente. La

miscela di reazione è stata riscaldata a 85 °C durante la notte. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, miscela è stata versata in 50 mL di acqua e estratta con etil acetato (4 x 40 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con 90 mL di 50% salamoia, seccate su solfato di sodio anidro e concentrate a pressione ridotta. Il solido risultante è stato purificato tramite cromatografia su colonna di gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **83-3**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₈H₃₅F₅N₃O₆: 604,24; osservato: 604,20.

Passaggio 4. Preparazione di **83-4**: Chinossalina etere **83-3** (290 mg, 0,647 mmoli) è stato sciolto in 4,1 mL di *tert*-butil acetato e 1,1 mL di diclorometano a temperatura ambiente, MeSO₃H (0,25 mL, 3,88 mmoli) è stato aggiunto a gocce e la miscela di reazione agitata a rt per 2 h. La miscela di reazione è stata trasferita ad una miscela agitata di EtOAc (20 mL) e NaHCO₃ acquoso saturo (30 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (2 x 20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na₂SO₄ anidro, filtrata, e concentrata *sotto vuoto* per dare ammina **83-4**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₃H₂₇F₅N₃O₄: 504,18; osservato: 504,31.

Passaggio 5. Preparazione di **83-5**: HATU (260 mg, 0,684 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,40 mL, 2,30 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **83-4** (258 mg, 0,512 mmoli) e Intermedio **D11** (177 mg, 0,657 mmoli) in 7 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-20% etil acetato in esani) per dare **83-5**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₄₈F₅N₄O₇: 755,34; osservato: 755,49.

Passaggio 6. Preparazione di **83-6**: Una miscela di **83-5** (215 mg, 0,285 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (29 mg, 0,040 mmoli, Strem) in 60 mL di DCE è stata deossigenata con argon per 15 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a riflusso per 90 minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-40% etil acetato in esani) per dare **83-6**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₅H₄₄F₅N₄O₇: 727,31; osservato: 727,43.

Passaggio 7. Preparazione di **83-7**: Palladio su carbone (10% in peso Pd, 40 mg, 0,038 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **83-6** (129 mg, 0,178 mmoli) in 9 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la reazione agitata durante la notte. La miscela di reazione è stata filtrata su Celite e lavata con etanolo. Il filtrato

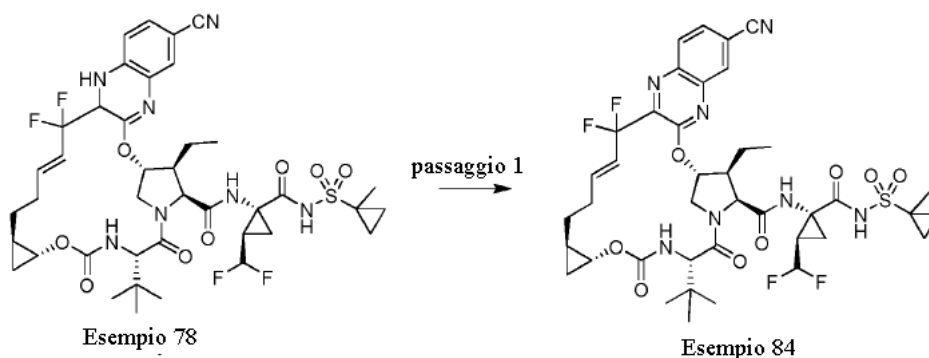
è stato concentrato *sotto vuoto* per dare un residuo, che è stato purificato tramite cromatografia su colonna di gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **83-7**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₆F₅N₄O₇: 729,32; osservato: 729,45.

Passaggio 8. Preparazione di **83-8**: TFA (0,62 mL, 8,09 mmoli) è stato aggiunto lentamente ad una soluzione di **83-7** (79 mg, 0,109 mmoli) in 1,8 mL di diclorometano. Dopo 4 ore, miscela è stata concentrata a pressione ridotta quasi ad essiccazione. Il risultante residuo è stato ripreso in 10 mL di etil acetato, lavato con 8 mL di acqua, 8 mL di sat. NaHCO₃ (aq), e separato. Gli strati acquosi sono stati estratti con etil acetato (3 x 10 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con 10 mL di salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate *sotto vuoto* per dare **83-8**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₁H₃₈F₅N₄O₇: 673,26; osservato: 673,10.

Passaggio 9. Preparazione di Esempio **83**: HATU (84 mg, 0,221 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,095 mL, 0,547 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **83-8** (72 mg, 0,107 mmoli) e Intermedio **A10** (66 mg, 0,217 mmoli) in 4 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato per durante la notte, la miscela di reazione è stata ripresa in 20 mL di etil acetato e lavata con 10 mL di 1 N HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con 50% salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase inversa (50-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare il sale di acido trifluoroacetico di Esempio **83**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,12 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₀F₇N₆O₉S: 923,32; osservato: 923,10. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,26 (s, 1H), 8,01-7,91 (m, 2H), 7,78-7,63 (m, 1H), 5,95 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 5,83 (td, J_{H-F} = 61 Hz, J = 6,0 Hz, 1H), 4,59 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,42 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 4,35 (s, 1H), 4,22-4,11 (m, 1H), 3,72-3,66 (m, 1H), 2,71-2,49 (m, 2H), 2,18-1,94 (m, 3H), 1,90-1,75 (m, 3H), 1,74-1,62 (m, 2H), 1,60-1,48 (m, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,50-1,24 (m, 4H), 1,22-1,18 (m, 2H), 1,08 (s, 9H), 1,07-0,84 (m, 5H), 0,81-0,64 (m, 1H), 0,54-0,44 (m, 1H).

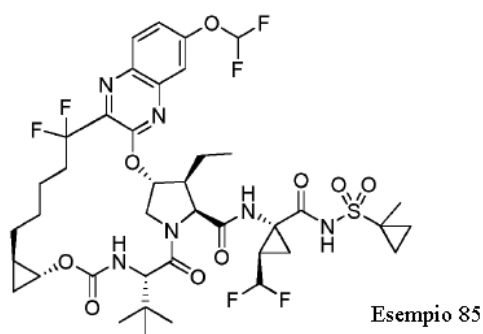
Esempio **84**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,19E,22aR)-5-terz-butil-14-ciano-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-

1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-
 1,1a,3,4,5,6,9,10,18,21,22,22a-dodecaidro-8H-7,10-
 metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



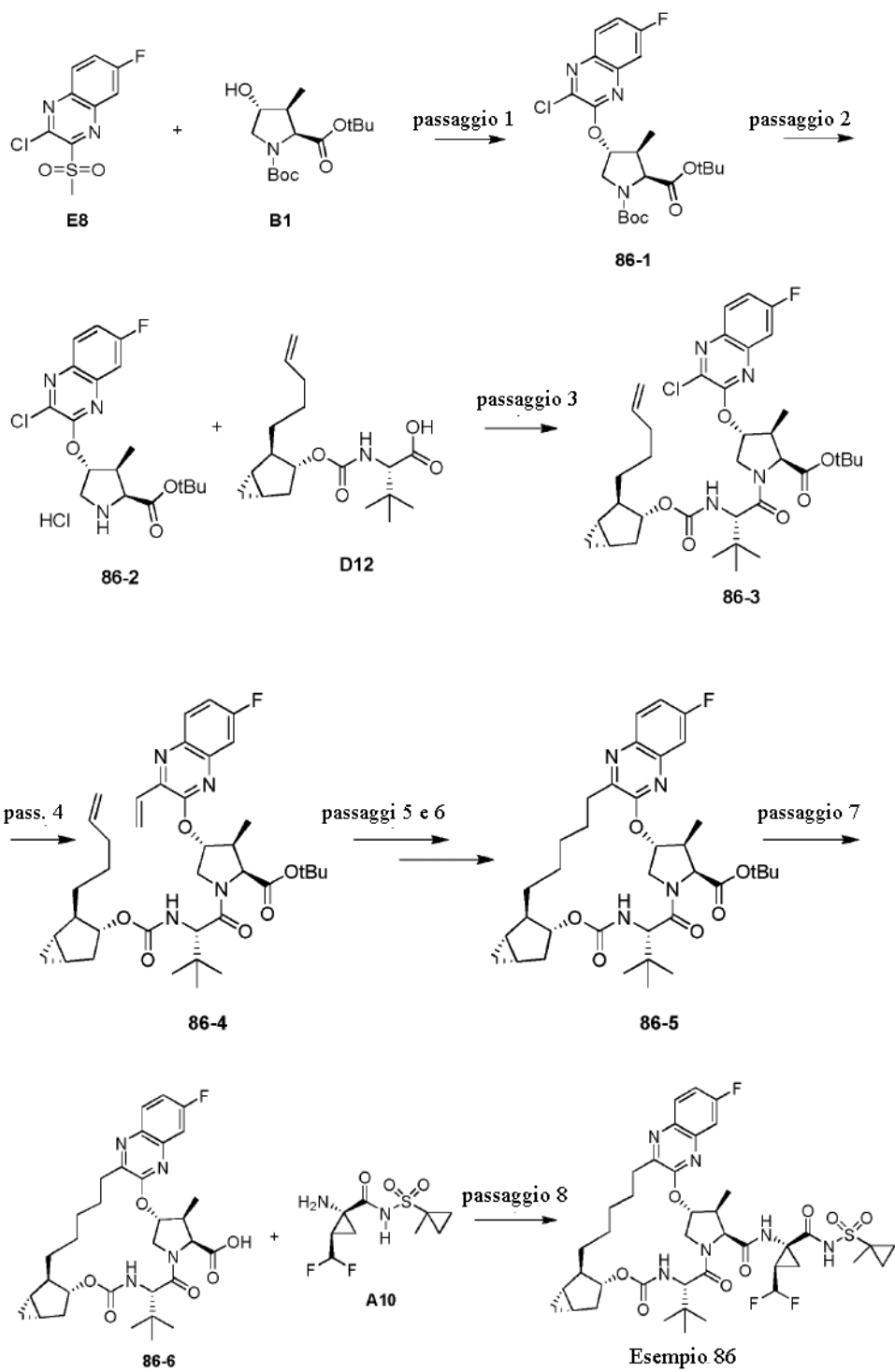
Passaggio 1: Preparazione di Esemplio **84**. Esemplio **78** grezzo (8,7 mg, 0,01 mmoli) è stato risolto in ACN (0,3 mL) e trattato con DDQ (3,4 mg, 0,015 mmoli). Dopo 10 min, la soluzione è stata direttamente purificata mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini 5u C18 110Å, 50-100% ACN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare il sale di TFA di Esemplio **84**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,385 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₄₇F₄N₇O₈S: 861,90; osservato: 862,89. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,21 (s, 1H), 8,25 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,91 (dd, 1H), 6,32 (m, 2H), 5,97-5,61 (m, 2H), 4,82 (m, 1H), 4,58 - 4,13 (m, 4H), 3,71-3,49 (m, 3H), 2,61 (m, 2H), 2,23 (m, 1H), 2,00 - 1,80 (m, 3H), 1,56 - 1,20 (m, 10H), 1,20 (m, 3H), 1,07 (m, 8H), 0,98-0,82 (m, 3H), 0,55 (m, 1H).

Esemplio **85**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-14-(difluorometossi)-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esemplio **85** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **83**, usando intermedio **E7** al posto di **83-2** in passaggio 3. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,725 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₄₀H₅₀F₆N₆O₉S: 904,92; osservato: 905,16. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,23 (s, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,62 (dd, 1H), 7,03 (dd, 1H), 5,94-5,65 (m, 3H), 4,57 - 4,14 (m, 4H), 3,66 (m, 1H), 2,57 (m, 2H), 2,01 - 1,97 (m, 3H), 1,82 - 1,77 (m, 3H), 1,64 (m, 1H), 1,57 - 1,33 (m, 10H), 1,20 (m, 3H), 1,06-0,87 (m, 12H), 0,87 (m, 2H), 0,48 (m, 1H).

Esemplio **86**. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-15-fluoro-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropa[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclono-nadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Passaggio 1. Preparazione di **86-1**: Ad una soluzione di **E8** (1,5 g, 5,75 mmoli) e **B1** (1,9 g, 6,34 mmoli) in MeCN (50 mL) è aggiunto Cs₂CO₃ (3,09 g, 9,49 mmoli). Dopo aver agitato a rt per 60 h, la miscela di reazione è stata filtrata su celite e concentrata. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (5-35% EtOAc/esani) per dare prodotto **86-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₃H₃₀ClFN₃O₅ - Boc: 482,13; osservato: 382,04.

Passaggio 2. Preparazione di **86-2**: Ad una soluzione di **86-1** (747 mg, 1,55 mmoli) in CH₂Cl₂ (5 mL) è aggiunto HCl (5 mL, 4 M in diossano) e lasciata agitare per 3 h. La miscela di reazione è stata concentrata per dare un residuo che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₁₈H₂₃C₁₂FN₃O₃ - HCl: 382,13; osservato: 382,08.

Passaggio 3. Preparazione di **86-3**: Ad una soluzione di **86-2** (397 mg, 0,95 mmoli), **D12** (308 mg, 0,95 mmoli) e BEP (312 mg, 1,14 mmoli) in EtOAc (9 mL) e NMP (1 mL) è stato aggiunto DIPEA (0,7 mL, 3,8 mmoli) e la reazione è stata agitata a 50 °C durante la notte. La reazione è stata spenta con soluzione satura di NaHCO₃ e estratta con EtOAc, lavata successivamente con salamoia, seccata su solfato di magnesio e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante gel di silice per dare **86-3**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₉ClFN₄O₆: 687,33; osservato: 687,44.

Passaggio 4. Preparazione di **86-4**: Ad una soluzione di **86-3** (266 mg, 0,39 mmoli), TEA (0,08 mL, 0,58 mmoli) e potassio viniltrifluoroborato (78 mg, 0,58 mmoli) in EtOH (8 mL) è stato aggiunto PdCb(dppf) (32 mg, 0,04 mmoli). La reazione è stata degassata con N₂ per 10 min e riscaldata a 75 °C per 1 h. La reazione è stata spenta con soluzione satura di NaHCO₃ e estratta con EtOAc, lavata successivamente con salamoia, seccata su solfato di magnesio e concentrata. Il residuo è stato purificato usando cromatografia su gel di silice (0-25% EtOAc/esani) per dare **86-4**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₈H₆₂FN₄O₆: 679,39; osservato: 679,52.

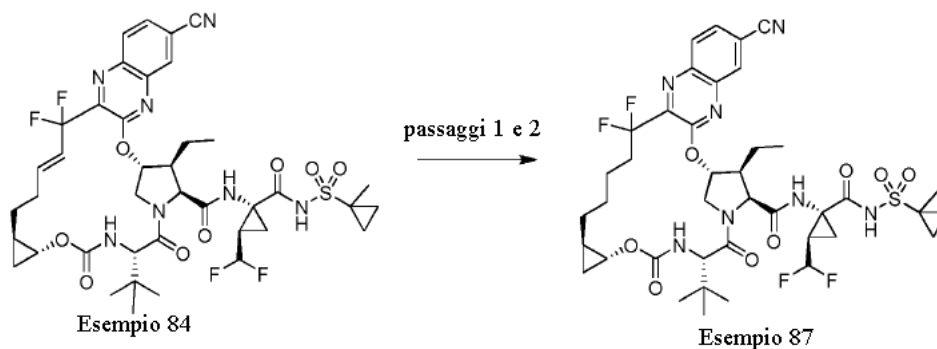
Passaggio 5 e 6. Preparazione di **86-5**: Ad una soluzione di **86-4** (262 mg, 0,38 mmoli) in DCE (50 mL) è stato aggiunto catalizzatore Zhan 1B (28 mg, 0,04 mmoli) e la reazione è stata degassata per 25 minuti con N₂. La reazione è stata riscaldata a 100 °C per 1 h, lasciata raffreddare a rt e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-30% EtOAc/esani) per dare olefina come prodotto (182 mg;

LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₄₈FN₄O₆: 651,36; osservato: 651,38) che è stato ripreso in EtOH (5 mL) e EtOAc (1 mL) e trattato con Pd/C (10%, 55 mg). L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e agitata a rt per 1,25 h. La reazione è stata filtrata su Celite, lavata con EtOAc e concentrata per dare **86-5** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₀FN₄O₆: 653,37; osservato: 653,46.

Passaggio 7. Preparazione di **86-6**: Ad una soluzione di **86-5** (182 mg, 0,28 mmoli) in DCM (3 mL) è stato aggiunto TFA (3 mL) e agitato a rt per 18 h. La reazione è stata diluita con EtOAc, lavata con H₂O, basificata a pH 7 con soluzione satura di NaHCO₃, lavata con soluzione 1M di acido citrico, seccata su solfato di magnesio, e concentrata per dare un residuo di **86-6** che è stato usato successivamente senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₂H₄₂FN₄O₆: 597,31; osservato: 597,15.

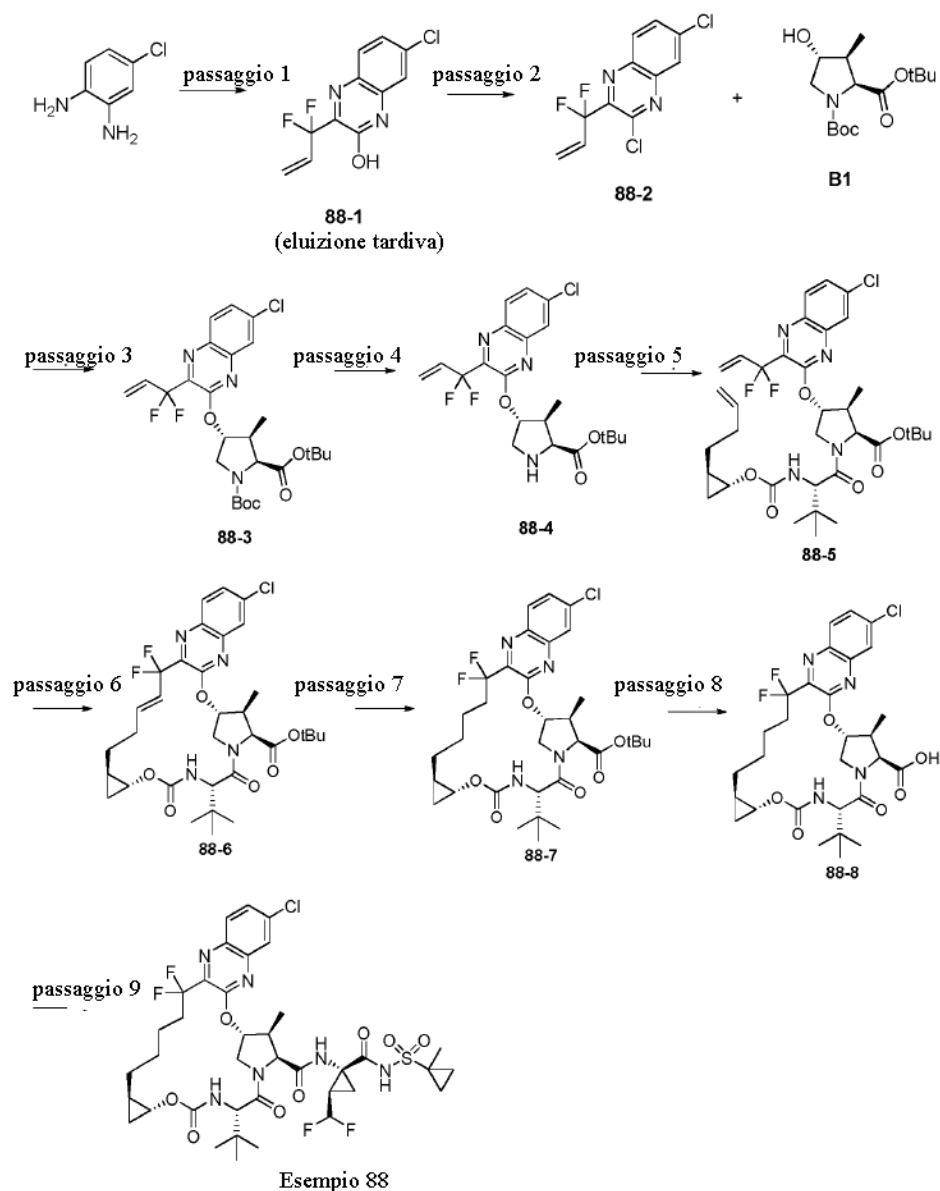
Passaggio 8. Preparazione di Esempio **86**: Ad una soluzione di **86-6** (24 mg, 0,04 mmoli), intermedio **A10** (18 mg, 0,06 mmoli), TBTU (23 mg, 0,07 mmoli) e DMAP (7 mg, 0,06 mmoli) in DMF (3 mL) è stato aggiunto DIPEA (35 µL, 0,20 mmoli) e la reazione è stata agitata a rt per 3 h. Altro intermedio **A10** (18 mg, 0,06 mmoli), TBTU (23 mg, 0,07 mmoli), DMAP (7 mg, 0,06 mmoli), e DIPEA (35 µL, 0,20 mmoli) è stato aggiunto e la reazione è stata agitata a rt per 16 h. Il materiale grezzo è stato purificato mediante HPLC in fase inversa (Gemini, 30-85% ACN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare Esempio **86** come sale di TFA. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,25 min, LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₄F₃N₆O₈S: 847,37; osservato: 847,18. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,18 (s, 1H), 8,13 - 7,84 (m, 2H), 7,59 - 7,21 (m, 2H), 6,07 - 5,58 (m, 2H), 5,00 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,57 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,45 - 4,27 (m, 2H), 4,20 (dd, *J* = 12,0, 4,0 Hz, 1H), 3,11 - 2,94 (m, 3H), 2,92 - 2,70 (m, 4H), 2,32 - 2,14 (m, 1H), 2,10 - 1,94 (m, 2H), 1,86 (m, 1H), 1,77 (d, *J* = 14,5 Hz, 1H), 1,74 - 1,21 (m, 15H), 1,21 - 1,01 (m, 10H), 1,00 - 0,84 (m, 2H), 0,60 (m, 1H), 0,53 (m, 1H).

Esempio **87**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-14-ciano-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Passaggi 1 e 2. Preparazione di Esemplio **87**. Ad una soluzione di Esemplio **84** (100 mg, 0,11 mmoli) in EtOAc (3 mL) è stato aggiunto Pd/C (10% in peso Pd, 30 mg). Il recipiente di reazione è stato spurgato due volte con H₂ ed è stato agitato a rt sotto 1 atm H₂ per 6h. Dopo di che la miscela di reazione è stata filtrata attraverso un pannello di celite e concentrata. La reazione riduceva l'anello di chinossalina. Il materiale grezzo è stato risolto in ACN (5 mL) e trattato con DDQ (34 mg, 0,15 mmoli). Dopo 1h, la soluzione è stata direttamente purificata mediante HPLC in fase inversa (colonna Gemini 5u C18 110Å, 50-100% ACN/H₂O + 0,1% TFA) e liofilizzata per dare il sale di TFA di Esemplio **87**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,463 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₄₉F₄N₇O₈S: 863,92; osservato: 864,18. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,24 (s, 1H), 8,27 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 7,91 (dd, 1H), 5,93-5,82 (m, 3H), 4,88 (m, 1H), 4,58 - 4,13 (m, 5H), 3,71-3,49 (m, 3H), 2,59 (m, 2H), 2,03 - 1,96 (m, 3H), 1,82 - 1,77 (m, 3H), 1,65 - 1,35 (m, 11H), 1,20 (m, 3H), 1,06-0,87 (m, 8H), 0,71 (m, 2H), 0,48 (m, 1H).

Esemplio **88**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-14-cloro-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18,18-difluoro-9-metil-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide



Passaggio 1. Preparazione di **88-1**: HATU (4,56 g, 12 mmoli) è stato aggiunto lentamente ad una soluzione di acido 3,3-difluoro-2-ossopent-4-enoico (1,52 g, 10,1 mmoli) in 14 mL di DMF. Una miscela di 4-clorobenzene-1,2-diammina (1,43 g, 10 mmoli) e DIPEA (2,1 mL, 12 mmoli) in 20 mL di DMF è stata poi aggiunta. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata versata in 30 mL di 1 N HCl acquoso e estratta con etil acetato (5 x 40 mL). Le fasi organiche combinate sono state seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate

a pressione ridotta. Il solido risultante è stato purificato tramite cromatografia su colonna di gel di silice (0-45% etil acetato in esani) per dare intermedio **88-1** come il prodotto ad eluizione tardiva. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 12,1 (s, 1H), 7,99 (m, 1H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,33-7,31 (m, 1H), 6,61-6,48 (m, 1H), 5,96 -5,90 (m, 1H), 5,67-5,63 (m, 1H).

Passaggio 2. Preparazione di **88-2**: Una soluzione di intermedio **88-1** (648 mg, 2,53 mmoli) in 2 mL DMF è stata trattata con POCl_3 (0,49 mL, 5,26 mmoli) e riscaldata a 80 °C per 3 ore. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata diluita con 20 mL di EtOAc e aggiunta lentamente a 15 mL di acqua con agitazione vigorosa. Gli strati sono stati separati e quello acquoso è stato estratto con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate successivamente con bicarbonato di sodio acquoso saturo e salamoia, seccate su solfato di sodio anidro e concentrate a pressione ridotta per dare intermedio **88-2**. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,184 (d, $J = 1,6\text{Hz}$, 1H), 8,01 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 1H), 7,82 (dd, $J = 9,4, 2\text{ Hz}$, 1H), 6,56-6,43 (m, 1H), 5,88 (m, 1H), 5,70 (d, $J = 10,8\text{ Hz}$, 1H).

Passaggio 3. Preparazione di **88-3**: Cs_2CO_3 (660 mg, 2,03 mmoli) è stato aggiunto a una miscela di intermedio **88-2** (425 mg, 1,54 mmoli) e intermedio **B1** (570 mg, 1,89 mmoli) in 9 mL di DMF a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata riscaldata a 85 °C durante la notte. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, miscela è stata versata in 40 mL di acqua e estratta con etil acetato (4 x 30 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con 75 mL di 50% salamoia, seccate su solfato di sodio anidro e concentrate a pressione ridotta. Il solido risultante è stato purificato tramite cromatografia su colonna di gel di silice (0-20% etil acetato in esani) per dare **88-3**. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. per $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{ClF}_2\text{N}_3\text{O}_6$: 540,20; osservato: 540,12.

Passaggio 4. Preparazione di **88-4**: Chinossalina etere **88-3** (458 mg, 0,848 mmoli) è stato sciolto in 4,2 mL di *tert*-butil acetato e 1,2 mL di diclorometano a temperatura ambiente. MeSO_3H (0,30 mL, 4,67 mmoli) è stato aggiunto a gocce e la miscela di reazione agitata a rt per 2 h. La miscela di reazione è stata trasferita ad una miscela agitata di EtOAc (20 mL) e NaHCO_3 acquoso saturo (30 mL). Le fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con EtOAc (2 x 20 mL). La fase organica combinata è stata seccata su Na_2SO_4 anidro, filtrata, e concentrata *sotto vuoto* per dare ammina **88-4** come una pellicola solida gialla LCMS-ESI⁺ (m/z):

$[M+H]^+$ calc. per $C_{21}H_{25}ClF_2N_3O_3$: 440,15; osservato: 440,29.

Passaggio 5. Preparazione di **88-5**: HATU (360 mg, 0,947 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,51 mL, 2,91 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **88-4** (320 mg, 0,727 mmoli) e Intermedio **D11** (237 mg, 0,880 mmoli) in 10 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato durante la notte, la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-20% etil acetato in esani) per dare **88-5**. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{35}H_{46}ClF_2N_4O_6$: 691,30; osservato: 691,50.

Passaggio 6. Preparazione di **88-6**: Una miscela di **88-5** (390 mg, 0,564 mmoli) e catalizzatore Zhan 1B (55 mg, 0,075 mmoli, Strem) in 100 mL di DCE è stata deossigenata con argon per 15 minuti. La miscela è stata poi riscaldata a riflusso per 110 minuti. Dopo aver raffreddato a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata concentrata sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-25% etil acetato in esani) per dare **88-6**. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{33}H_{42}ClF_2N_4O_6$: 663,27; osservato: 663,33.

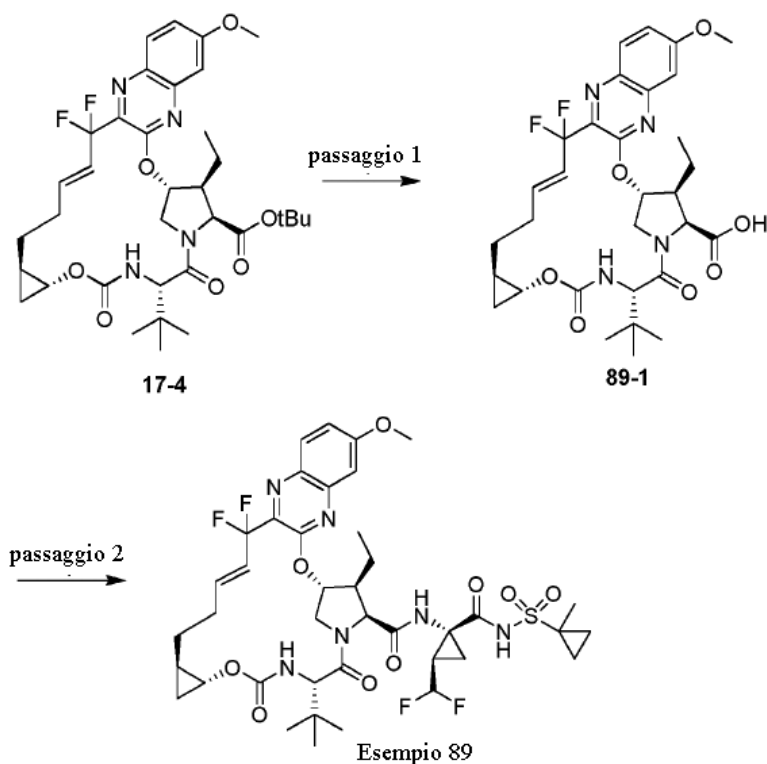
Passaggio 7. Preparazione di miscela di **88-7**: Rodio su allumina (5% in peso Rh, 31 mg, 0,015 mmoli) è stato aggiunto ad una soluzione di **88-6** (90 mg, 0,136 mmoli) in 9 mL di etanolo. L'atmosfera è stata sostituita con idrogeno e la miscela è stata agitata durante la notte. La reazione è stata filtrata su Celite, lavando con etanolo. Analisi LC/MC indicava circa 60% materiale di partenza residuo. Una soluzione del residuo in 8 mL di etanolo è stata nuovamente sottoposta a condizioni di idrogenazione utilizzando 25 mg di Rodio su allumina (5% in peso Rh) durante la notte. La reazione è stata filtrata su Celite, lavando con etanolo. Il filtrato è stato concentrato *sotto vuoto* per dare un residuo, che è stato purificato tramite cromatografia su colonna di gel di silice (0-30% etil acetato in esani) per dare **88-7**. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[M+H]^+$ calc. per $C_{33}H_{44}ClF_2N_4O_6$: 665,28; osservato: 665,48.

Passaggio 8. Preparazione di **88-8**: TFA (0,45 mL, 5,86 mmoli) è stato aggiunto lentamente ad una soluzione di **88-7** (52 mg, 0,078 mmoli) in 2 mL di diclorometano. Dopo 3 ore, miscela è stata concentrata a pressione ridotta quasi ad essiccazione. Il risultante residuo è stato ripreso in 10 mL di etil acetato, lavato con 8 mL di acqua, 8 mL di sat. $NaHCO_3$ (aq), e separato. Gli strati acquosi sono stati estratti con etil acetato (3 x 10 mL). Le fasi

organiche combinate sono state lavate con 10 mL di salamoia, seccate su MgSO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto per dare **88-8**, che è stato usato nel seguente passaggio senza ulteriore purificazione. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₉H₃₆ClF₂N₄O₆: 609,22; osservato: 609,42.

Passaggio 9. Preparazione di Esempio **88**: HATU (58 mg, 0,153 mmoli, Oakwood) e DIPEA (0,065 mL, 0,374 mmoli) sono stati aggiunti a una miscela di **88-8** (45 mg, 0,074 mmoli) e Intermedio **A10** (49 mg, 0,161 mmoli) in 2,5 mL di acetonitrile sotto argon. Dopo aver agitato per durante la notte, la miscela di reazione è stata ripresa in 15 mL di etil acetato e lavata con 10 mL di 1 N HCl acquoso. Lo strato acquoso è stato estratto tre volte con etil acetato. Le fasi organiche combinate sono state lavate con 50% salamoia, seccate su Na₂SO₄ anidro, filtrate, e concentrate sotto vuoto. Il risultante residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice (0-50% etil acetato in esani) e HPLC preparativa in fase inversa (50-100% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare il sale di acido trifluoroacetico di Esempio **88**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,92 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₃₈H₄₈ClF₄N₆O₈S: 859,28; osservato: 859,42. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,23 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,90 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 5,81 (td, J_{H-F} = 56 Hz, J = 6,0 Hz, 1H), 5,69-5,66 (m, 1H), 4,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,43 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,34 (s, 1H), 4,22-4,16 (dd, J = 12, 4 Hz, 1H), 3,71-3,66 (m, 1H), 2,83-2,76 (m, 1H), 2,61-2,48 (m, 1H), 2,11-1,94 (m, 4H), 1,88-1,72 (m, 4H), 1,71-1,62 (m, 1H), 1,58-1,54 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,50-1,36 (m, 2H), 1,09 (s, 9H), 1,08-1,01 (m, 3H), 1,01-0,94 (m, 2H), 0,93-0,86 (m, 2H), 0,80-0,68 (m, 1H), 0,52-0,46 (m, 1H).

Esempio **89**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,19E,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,21,22,22a-dodecaidro-8H-7,10-metanociclopropano[1,10,3,6]diossadiazaciclono[nadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.

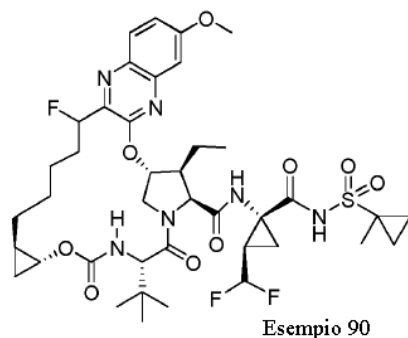


Passaggio 1. Preparazione di **89-1**: **17-4** (95 mg, 0,14 mmoli) in 0,4 mL DCM è stato trattato con 0,4 mL di TFA e agitato a rt per 2 h. La miscela di reazione è stata diluita con 5 mL DCM e poi trattata con acqua e bicarbonato di sodio saturo a pH 6,5. Gli strati sono stati separati e la fase organica è stata lavata ancora una volta con acqua, poi seccata su solfato di sodio anidro, filtrata e concentrata per dare **89-1**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₁H₃₉F₂N₄O₇: 617,3; osservato: 616,7.

Passaggio 2. Preparazione di Esemplio **89**: Una miscela di **89-1** da passaggio 1 (41 mg, 0,066 mmoli), Intermedio **A10** (24 mg, 0,079 mmoli), HATU (30 mg, 0,079 mmoli), e DIPEA (0,057 mL, 0,33 mmoli) in DMF (0,4 mL) è stata agitata a rt durante la notte. La miscela è stata diluita con 2 N HCl (1 mL) e estratta con diclorometano. La fase organica è stata seccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata. La miscela di prodotto grezzo è stata purificata mediante HPLC preparativa in fase inversa (10-99% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) per dare Esemplio **89**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,65 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₁F₄N₆O₉S: 867,3; osservato: 866,9. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,890 (s, 1H),

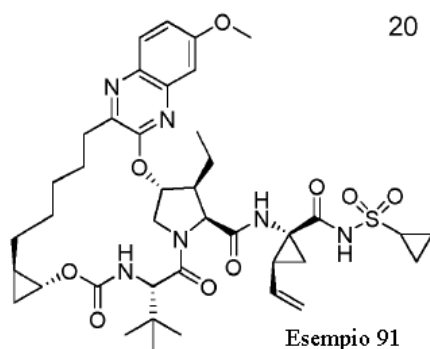
7,98 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,28 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H), 7,06 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 6,75 (s largo, 1H), 6,30 - 5,93 (m, 2H), 5,92 (td, $J_{H-F} = 52$ Hz, $J = 6,8$ Hz, 1H), 5,47 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4,48 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 4,42 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,07 (dd, $J = 11,6, 3,2$ Hz, 1H), 3,98 - 3,94 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,57 (m, 1H), 2,60 - 2,48 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 2,06 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,63 (m, 2H), 1,50 (s, 3H), 1,56 - 1,36 (m, 2H), 1,26 (m, 1H), 1,19 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,03-0,93 (m, 2H), 0,85 (m, 2H), 0,76 (m, 1H), 0,53 (m, 1H).

Esempio 90. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S,10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[[[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-9-etil-18-fluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



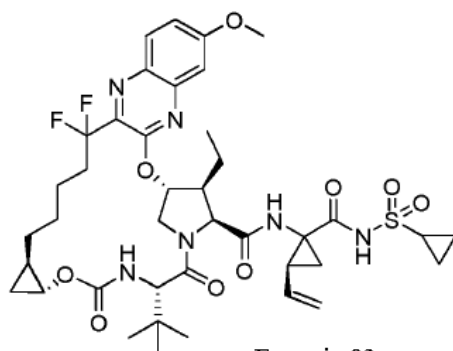
Ulteriore purificazione di una sintesi di composto **17** mediante HPLC preparativa in fase inversa (60-88% acetonitrile in acqua, con tampone di 0,1% di acido trifluoroacetico) consentiva l'isolamento di esempio **93** come prodotto collaterale secondario. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,64 min. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₄F₃N₆O₉S: 851,4; osservato: 851,4. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,93 (s largo, 1H), 7,88 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,22 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,06 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 6,55 (s, 1H), 5,91 (td, $J_{H-F} = 136$ Hz, $J = 8$ Hz, 1H), 5,81 (td, $J_{H-F} = 52$ Hz, $J = 8$ Hz, 1H), 5,30 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H), 4,44 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 4,38 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 4,32 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,72 (m, 1H), 2,59 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,06 (m, 4H), 1,88 (m, 1H), 1,78 (m, 1H), 1,71 - 1,52 (m, 4H), 1,48 (s, 3H), 1,48 - 1,41 (m, 2H), 1,23 (m, 2H), 1,21 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H), 1,08 (s, 9H), 1,05 - 0,90 (m, 2H), 0,84 (m, 2H), 0,66 (m, 1H), 0,48 (m, 1H).

Esempio **91**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-N-{(1R,2S)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-etenilciclopropil}-9-etil-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **91** è stato preparato in maniera simile a Esempio **1** sostituendo Intermedio **A1** per Intermedio **A10** in Passaggio 8. Il sale di TFA di Esempio **91** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,72 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₅N₆O₉S: 795,96; osservato: 795,94. 1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,03 (s, 1H); 7,80 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,24 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H); 7,16 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 5,90 (d, J = 3,6 Hz, 1H); 5,68 (m, 1H); 5,25 (d, J = 17,2 Hz, 1,6 Hz, 1H); 5,10 (d, J = 11,2, 1,6 Hz, 1H); 4,57 (d, J = 6,8 Hz, 1H); 4,39 (s largo, 1H); 4,37 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 4,16 (dd, J = 12,8, 4,4 Hz, 1H); 3,93 (s, 3H); 3,77-3,72 (m, 1H); 3,02-2,88 (m, 1H); 2,86-2,75 (m, 1H); 2,64-2,54 (m, 1H); 2,18 (q, J = 8,8 Hz, 1H); 1,90-1,66 (m, 4H); 1,66-1,40 (m, 6H); 1,38-1,32 (m, 1H); 1,30-1,20 (m, 5H); 1,10 (s, 9H); 1,14-1,02 (m, 2H); 0,77-0,68 (m, 1H); 0,54-0,45 (m, 1H),'

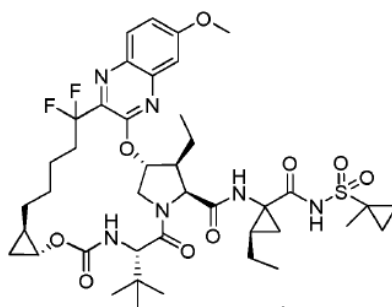
Esempio **92**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-N-{(1R,2S)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-etenilciclopropil}-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esemplio 92

Esemplio **92** è stato preparato in maniera simile a Esemplio **17**, sostituendo Intermedio **A1** per Intermedio **A10** in Passaggio 7. Esemplio **92** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,75 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₀H₅₃F₂N₆O₉S: 831,36; osservato: 831,25. ¹H NMR (400 MHz, Cloroformio-*d*) δ 9,98 (s, 1H), 7,96 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,40 - 7,19 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,91 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 5,86 - 5,64 (m, 1H), 5,34 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 5,21 (d, *J* = 17,2 Hz, 1H), 5,10 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,53-4,26 (m, 2H), 4,15-4,02 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,73 - 3,57 (m, 1H), 2,97 - 2,81 (m, 1H), 2,64 - 2,37 (m, 2H), 2,21 - 2,06 (m, 1H), 2,06 - 1,88 (m, 2H), 1,88 - 1,55 (m, 4H), 1,55 - 1,12 (m, 10H), 1,07 (s, 9H), 1,02 - 0,78 (m, 5H), 0,78 - 0,61 (m, 1H), 0,47 (q, *J* = 7,3, 6,2 Hz, 1H).

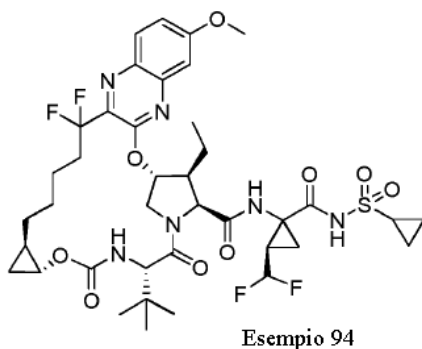
Esemplio **93**. Preparazione di (1*a*,5*S*,8*S*,9*S*,10*R*,22*aR*)-5-terz-butil-9-etil-N-[(2*R*)-2-etil-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1*a*,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22*a*-tetradeca idro-8*H*-7,10-metanociclopropra[18,19][1,10,3,6]diossadiazacilonadecino[11,12-*b*]chinossalina-8-carbossammide.



Esemplio 93

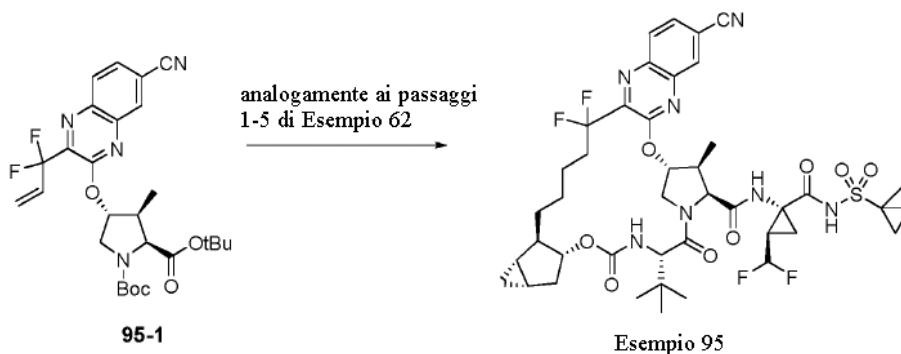
Esempio **93** è stato preparato in maniera simile a Esempio **17**, sostituendo Intermedio **A4** per Intermedio **A10** in Passaggio 7. Esempio **93** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,03 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₇F₂N₆O₉S: 847,39; osservato: 846,99. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,27 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,41 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,82 (m, 2H), 4,47 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,35 (dd, *J* = 35,7, 10,7 Hz, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,63 (m, 1H), 2,50 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,94 (m, 2H), 1,78 (m, 3H), 1,64 (m, 4H), 1,48 (m, 6H), 1,19 (m, 4H), 1,07 (s, 9H), 1,05 - 0,88 (m, 4H), 0,88 - 0,75 (m, 1H), 0,67 (m, 1H), 0,47 (m, 1H).

Esempio **94**. Preparazione di (1aR,5S,8S,9S, 10R,22aR)-5-terz-butil-N-[(2R)-1-[(ciclopropilsolfonil)carbamoil]-2-(difluorometil)ciclopropil]-9-etil-18,18-difluoro-14-metossi-3,6-diosso-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecaidro-8H-7,10-metanociclopropa[18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-8-carbossammide.



Esempio **94** è stato preparato in maniera simile a Esempio **17**, sostituendo Intermedio **A9** per Intermedio **A10** in Passaggio 7. Esempio **94** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,71 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₉H₅₁F₄N₆O₉S: 855,34; osservato: 855,26. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,22 (s, 1H), 8,02 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,33 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 5,95 (td, *J*_{HF} = 52 Hz, *J* = 8 Hz, 1H), 5,50 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,53 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,46 (dd, *J* = 26,4, 10,7 Hz, 2H), 4,13 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,68 (m, 1H), 2,91 (m, 1H), 2,57 (m, 3H), 2,13 (m, 2H), 1,94 (m, 2H), 1,73 (m, 3H), 1,50 (m, 3H), 1,33 (m, 3H), 1,22 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,13 (s, 9H), 1,00 - 0,95 (m, 4H), 0,95 - 0,85 (m, 1H), 0,69 (m, 1H), 0,51 (m, 1H).

Esempio 95. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,23aR,23bS)-6-terz-butil-15-ciano-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-19,19-difluoro-10-metil-4,7-diosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23a,23b-esadecaidro-1H,9H-8,11-metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.

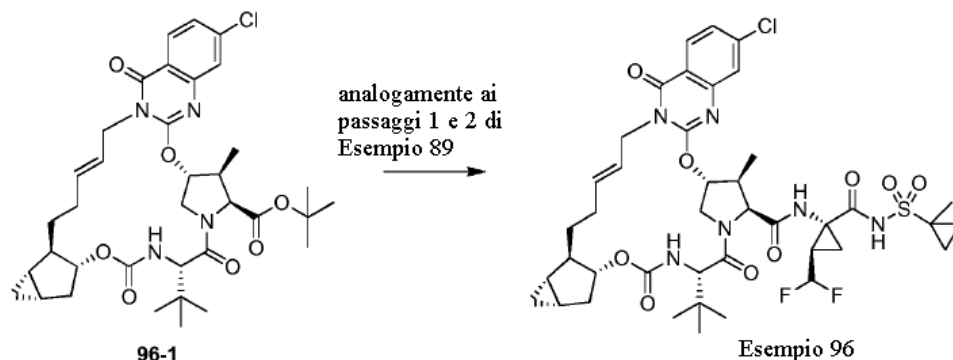


Intermedio **95-1** è stato preparato in maniera simile a Intermedio **46-2**, sostituendo **E6** per Intermedio **E3** in Passaggio 1. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₂₇H₃₃F₂N₄O₅: 531,24; osservato: 531,2.

Esempio **95** è stato preparato in maniera simile a Esempio **62**, sostituendo Intermedio **95-1** per Intermedio **46-2** in Passaggio 1 e sostituendo Intermedio **A10** per Intermedio **A9** in Passaggio 5. Esempio **95** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 8,86 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₂H₅₂F₄N₇O₈S: 890,35; osservato: 889,94. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,34 (s, 1H), 7,80 (m, 2H), 7,42 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,69 (s, 1H), 5,38 (m, 1H), 5,29 (m, 3H), 5,02 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,46 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,10 - 3,97 (m, 2H), 3,84 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 3,74 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 2,42 - 2,29 (m, 1H), 2,10 (s, 1H), 1,87 - 1,72 (m, 1H), 1,69 - 1,48 (m, 4H), 1,38 (d, *J* = 14,8 Hz, 2H), 1,30 - 1,08 (m, 4H), 0,99 (s, 5H), 0,89 (m, 3H), 0,69 (s, 10H), 0,64 (m, 1H), 0,43 (s, 1H), 0,11 (m, 1H), 0,01 (m, 1H).

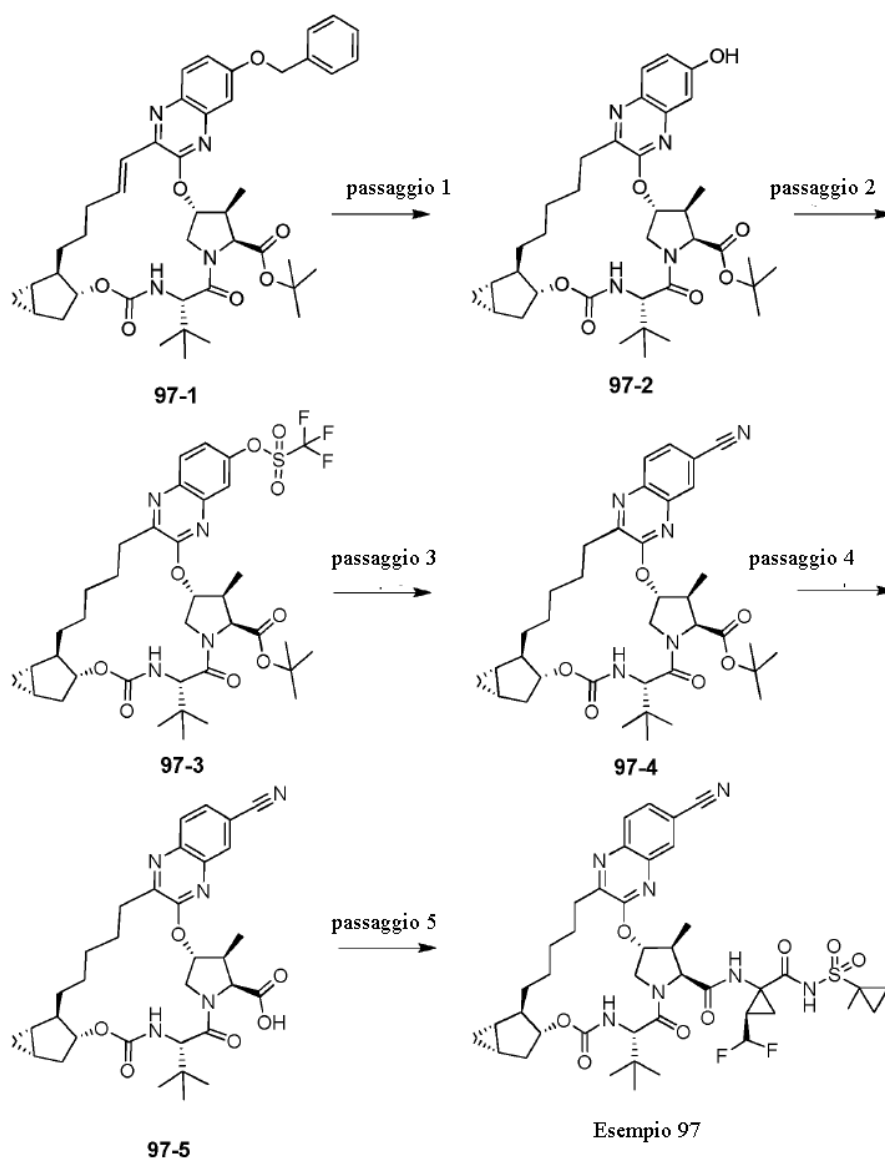
Esempio 96. Preparazione di (1aS,2aR,6S,9S,10S,11R,21E,24aR,24bS)-6-terz-butil-15-cloro-N-[(1R,2R)-2-(difluorometil)-1-[(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-10-metil-4,7,18-triosso-1a,2,2a,4,5,6,7,10,11,20,23,24,24a,24b-tetradecaidro-1H,9H,18H-8,11-

metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6,12]diossatriazaciclononadecino[11,12-b]chinazolina-9-carbossammide.



Esempio **96** è stato preparato in maniera simile a Esempio **89**, sostituendo intermedio **96-1** per intermedio **17-4** in Passaggio 1, Intermedio **96-1** è stato preparato in maniera simile a intermedio **17-4** di Esempio **17**, sostituendo **E9** per **E3** e **B1** per **B4** in Passaggio 1, e sostituendo intermedio **D16** per intermedio **D11** in Passaggio 3. Esempio **96** è stato isolato. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,18 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₁H₅₂ClF₂N₆O₉S: 877,32; osservato: 877,61. ¹H NMR (400 MHz, Cloroformio-*d*) δ 9,76 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,39 (m, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,92 (m, 1H), 5,87 - 5,73 (m, 1H), 5,68 (m, 1H), 5,64 - 5,51 (m, 1H), 5,21 (m, 1H), 4,93 (m, 2H), 4,52 - 4,32 (m, 3H), 4,15 - 3,94 (m, 2H), 2,86 - 2,71 (m, 1H), 2,26 (m, 1H), 2,15 (m, 2H), 2,10 - 2,02 (m, 1H), 2,02 - 1,84 (m, 2H), 1,77 (m, 2H), 1,61 (s, 3H), 1,50 (m, 4H), 1,42 - 1,17 (m, 6H), 1,17 - 0,92 (m, 10H), 0,92 - 0,78 (m, 2H), 0,51 - 0,37 (m, 1H).

Esempio **97**. Preparazione di (1*a*S,2*a*R,6*S*,9*S*,10*S*,11*R*,23*a*R,23*b*S)-6-terz-butil-15-ciano-N-[(2*R*)-2-(difluorometil)-1-[[1-(1-metilciclopropil)solfonil]carbamoil]ciclopropil]-10-metil-4,7-diosso-1*a*,2,2*a*,4,5,6,7,10,11,19,20,21,22,23,23*a*,23*b*-esadecaidro-1*H*,9*H*-8,11-metanociclopropra[4',5']ciclopenta[1',2':18,19][1,10,3,6]diossadiazaciclononadecino[11,12-b]chinossalina-9-carbossammide.



Intermedio **97-1** è stato preparato in maniera simile a intermedio **79-5**, sostituendo **E2** per **E5** in Passaggio 1.

LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₄₃H₅₅N₄O₇: 739,41; osservato: 739,31.

Passaggio 1. Preparazione di **97-2**, Macro ciclic olefina **97-1** (0,84 g, 1,14 mmoli) è stato sciolto in 114 mL etanolo e 114 mL etil acetato. Dopo aver degassato con Argon, 0,84 g di 5% Pd/C tipo Degussa è stato aggiunto e la miscela è stata idrogenata per 4 ore a 1 atm. Filtrazione attraverso celite, concentrazione, e cromatografia su

gel di silice (gradiente di 40% - 60% etil acetato in esani) forniva intermedio **97-2**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₆H₅₁N₄O₇: 651,38; osservato: 651,32.

Passaggio 2. Preparazione di **97-3**. Una soluzione ghiacciata di macrociclo fenolo **97-2** (0,47 g, 0,73 mmoli) e trietilammina (0,81 ml, 5,81 mmoli) in 3 mL DCM è stata trattata con soluzione di anidride trifluorometansolfonica, 1 M in cloruro di metilene (0,18 ml, 1,09 mmoli) a gocce. Dopo aver agitato per 2 ore, la reazione è stata spenta con acqua e estratta con etil acetato. Lo strato organico è stato lavato con acqua e salamoia, seccato su Na₂SO₄, filtrato e concentrato. Cromatografia su gel di silice usando un gradiente di 5% - 50% etil acetato in esani dava **97-3** come primo picco ad eluire (55 mg). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₀F₃N₄O₉S: 783,33; osservato: 782,96.

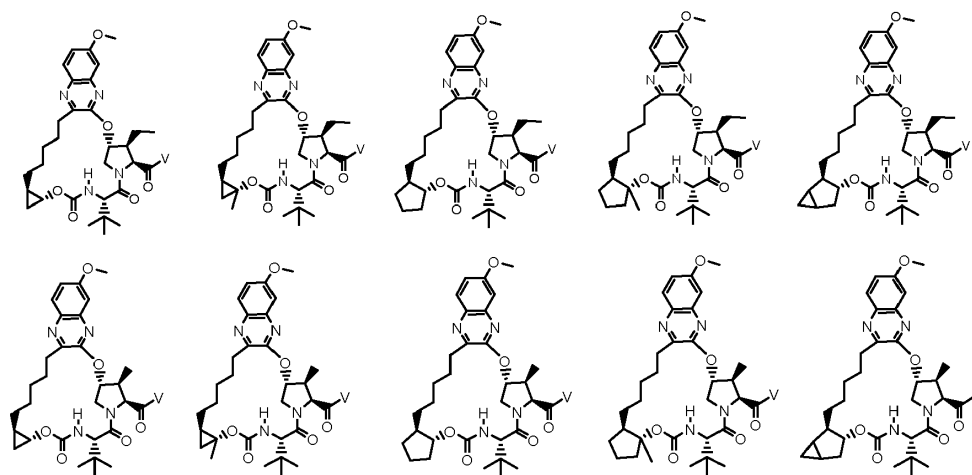
Passaggio 3. Preparazione di **97-4**. Una miscela degassata di macrociclo triflato **97-3** (408 mg, 0,52 mmoli), tetrakis(trifenilfosfina)palladio (30,11 mg, 0,03 mmoli), cianuro di zinco, 98% (61,21 mg, 0,52 mmoli) in 2,6 mL DMF per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata a 80 °C per 1 ora. Altri 60 mg di tetrakis(trifenilfosfina)palladio e 120 mg di cianuro di zinco sono stati aggiunti e il riscaldamento è stato proseguito per 30 minuti. La reazione è stata spenta con soluzione satura di cloruro d'ammonio e estratta con etil acetato. La fase organica è stata separata, seccata su solfato di sodio anidro, filtrata e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice usando un gradiente di 5% -70% etil acetato in esani per dare intermedio **97-4**. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₇H₅₀N₅O₆: 660,38; osservato: 660,10.

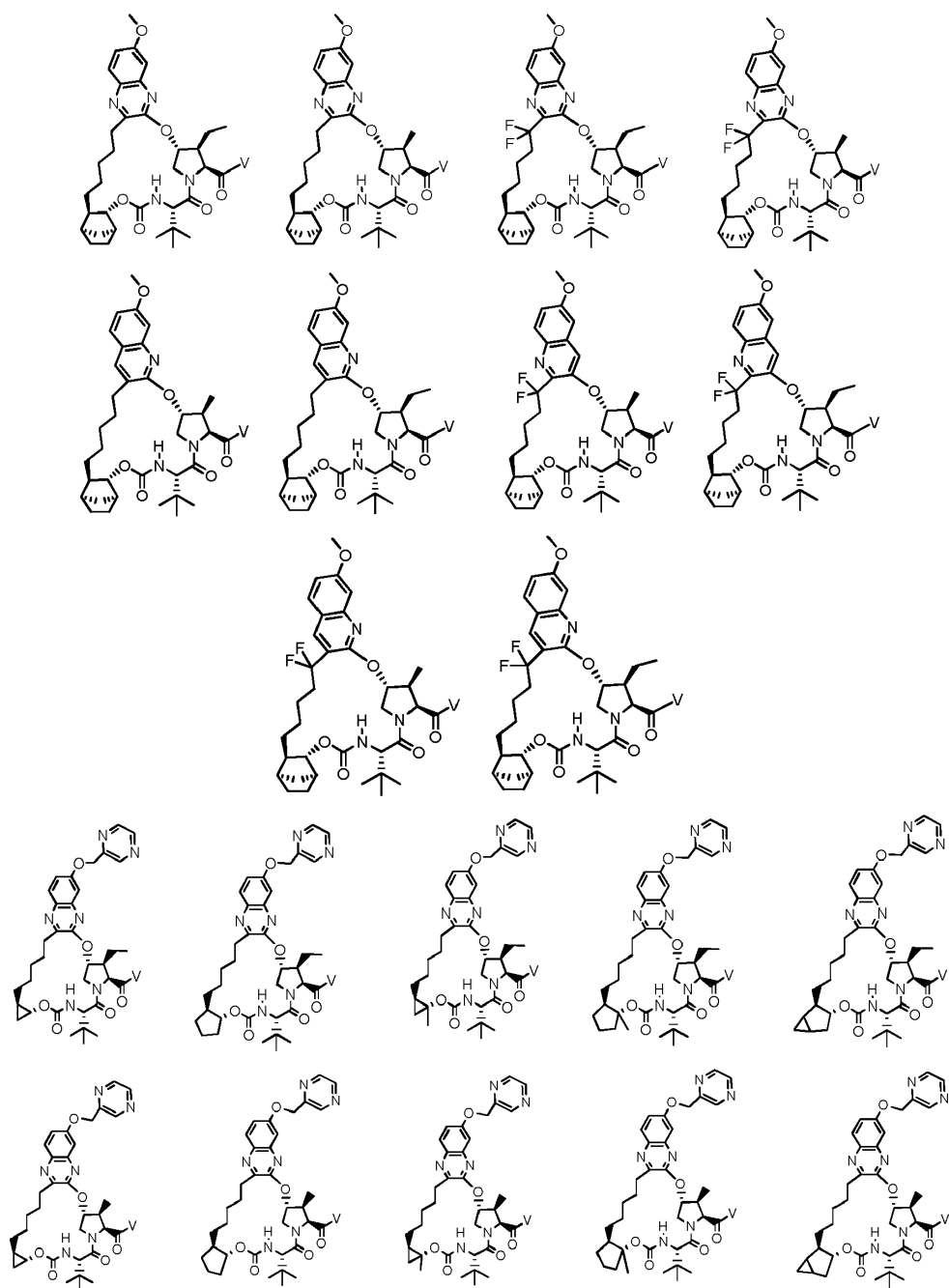
Passaggio 4. Preparazione di **97-5**. Una soluzione di **97-4** (290 mg, 0,44 mmoli) in 1 mL DCM è stata trattata con 0,5 mL di TFA e agitata durante la notte. Acqua è stata aggiunta e la miscela è stata estratta con etil acetato. La fase organica è stata separata, seccata su solfato di sodio anidro, filtrata e concentrata. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice usando un gradiente di 10% -70% etil acetato in esani per dare intermedio **97-5** (216 mg) come un solido bianco. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calc. per C₃₃H₄₂N₅O₆: 604,31; osservato: 604,00.

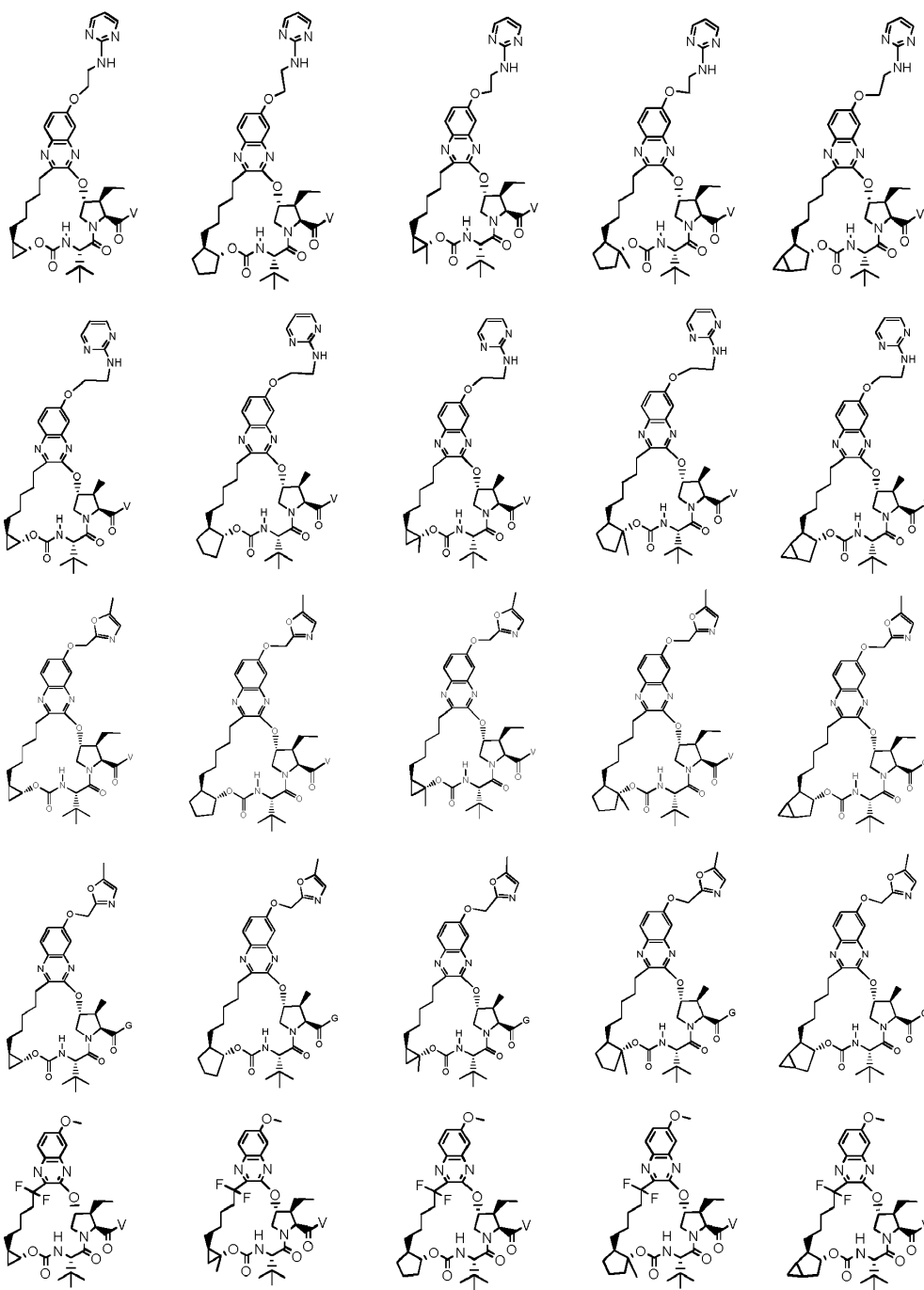
Passaggio 5. Preparazione di Esempio **97**. Una miscela di **97-5** (50 mg, 0,08 mmoli), HATU (37,79 mg, 0,1 mmoli), in 0,3 mL DMF è stata agitata 5 min, poi **A10** (50 mg, 0,08 mmoli) e DIPEA (0,06 ml, 0,33 mmoli)

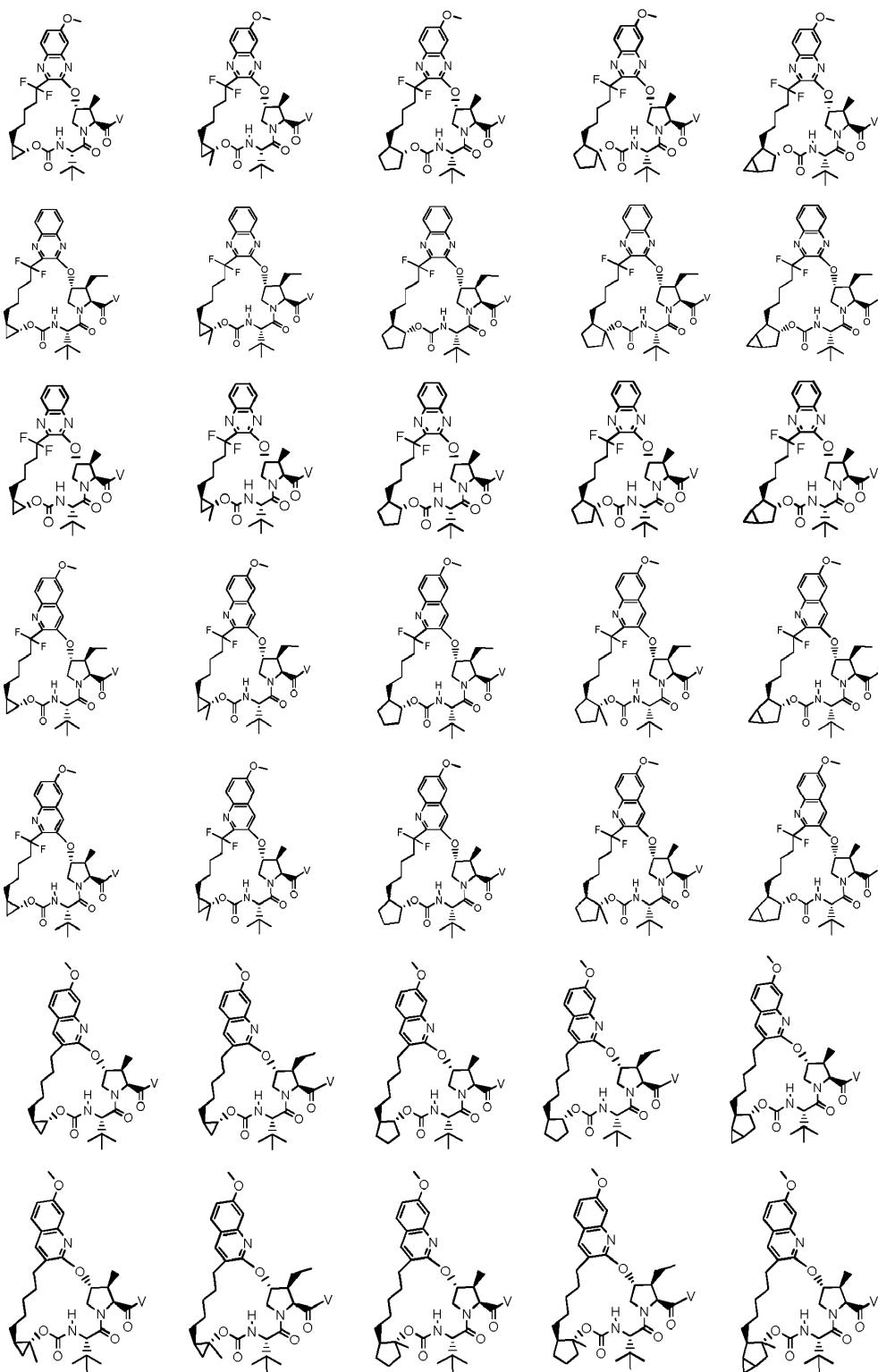
sono stati aggiunti. Dopo 45 min a rt, la reazione era incompleta (LCMS). Aggiunti altri 20 mg di **A10** e agitati per 2 ore. Sono stati aggiunti 2 mL di 1 N HCl, e la miscela è stata estratta con DCM. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice usando un gradiente di 30% - 65% etil acetato in esani. Le frazioni di prodotto combinate contenevano un poco di DMF residua. Acqua è stata aggiunta, che generava un precipitato (14 mg). Il filtrato è stato estratto con etil acetato, e gli estratti sono stati combinati con il precipitato. La risultante soluzione è stata seccata su solfato di sodio anidro, filtrata, concentrata e seccata a pressione ridotta per dare Esempio **97**. Tempo di ritenzione di HPLC analitica: 9,06 min. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺calc. per C₄₂H₅₄F₂N₇O₈S: 854,98; osservato: 853,88. 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,77 (s largo, 1H), 8,05 (m, 1H), 7,93 (m, 1H), 7,62 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,08 (m, 1H), 6 - 5,65 (m, 1H), 5,56 (m, 1H), 5,17 (m, 1H), 4,90 (m, 1H), 4,38 (m, 2H), 4,22 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 2,88 (m, 1H), 2,70 (m, 5H), 2,28 - 2,08 (m, 1H), 2,04 - 1,30 (m, 12H), 1,29 - 1,09 (m, 9H), 1,08 - 0,96 (m, 4H), 0,85 - 0,67 (m, 3H), 0,43 (m, 1H), 0,34 (m, 1H), 0,19 - 0,03 (m, 1H).

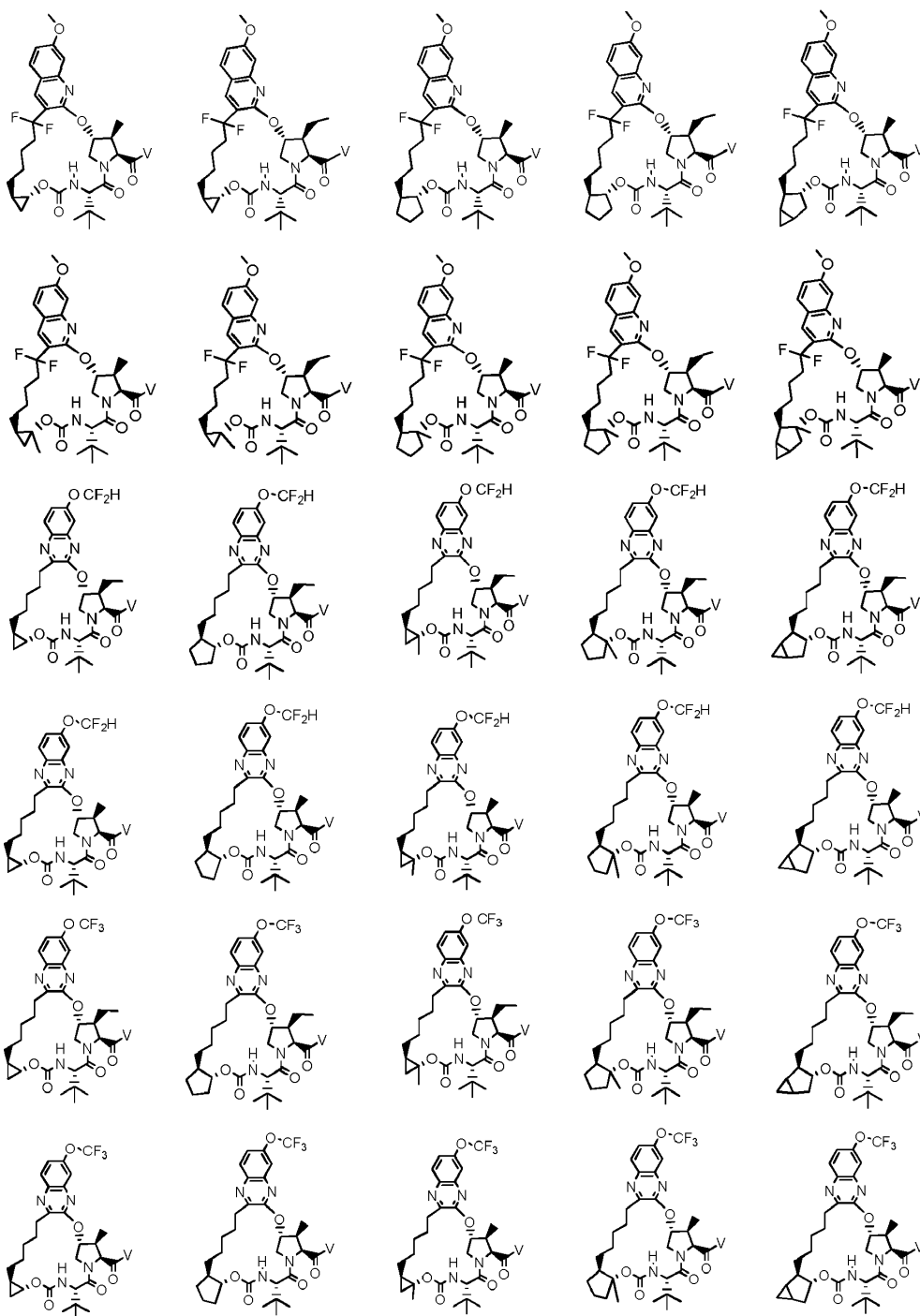
I seguenti composti possono essere preparati con i metodi sintetici di questa descrizione, o con mezzi generalmente ben noti nella tecnica:

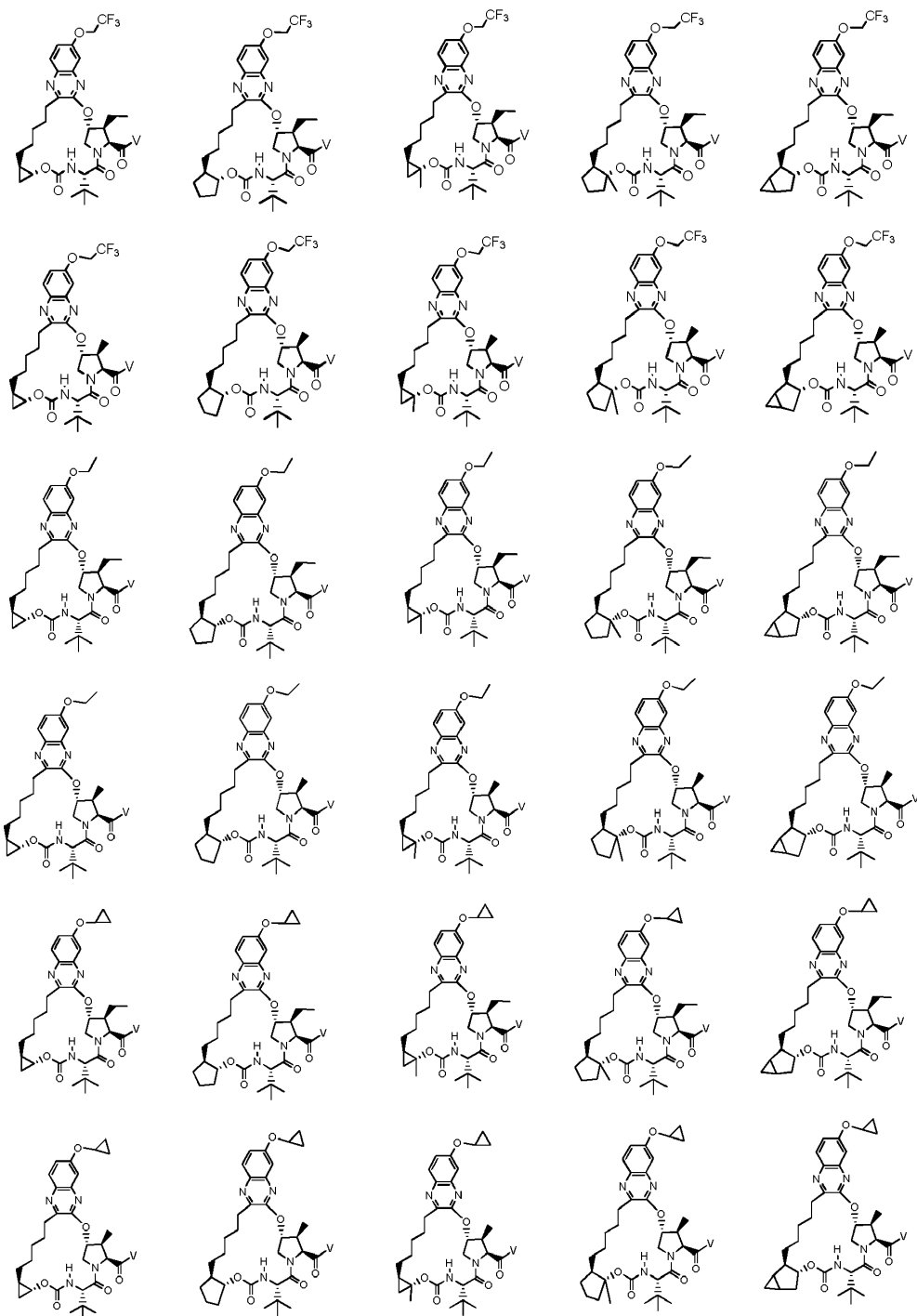


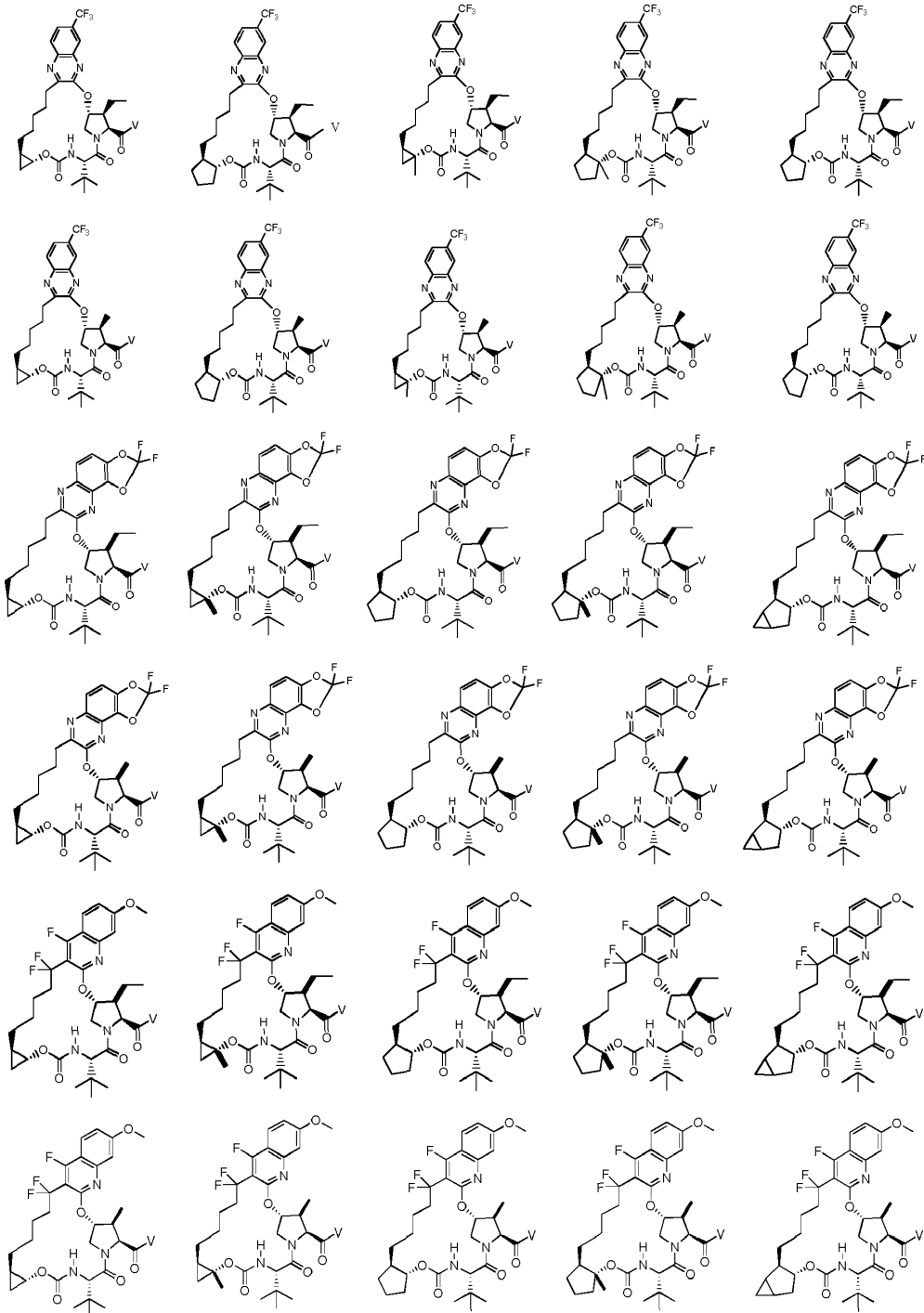


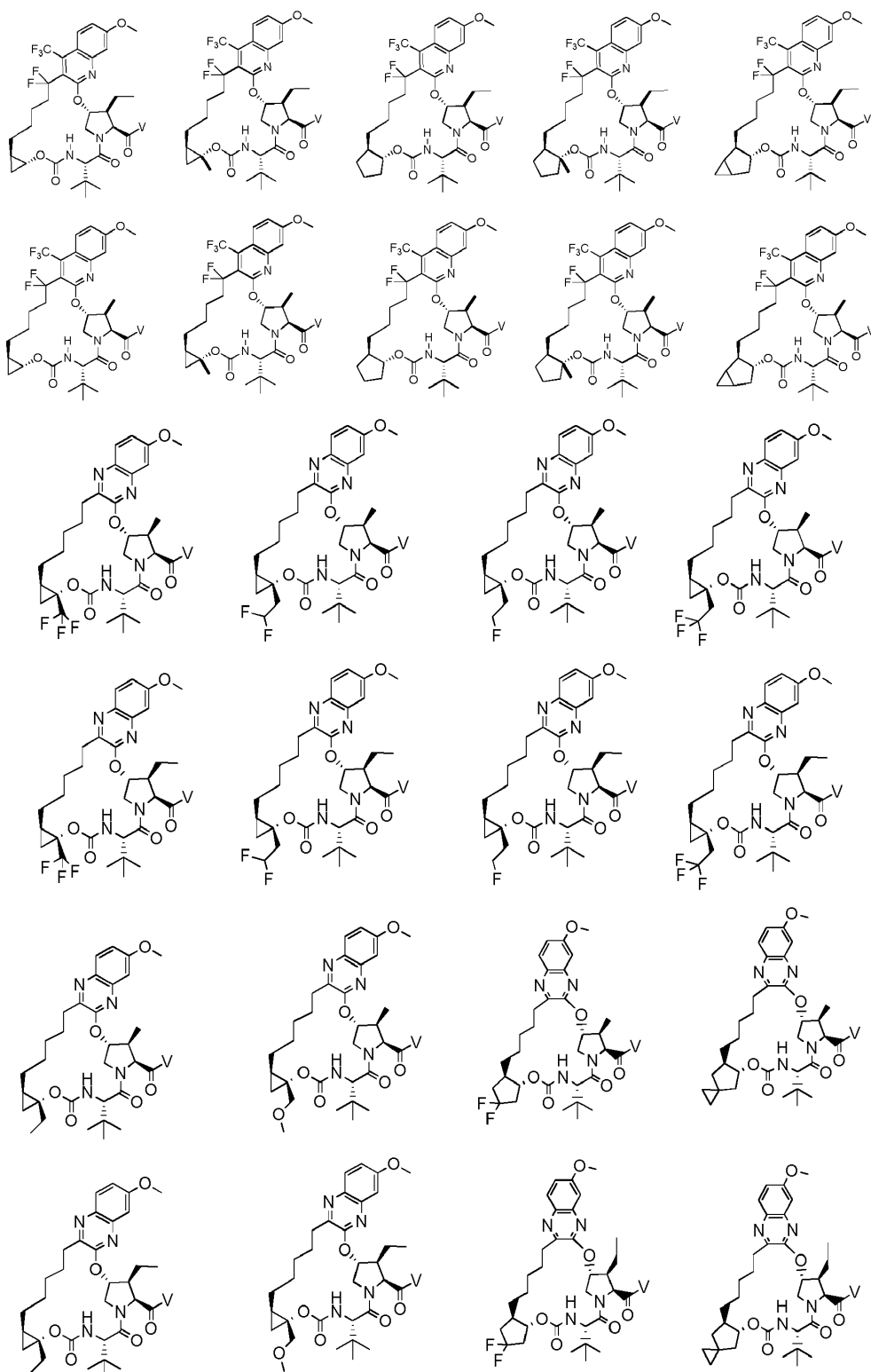


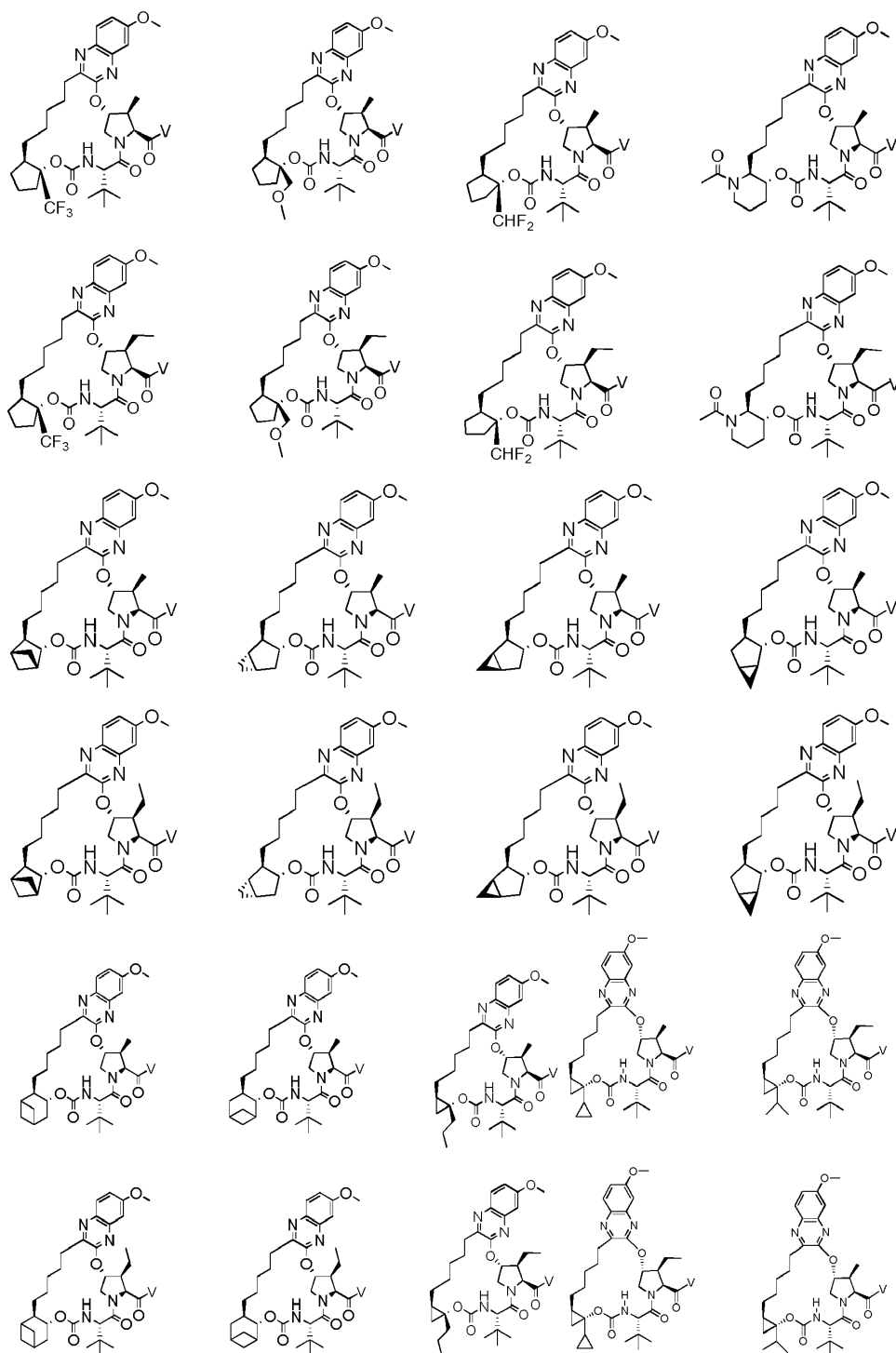


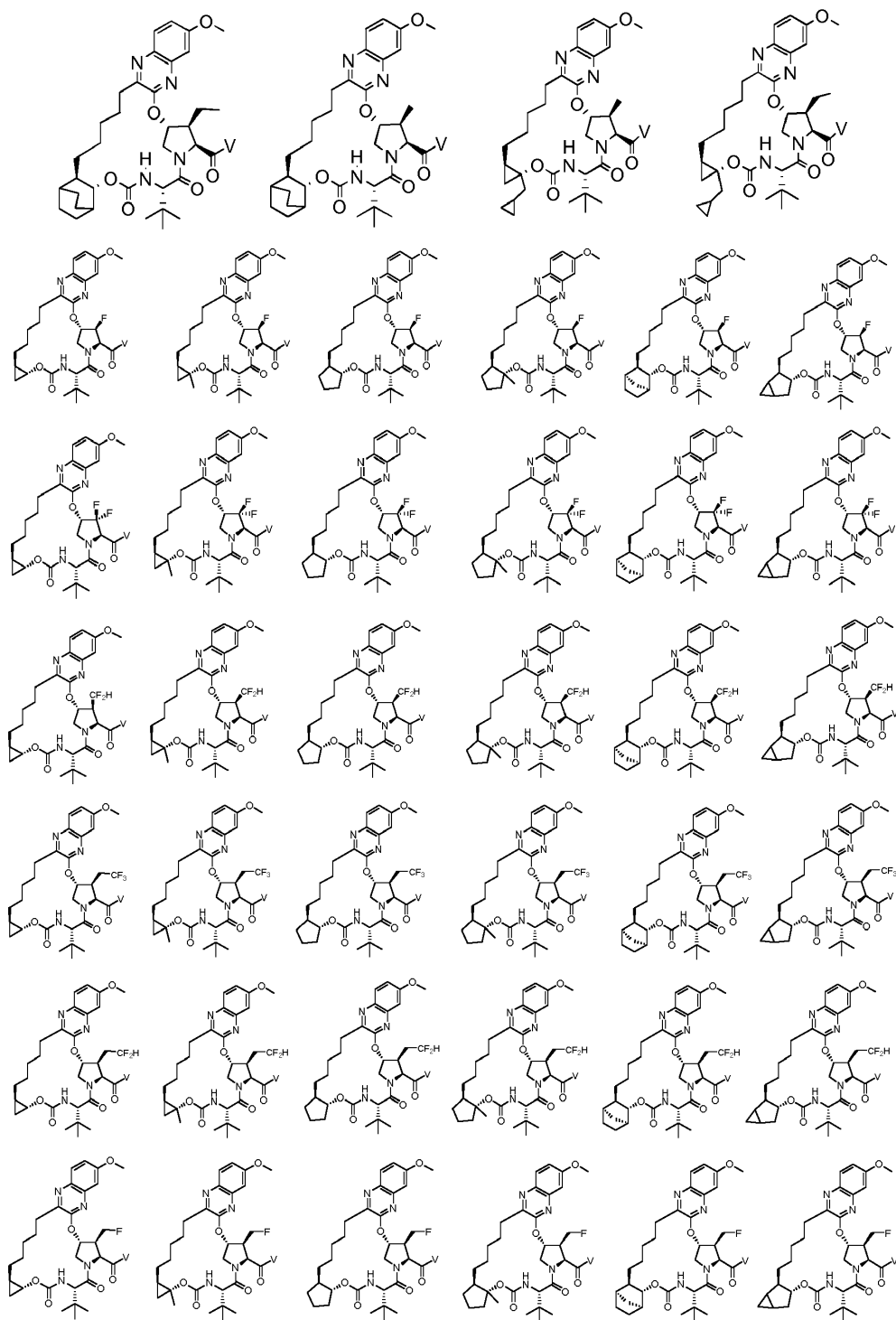


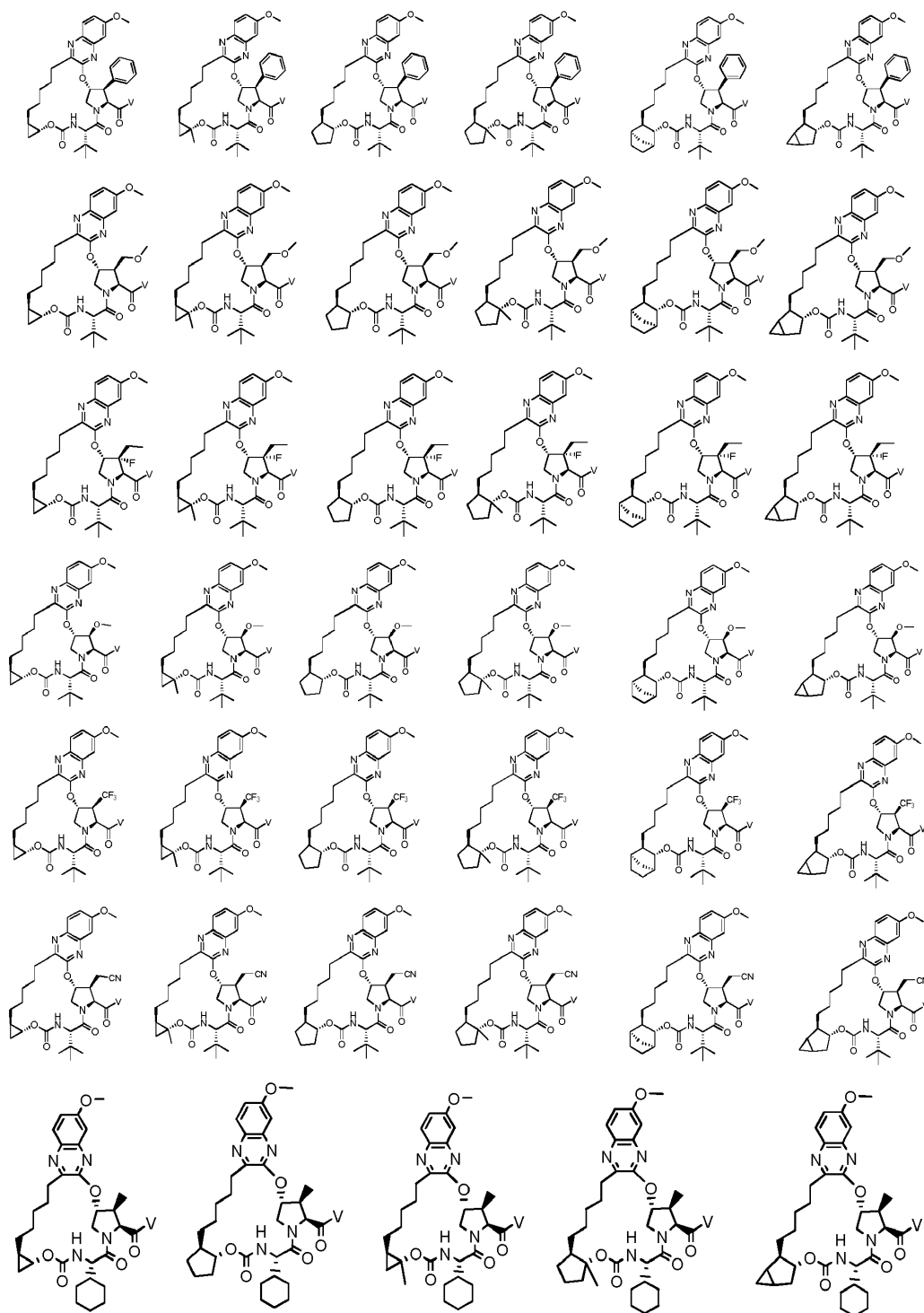


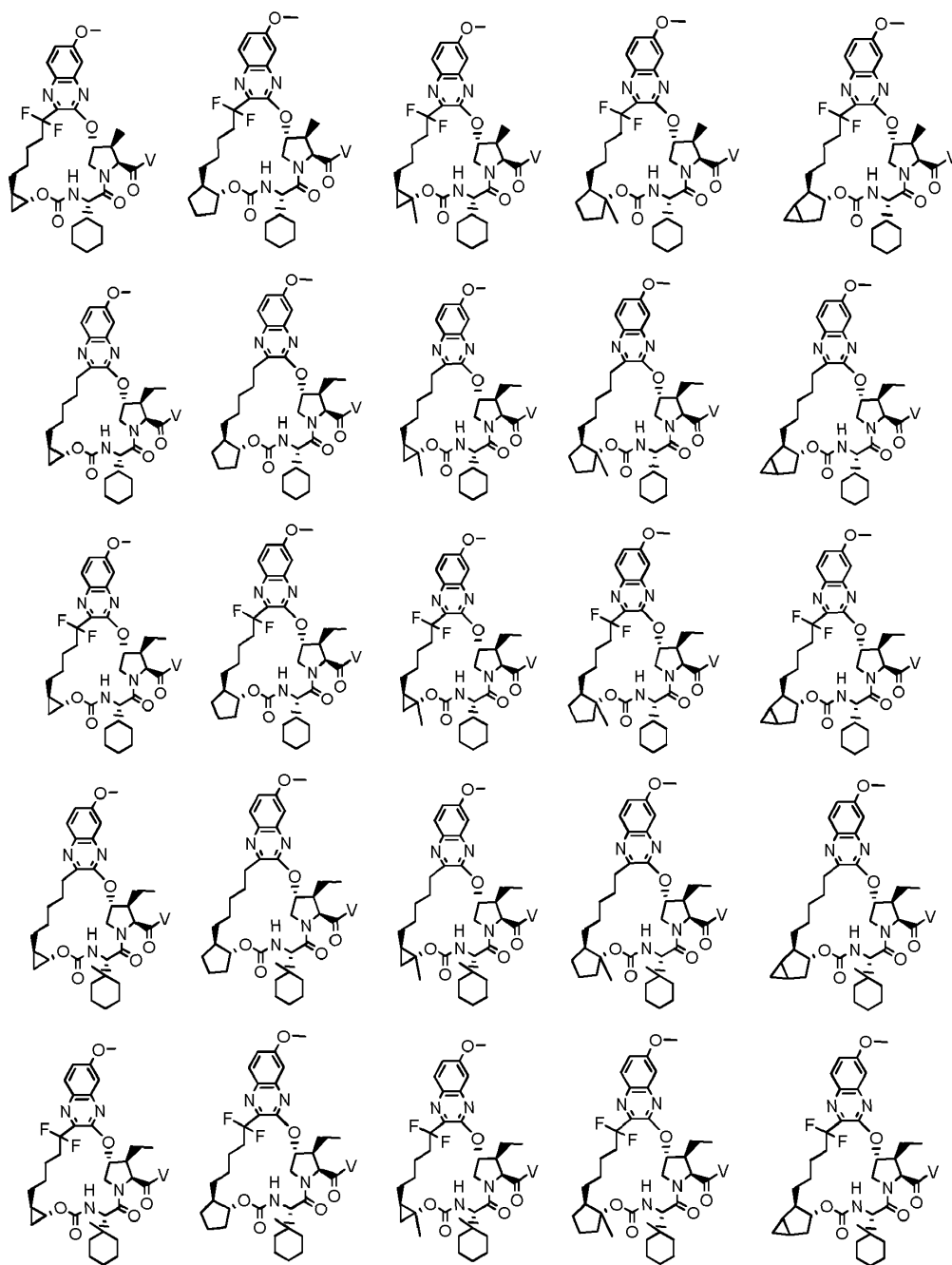


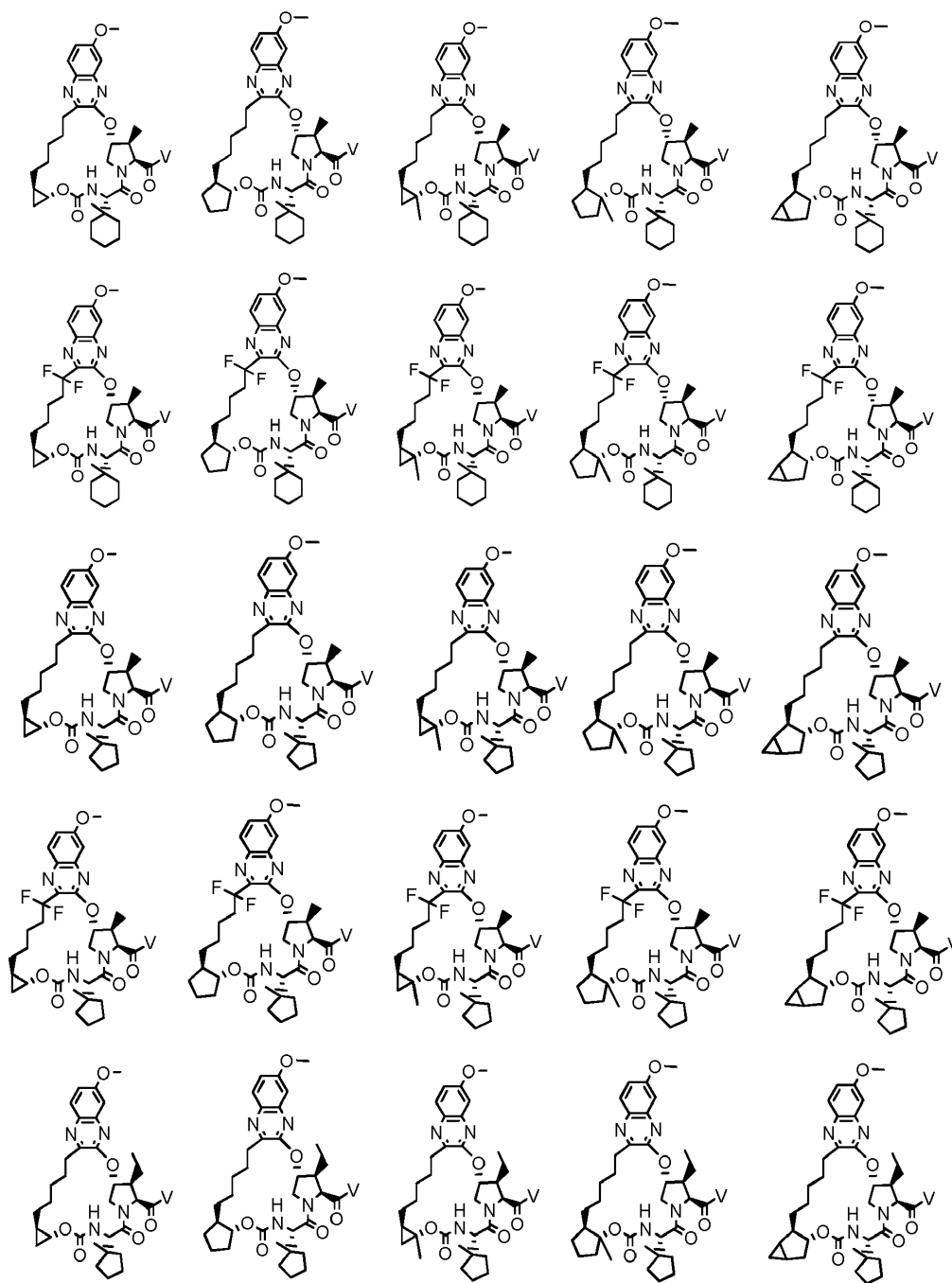


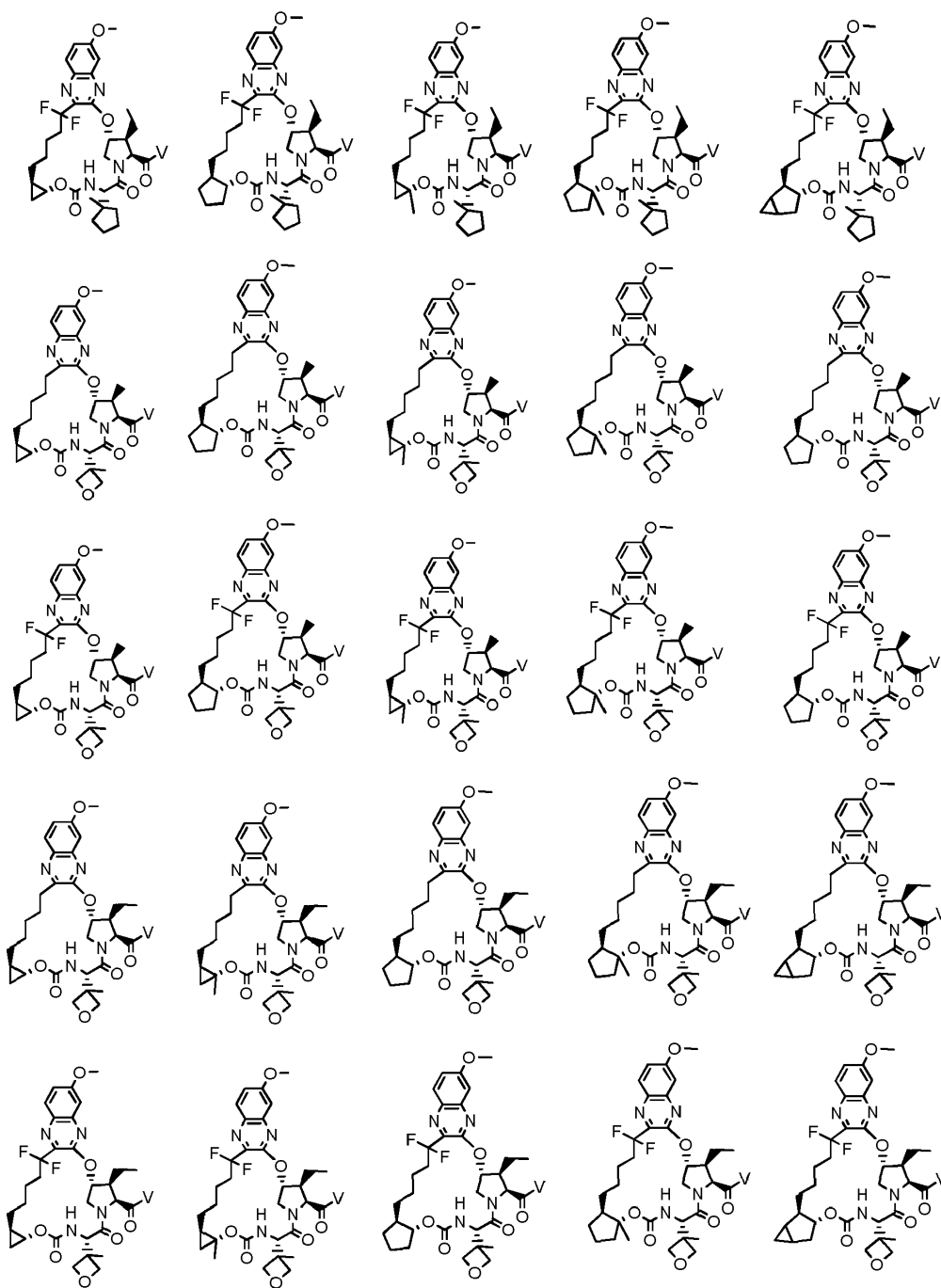


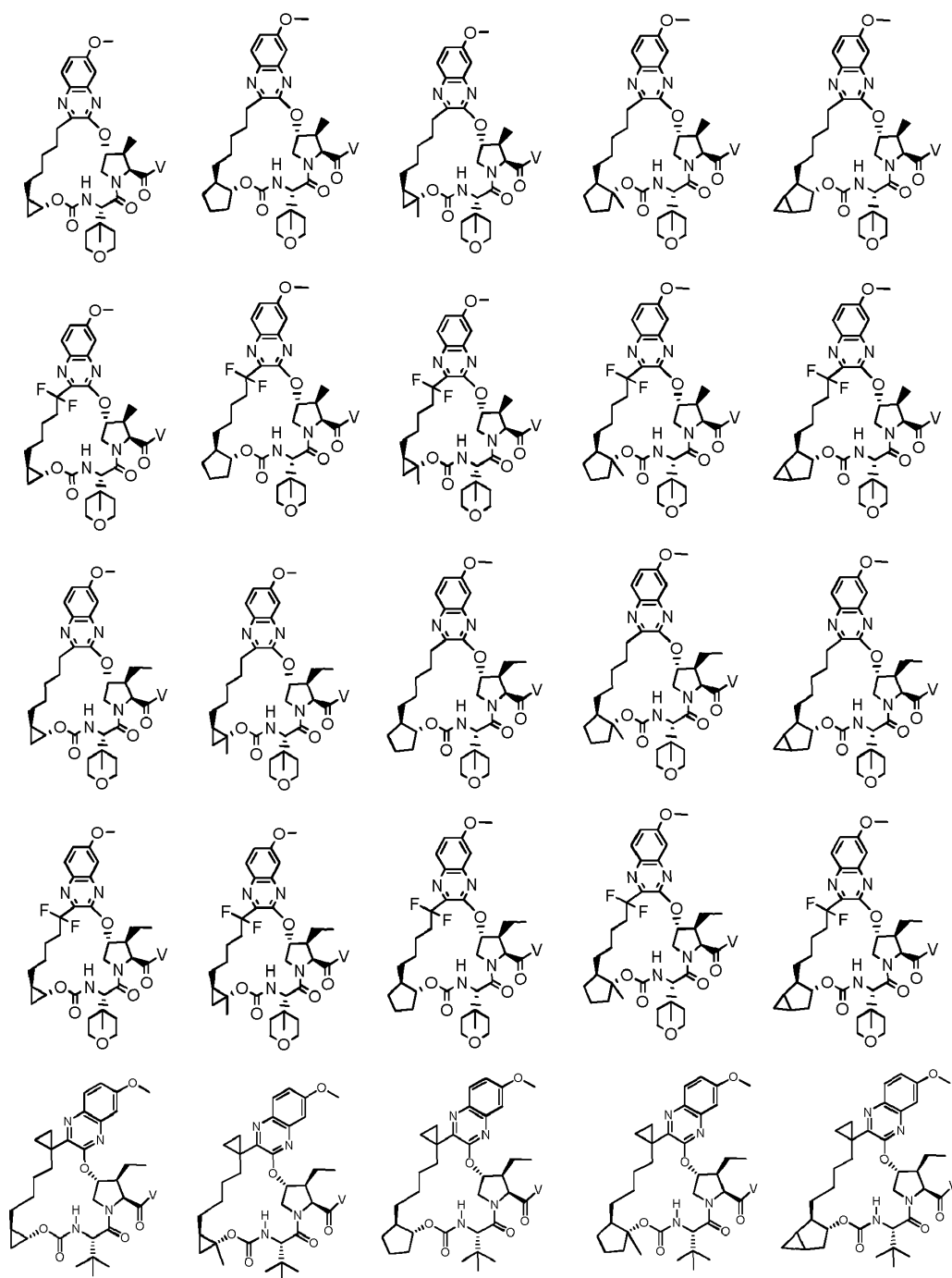


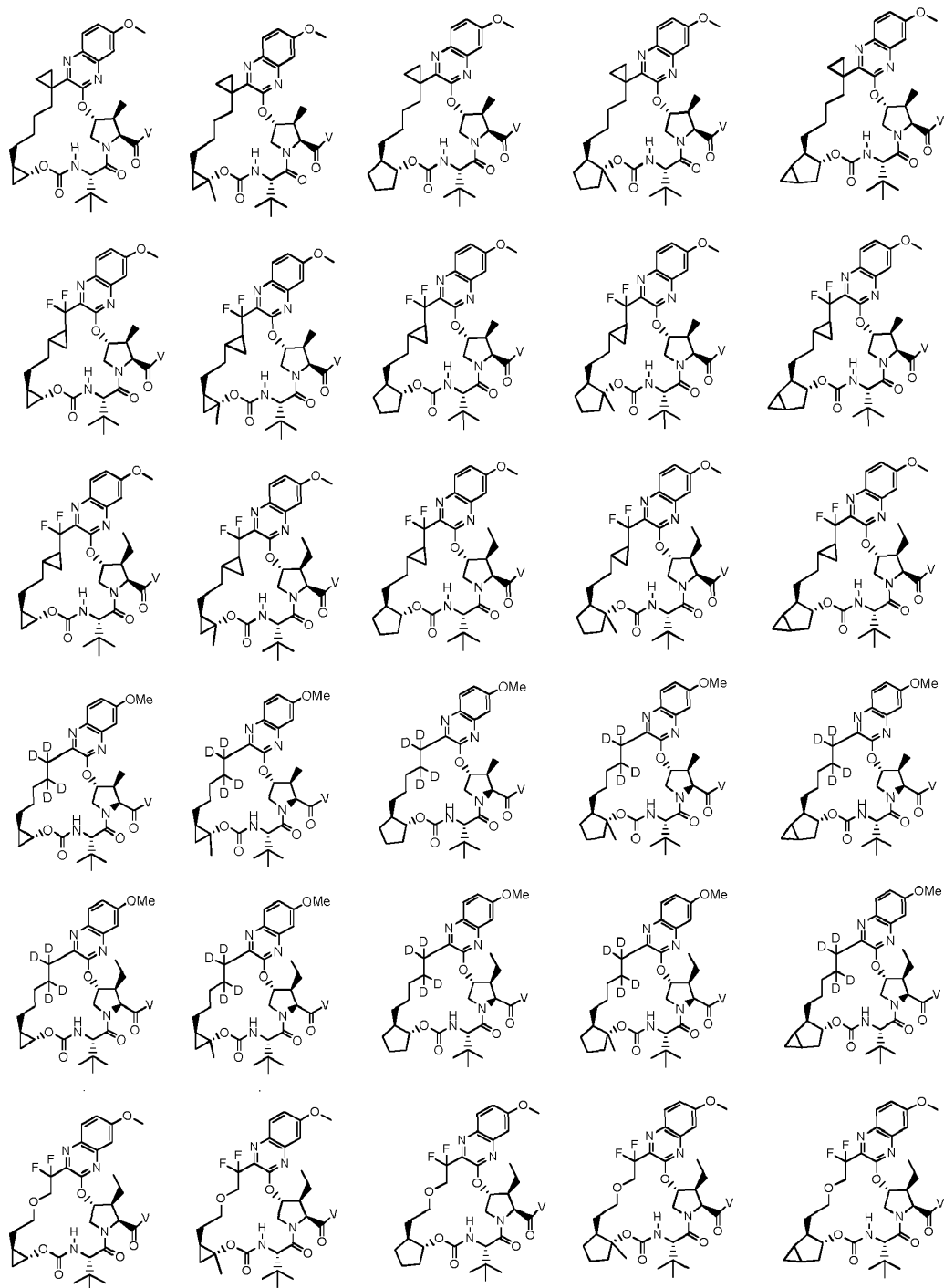


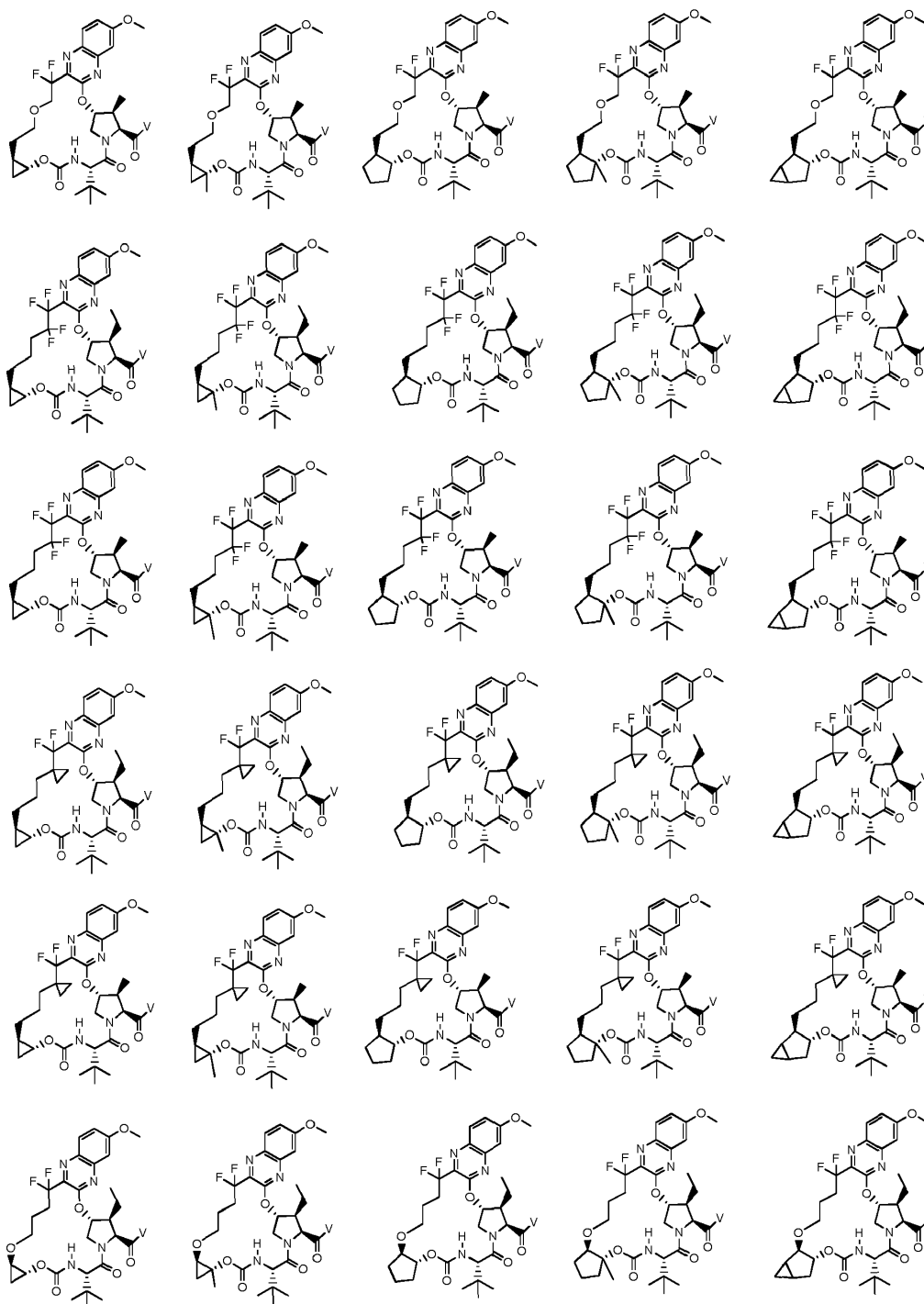


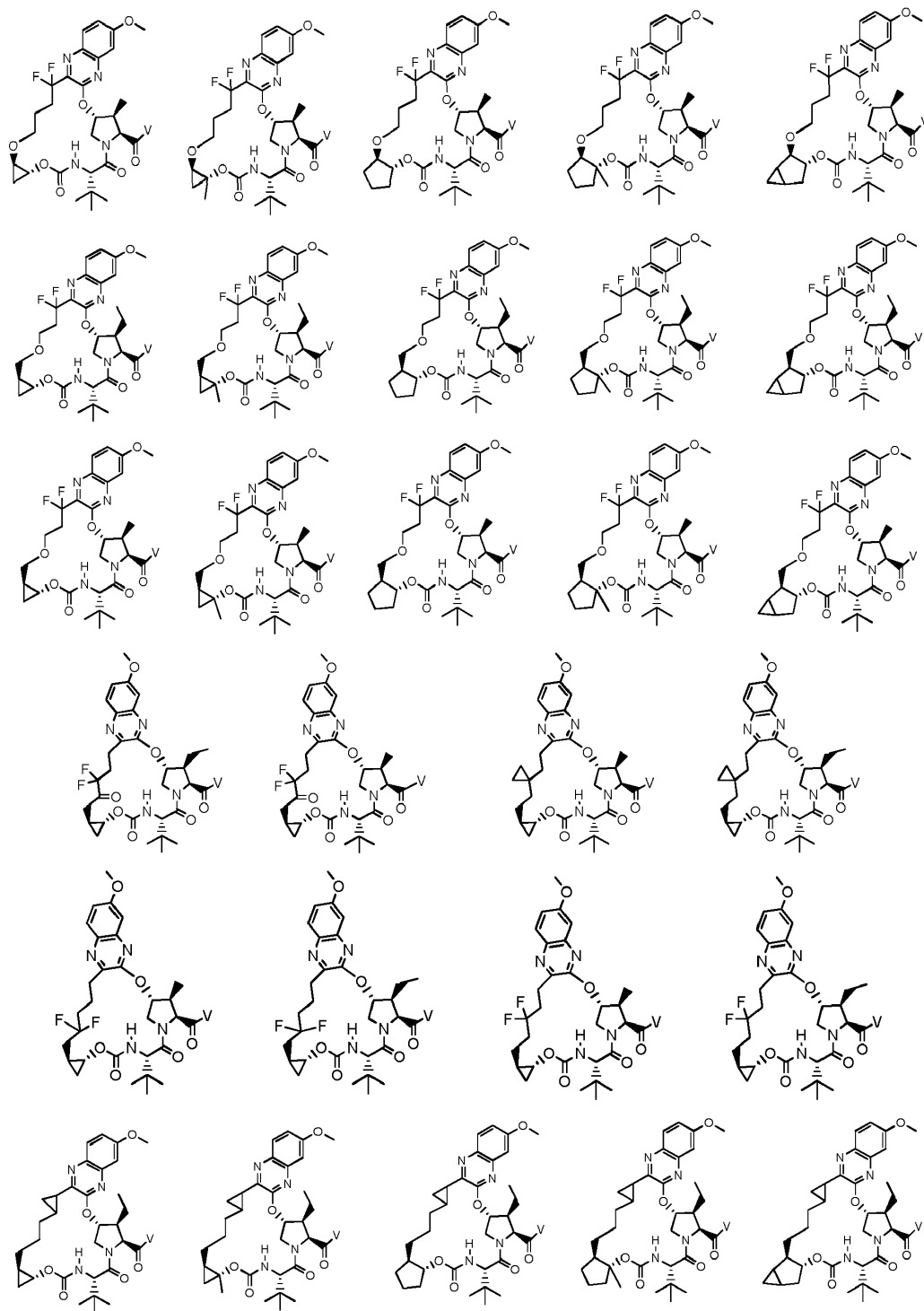


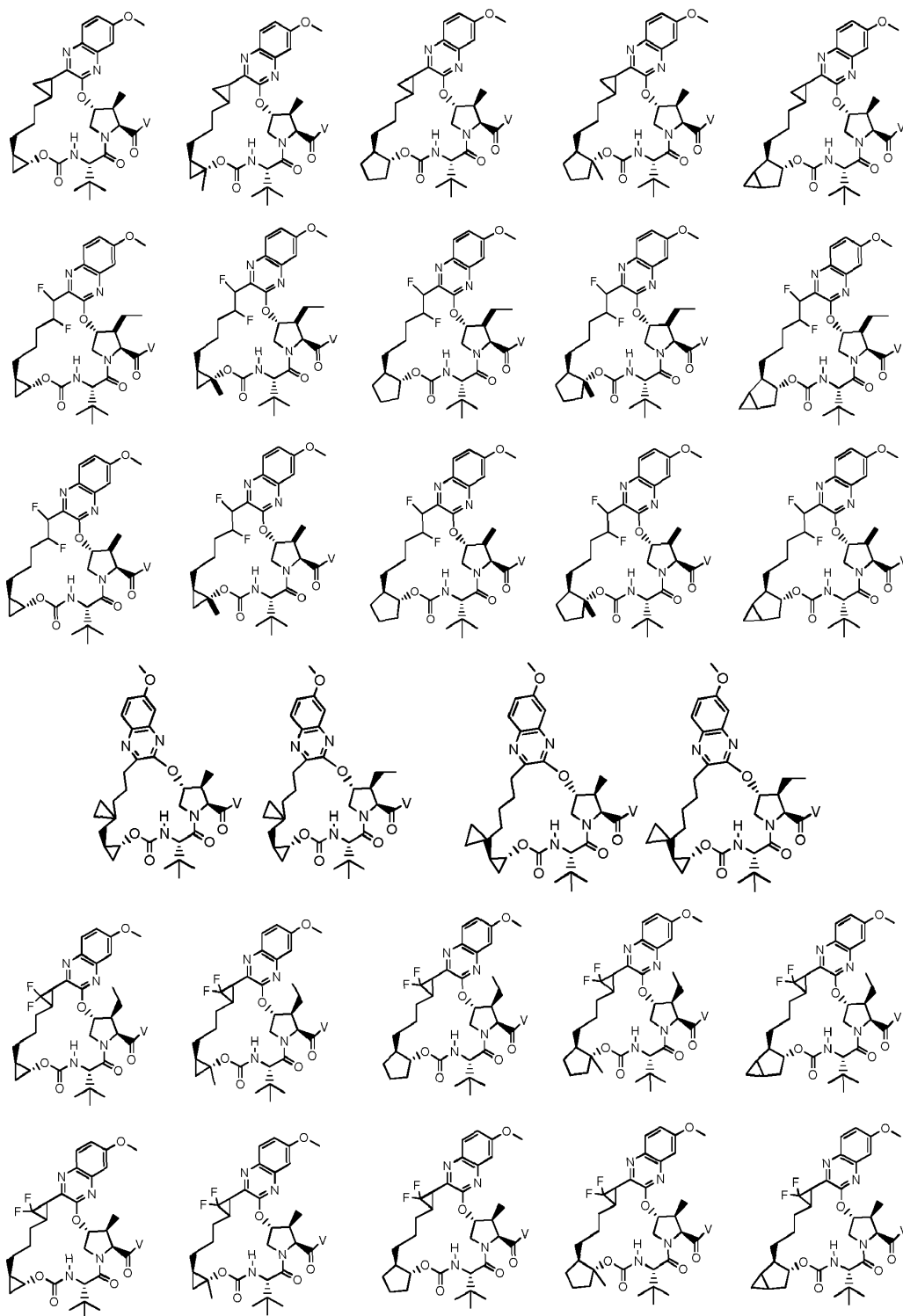


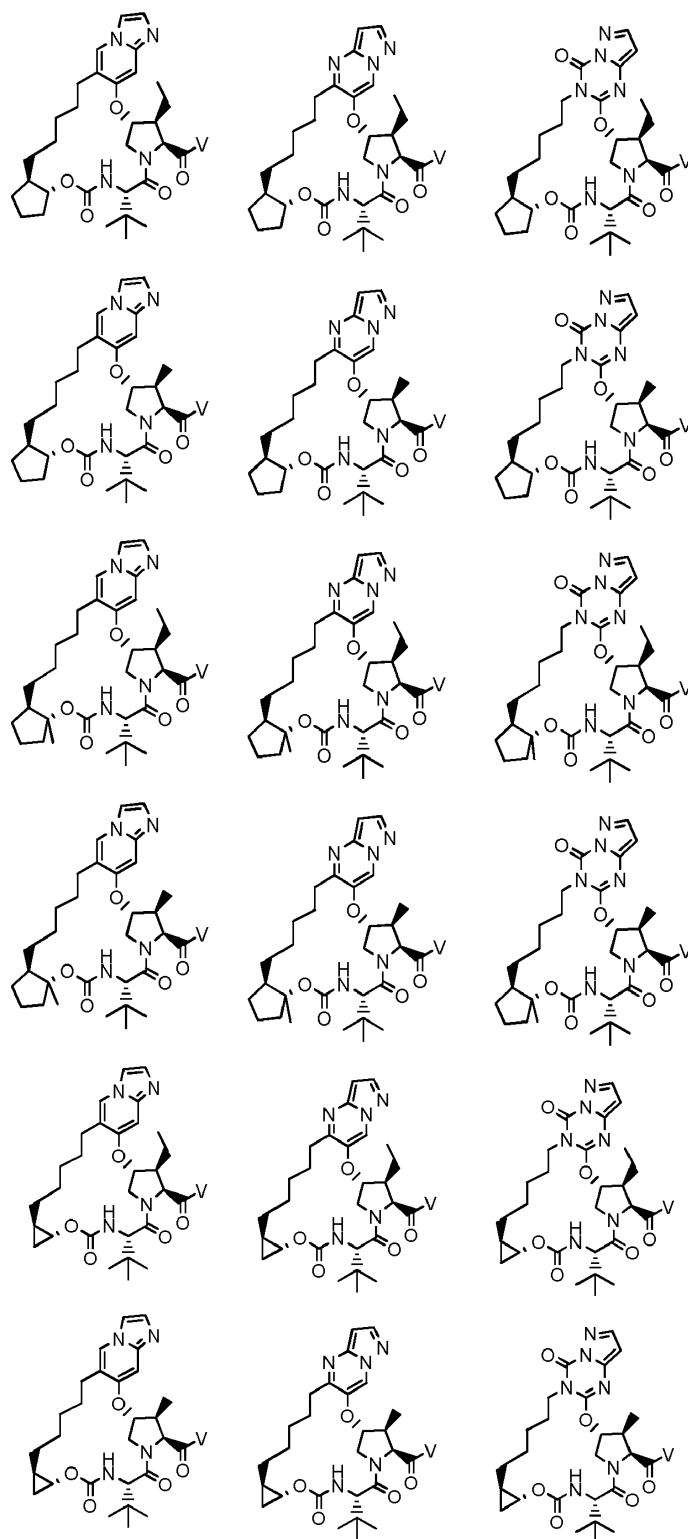


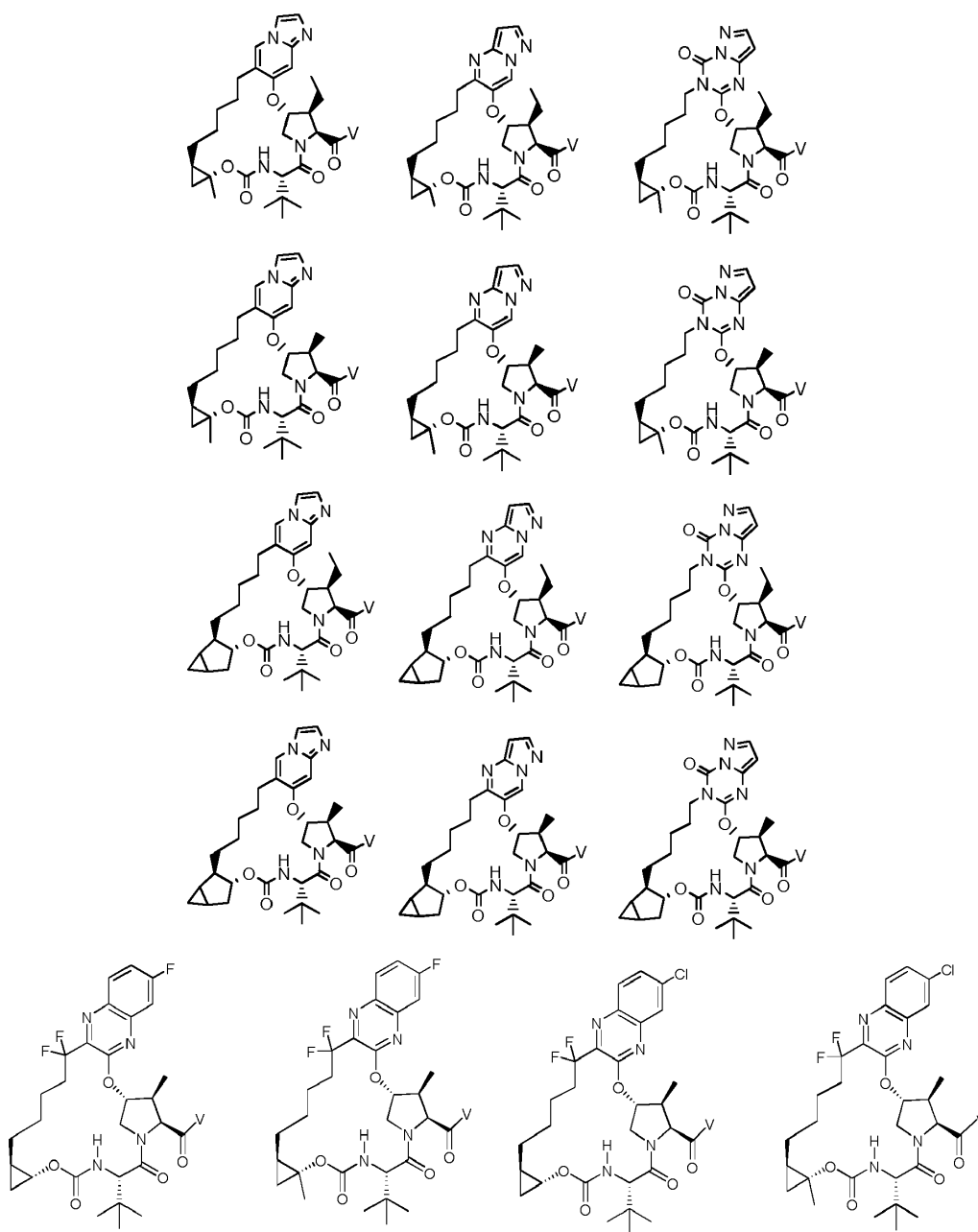


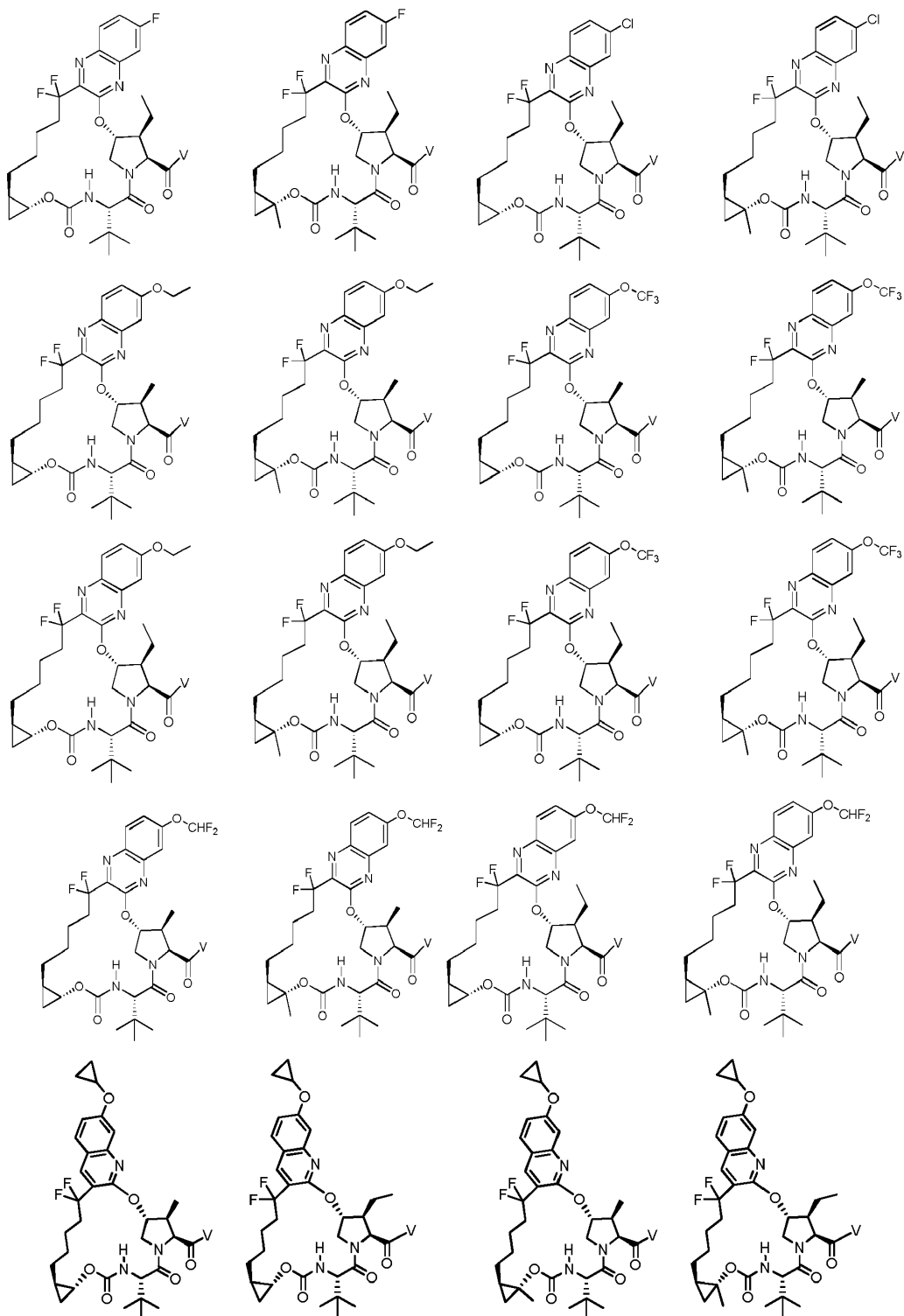


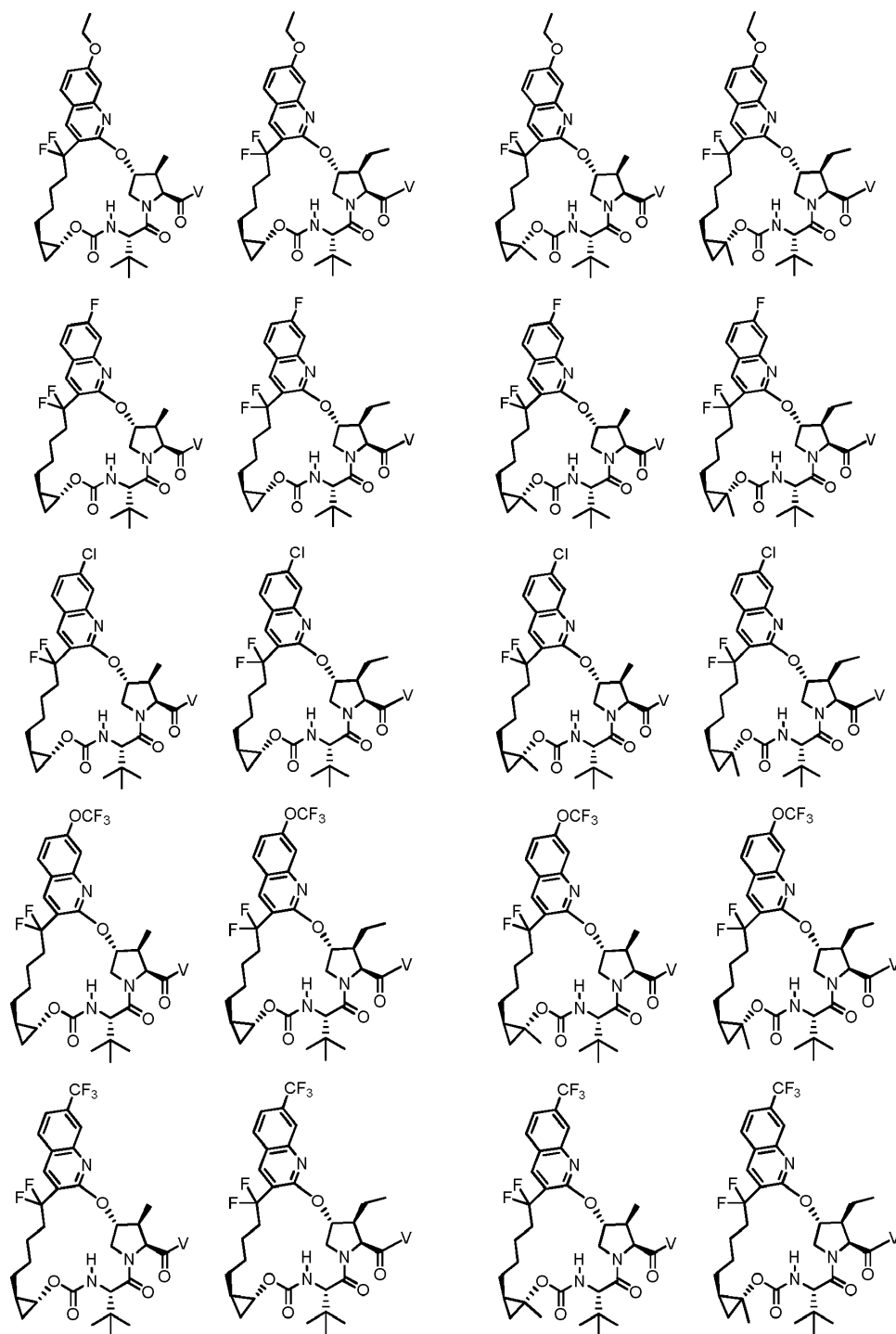


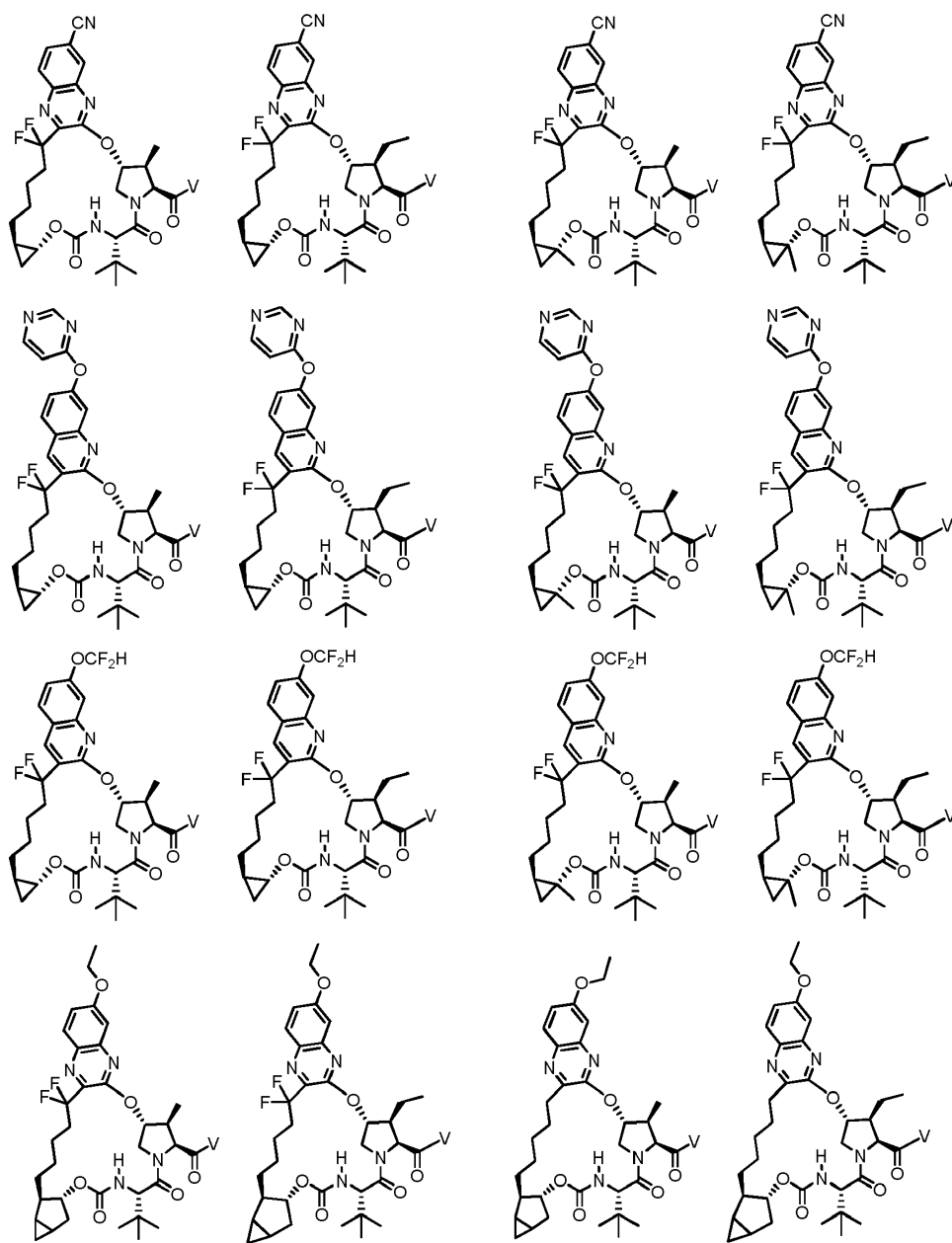


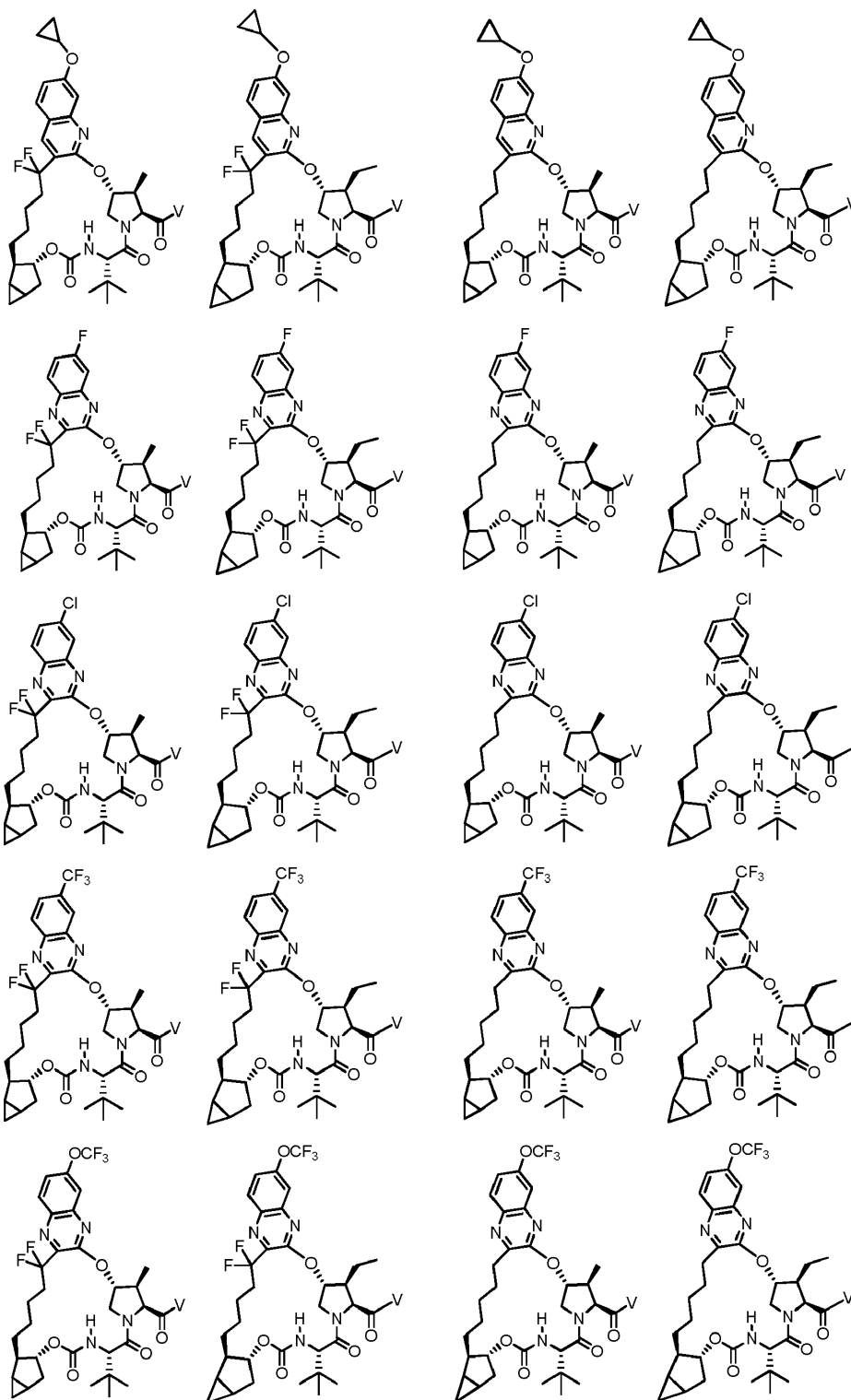


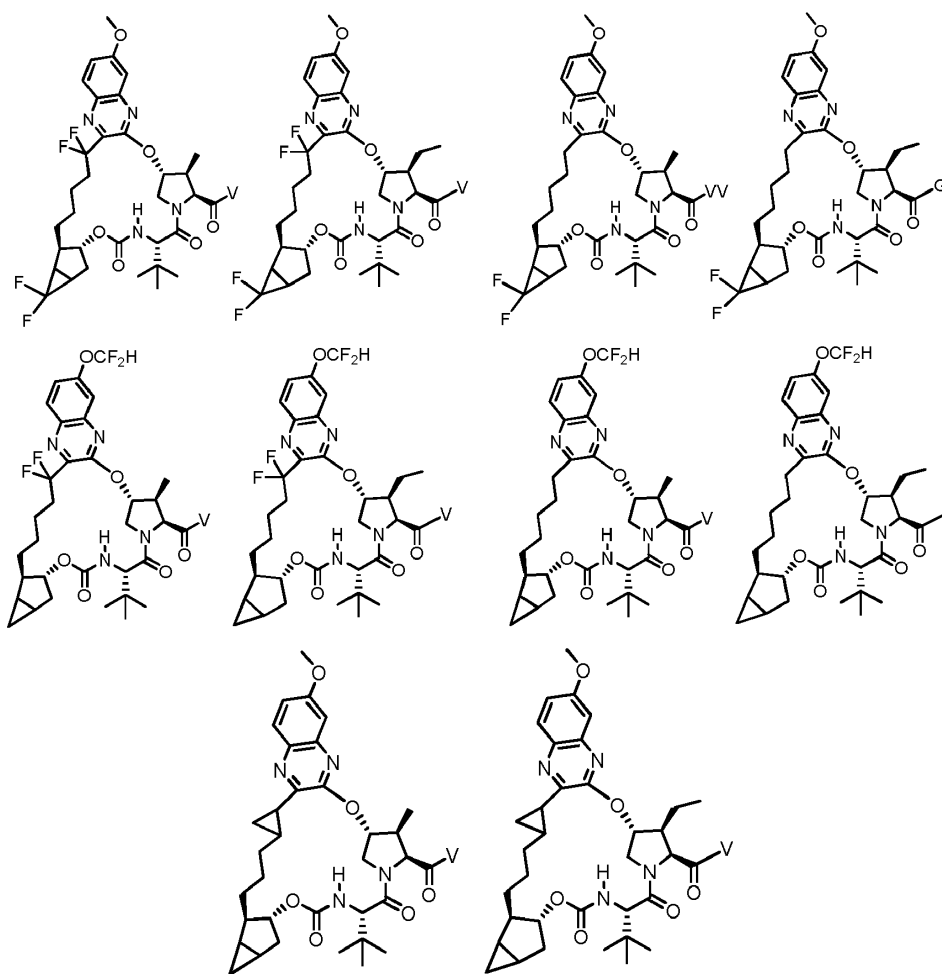




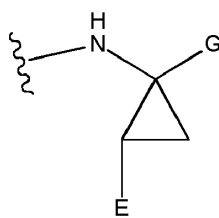








in cui V è una struttura di Formula:



e in cui E e G sono come definiti sopra.

Attività biologica

Espressione e purificazione di proteasi NS3 di genotipo 1a, 2a e 3

Generazione di plasmidi di espressione di proteasi NS3

La sequenza codificante del dominio della proteasi HCV NS3 del genotipo 1b (ceppo con-1) è stata amplificata mediante PCR da un plasmide codificante per il replicone I389luc-ubi-neo/NS3-3'/ET (Reblikon, Mainz, Germania). L'inziatore 5'-PCR è stato progettato per codificare una marcatura di esa-istidina N-terminale K₃ e inserire un sito di scissione da proteasi del virus dell'incisione del tabacco ricombinante (rTEV) all'interno della sequenza codificante NS3. Il frammento di DNA risultante è stato clonato nel vettore di espressione di proteine pET28 (Invitrogen, Carlsbad, CA) ottenendo p28-N6H-Tev-NS3(181)1b.

Le sequenze codificanti per il dominio della proteasi HCV genotipo 3 sono state amplificate mediante RT-PCR usando un kit RT-PCR Titan One Tube (Roche, Indianapolis, IN) e RNA estratto da siero umano HCV-positivo (BBI Diagnostics, MA) usando un QIAmp UltraSens Virus Kit (Qiagen, Valencia, CA). Gli iniziatori 5'-PCR sono stati progettati per codificare marcature di esaistidina N-terminali e per inserire i siti di scissione da proteasi rTEV in fase nelle sequenze codificanti della proteasi NS3. I frammenti di DNA risultanti sono stati clonati in pET28 ottenendo i vettori di espressione p28-N6H-Tev-NS3(181)1a e p28-N6H-Tev-NS3(181)3, rispettivamente.

Espressione Proteina NS3 Proteasi

Batteri BL21AI (Invitrogen, Carlsbad, CA) sono stati trasformati con vettori di espressione di NS3 genotipo 1b o 3 e usati per inoculare un recipiente di fermentazione da 20 L (Sartorius BBI System Inc., Bethlehem, PA), contenente 18 L di terreno 2YT fresco integrato con 50 µg/mL di kanamicina. Quando la densità delle cellule hanno raggiunto una OD₆₀₀ di 1, la temperatura delle colture è stata ridotta da 37°C a 28°C e l'induzione è stata avviata immediatamente con l'aggiunta di 30 µM di ZnSO₄, 14 mM L-arabinosio e 1 mM Isopropil β-D-tiogalattoside (IPTG) come concentrazioni finali. Le cellule sono state raccolte mediante centrifugazione quattro ore dopo l'induzione e sono state conservate sotto forma di pellet congelati a -80°C prima della purificazione di proteina NS3.

Purificazione di proteasi NS3

Purificazione della proteasi NS3 di genotipo 1b

I pellet cellulari sono stati scongelati e risospesi a 10 mL/g in tampone di lisi contenente 50 mM tris pH 7,6, 300

mM NaCl, 0,1% di 3-[(3-colamidopropil)dimetilammonio]-1-propansolfonato (CHAPS), 5% glicerolo, e 2 mM β -mercaptoetanolo. Le sospensioni cellulari sono state poi sonicate, filtrate attraverso una garza e passate tre volte attraverso un microfluidificatore a 18.000 libbre/pollice². I lisati risultanti sono stati centrifugati a 15500 gpm per 45 minuti e i supernatanti sono stati caricati su una colonna HisTrap HP (GE Lifesciences) pre-equilibrata con cinque volumi di tampone Ni A (50 mM tris pH 7,6, 300 mM NaCl, 0,1% CHAPS, 5 % glicerolo, 2 mM p-mercaptoetanolo, 50 mM imidazolo-HCl). Le proteine sono state eluite con un gradiente di 0-100% del tampone Ni A piú 500 mM di imidazolo-HCl e le frazioni sono state raccolte e riunite. La raccolta HisTrap è stata diluita 1:10 con tampone SP-A (50 mM tris pH 7,0, 10% glicerolo, 2 mM ditioneitolato (DTT)) e caricata su una colonna HiTrap SP-HP (GE Lifesciences) equilibrata con tampone SP-A. La proteasi NS3 è stata eluita con un gradiente SP-B di 0-100% (tampone SP-A piú 1 M NaCl). Le raccolte concentrate di frazioni SP contenenti NS3 sono state suddivise in aliquote, congelate istantaneamente in azoto liquido e conservate a -80°C.

Purificazione della proteasi NS3 di genotipo 3

I pellet batterici raccolti dall'espressione del genotipo 3 di NS3 proteasi di HCV sono stati omogeneizzati in tampone di lisi (25 mM tris, tampone a pH 7,5 contenente 150 mM di NaCl e 1 mM di fenilmetanosolfonil fluoruro (PMSF)) e passati attraverso un microfluidificatore a 18.000 libbre/pollice². I lisati cellulari omogeneizzati sono stati centrifugati a 30.000 \times g per 30 minuti a 4°C. I pellet P1 risultanti sono stati lavati con il tampone di lavaggio I (25 mM tris, pH 7,5 contenente 1% CHAPS) seguito da centrifugazione a 10.000 \times g per 30 minuti a 4°C. I pellet P2 risultanti sono stati lavati con tampone di lavaggio II (tampone CAPS 50 mM, pH 10,8, contenente NaCl 2 M e urea 2 M) seguito da centrifugazione a 30.000 \times g per minuti a 4°C. I pellet P3 risultanti sono stati risospesi in tampone di solubilizzazione (20 ml di tris 25 mM, pH 7,5 contenente NaCl 150 mM e urea 8 M) e incubati a 4°C per 1 ora. Le proteine solubilizzate sono state passate attraverso un filtro da 0,45 micron. Le concentrazioni di proteine sono state misurate e le soluzioni sono state regolate a 40 mM DTT, incubate per 30 minuti a 4°C e poi rapidamente diluite in tampone di ripiegamento (tris 25 mM, pH 8,5, 0,8 M guanidina-HCl, 0,4 M L-arginina, 10 mM ZnSO₄) mentre si agita. Le soluzioni proteiche sono state incubate a 4°C durante la notte per consentire il ripiegamento. Le proteasi ripiegate sono state centrifugate a 30.000 \times g per

10 minuti per rimuovere i precipitati residui. Le concentrazioni finali di proteine sono state poi misurate e le proteasi NS3 sono state divise in aliquote, congelate istantaneamente in azoto liquido e conservate a -80°C.

Determinazione di K_i per la proteasi NS3 dei genotipi 1b e 3a.

Il dominio di proteasi NS3 purificata (amminoacidi 1-181) del virus di genotipo 1b e 3a è stato generato come sopra. Il substrato di depsipeptide fluorogenico internamente estinto Ac-DED(Edans)-EEAbuΨ[COO]ASK(Dabcyl)-NH₂ e un peptide sintetico contenente i residui di nucleo idrofobici del cofattore proteico NS4A (KKGSWIVGRILSGRKK; peptide NS4A) sono stati ottenuti da Anaspec, Inc. (San Jose, CA). Altre sostanze chimiche e biochimiche erano di grado reagente o migliore e sono state acquistate da fornitori standard.

Le reazioni sono state eseguite a temperatura ambiente in un tampone composto da 50 mM di HEPES, 40% di glicerolo, 0,05% di Triton X-100, 10 mM di DTT e 10% di DMSO. Le soluzioni finali del saggio contenevano proteasi NS3 di genotipo 1b 50 pM o proteasi NS3 di genotipo 3a 200 pM, peptide NS4A 20 μM e substrato 4 μM (genotipo 1b) o substrato 2 μM (genotipo 3a). Le concentrazioni di inibitori variavano da 100 nM a 5 pM in diluizioni di 3 volte, e controlli senza inibitori erano inclusi.

Diluizioni di composti sono state fatte in DMSO alla concentrazione finale di 20 ×. Le miscele di reazione sono state preparate in piastre di saggio a 96 pozzetti. Una soluzione di enzima e peptide NS4A nel tampone di saggio (volume di 25 μL con entrambi i reagenti alla concentrazione finale 4 ×) è stata miscelata con tampone di saggio da 45 μL e 5 μL di inibitore o DMSO e pre-incubata a temperatura ambiente per 1 ora. La reazione è stata avviata aggiungendo 25 μL di soluzione di substrato alla concentrazione finale di 4 ×. Le piastre sono state mescolate energicamente per 5-10 secondi e le reazioni sono state lasciate procedere per 90 minuti. La fluorescenza è stata misurata ogni 30 s tra 90 e 120 minuti di tempo di reazione usando un lettore di piastre multimodale Tecan InfiniTe M1000 o PerkinElmer Envision con una lunghezza d'onda di eccitazione di 340 nm e una lunghezza d'onda di emissione di 490 nm.

I tassi sono stati calcolati dalle curve di avanzamento allo stato stazionario, nell'arco temporale di 90-120 minuti dopo l'aggiunta del substrato. Per determinare la K_i , i tassi sono stati tracciati in funzione della concentrazione

degli inibitori, e i dati sono stati interpolati con l'equazione 1 (Morrison, J.F., *Biochimica et Biophysica Acta* **1969**, 185, 269-286) per calcolare K_i^{app} usando GraphPad Prism 5. La frazione attiva dell'enzima è stata determinata mediante titolazione del sito attivo con inibitori potenti noti. K_i è stata calcolata da $K_i^{app}/(1 + [[S]/K_m])$. Risultati di K_i per composti rappresentativi per genotipo 1b e 3a (**Ki 1B** e **Ki 3A**, rispettivamente) sono riportati nella Tabella 1.

$$\frac{v}{v_0} = \frac{[E]_t - [I]_t - K_i^{app} + \sqrt{([E]_t - [I]_t - K_i^{app})^2 + 4[E]_t K_i^{app}}}{2[E]_t} \quad (1)$$

Valutazione dell'attività anti-HCV basata su cellule:

La potenza antivirale (EC_{50}) è stata determinata sia in linee di cellule di replicone HCV subgenomico stabili sia in cellule di replicone HCV trasfettate in maniera transitoria. Il termine concentrazione efficace semi-massimale (EC_{50}) si riferisce alla concentrazione di un farmaco che induce una risposta a metà strada tra la linea di base e il massimo dopo il tempo di esposizione specificato di seguito.

Repliconi di HCV subgenomici stabili per genotipo 1a, 1b, 2a, 3a e 4a sono stati stabiliti in cellule derivate da Huh-7 come descritto da Lohmann et al (Lohmann V, Korner F, Koch J, et al Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999; 285:119-3). Ogni linea cellulare stabile contiene un replicone bicistronico HCV che codifica per un gene segnalatore di luciferasi di *Renilla* umanizzato (hRLuc) fuso a un gene selezionabile di resistenza a neomicina, seguito da un IRV EMCV e dalla regione codificante NSV-NS5B dell'HCV. La selezione per le cellule che esprimono in maniera costitutiva il replicone dell'HCV è stata raggiunta in presenza dell'antibiotico selettivo, neomicina (G418). L'attività di luciferasi è stata misurata come marcatore per i livelli di replicazione dell'HCV intracellulare.

Il replicone stabile del genotipo 1a è stato derivato dal ceppo H77 di HCV e conteneva mutazioni adattative P1496L e S2204I. Il replicone stabile del genotipo 1b è stato derivato dal ceppo Con1 di HCV e conteneva mutazioni adattative E1202G, T1280I e K1846T. Il replicone stabile del genotipo 2a è stato derivato dal ceppo di HCV JFH-1 e non ha richiesto mutazioni adattative. Il replicone stabile del genotipo 3a è stato derivato dal ceppo S52 di HCV e conteneva mutazioni adattative P1121L, A1198T e S2210I (equivalente a S2204I nel

genotipo 1). Il replicone stabile del genotipo 4a è stato derivato dal ceppo ED43 di HCV e conteneva mutazioni adattative Q1691R e S2204I. Tutte le linee cellulari di replicone sono state propagate in cellule derivate da Huh-7 e mantenute in terreno Eagle modificato da Dulbecco (DMEM) con il 10% di siero bovino fetale (FBS) e 0,5 mg/ml di G418.

I repliconi di HCV trasfettati in maniera transitoria sono stati stabiliti per le varianti resistenti agli inibitori della proteasi di genotipo 1a, 1b, 3a e NS3/4a D168A nel genotipo 1b o R155K nel genotipo 1a. I repliconi trasfettati transitoriamente sono anche repliconi subgenomici bicistronici ma non contengono il marcatore selezionabile da neomicina presente nei repliconi stabili. Questi repliconi codificano il poliovirus IRES seguito dal gene segnalatore hRLuc, lo EMCV IRES e infine la regione codificante NS3-NS5B dell'HCV. I repliconi di tipo selvatico di genotipo 1a (H77) e 1b (Con1) sono stati derivati dallo stesso ceppo e contenevano le stesse mutazioni adattive di cui sopra. Il replicone transitorio del genotipo 3a è stato derivato dal ceppo S52 HCV come sopra, ma conteneva mutazioni adattive leggermente diverse P1112L, K1615E e S2210I. Nello specifico, la mutazione adattativa secondaria A1198T (A166T) nel dominio di proteasi del replicone di genotipo 3a stabile è stata sostituita con K1615E (K583E) nell'elicasi NS3, senza alcun effetto sull'efficienza di replicazione. La rimozione di A166T localizzata nel dominio della proteasi riduce al minimo l'impatto di questa variante sugli inibitori che prendono di mira il dominio della proteasi e rappresenta un dominio della proteasi più vicino al tipo selvatico per il genotipo 3a. Repliconi resistenti codificanti per mutazioni di inibitori della proteasi NS3/4 sono stati introdotti nel gene NS3 di tipo selvatico 1b o 1a mediante mutagenesi sito-specifica. Gli RNA trascritti in vitro da tutti i repliconi transitori sono stati trasfettati in linee cellulari derivate da Huh-7 non sensibilizzate mediante elettroporazione. L'attività di luciferasi è stata misurata come marcatore per i livelli di replicazione dell'HCV intracellulare

Per eseguire saggi di EC_{50} , le cellule di ciascun replicone di HCV sono state distribuite in piastre da 384 pozzetti. I composti sono stati sciolti in DMSO ad una concentrazione di 10 mM e diluiti in DMSO usando uno strumento di pipettaggio automatico. I composti diluiti di tre volte in serie sono stati aggiunti direttamente alle cellule usando uno strumento automatico. Il DMSO è stato usato come controllo negativo (solvente; nessuna inibizione)

e una combinazione di tre inibitori dell'HCV incluso un inibitore della proteasi; un inibitore di NS5A e un inibitore nucleosidico sono stati usati a concentrazioni $>100x$ EC_{50} come controllo positivo (inibizione del 100%). Settantadue ore più tardi, le cellule sono state lisate e l'attività di luciferasi di *Renilla* è stata quantificata come raccomandato dal produttore (Promega-Madison, WI). Regressione non lineare è stata eseguita per calcolare i valori di EC_{50} .

I risultati sono mostrati nelle tabelle 1 e 2:

Tabella 1: Valori delle attività biologiche per linee cellulari di repliconi di HCV subgenomiche stabili

Esempio	Ki 1B (nM)	Ki 3A (nM)	EC_{50} 1A RLUC* (nM)	EC_{50} 1B RLUC* (nM)	EC_{50} 2A RLUC* (nM)	EC_{50} 3A RLUC* (nM)	EC_{50} 4A RLUC* (nM)
1	0,03	0,07	4,4	3,9	4,1	46	3,1
2	0,01	0,04	4,0	3,1	3,9	77	2,7
3	0,18	0,56	11,7	9,8	28	546	10
4	0,17	0,56	10,7	9,6	16	271	7,9
5	0,04	0,17	8,7	7,4	11	405	6,9
6	0,20	0,62	35	36	34	1361	34
7	0,05	0,06	4,9	3,8	4,2	67	3,2
8	0,07	0,42	16	8,6	20	465	13
9	0,15	0,59	17	7,9	23	1268	11
10	0,16	0,52	30	22	49	978	26
11	0,23	0,88	28	17	34	1162	19
12	0,27	1,2	34	18	25	2013	21
13	0,04	0,18	13	9,5	26	685	11

Esempio	Ki 1B	Ki 3A	EC ₅₀ 1A	EC ₅₀ 1B	EC ₅₀ 2A	EC ₅₀ 3A	EC ₅₀ 4A
	(nM)	(nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)
14	0,07	0,24	9,7	6,8	7,0	308	7,3
15	0,05	0,30	11	6,8	9,8	550	7,8
16	0,09	0,21	12	7,4	6,2	201	8,1
17	0,04	0,06	3,9	3,3	3,7	15	2,9
18	0,03	0,10	3,9	2,6	5,0	70	2,8
19	0,02	0,13	4,0	2,6	4,6	89	3,1
20	0,12	0,53	8,1	5,2	19	392	5,9
21	0,10	0,45	6,8	4,7	12	263	6,2
22	0,07	1,3	15	7,5	27	727	11
23	0,08	1,1	13	7,5	23	587	9,9
24	0,05	0,92	12	7,5	20	663	9,2
25	0,05	0,39	8,8	6,3	13	409	7,1
26	0,05	0,17	6,3	4,3	12	297	6,0
27	0,03	0,08	6,6	5,2	6,7	266	6,1
28	0,03	0,08	6,7	4,6	6,2	266	4,1
29	0,06	0,12	10	8,9	11	137	7,2
30	0,14	0,63	55	35	47	2437	31
31	0,13	4,9	40	18	63	2071	20
32	0,18	0,87	59	30	35	2311	30

Esempio	Ki 1B (nM)	Ki 3A (nM)	EC ₅₀ 1A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 1B RLUC* (nM)	EC ₅₀ 2A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 3A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 4A RLUC* (nM)
33	0,03	0,06	7,6	2,8	4,9	16	2,3
34	0,10	0,28	12	13	18	322	9,7
35	0,07	0,23	9,1	11	7,4	162	7,6
36	0,10	1,7	23	14	53	585	9,1
37	0,10	0,19	24	22	16	575	15
38	0,03	0,70	7,8	4,2	5,4	151	5,5
39	0,08	0,20	34	39	41	321	26
40	0,08	0,18	25	22	48	360	18
41	0,18	0,79	135	142	106	2606	135
42	0,10	0,75	20	16	17	343	14
43	0,06	0,16	4,9	3,8	5,2	92	3,6
44	0,03	0,08	3,1	2,1	2,9	53	2,2
45	0,04	0,48	21	8,3	24	549	13
46	0,03	0,05	3,1	2,7	3,8	17	2,5
47	0,07	0,19	3,8	3,6	12	58	4,2
48	0,07	0,09	2,0	1,8	9,7	73	2,2
49	0,04	0,07	3,7	4,1	5,2	20	3,5
50	63	100	4444	4444	379	19708	4444
51	0,31	0,84	40	39	103	1221	30

Esempio	Ki 1B	Ki 3A	EC ₅₀ 1A	EC ₅₀ 1B	EC ₅₀ 2A	EC ₅₀ 3A	EC ₅₀ 4A
	(nM)	(nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)	RLUC* (nM)
52	0,25	1,3	195	245	380	2307	161
53	0,03	0,09	51	7,7	13	18	2,8
54	0,11	0,50	33	18	76	260	13
55	0,09	0,20	13	3,8	12	140	3,5
56	0,38	1,0	41	37	57	1026	57
57	0,07	0,28	12	11	21	166	4,9
58	0,07	0,17	12	9,7	12	134	12
59	0,04	0,06	5,4	11	13	20	5,6
60	0,04	0,08	11	4,8	7,7	45	5,4
61	0,06	0,09	13	10	8,7	28	11
62	0,04	0,03	3,4	3,0	5,0	8,5	2,4
63	0,03	0,01	4,2	2,9	3,2	11	3,2
64	0,07	1,2	100	38	48	671	34
65	0,08	0,07	12	8,4	7,7	30	8,1
66	0,04	0,06	37	20	105	1786	25
67	0,04	0,32	11	12	24	383	12
68	0,05	0,63	13	7,7	18	364	9,4
69	0,07	0,17	5,2	4,9	11	64	5,8
70	0,05	0,05	8,4	8,5	15	41	6,4

Esempio	Ki 1B (nM)	Ki 3A (nM)	EC ₅₀ 1A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 1B RLUC* (nM)	EC ₅₀ 2A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 3A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 4A RLUC* (nM)
71	0,03	0,14	6,5	5,3	23	160	5,3
72	0,05	4,1	365	300	740	1819	383
73	0,11	0,82	7,9	7,5	22	178	7,2
74	0,03	0,12	8,0	5,0	18	374	8,3
75	0,03	0,12	9,9	6,4	18	240	10
76	0,03	0,06	2,4	2,2	2,4	9,0	1,9
77	nt	nt	23	12	29	741	16
78	0,21	0,82	267	394	195	1115	225
79	0,06	0,06	7,0	5,8	4,1	71	5,6
80	0,49	13	1127	344	748	44444	1182
81	0,04	0,05	4,0	3,6	3,6	12	4,3
82	0,03	0,04	8,5	9,3	4,7	25	10
83	0,09	0,48	62	58	19	1219	42
84	0,04	0,08	5,9	5,7	7,2	27	6,4
85	0,05	0,03	16	17	7,7	304	9,2
86	0,04	0,07	5,6	5,5	5,9	42	5,7
87	0,02	0,05	4,8	3,9	3,3	14	3,8
88	0,02	0,29	9,3	4,6	2,7	105	4,1
89	0,03	0,05	6,0	6,1	4,3	19	4,6

Esempio	Ki 1B (nM)	Ki 3A (nM)	EC ₅₀ 1A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 1B RLUC* (nM)	EC ₅₀ 2A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 3A RLUC* (nM)	EC ₅₀ 4A RLUC* (nM)
90	0,06	0,13	12	9,6	8,8	114	10,4
91	nt	nt	2,4	1,9	4,0	149	2,4
92	nt	nt	3,3	3,2	4,6	58	3,2
93	nt	nt	12	14	15	116	11
94	nt	nt	3,8	5,2	3,3	32	3,0
96	nt	nt	12	11	5,4	77	8,9
97	nt	nt	6,3	4,6	5,8	67	5,3

nt - non provato

*RULC: luciferasi di *Renilla*

Tabella 2: Valori di attività biologica per linee cellulari di replicone di HCV trasfettate in maniera transitoria

	EC ₅₀ 3A WT* (nM)	EC ₅₀ 1A WT* (nM)	EC ₅₀ 1A R155K [†] (nM)	EC ₅₀ 1 B WT* (nM)	EC ₅₀ 1 B D168A [‡] (nM)
1	17	3,2	4,9	2,2	17
2	nt	2,4	7,0	1,0	33
3	nt	6,6	32	3,5	128
4	68	7,1	20	6,5	66
5	nt	3,7	17	3,2	91
6	nt	26	58	11	216
7	14	3,8	6,7	2,3	20

	EC ₅₀ 3A WT*	EC ₅₀ 1A WT*	EC ₅₀ 1A R155K [†]	EC ₅₀ 1 B WT*	EC ₅₀ 1 B D168A [‡]
	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)
8	nt	8,8	28	4,8	89
9	nt	12	208	2,5	360
10	nt	37	131	10	493
11	nt	20	159	9,4	605
12	nt	14	283	5,7	640
13	nt	8,6	59	3,1	209
14	nt	7,4	21	4,0	99
15	nt	6,5	20	3,0	182
16	nt	9,4	22	5,8	61
17	6,1	2,9	2,8	1,7	4,3
18	nt	2,3	5,0	1,2	24
19	nt	2,1	3,4	1,1	28
20	Nt	3,4	17	2,7	90
21	nt	4,1	15	3,8	70
22	nt	8,6	48	2,6	242
23	nt	9,5	36	3,6	173
24	nt	9,3	49	3,2	284
25	nt	4,4	17	3,6	116
26	nt	3,6	12	1,9	109

	EC ₅₀ 3A WT*	EC ₅₀ 1A WT*	EC ₅₀ 1A R155K [†]	EC ₅₀ 1 B WT*	EC ₅₀ 1 B D168A [‡]
	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)
27	nt	6,0	20	4,3	70
28	nt	3,0	9	3,4	54
29	nt	4,8	11	3,1	48
30	nt	41	296	31	503
31	nt	27	154	6,6	805
32	nt	44	547	14	653
33	5,3	2,6	2,5	1,6	4,2
34	46	15	18	9	64
35	35	12	17	10	38
36	128	16	271	9,4	333
37	69	29	51	22	159
38	nt	4,5	8,4	2,8	25
39	89	23	63	16	105
40	156	17	74	8,6	129
41	539	164	505	154	715
42	nt	17	35	10	109
43	nt	3,8	8,7	2,4	41
44	7,0	2,4	4,0	1,4	15
45	nt	13	35	5,3	88

	EC ₅₀ 3A WT*	EC ₅₀ 1A WT*	EC ₅₀ 1A R155K [†]	EC ₅₀ 1 B WT*	EC ₅₀ 1 B D168A [‡]
	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)
46	6,788	2,4	3,2	1,2	4,5
47	17	5,4	6,1	2,0	12
48	13	1,7	4,0	1,1	6,5
49	6,3	3,5	3,8	2,8	4,2
50	26825	4444	3830	4444	4444
51	265	28	92	24	318
52	538	150	516	161	887
53	15	5,3	5,6	2,0	11
54	147	19	27	10	123
55	71	8,0	32	2,3	53
56	226	63	168	59	252
57	54	12	17	7,5	48
58	38	12	18	14	23
59	15	10	6,8	6,8	6,4
60	9,8	5,8	8,6	2,3	15
61	13	12	10	9,3	6,7
62	4,0	3,5	2,7	1,5	2,0
63	6,9	4,1	4,0	2,1	3,4
64	256	37	50	17	104

	EC ₅₀ 3A WT*	EC ₅₀ 1A WT*	EC ₅₀ 1A R155K [†]	EC ₅₀ 1 B WT*	EC ₅₀ 1 B D168A [‡]
	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)
65	17	9,4	8,1	6,4	11
66	735	35	240	14	396
67	107	14	42	10	86
68	139	14	37	4,4	78
69	42	8,2	15	3,9	28
70	17	7,7	5,4	6,1	7,3
71	49	9,1	30	3,8	66
72	642	600	227	165	687
73	45	8,8	25	6,2	75
74	138	8,8	44	2,1	56
75	56	14	45	3,5	51
76	3,4	2,0	2,1	1,0	2,8
77	472	21	34	5,0	80
78	194	189	225	156	248
79	9,2	6,1	7,1	3,0	11
80	nt	403	2862	53	443
81	4,3	3,7	2,5	2,4	2,7
82	16	7,8	6,2	4,1	5,7
83	300	62	133	27	202

	EC ₅₀ 3A WT*	EC ₅₀ 1A WT*	EC ₅₀ 1A R155K [†]	EC ₅₀ 1 B WT*	EC ₅₀ 1 B D168A [‡]
	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)	(nM)
84	11	5,4	4,0	2,5	5,2
85	101	12	22	7,0	57
86	16	4,0	3,7	3,4	10
87	7,7	2,9	2,8	1,3	4,0
88	35	5,0	14	5,5	24
89	5,5	6,0	3,7	3,2	5,1
90	43	nt	nt	nt	nt
91	25	2,3	3,5	1,3	9,2
92	8,0	3,0	3,0	1,7	5,3
93	26	13	13	14	39
94	10	3,2	3,1	1,9	9,2
96	12	5,2	3,8	4,1	3,6
97	5,8	3,6	3,7	2,5	8,8

nt: non provato

*WT = tipo selvatico

[†] varianti resistenti a inibitore di proteasi NS3/4a R155K in genotipo 1a

[‡]NS3/4a varianti resistenti a inibitore di proteasi D168A in genotipo 1b

I dati nelle Tabelle 1 e 2 rappresentano una media nel tempo di ciascuna analisi per ciascun composto. Per alcuni composti, sono stati condotti più saggi per tutta la durata del progetto. Pertanto, i dati riportati nelle tabelle 1 e 2 comprendono i dati riportati nel documento di priorità, nonché i dati generati nel periodo intermedio.

Composizioni farmaceutiche

Di seguito sono illustrate forme farmaceutiche rappresentative di dosaggio, contenenti un composto di Formula IV (eccetto uno qualsiasi di IVa-IVh) ("Composto X"), per uso terapeutico o profilattico nell'uomo.

<u>(i) Compresa 1</u>	<u>mg/compressa</u>
Composto X =	100,0
Lattosio	77,5
povidone	15,0
Sodio croscarmellosa	12,0
Cellulosa microcristallina	92,5
Stearato di magnesio	<u>3,0</u>
	300,0
<u>(ii) Compresa 2</u>	<u>mg/compressa</u>
Composto X =	20,0
Cellulosa microcristallina	410,0
Amido	50,0
Sodio amido glicolato	15,0
Stearato di magnesio	<u>5,0</u>
	500,0
<u>(iii) Capsula</u>	<u>mg/capsula</u>
Composto X =	10,0
Biossido di silicio colloidale	1,5

<u>(iii) Capsula</u>	<u>mg/capsula</u>
Lattosio	465,5
Amido pregelatinizzato	120,0
Stearato di magnesio	<u>3,0</u>
	600,0
<u>(iv) Iniezione (1 mg/ml)</u>	<u>mg/ml</u>
Composto X = (forma acida libera)	1,0
Fosfato di sodio dibasico	12,0
Fosfato di sodio monobasico	0,7
Cloruro di sodio	4,5
soluzione di idrossido di sodio 1,0 N (regolazione del pH a 7,0-7,5)	q.b.
Acqua per iniezione	q.b. a 1 ml

Le suddette formulazioni possono essere ottenute mediante procedimenti convenzionali ben note nella tecnica farmaceutica.

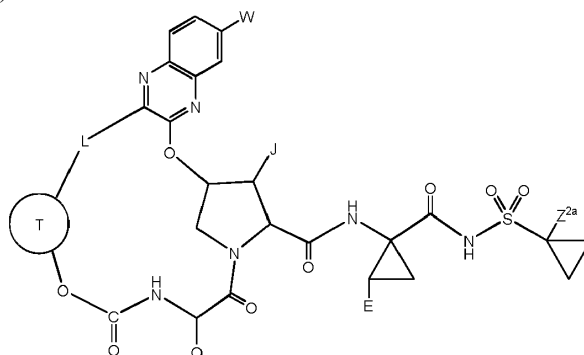
L'uso dei termini "un" e "uno" e "il" e riferimenti simili nel contesto di questa descrizione (specialmente nel contesto delle rivendicazioni) deve essere interpretato in modo da coprire sia il singolare che il plurale, salvo ove diversamente indicato nella presente, o chiaramente contraddetto dal contesto. Tutti i metodi descritti nel presente documento possono essere eseguiti in qualsiasi ordine appropriato, salvo dove diversamente indicato nel presente documento o altrimenti chiaramente contraddetto dal contesto.

L'uso dei singoli valori numerici è indicato come approssimazione come se i valori fossero preceduti dalla parola "circa" o "approssimativamente". Allo stesso modo, i valori numerici nei vari intervalli specificati in questa

domanda, se non espressamente indicato diversamente, sono indicati come approssimazioni come se i valori minimo e massimo all'interno degli intervalli indicati fossero entrambi preceduti dalla parola "circa" o "approssimativamente". In questo modo, le variazioni al di sopra e al di sotto degli intervalli indicati possono essere usate per ottenere sostanzialmente gli stessi risultati dei valori all'interno degli intervalli. Come qui usato, i termini "circa" e "approssimativamente" quando si fa riferimento a un valore numerico avranno i loro significati comuni e ordinari per una persona di ordinaria esperienza nella tecnica a cui l'argomento descritto è più strettamente correlato o la tecnica pertinente per l'intervallo o l'elemento in questione. L'entità dell'ampliamento dal rigoroso limite numerico dipende da molti fattori. Ad esempio, alcuni dei fattori che possono essere considerati includono la criticità dell'elemento e/o l'effetto che una certa quantità di variazione avrà sulla prestazione dell'oggetto rivendicato, così come altre considerazioni note agli esperti nella tecnica. Come qui usato, l'uso di quantità diverse di cifre significative per diversi valori numerici non è destinato a limitare il modo in cui l'uso delle parole "circa" o "approssimativamente" servirà ad ampliare un particolare valore numerico o intervallo. Pertanto, in generale, "circa" o "approssimativamente" ampliano il valore numerico. Inoltre, la descrizione di intervalli è intesa come un intervallo continuo che include ogni valore tra i valori minimo e massimo più l'ampliamento dell'intervallo offerto dall'uso del termine "circa" o "approssimativamente". Pertanto, la elencazione di intervalli di valori nella presente è semplicemente destinata a servire come un metodo abbreviato di riferirsi individualmente a ciascun valore separato che rientra nell'intervallo, a meno che non sia diversamente indicato nella presente, e ciascun valore separato è incorporato nella descrizione come se fosse singolarmente elencato nella presente.

RIVENDICAZIONI

1. Composto di Formula (IV):



(IV),

o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui:

J è C₁-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice, in cui il C₁-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con 1-4 alogeno, -OH, arile o nitrile;

Ⓣ è C₃-C₅ carbociclice che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₅ carbociclice è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile, C₁-C₃ alogenoalchile, alogeno, -OH, o nitrile, o Ⓣ è C₅-C₈ carbociclice biciclico che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, o C₃-C₆ carbociclice che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₆ carbociclice è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile o C₁-C₃ alogenoalchile;

L è C₃-C₆ alchilene, C₃-C₆ alchenilene o -(CH₂)₃-ciclopropilene-, opzionalmente sostituito con 1-4 alogeno, -OH, o nitrile;

Q è C₂-C₄ alchile o C₃-C₆ carbociclice opzionalmente sostituito con C₁-C₃ alchile, alogeno, -OH, o nitrile;

E è C₁-C₃ alchile o C₂-C₃ alchenile, opzionalmente sostituito con 1-3 alogeni;

W è H, -OH, -(C₁-C₃)alchile, -(C₁-C₃)alogenoalchile, alogeno o nitrile; e

Z^{2a} è H o C₁-C₃ alchile.

2. Composto della rivendicazione 1, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale

accettabile farmaceuticamente, in cui J è C₁-C₃ alchile.

3. Composto della rivendicazione 1, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui J è metile o etile.

4. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 3, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui \textcircled{T} è C₃-C₆ carbociclidene che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui detto C₃-C₆ carbociclidene è opzionalmente sostituito con C₁-C₄ alchile o C₁-C₃ alogenoalchile.

5. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 3, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui \textcircled{T} è C₃-C₆ carbociclidene che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti, in cui il C₃-C₆ carbociclidene è opzionalmente sostituito con metile, etile o trifluorometile.

6. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 3, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui \textcircled{T} è ciclopropilene.

7. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 3, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui \textcircled{T} è C₆-C₈ carbociclidene biciclico a ponte o C₆-C₈ carbociclidene biciclico condensato che è attaccato a L e al resto del composto di Formula IV attraverso due atomi di carbonio adiacenti.

8. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 7, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui L è C₃-C₆ alchilene, sostituito con 1-4 alogeni.

9. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 7, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui L è C₅ alchilene, sostituito con due alogeni.

10. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 7, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui L è C₃-C₆ alchilene.

11. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 7, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui L è C₅ alchilene.

12. Composto della rivendicazione 8 o claim 9, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui gli alogeni sono ognuno fluoro.
13. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 12, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui Q è t-butile o C₅-C₆ carbociclice.
14. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 12, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui Q è t-butile.
15. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 14, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui E è C₁-C₃ alchile opzionalmente sostituito con 1-3 atomi di alogeno.
16. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 14, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui E è difluorometile.
17. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 16, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui W è idrogeno, -O(C₁-C₃)alchile, alogeno o nitrile.
18. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 16, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui W è metossile.
19. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 18, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui Z^{2a} è idrogeno o metile.
20. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 18, o uno stereoisomero, o una miscela di stereoisomeri, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui Z^{2a} è metile.
21. Composizione farmaceutica comprendente un composto di una qualsiasi delle rivendicazioni 1-20, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e un eccipiente accettabile farmaceuticamente.
22. Composizione farmaceutica della rivendicazione 21, comprendente inoltre almeno un agente terapeutico addizionale.
23. Composizione farmaceutica della rivendicazione 22, in cui detto agente terapeutico addizionale è un

interferone, un analogo di ribavirina, un inibitore di NS5a, un inibitore di NS4b, un inibitore di proteasi NS3, un inibitore di NS5b, un inibitore di alfa-glucosidasi 1, un epatoprotettore, un inibitore non nucleosidico di HCV, o altro farmaco per il trattamento dell'infezione da virus dell'epatite C.

24. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 20 o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso in terapia medica.

25. Composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 20 o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso nel trattamento profilattico o terapeutico di un'infezione da virus dell'epatite C.