

P-2020/16692

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2020/0005611**Solicitud de patente a nombre de **BAYER ANIMAL HEALTH GMBH, THE KITASATO INSTITUTE.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de las sociedades BAYER ANIMAL HEALTH GMBH y THE KITASATO INSTITUTE., domiciliadas en Alemania y Japón respectivamente, solicitantes de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **5067** notificado electrónicamente el 28 de marzo de 2023, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Modificación a las reivindicaciones

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de veinticinco (25) reivindicaciones y reemplaza completamente el presentado anteriormente. Específicamente, se realizan las siguientes modificaciones:

- 1.1** Se ha modificado la reivindicación 1, eliminando las referencias de los grupos A y B, reemplazando los compuestos de la fórmula general (II) por la fórmula general más restringida (IIa) precursora de la fórmula (I), definiendo también los radicales X e Y en las etapas correspondientes. Así mismo, se han delimitado aún más las condiciones técnicas del método, especificando que la desprotección del grupo amino en el grupo Y ocurre en la presencia de un ácido, mientras que en el grupo X, ocurre por medio de una hidrogenólisis y la condensación de dichos grupos se lleva a cabo en presencia de un agente de acoplamiento que es una mezcla que comprende anhídrido propilfosfónico y trióxido de un fosforinano. Estas modificaciones tienen sustento en la pág. 6 y 7 de la Descripción originalmente presentada.

- 1.2** Se incorporaron las características de la anterior reivindicación 2, en la nueva reivindicación 1, definiendo aún más concretamente varios de los radicales.
- 1.3** Así mismo, se eliminaron las expresiones “en particular” y “preferentemente” y sus características opcionales acompañantes de todo el capítulo reivindicatorio.
- 1.4** Se eliminaron las antiguas reivindicaciones 4 y 27 a 33.
- 1.5** En la nueva reivindicación 8 (antigua reivindicación 10) se definió el grupo PG1 como un grupo protector de amina de acuerdo al sustento en la anterior reivindicación 16 y en la página 11 de la descripción originalmente presentada.
- 1.6** Se estructuró una nueva reivindicación 14 de método de síntesis a partir de los depsipéptidos de acuerdo con la fórmula general IIb. Esta se encuentra sustentada en la antigua reivindicación 16 y en la página 33 de la descripción originalmente presentada.
- 1.7** Se reenumeraron y se ajustó la dependencia de las nuevas reivindicaciones de acuerdo a su debida correspondencia.

En vista de las modificaciones previas, es posible afirmar que el pliego reivindicatorio que se presenta en esta oportunidad es claro y conciso, cumpliendo con los requerimientos establecidos en el Artículo 30 de la Decisión 486.

2. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones se adjunta recibo por concepto de pago de tasa de modificación a las reivindicaciones, según lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020**.

En relación con el número de reivindicaciones, atentamente nos permitimos decir que no se adjunta tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio tiene menor número reivindicaciones que el capítulo reivindicatorio previo, y en esencia es el mismo objeto, pero definido con mayor claridad.

3. Claridad del pliego reivindicatorio

El solicitante manifiesta que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones, de modo tal que las nuevas reivindicaciones proporcionan claridad y concisión a la invención descrita, siguiendo las recomendaciones realizadas por el examinador en su concepto técnico. En relación con las diferentes objeciones formuladas, se desea manifestar lo siguiente:

- 3.1.** Afirma el examinador que las reivindicaciones 1 a 3 no son claras porque definen los grupos A y B que no se encuentran definidos en el capítulo reivindicatorio.

En este sentido, se llama la atención del examinador que las reivindicaciones si están definiendo la materia que se desea proteger, en base a que los nuevos grupos X e Y están presentes en la Markush y la definición de grupo protector amino y grupo protector ácido carboxílico está sustentada en la descripción originalmente presentada, por ejemplo en las páginas 5 a 8.

- 3.2.** El examinador asevera que las reivindicaciones 27 a 33 no son claras porque involucran un disolvente que tiene un valor ET (30) pero no se especifican las unidades de esta propiedad.

Con el fin de subsanar esta objeción, el solicitante ha decidido retirar estas cláusulas, por lo cual, esta objeción debe entenderse por superada.

- 3.3.** Indica el examinador que las expresiones “preferentemente” y “en particular” presentes en las antiguas reivindicaciones 1 y 27 no son limitativas y hacen opcionales las características.

Atendiendo esta observación, se llama la atención del examinador por cuanto estas expresiones han sido eliminadas, por lo que esta objeción debe verse por superada.

- 3.4.** El examinador afirma que el capítulo reivindicatorio no es conciso, ya que las definiciones de R1-R12 comprenden un número muy extenso de alternativas, lo que impide establecer claramente el alcance de la protección.

El solicitante desea llamar la atención al examinador al concepto inventivo que se desea proteger y al capítulo reivindicatorio modificado, en el que se han

incluido aún más características que definen mejor el método reclamado y en el que se pretende proteger un nuevo método más simple para la síntesis de depsipéptidos cíclicos de la fórmula general (I) que funciona a gran escala.

- 3.5.** Indica el examinador que la reivindicación 26 menciona un método, pero no se define una secuencia lógica de etapas y/o mediante sus condiciones técnicas esenciales, sino en función del producto obtenido.

Al respecto, me permito manifestar el desacuerdo del solicitante, toda vez la antigua reivindicación 26 (ahora reivindicación 24) define la materia prima del método de síntesis, los depsipéptidos de la fórmula general IIa y no el producto obtenido que son los depsipéptidos cíclicos.

4. Unidad de invención

Señala el examinador que la solicitud no cumple con el requisito de unidad de invención, porque se reclaman dos rutas sintéticas diferentes para obtener el compuesto de fórmula (I) en el que el primer grupo comprende las reivindicaciones 1 a 26 y parcialmente la 34 y el segundo grupo las reivindicaciones 27 a 33 y parcialmente la 34.

En cuanto a esta objeción, el solicitante informa que ha eliminado el grupo de reivindicaciones 27 a 33, por lo que la solicitud tal y como está ahora reclamada cumpliría con el requisito de unidad de invención.

5. Descripción

El solicitante amablemente informa que las características del radical X definidas en la página 8, líneas 9 a 12, de la descripción tal y como fue inicialmente presentada y traducida, contienen un error material involuntario, en el grupo químico "bencil" que por un error de traducción y tipografía se escribió como "benzoílo" (Bn), en lugar de la nomenclatura correcta "Bencilo". Esto para la familia de compuestos, cuyas siglas son "PMB", "DPMB" y "PPB", comúnmente conocidos por tener dicho radical "bencilo"¹. Por lo tanto, solicitamos amablemente sea aceptada esta corrección material a esta página de la descripción. Esta corrección también se realizó en el pliego reivindicatorio.

¹ http://commonorganicchemistry.com/Rxn_Pages/PMB_Protection/PMB_Protection_Index.htm

6. Novedad

Objeta la Examinadora que la reivindicación 1 carece de novedad a la luz de las enseñanzas técnicas descritas en el documento **D1** (EP2862872A1).

A este respecto, me permito decir que el artículo 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que la invención se considera nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica. Si de acuerdo con el espíritu de la norma legal indicada, la invención no se considera como nueva si está "*comprendida*" en el estado de la técnica, dicha norma se está refiriendo, naturalmente, a la totalidad del invento y no a alguno o a algunos de los componentes.

Aplicando lo anterior al caso concreto, para que las razones que aduce ese Despacho para desvirtuar la novedad fuesen ciertas, sería forzoso que se demostrara que la invención está comprendida en el estado de la técnica, específicamente en forma individual en el documento **D1** de forma **TOTAL**, lo cual no sucede con la materia reclamada en el capítulo reivindicatorio.

Por lo tanto y teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, como mínimo la novedad debe contemplar los siguientes aspectos:

- Que la invención en estudio esté contenida de forma **TOTAL y ABSOLUTA** en cada uno de los documentos que se mencionan como anterioridades; y
- Que la invención en cuestión puede partir de conocimientos conocidos, caso en el cual habrá que hacer la comparación no de lo conocido sino de lo inédito y novedoso, teniendo que analizarse el valor agregado que aporta la invención con sus nuevas características al campo técnico al cual pertenece la solicitud en estudio.

Lo anterior significa que para que un documento del estado de la técnica pueda afectar la novedad de una solicitud, debe revelar todas y cada una de las características técnicas que la definen.

Para el presente caso, se llama la atención del examinador que **D1** no describe la síntesis de compuestos donde cualquiera de los restos o residuos sea un bencilo o un grupo sustituido con bencilo, como se reivindica en la reivindicación 1. Además, **D1** no describe un agente de acoplamiento que incluya un T3P ((anhídrido propilfosfónico, 2,4,6-Tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrilfosforinano-2,4,6-trióxido, PPACA).

7. Nivel inventivo

El Examinador establece en su concepto técnico la falta de nivel inventivo de las siguientes reivindicaciones así:

- Reivindicaciones 2 a 26 en vista del documento **D1** (EP2862872A1) en combinación con el documento **D2** (WO2017116702A1), siendo el documento D1 considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención reclamada.
- Reivindicación 34 en vista de **D2** (WO2017116702A1) en combinación con el documento **D1** (WO2017116702A1), siendo el documento D2 considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención reclamada.

En este sentido, hacemos notar que el Artículo 18 de la Decisión 486/00 determina que *"una invención tiene nivel inventivo, si para una **persona del oficio normalmente versada en la materia técnica** correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica".* (El subrayado es nuestro).

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. El análisis de nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta no contiene un salto cualitativo, que demuestre su altura inventiva, teniendo en cuenta que se hace **necesario demostrar** que la invención analizada carece de nivel inventivo y hubiese sido obvia para una persona versada en la materia.

Considerando la definición anterior, deseamos aclarar que los antecedentes citados por el examinador no sugieren ni hacen evidentes las ventajas técnicas del método reivindicado por la presente solicitud, al menos por las razones expuestas a continuación:

En primer lugar y como se indicó anteriormente, el objeto de la reivindicación 1 modificada difiere del estado de la técnica citado al menos en que los residuos R3 y/o R9, siendo independientemente uno de otro un grupo bencilo o bencilo sustituido, se utilizan en combinación con el agente de acoplamiento T3P para la reacción de ciclación.

Considerando la naturaleza y la demanda estérica del grupo bencilo o bencilo sustituido en la vecindad de la posición de acoplamiento junto con las restricciones estéricas que se imponen a la reacción de condensación por la cadena sustituida a ciclar y por el tamaño de los agentes de acoplamiento aplicados, fue sorprendente que los depsipéptidos cíclicos se obtuvieran con rendimientos tan altos (véase la descripción de la solicitud, pág. 6, líneas 28 a 30 y página 32 líneas 28 a 30). Además, el método es ventajoso, ya que es posible procesar la reacción mediante un procedimiento simple de extracción y recristalización que es especialmente adecuado para la producción a gran escala y a escala industrial con mayores rendimientos (véase la descripción de la solicitud, página 66, líneas 15 a 22).

Los documentos trasladados no solucionan el problema técnico planteado

Por lo tanto, el problema técnico objetivo puede formularse como la provisión de una ruta sintética mejorada que permita obtener emodepside y estructuras relacionadas en un proceso que también es adecuado para la producción a gran escala y a escala industrial con mayores rendimientos (véase solicitud pág. 4, ll. 6-8; p. 6, ll. 21-23).

D1 no enseña ni sugiere un bencilo o bencilo sustituido como R3 y/o R9. D1 y D2 tampoco enseñan ni sugieren T3P como agente de acoplamiento o que los métodos de D1 o D2 serían adecuados para una producción a gran escala.

D1 no reconoce el problema a resolver. En cambio, D1 describe un procedimiento de ciclación sintética en la escala de menos de un gramo que requiere cromatografía ultrarrápida para la purificación, lo que la hace inadecuada para la producción a gran escala. Además, los ejemplos de trabajo de D1 no enseñan ni sugieren el uso de los residuos de bencilo o bencilo sustituido reivindicados en combinación con el agente de acoplamiento T3P reivindicado, sino que se basan en PyBOP.

D1 no enseña ni sugiere un método que use intermedios que tengan un grupo bencilo o bencilo sustituido que sobresalga de la cadena. Al aplicar los métodos de D1, el experto en la materia no se enfrenta al impedimento estérico de los grandes residuos en la vecindad de la posición de acoplamiento junto con las restricciones estéricas que se imponen a la reacción de condensación por la cadena sustituida a ciclar y por el tamaño del agente de acoplamiento aplicado. Además, los grupos grandes, al estar distribuidos irregularmente y sobresalir de una cadena, son menos adecuados para

plegarse y formar regiones ordenadas (es decir, para cristalizar), en particular sin ningún protocolo de cristalización elaborado.

Los ejemplos de la presente solicitud muestran que las cadenas laterales R3 y/o R9 sí impactan en la ciclación de cabeza a cola. El experto en la materia no habría podido predecir con precisión cómo resultaría la ciclación del péptido lineal, especialmente si los residuos y, por lo tanto, las posibles interacciones difieren significativamente para los péptidos lineales que se comparan (es decir, en este caso, los no -residuos aromáticos descritos en D1, en comparación con los residuos aromáticos descritos en la presente solicitud). Como tal, el experto en la materia no podría esperar que las reacciones descritas en la presente solicitud tuvieran éxito basándose en la técnica anterior que emplea sustratos con residuos significativamente diferentes.

D2 tampoco reconoce el problema a resolver. Este documento describe un procedimiento de ciclación sintética en la escala de menos de un gramo que requiere HPLC preparativa para la purificación, lo que la hace inadecuada para la producción a gran escala. Además, los ejemplos de trabajo de D2 no enseñan ni sugieren el uso del agente de acoplamiento T3P reivindicado, sino que se basan en BOP-Cl.

Los compuestos de D2 tienen sustituyentes arilo que sobresalen de las cadenas (véanse residuos Cy1 y Cy2) que están en la misma posición que los R3 y R9 reivindicados. Sin embargo, el acoplamiento, es decir, la reacción de condensación, descrita en D2 dio como resultado rendimientos en su mayoría muy bajos a bajos de 8 a 29%, excepcionalmente 39%, aunque la reacción se llevó a cabo en cantidades entre 180 y 720 mg que son fáciles de manejar y por lo general, permiten pérdidas bajas o nulas según el tratamiento y la purificación (D2, pág. 351, l. 12; pág. 372, l. 4; pág. 381, l. 11; pág. 394, l. 12; pág. 406, l. 16; pág. 418, l. 11; pág. 425, l. 13).

De hecho, las mezclas de reacción de D2 debían purificarse mediante HPLC preparativa, aunque las cantidades obtenidas (24,7 a 116,5 mg del producto final) eran suficientes para purificarse fácilmente mediante otros métodos, como la cromatografía flash (D2, p. 351, l. 12; p. 372, l. 4; p. 381, l. 11; p. 394, l. 12; p. 406, l. 16; p. 418, l. 11; p. 425, l. 13).

Efectos técnicos de la invención superiores a D1 y D2

Contrario a los documentos D1 y D2 trasladados, el método de la invención rindió a gran escala más de 230 g en un 51,3% de producto después de la extracción y recristalización (solicitud, pág. 66, líneas. 12-17). Cantidades más pequeñas de material de partida (p. ej., 78 mg), que se purificaron mediante cromatografía en columna y que son comparables a las cantidades de D2, rindieron mejor un 65 % del producto ciclado (solicitud, p. 84, l. 13), **valor muy superior a los rendimientos obtenidos en D2.**

Por lo tanto, D2 se aparta de la invención reivindicada. Si el experto comenzara con D2 o implementara la enseñanza de D2 en D1, llegaría a un método que no es adecuado para escala industrial o a gran escala, necesita un método de purificación elaborado utilizando dispositivos especiales como HPLC preparativa y no proporciona altos rendimientos.

Los ejemplos de la presente solicitud demuestran que el intercambio del agente de acoplamiento mejora los rendimientos: PyBOP (el agente de acoplamiento utilizado en los ejemplos de D1) y T3P, respectivamente, no son igualmente adecuados para la reacción de ciclación que tiene los residuos aromáticos R3 y/o R9.

Por ejemplo, la reacción de acoplamiento del octapéptido con R3 y R9 siendo ambos residuos de bencilo p-morfolino sustituido usando PyBOP resultó en un rendimiento del 46% en dos pasos usando Fmoc y TAG en la secuencia sintética (solicitud, p. 91, l. 7).

En contraste con eso, la reacción de acoplamiento del octapéptido con R3 y R9 siendo ambos residuos de bencilo p-morfolino sustituido usando T3P resultó en un rendimiento del 88% en dos pasos usando Fmoc y TAG en la secuencia sintética (solicitud, p. 94, l. 1). El uso de T3P en lugar de PyBOP como se empleó en D1 incrementó los rendimientos a casi un 191 % de una manera que no sería obvia para el experto según el estado de la técnica.

Sin embargo, ni D1 ni D2 consideran T3P como opción para el agente de acoplamiento, a pesar de su efecto sorprendentemente beneficioso sobre el rendimiento de ciclación (desconocido hasta ese momento). En cambio, D1 enseña el uso de PyBOP, mientras que D2 menciona una variedad de agentes de acoplamiento pero emplea solo BOP-Cl.

Además, la solicitud también demuestra que (i) el intercambio de R3 y R9 de un bencilo a un bencilo p-morfolino sustituido (ii) con el intercambio anterior del agente de

acoplamiento y (iii) con un aumento de escala incluso mejoró los rendimientos: El ejemplo de la página 74 muestra la ciclación de 90 mg de octapéptido con R3 y R9 siendo ambos bencilo en una concentración de 0,05 M utilizando PyBOP y cromatografía en columna ultrarrápida para obtener el producto ciclado con un rendimiento del 49 % (aplicación, pág. 75, l. 1).

Por el contrario, la escala de hasta 2600 veces la cantidad mencionada anteriormente, es decir, la ciclación de 234g de octapéptido (en comparación con la escala extremadamente pequeña de significativamente menos de 1 g como se describe en D1 y D2) siendo R3 y R9 ambos bencilos sustituidos con p-morfolino de residuo más grande en una concentración de 0,05 M usando T3P y extracción acuosa y cristalización dio como resultado emodepside puro al 51,3% (solicitud, pág. 66, l. 17)

Por lo tanto, la solicitud muestra que se obtuvo un rendimiento mejorado usando el método reivindicado, en particular el agente de acoplamiento T3P, que no se describe en D1 o D2.

Además, el procesamiento se simplificó enormemente en comparación con las enseñanzas de D1 y D2 mediante extracción acuosa y cristalización en comparación con la cromatografía ultrarrápida o la HPLC preparativa. Esto reduce significativamente los costes de preparación de los péptidos ciclados, ya que no se necesitan aditivos adicionales como material de cromatografía o grandes cantidades de disolventes para obtener el producto ciclado, lo que claramente resulta en una mejora clara en el proceso de síntesis.

Fue sorprendente que el método reivindicado produjera los compuestos reivindicados en reacciones a gran escala con altos rendimientos que podrían purificarse más fácilmente mediante extracción y un procedimiento de recrystalización. Sin embargo, ni D1 ni D2 se preocupan por la producción a gran escala o por encontrar un procedimiento de tratamiento y purificación más sencillo que también sea adecuado para producciones a gran escala. Cuando el problema técnico objetivo no está reconocido en el estado de la técnica, la solución no puede ser obvia.

En consecuencia, D1 y D2 no proporcionan ninguna guía sobre cómo llegar a una ruta sintética mejorada para la preparación de emodepside y estructuras relacionadas, y mucho menos en un método de preparación a gran escala. El experto en la materia no habría llegado a la invención de forma obvia.

El mismo razonamiento también se aplica a la reivindicación 25 modificada (reivindicación original 34): los depsipéptidos lineales son productos intermedios o finales preparados y utilizados en el método nuevo e inventivo.

De esta forma, teniendo en cuenta que el documento D1, **no menciona, describe o sugiere**, en forma individual o en combinación con otro D2, todas las características técnicas reclamadas en el capítulo reivindicatorio presentado en esta oportunidad, **dichas reivindicaciones son novedosas, e inventivas sobre el estado del arte.**

En este sentido, y siguiendo el Manual Andino de Patentes, la presente invención tal y como se encuentra definida en las reivindicaciones 1 a 25 presentadas en esta oportunidad, tienen diferencias con el estado del arte e implicó un nivel inventivo durante su desarrollo, por lo cual debe ser considerada como novedosa e inventiva según las disposiciones de los artículos 16 y 18 de la Decisión 486.

6. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) La materia objeto de las actuales reivindicaciones es clara, concisa y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 30 de la Decisión 486;
- ii) Las reivindicaciones actuales son patentables sobre D1, D2 y D3 cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 16 y 18 de la Decisión 486.

En consecuencia, solicitamos a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

7. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por veinticinco (25) reivindicaciones.
- Descripción modificada
- Comprobante de por concepto de la modificación voluntaria de las reivindicaciones.

Señora Directora,



CAROLINA DAZA MONTALVO

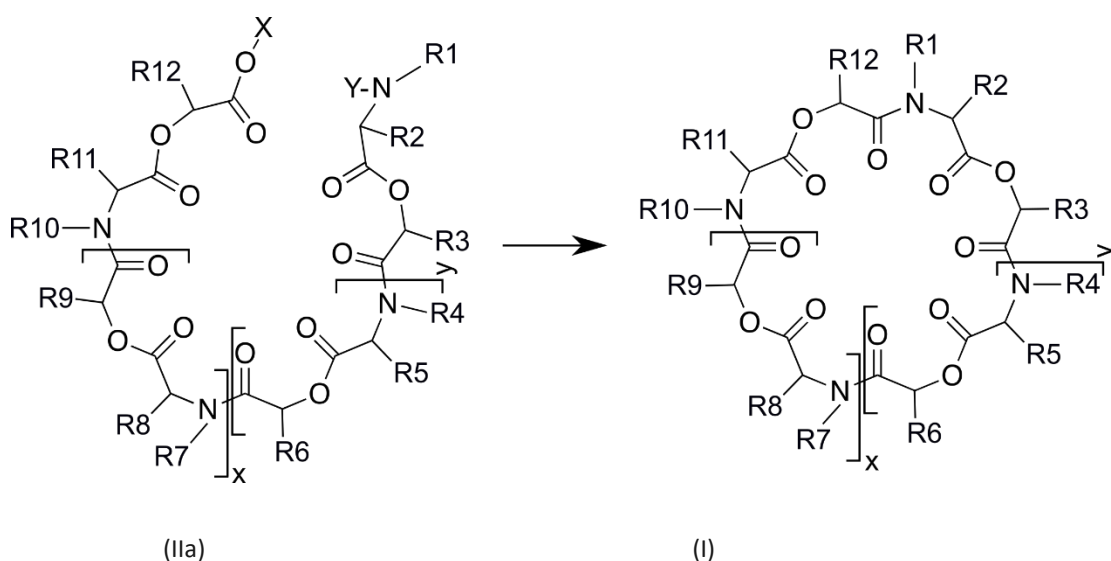
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle

TP-141563 CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

- 1.- Un método para la síntesis de depsipéptidos cíclicos de
 5 acuerdo con la fórmula general (I) a partir de depsipéptidos de
 acuerdo con la fórmula general (IIa):



10

donde Y es un grupo protector amino y X es un grupo protector ácido carboxílico,

el método comprende las etapas de:

- desproteger el grupo amino que se protege por el grupo Y,
 15 en la presencia de un ácido, obteniendo así un grupo amino desprotegido;
- desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo X, por medio de una hidrogenólisis, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;
- 20 - condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos por medio de un agente de acoplamiento, obteniendo así el depsipéptido cíclico (I)

Junio 26, 2023

por lo que R2 y R8, cada uno, independientemente uno del otro, representan hidrógeno, alquilo-C1-C8 de cadena recta o ramificada, alquilo C1-C8 halogenado de cadena recta o ramificada, hidroxialquilo-C1-C6, alcanoiolo-C1-C4-alquilo-C1-C6, alcoxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, arilalquilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, mercaptoalquilo-C1-C6, alquiltio-C1-C4-alquilo-C1-C6, alquilsulfinilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, alquilsulfonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, carboxialquilo-C1-C6, alcóxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, arilalcóxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, carbamiloalquilo-C1-C6, aminoalquilo-C1-C6, alquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, dialquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, guanidinoalquilo-C1-C6, alcóxicarbonilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, 9-fluorenilmetoxycarbonil(Fmoc)aminoalquilo-C1-C6, alqueno-C2-C8, cicloalquilo-C3-C7, cicloalquilo-C3-C7-alquilo-C1-C4, bencilo, bencilo sustituido, fenilo, fenilalquilo-C1-C4, que puede estar opcionalmente sustituido por radicales del grupo que consiste en halógeno

donde x es 1, y es 1, R1, R4, R7 y R10 son metilo, R6 y R12 son metilo, R5 y R11 son, independientemente uno del otro, alquilo-C1-C4 de cadena recta o ramificada o alquilo-C1-C4 halogenado de cadena recta o ramificada y R3 y R9 son, independientemente uno del otro, bencilo o bencilo sustituido, y

Donde el agente de acoplamiento es una mezcla de anhídrido propilfosfónico, 2,4,6-Tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrilfosforinano-2,4,6-trióxido y PPACA.

25

2.- El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde R3 y/o R9 son bencilo sustituido con p-morfolino.

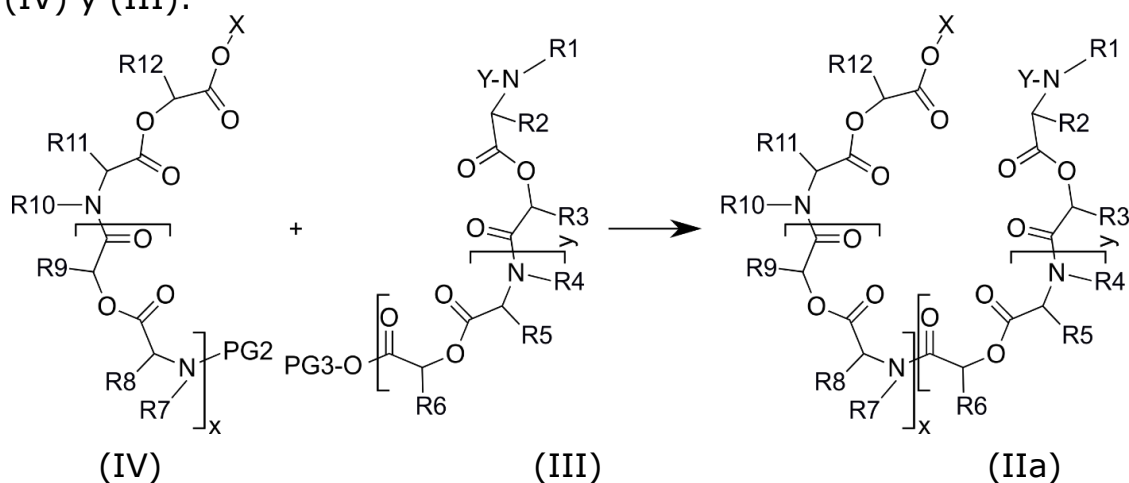
3.- El método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, donde X es un grupo -CH₂-Arolo sustituido o insustituido.

4.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde X se selecciona del grupo bencilo (Bn), 4-metoxibencilo

(PMB), 3,4-dimetoxibencilo (DPMB), 4-fenil-bencilo (PPB), 2-naftilmetilo (Nap), Benciloximetil acetal (BOM).

5 5.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde Y es t.-Butiloxicarbonilo (BOC).

6.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, donde el depsipéptido de acuerdo con la fórmula general (IIa) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (IV) y (III):



por:

15 - en el precursor (IV), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG2 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- en el precursor (III), desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo PG3 en presencia de un ácido, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;

20 - condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido (II);

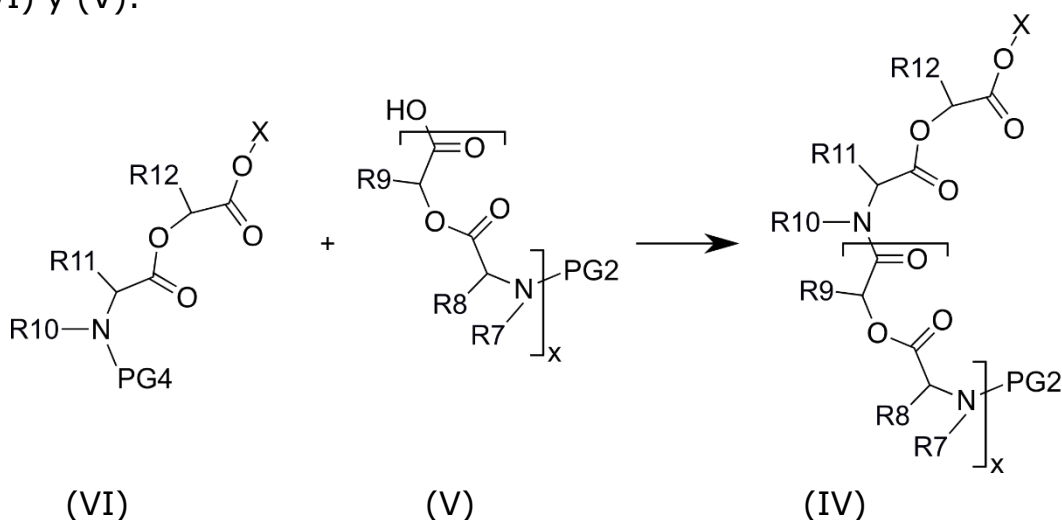
donde R1 a R12, X, Y, x, e y tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 a 2, PG2 es un grupo protector amino y PG3 es un grupo protector ácido carboxílico.

25

7.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (IV) se

Junio 26, 2023

obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VI) y (V):



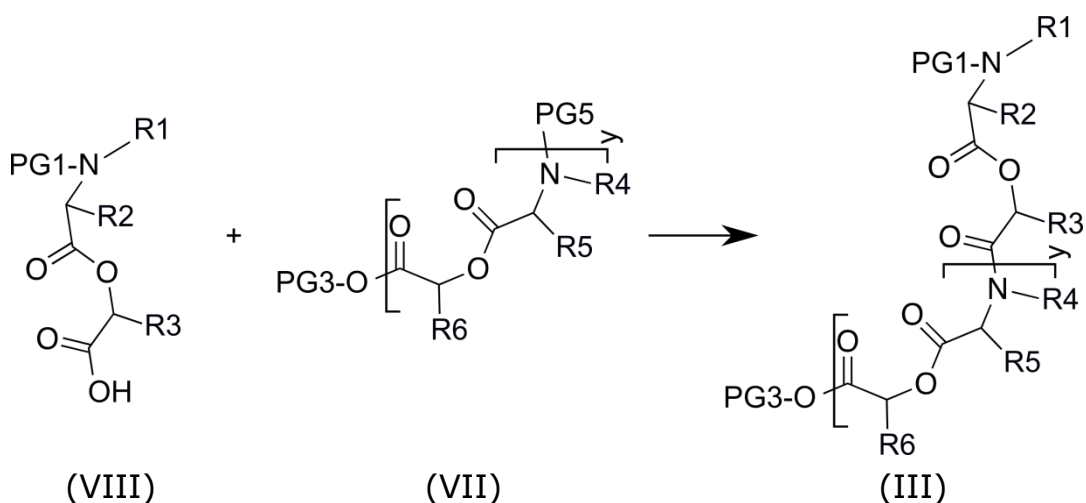
5 por:

- en el precursor (VI), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG4 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

10 - condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VI) y grupo ácido carboxílico del precursor (V), obteniendo así el precursor (IV);

15 donde R7 a R12, X y x tienen un significado como se define anteriormente, PG2 tiene un significado como se define anteriormente y PG4 es un grupo protector amino. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (II) a (I) anteriormente.

20 8.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (III) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VIII) y (VII):



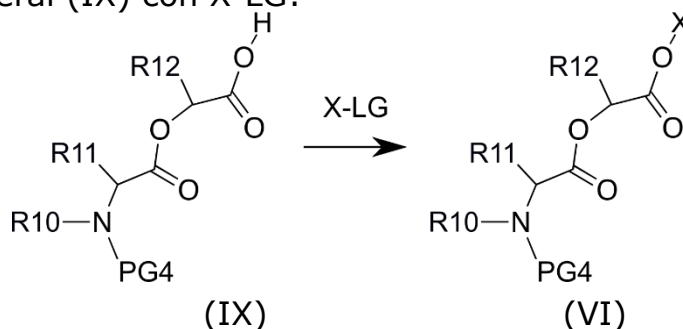
por:

- en el precursor (VII), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG5 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VII) y grupo ácido carboxílico del precursor (VIII), obteniendo así el precursor (III);

donde R1 a R6, e y tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 a 2, PG1 es un grupo protector de amina, PG3 tiene un significado como se define en la reivindicación 4 y PG5 es un grupo protector amino.

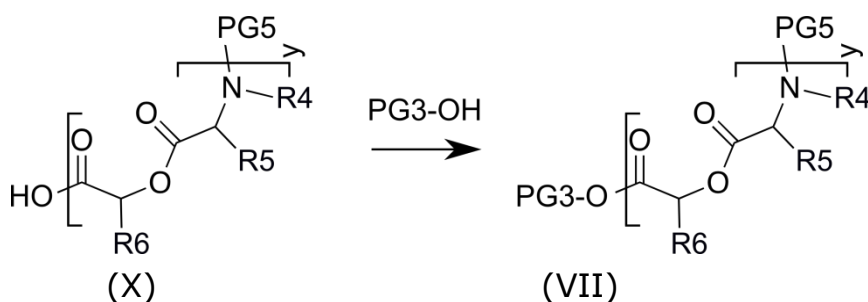
9.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (VI) se obtiene a partir de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (IX) con X-LG:



donde R10 a R12, y X tienen un significado como se define anteriormente y PG4 tiene un significado como se define

anteriormente y LG es un grupo saliente.

- 10.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (VII) se obtiene a partir de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (X) con PG3-OH:



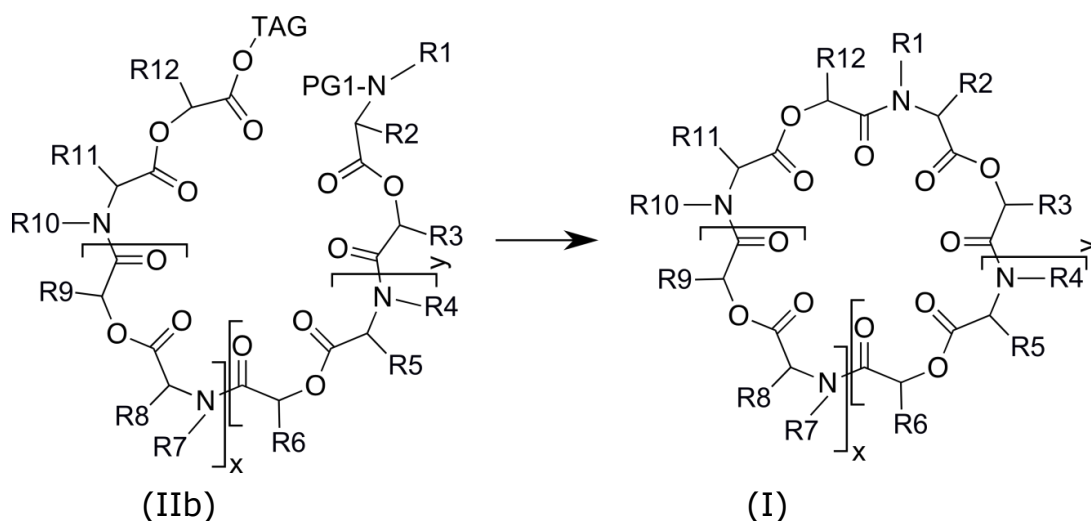
- donde R4 a R6, e y tienen un significado como se define anteriormente, PG3 también tiene un significado como se define anteriormente y PG5 también tiene un significado como se define anteriormente.

- 11.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, donde PG3 es X.

- 12.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde los precursores (III) y (IV) son idénticos.

- 13.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde R3 y R9 son idénticos, R1 y R7 son idénticos, R2 y R8 son idénticos, R4 y R10 son idénticos, R5 y R11 son idénticos y R6 y R12 son idénticos.

- 14.- Un método parasintetizar depsipéptidos cíclicos de acuerdo con la fórmula general (I) a partir de depsipéptidos de acuerdo con la fórmula general (IIb):



donde PG1 es un grupo protector amino y TAG es un grupo protector ácido carboxílico,

5 el método comprende las etapas de:

- desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG1 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

10 - desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo TAG en presencia de un ácido, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;

- condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido cíclico (I);

15 **caracterizado porque** el grupo TAG comprende un resto Arilo-O-(CH₂)_n- donde Arilo representa un resto aromático y n es ≥ 13,

donde R2, y R8, cada uno, independientemente uno del otro, representan hidrógeno, alquilo-C1-C8 de cadena recta o ramificada, alquilo-C1-C8 halogenado de cadena recta o ramificada, hidroxialquilo-C1-C6, alcanoiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, alcoxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, arilo-alquiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, mercapto-alquilo-C1-C6, alquiltio-C1-C4-alquilo-C1-C6, alquilsulfinilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, alquilsulfonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, carboxi-alquilo-C1-C6, alcoxycarbonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, arilalcoxycarbonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, carbamilo-alquilo-C1-C6, amino-alquilo-C1-C6, alquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, dialquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6,

20

25

Junio 26, 2023

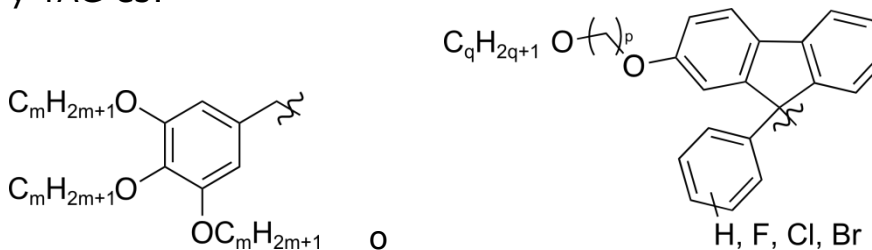
guanidino-alquilo-C1-C6, alcoxycarbonilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, terc-butoxicarbonilaminobutilo, 9-fluorenilmetoxycarbonil(Fmoc)amino-alquilo-C1-C6, alqueno-C2-C8, cicloalquilo-C3-C7, cicloalquilo-C3-C7-alquilo-C1-C4, bencilo, bencilo
5 sustituido, fenilo, fenil-alquilo-C1-C4, hidroxilo, alcoxi-C1-C4 o alquilo-C1-C4.,

donde x es 1, y es 1, R1, R4, R7 y R10 son metilo, R6 y R12 son metilo, R5 y R11 son, independientemente el uno del otro, un
10 alquilo C1-C4 de cadena recta o ramificada o un alquilo C1-C4 halogenado de cadena recta o ramificada, y R3 y R9 son, independientemente el uno del otro, bencilo o bencilo sustituido, y

donde el agente de acoplamiento es una mezcla de anhídrido
15 propilfosfónico, 2,4,6-Tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrilfosforinano-2,4,6-trióxido y PPACA.

15.- El método de acuerdo con la reivindicación 14, donde PG1 es 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc), t-butil carbamato (Boc),
20 bencil carbamato (Z), acetamida, trifluoroacetamida, ftalimida, bencilo (Bn), trifenilmetilo (Tr), bencilideno o p-toluenosulfonamida (Ts)

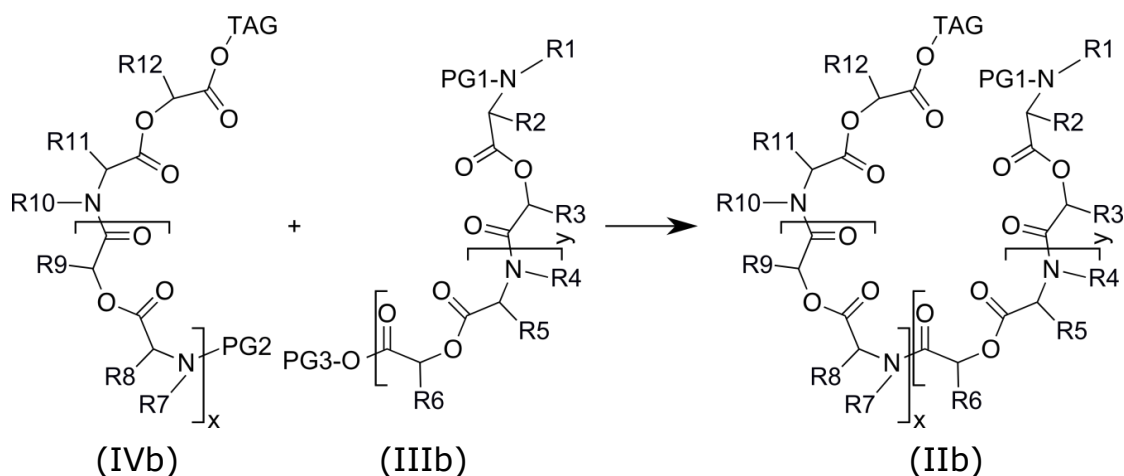
y TAG es:



25 donde m es ≥ 15 a ≤ 25 , p es ≥ 8 a ≤ 18 y q es ≥ 15 a ≤ 25 .

16.- El método de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, donde el depsipéptido de acuerdo con la fórmula general (IIb) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (IVb) y
30 (IIIb):

Junio 26, 2023



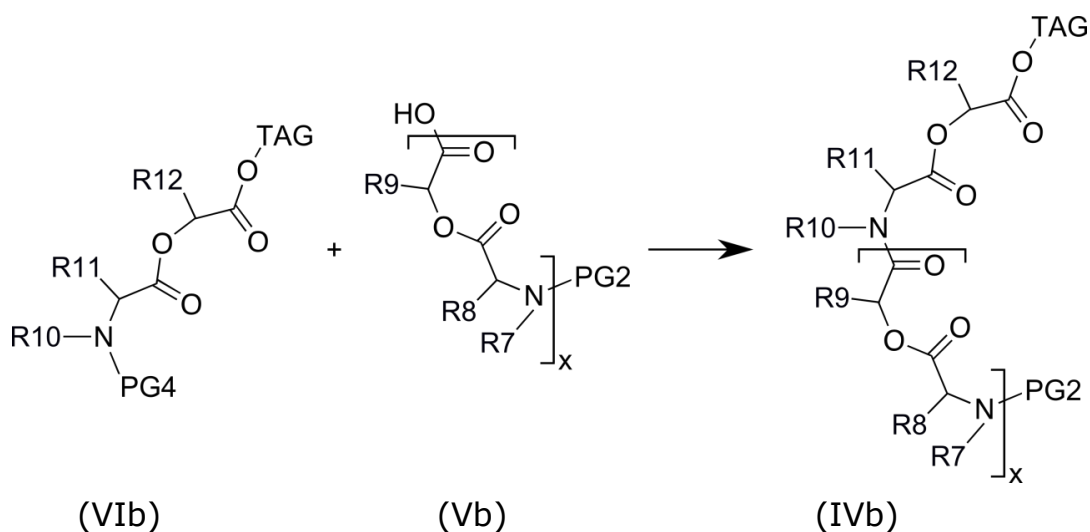
por:

- en el precursor (IVb), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG2 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;
- en el precursor (IIIb), desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo PG3 en presencia de un ácido, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;
- condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido (IIb);

donde R1 a R12, x e y tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 o 2, TAG tiene un significado como se define en la reivindicación 14 o 15, PG1 tiene un significado como se define en la reivindicación 8, PG2 es un grupo protector amino y PG3 es un grupo protector ácido carboxílico.

17.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (IVb) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VIb) y (Vb):

Junio 26, 2023



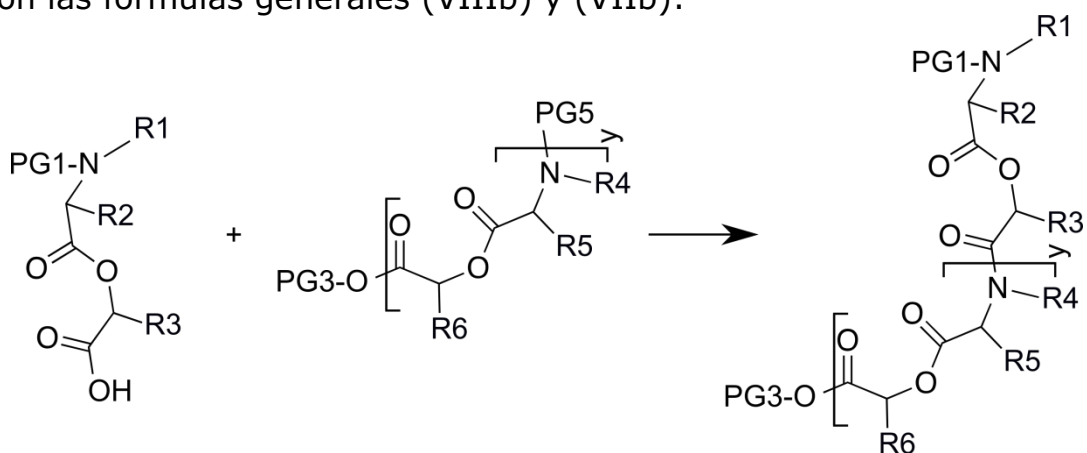
por:

- en el precursor (VIb), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG4 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VIb) y grupo ácido carboxílico del precursor (Vb), obteniendo así el precursor (IVb);

donde R7 a R12, TAG y x tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 a 16, PG2 tiene un significado como se define en la reivindicación 16 y PG4 es un grupo protector amino.

18.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (IIIb) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VIIb) y (VIIb):



Junio 26, 2023

(VIIIb)

(VIIb)

(III)b

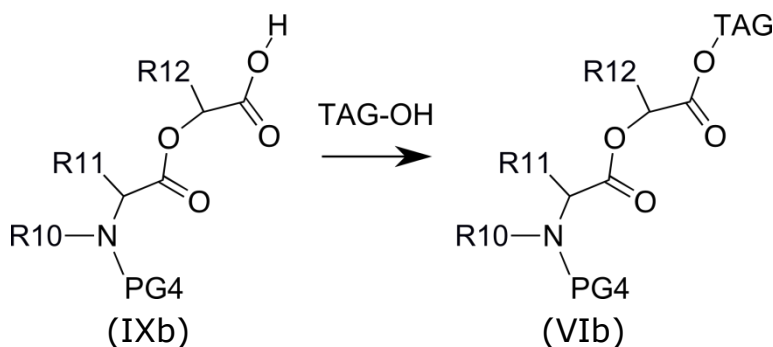
por:

- en el precursor (VIIb), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG5 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VIIb) y grupo ácido carboxílico del precursor (VIIIb), obteniendo así el precursor (IIIb);

donde R1 a R6, PG1 e y tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 a 16, PG3 tiene un significado como se define en la reivindicación 16 y PG5 es un grupo protector amino.

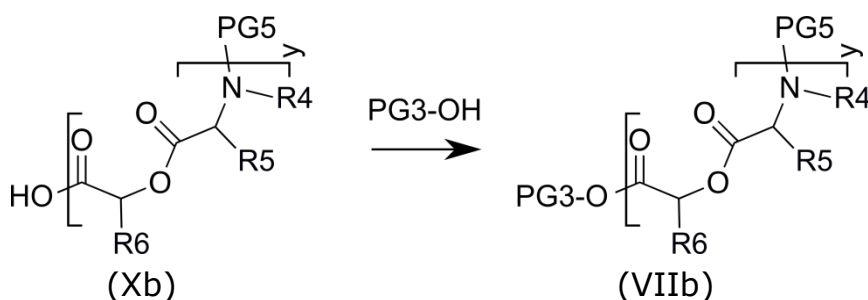
19.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 18, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (VIb) se obtiene a partir de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (IXb) con TAG-OH:



donde R10 a R12 y TAG tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 a 16 y PG4 tiene un significado como se define en la reivindicación 17.

20.- El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 19, donde el precursor de acuerdo con la fórmula general (VIIb) se obtiene a partir de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (Xb) con PG3-OH:

Junio 26, 2023



donde R4 a R6 e y tienen un significado como se define en una de las reivindicaciones 1 a 18, PG3 tiene un significado como se define en la reivindicación 6 y PG5 tiene un significado como se define en la reivindicación 8.

21.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 14 a 20, donde PG3 es TAG como se define en cualquiera de las reivindicaciones 14 a 20.

22.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 14 a 21, donde al menos un paso de reacción de los pasos de reacción que resultan en una molécula con TAG es seguido por la precipitación de producto de reacción bruto en metanol, purificando así el producto de reacción bruto.

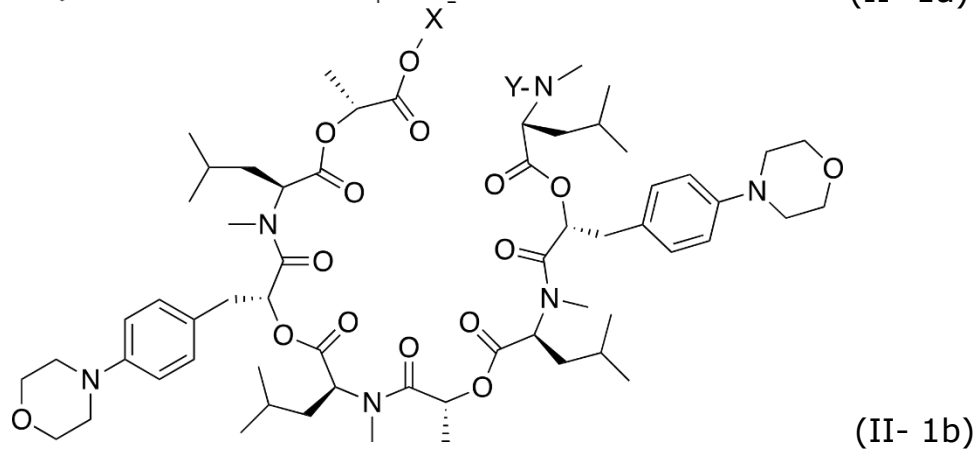
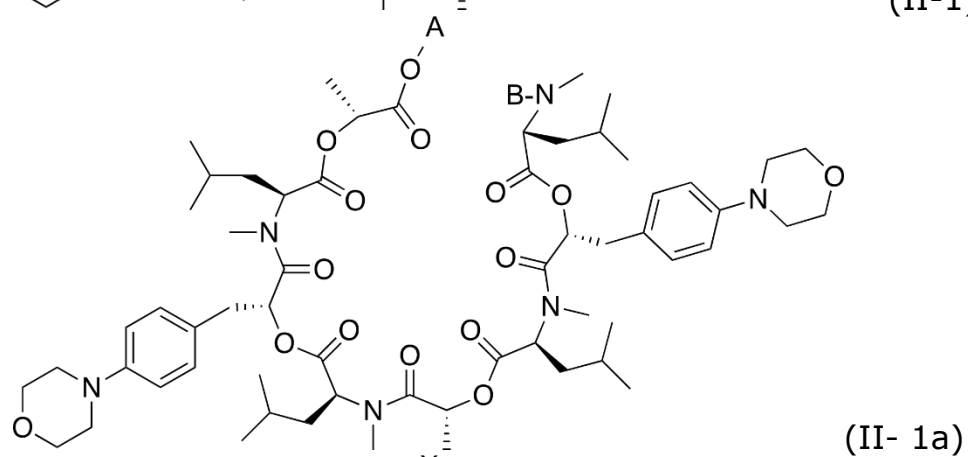
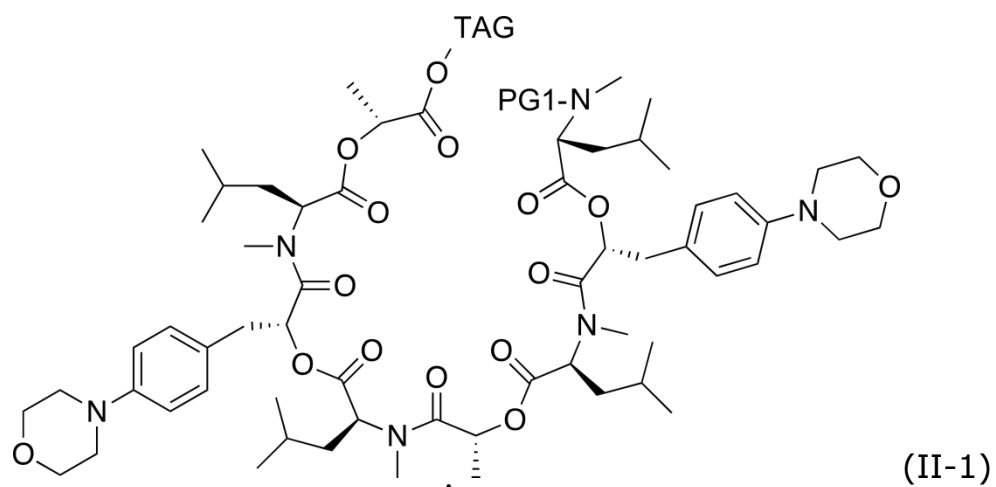
23.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 14 a 21, donde al menos un paso de los pasos de reacción donde los grupos de ácido carboxílico protegidos por TAG se desprotegen es seguido por la precipitación de TAG-OH escindido en metanol y remoción del precipitado por filtración, purificando así el producto de reacción bruto.

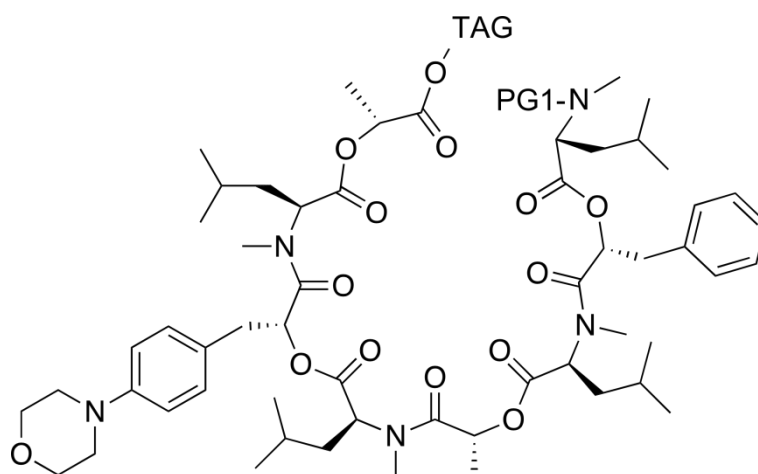
24.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 23, donde el depsipéptido (II) se selecciona de las fórmulas generales (II-1) a (II-14b):

P-2020/16692 - NC2020/0005611

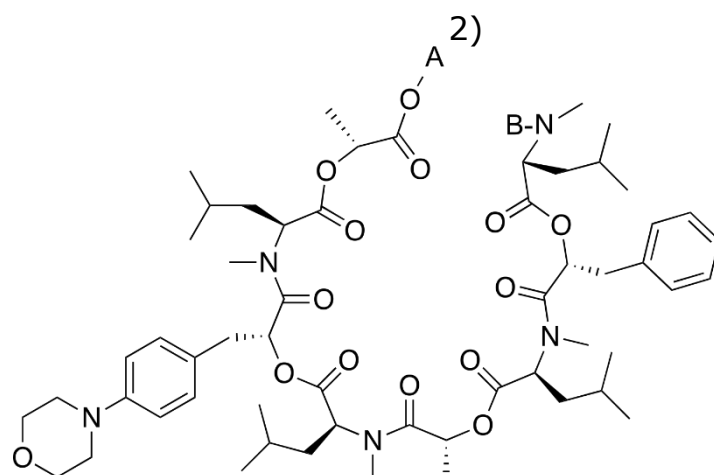
Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

Junio 26, 2023

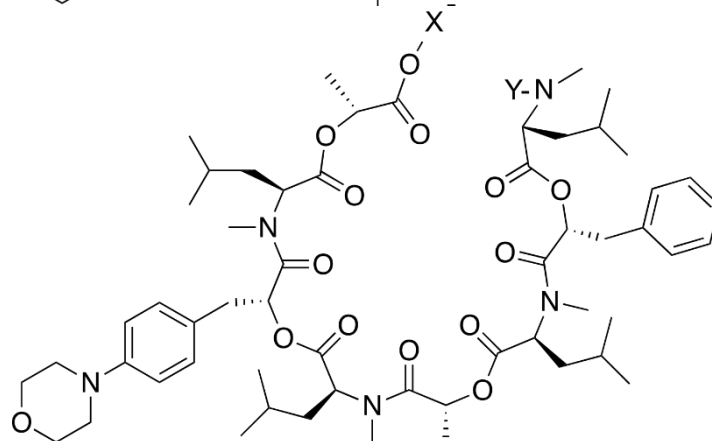




(II-



(II-2a)

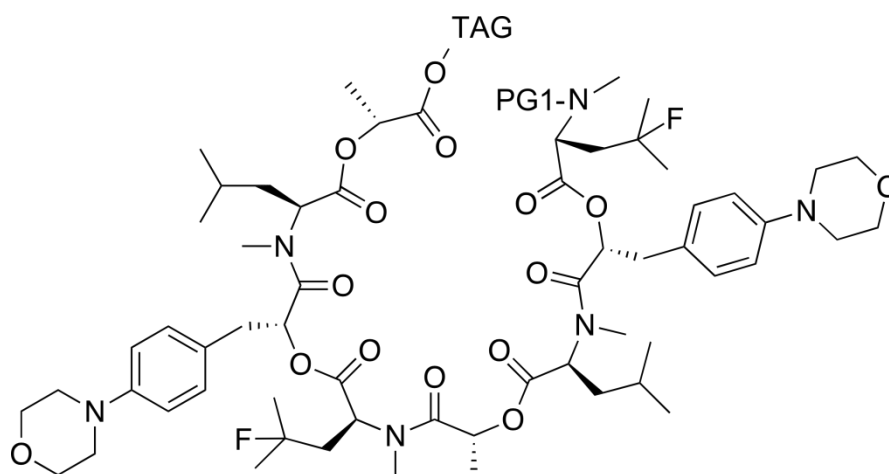


(II- 2b)

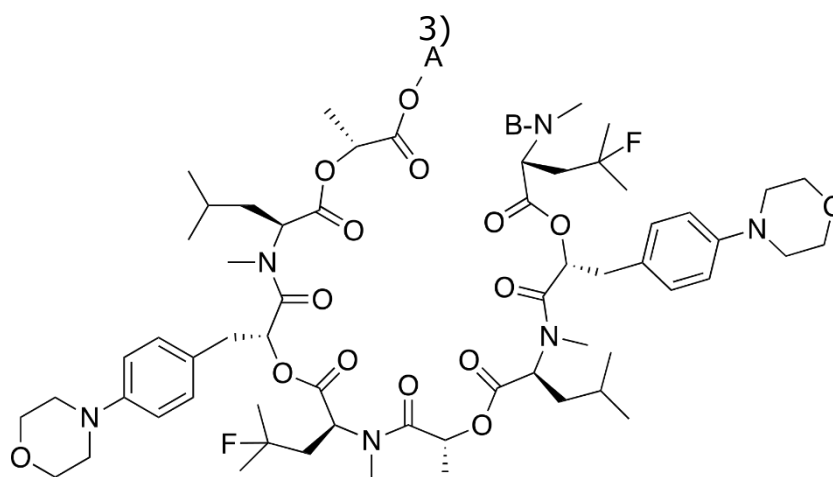
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

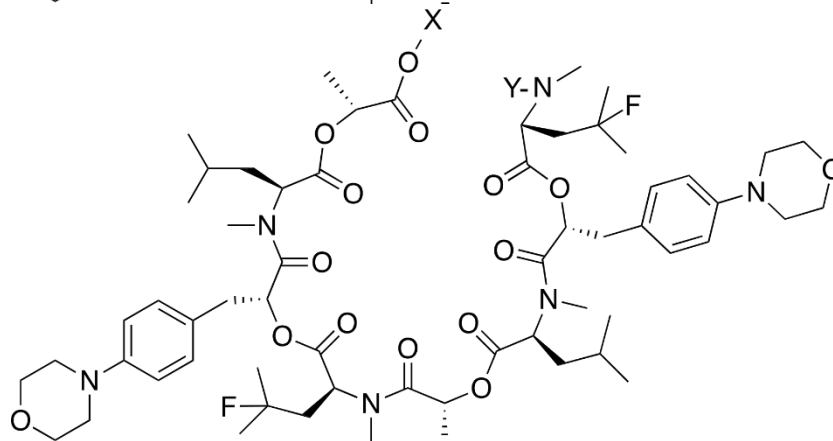
Junio 26, 2023



(II-

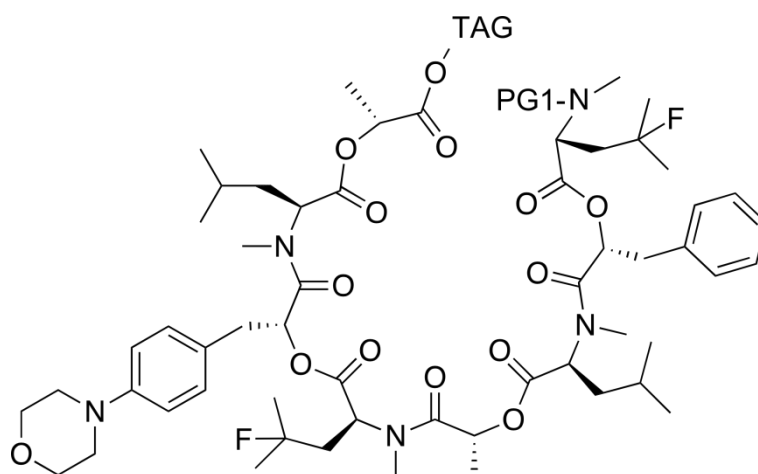


(II-3a)

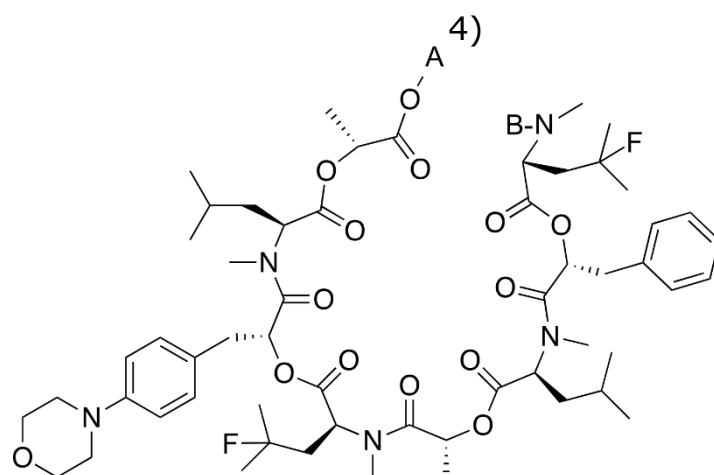


(II-3b)

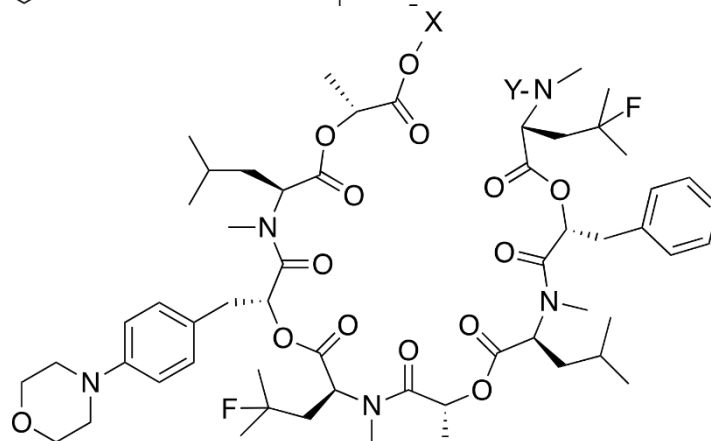
P-2020/16692 - NC2020/0005611
Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067
Junio 26, 2023



(II-4)



(II-4a)

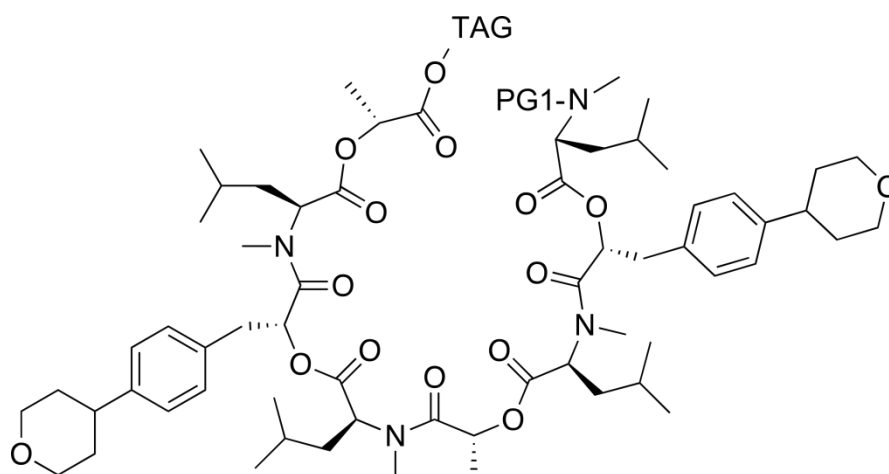


(II-4b)

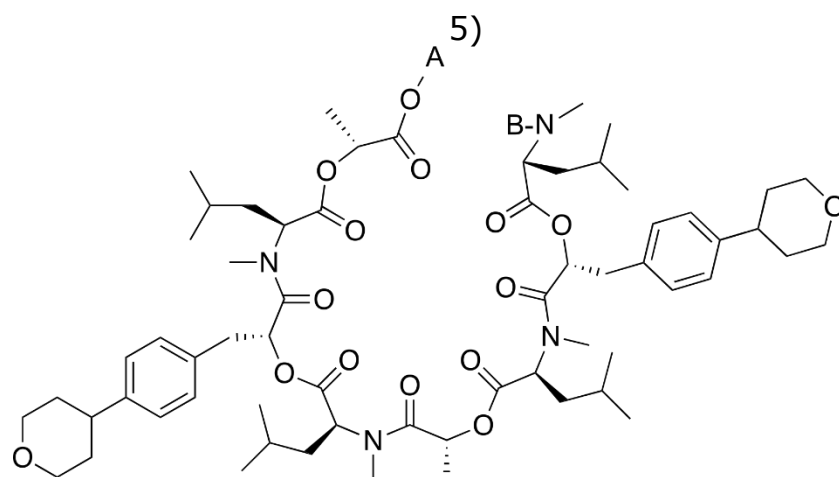
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

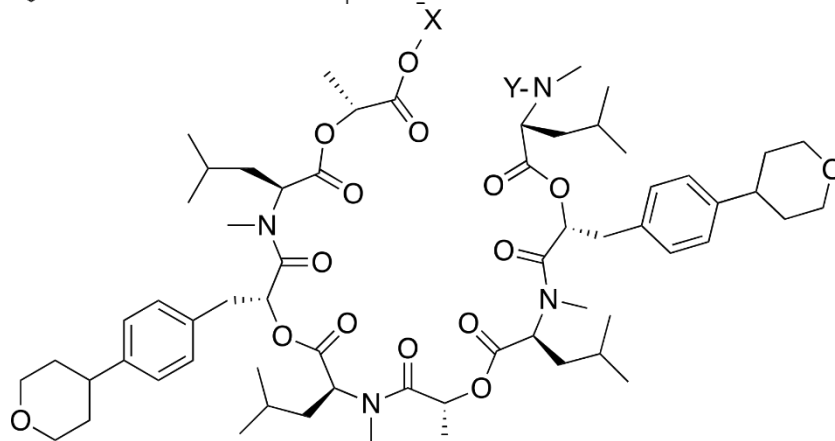
Junio 26, 2023



(II-



(II-5a)



(II-5b)

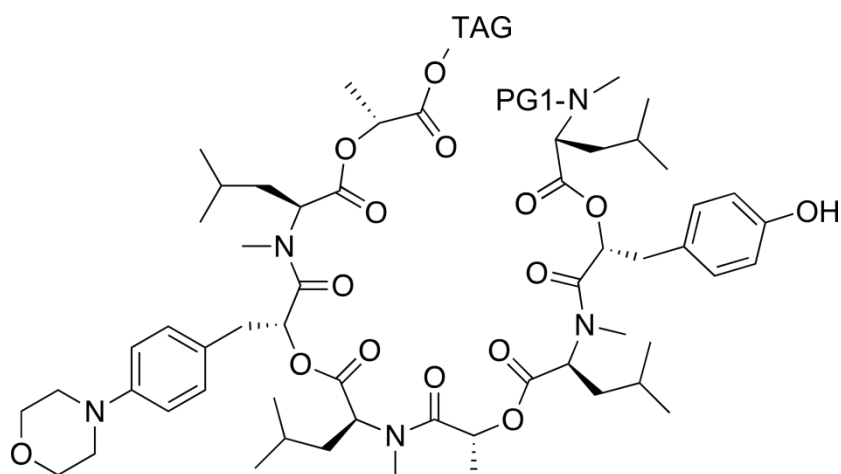
Junio 26, 2023

(II-6)

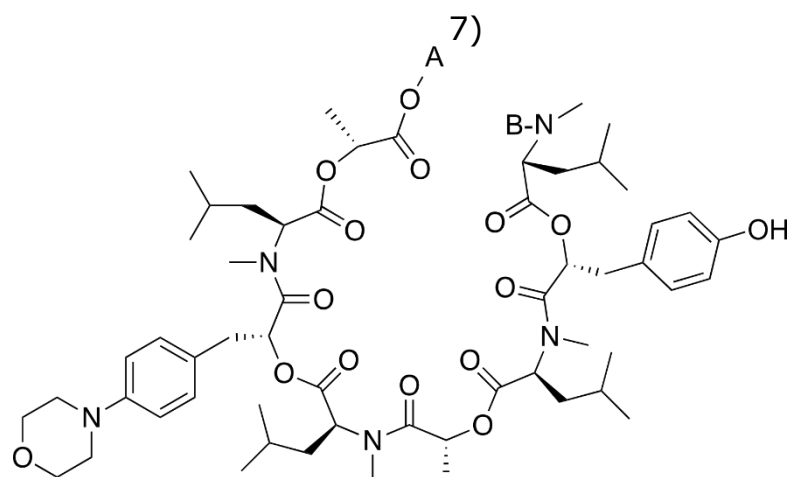
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

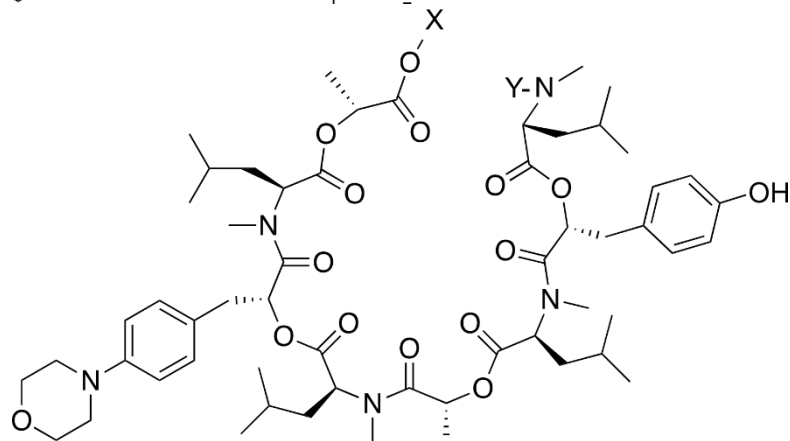
Junio 26, 2023



(II-

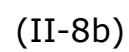
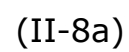
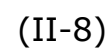


(II-7a)



(II-7b)

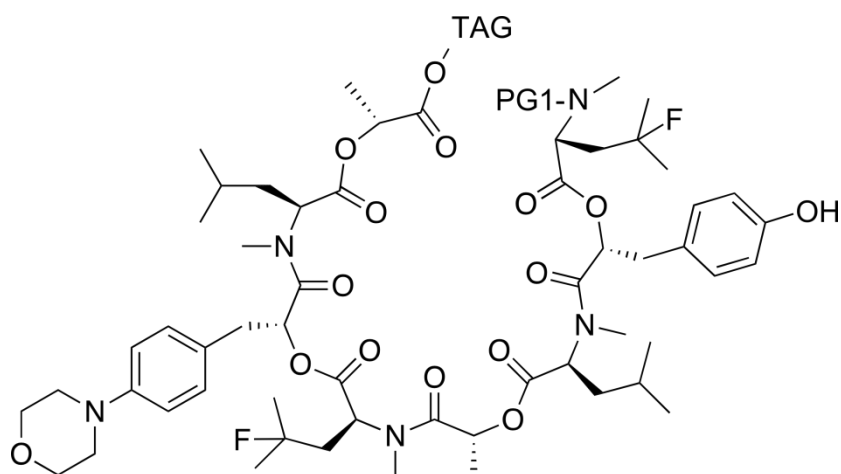
Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067
Junio 26, 2023



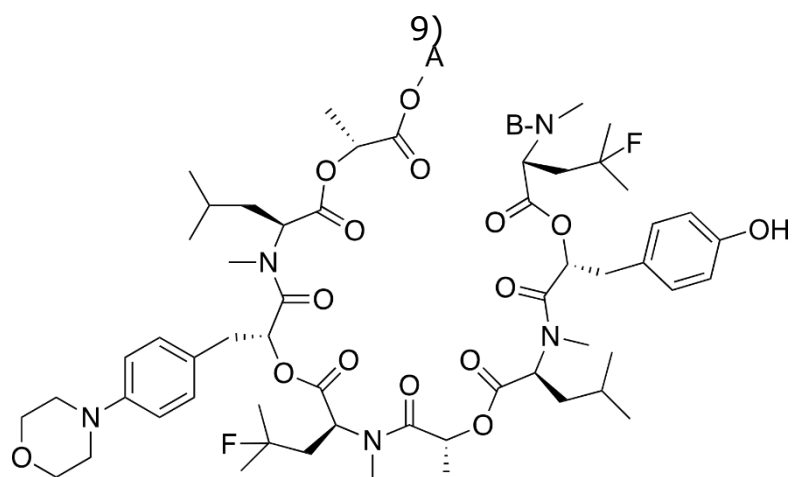
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

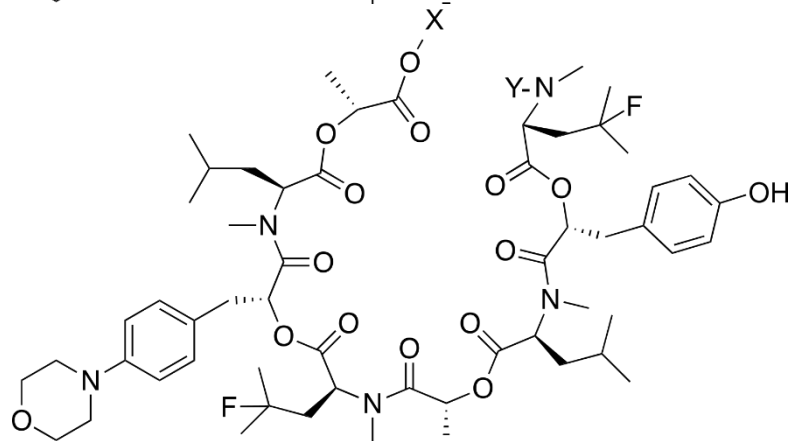
Junio 26, 2023



(II-



(II-9a)

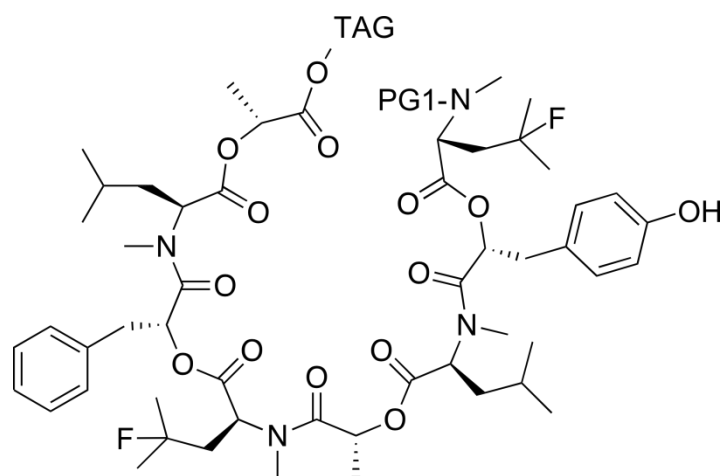


(II-9b)

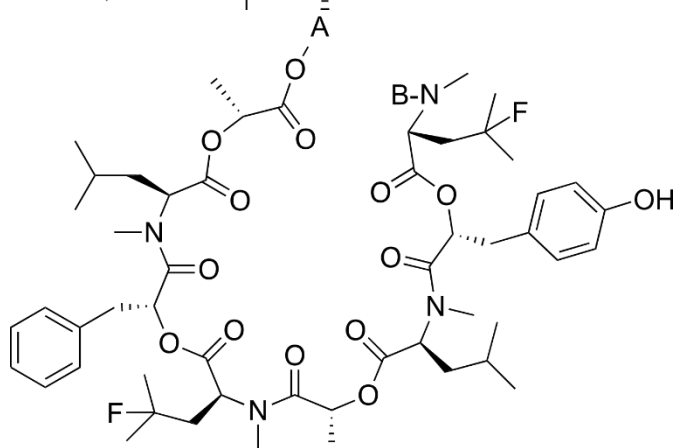
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

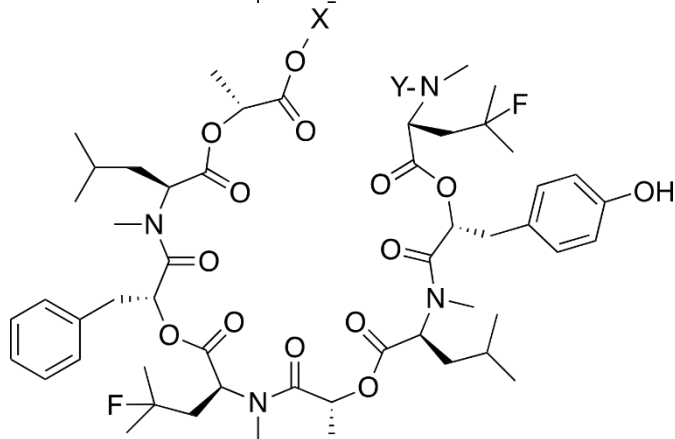
Junio 26, 2023



(II-10)



(II-10a)

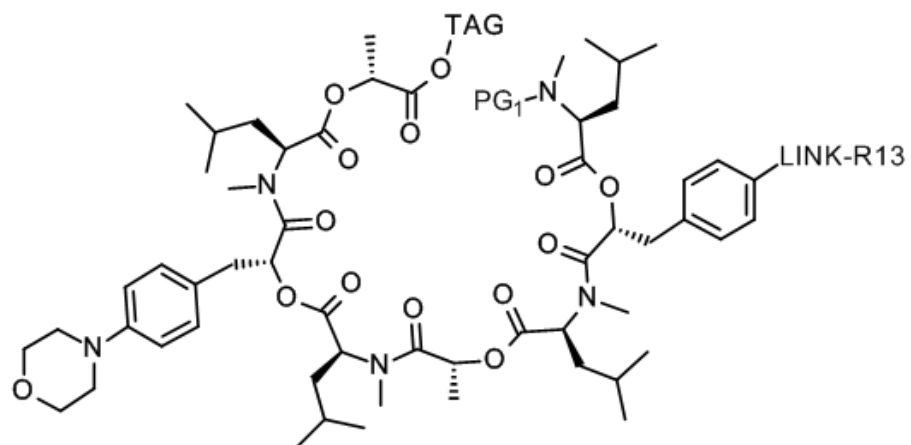


(II-10b)

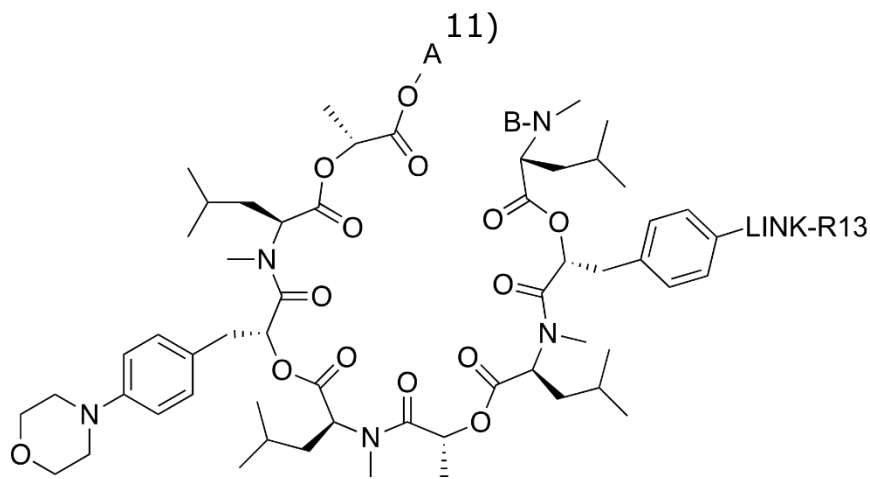
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

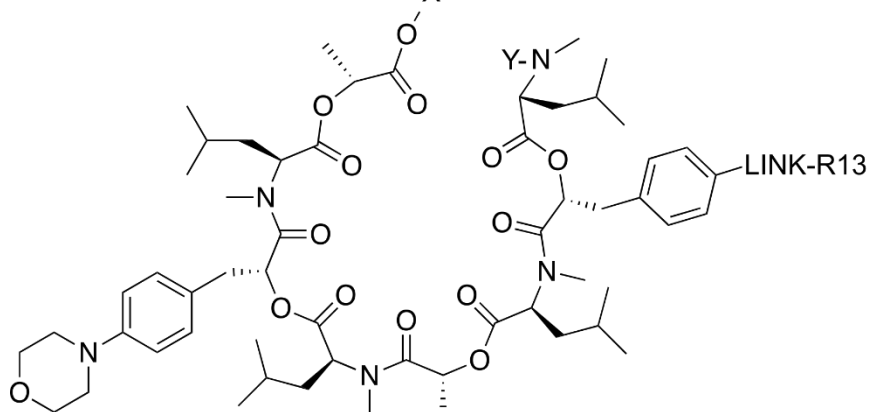
Junio 26, 2023



(II-



(II-11a)

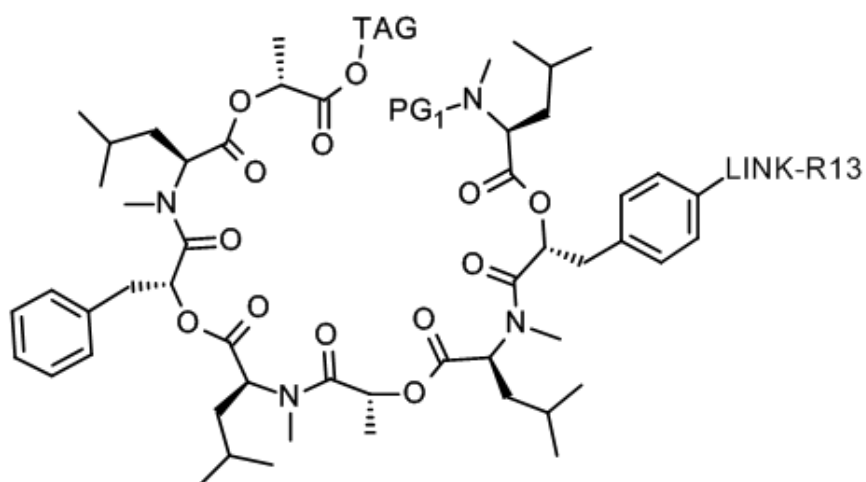


(II-11b)

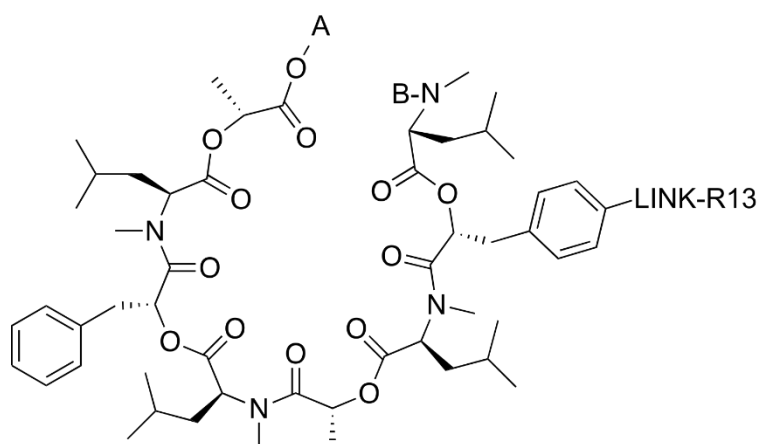
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

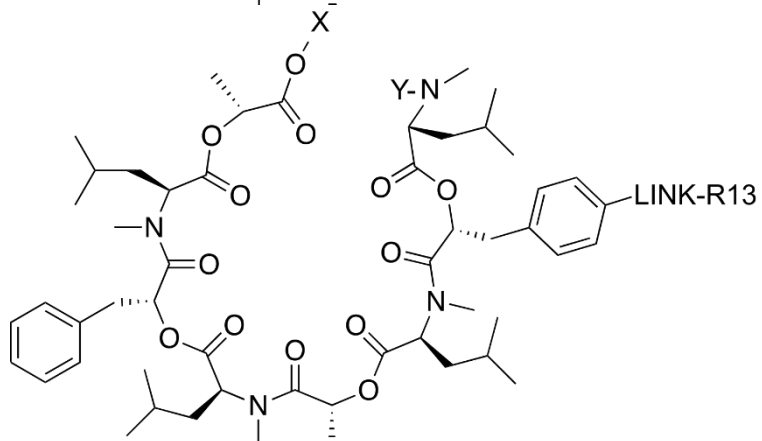
Junio 26, 2023



(II-12)



(II-12a)

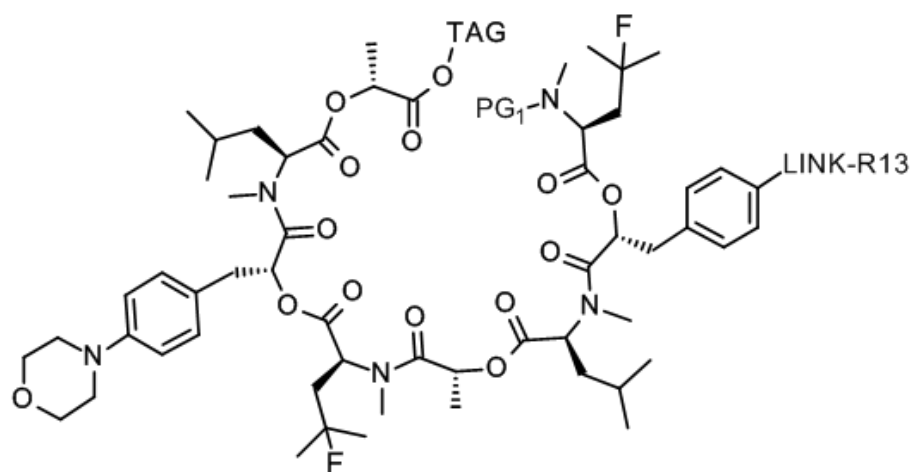


(II-12b)

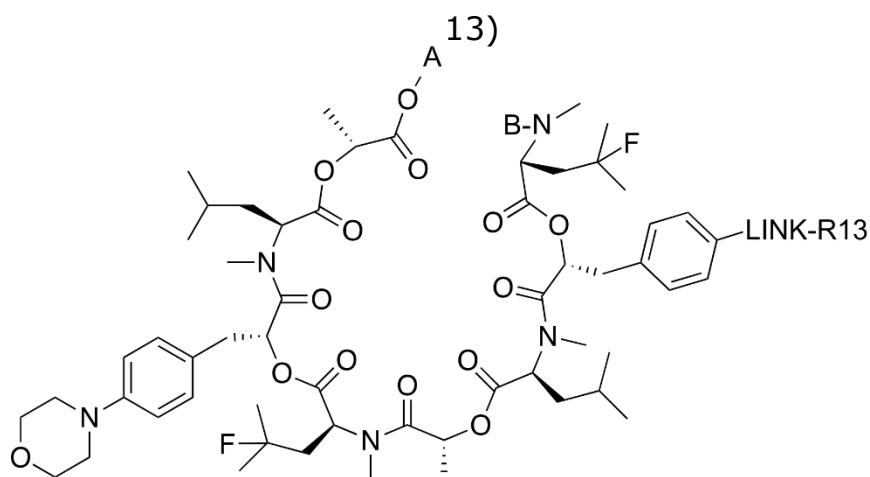
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

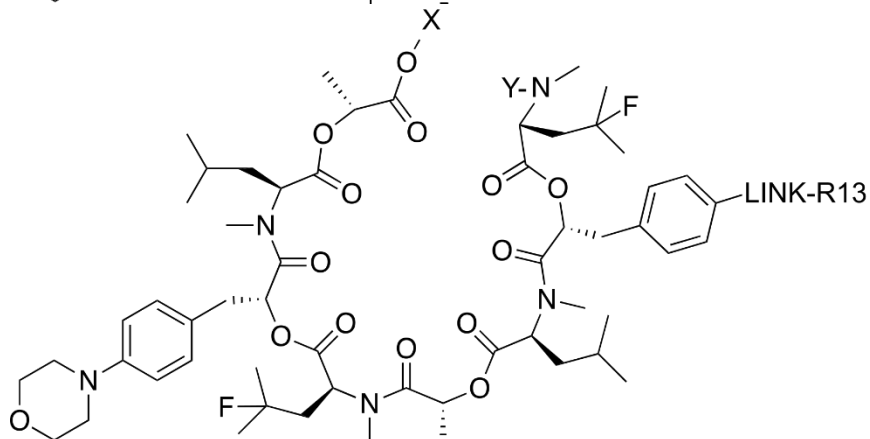
Junio 26, 2023



(II-

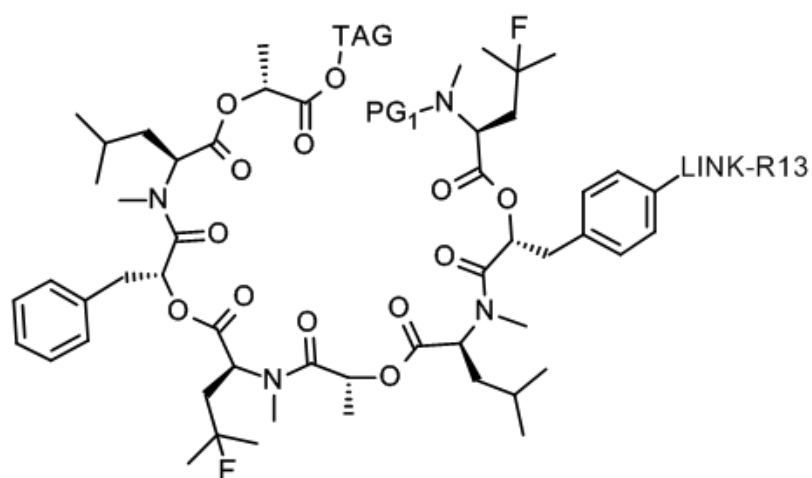


(II-13a)

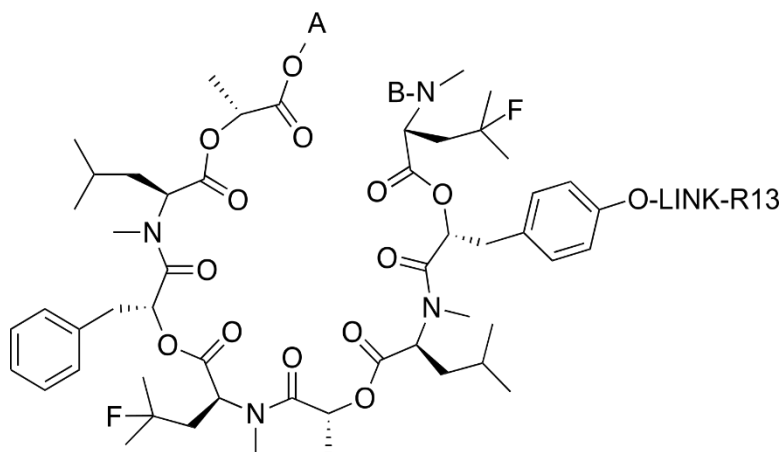


(II-13b)

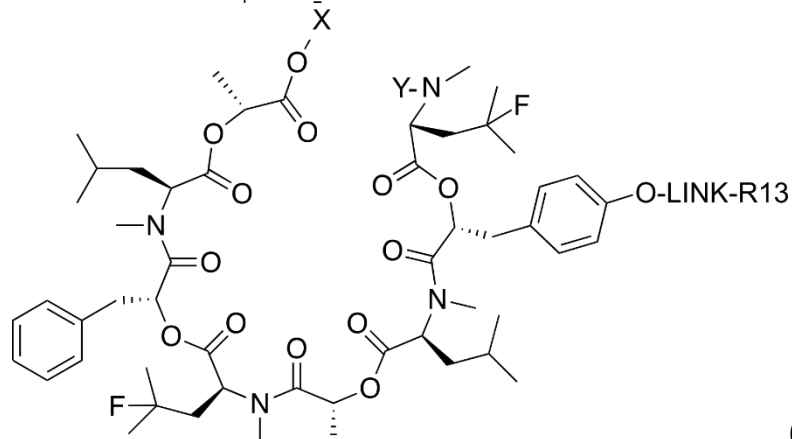
Junio 26, 2023



(II-14)



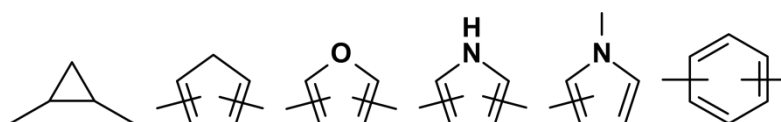
(II-14a)



(II-14b)

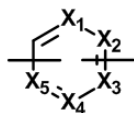
donde en las fórmulas (II-11) a (II-14) -LINK- se selecciona

5 de:

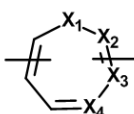




donde X1 puede ser C, N, S, O, X2 y X3 puede ser C o N;

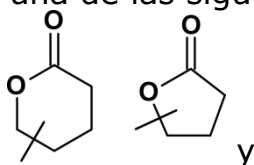


donde X1 puede ser C, N, S, O, X2, X3 y X4 puede ser C o N;



donde X1, X2, X3 y X4 pueden ser C o N;

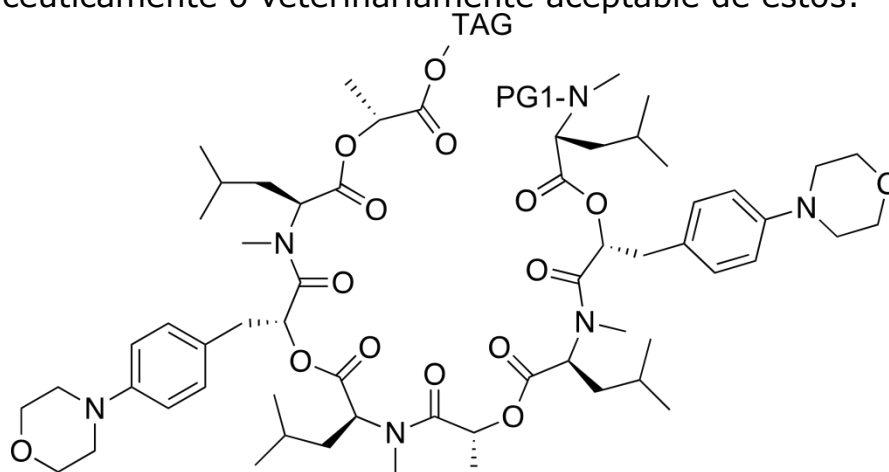
5 donde R13 se selecciona de SO₂NH(CH₃), SO₂NH₂, OC(O)CH₃, CF₃ o una de las siguientes estructuras de lactona:



Donde A es un grupo protector de ácido carboxílico y B es un grupo protector amino

10

25.- Un depsipéptido cíclico o lineal que se selecciona de una de las fórmulas generales (II-1) a (II-14b) o (I-1) a (I-9) o una sal farmacéuticamente o veterinariamente aceptable de estos:



(II-

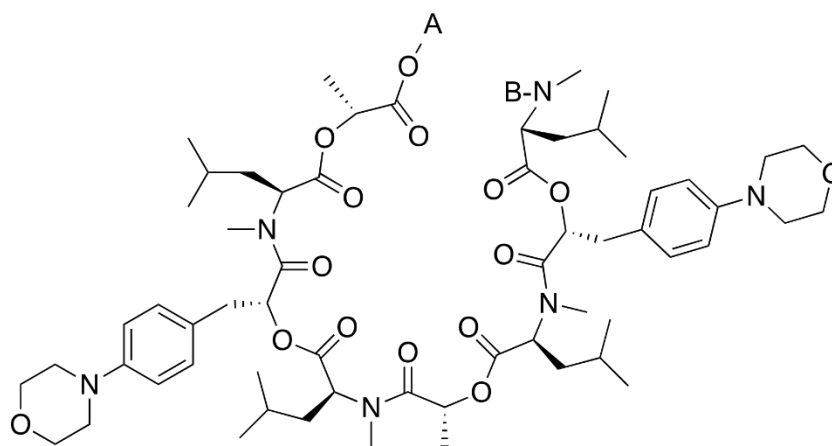
15

1)

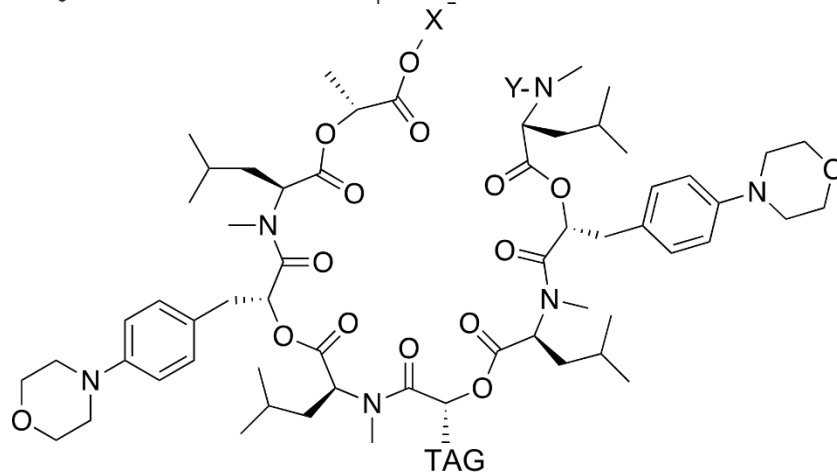
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

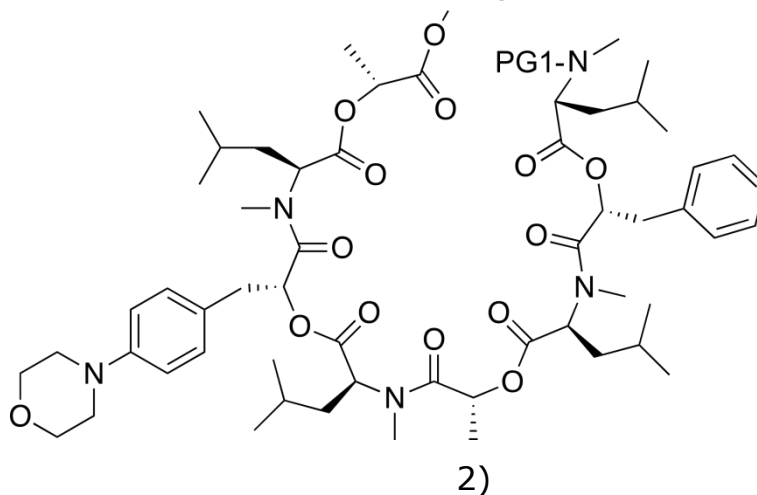
Junio 26, 2023



(II- 1a)



(II- 1b)



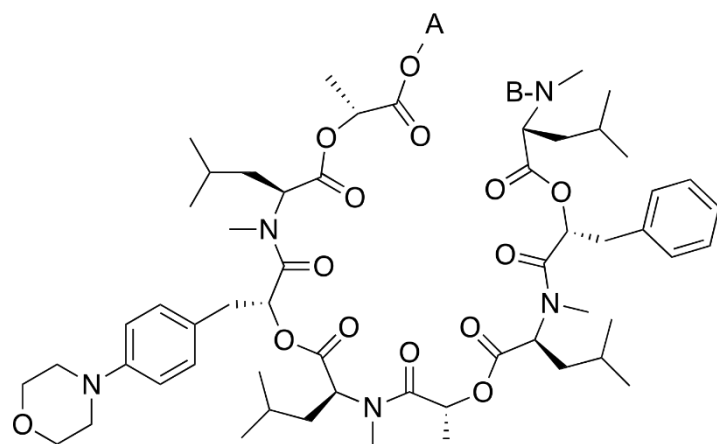
(II-

2)

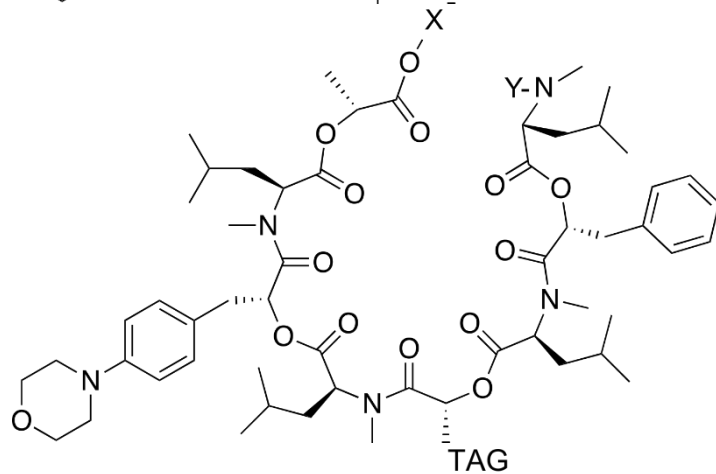
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

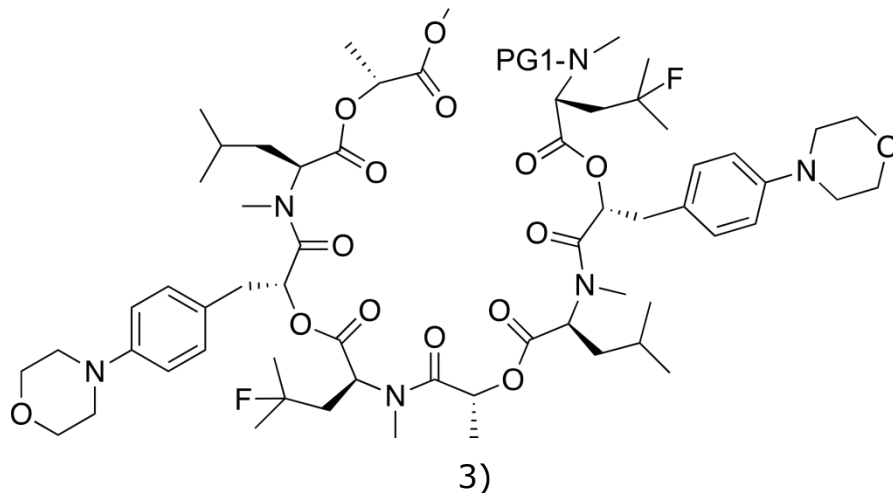
Junio 26, 2023



(II-2a)



(II- 2b)



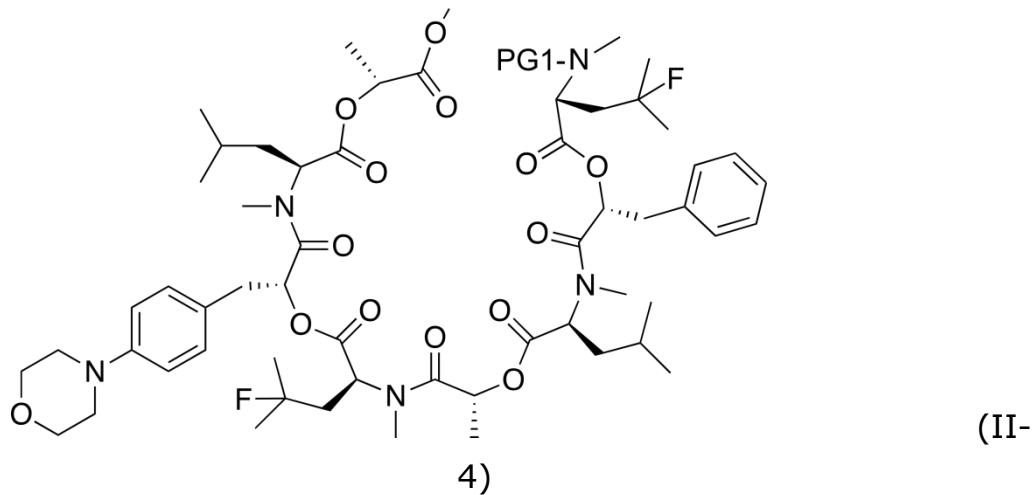
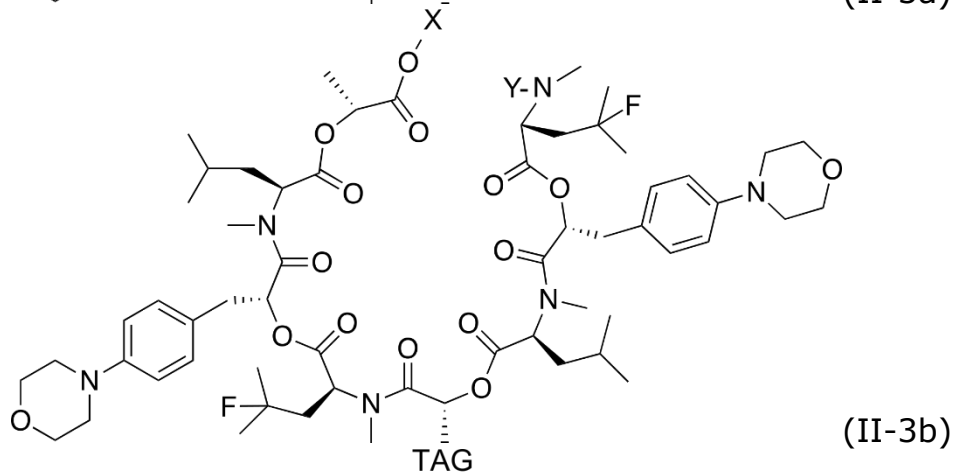
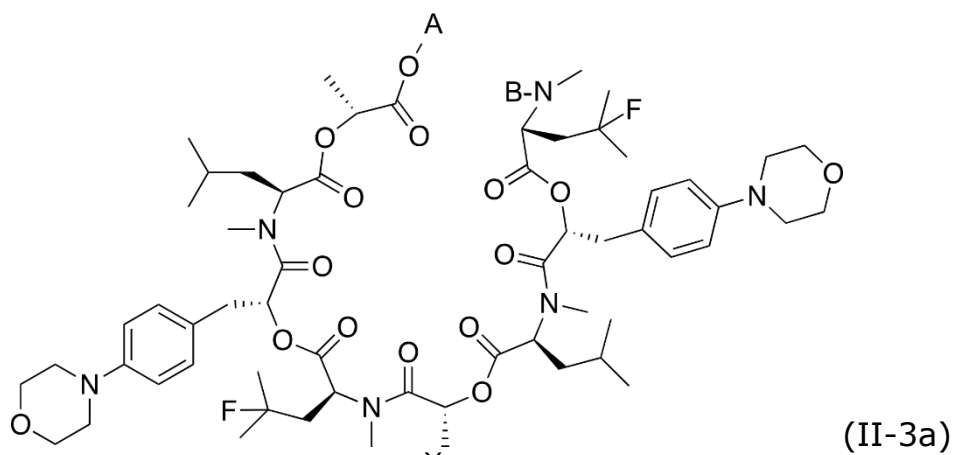
(II-

3)

P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

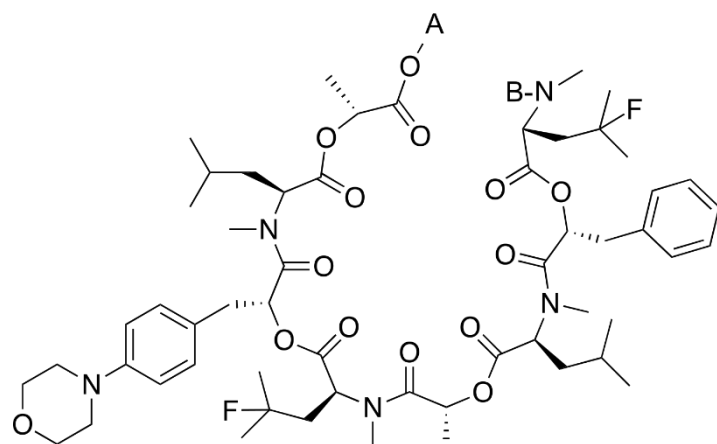
Junio 26, 2023



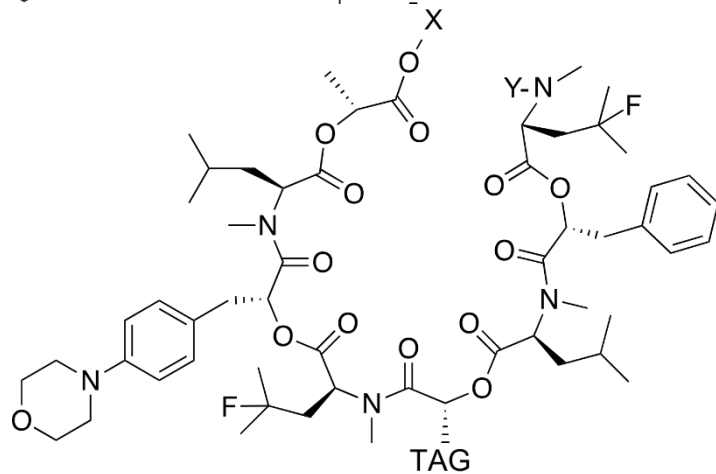
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

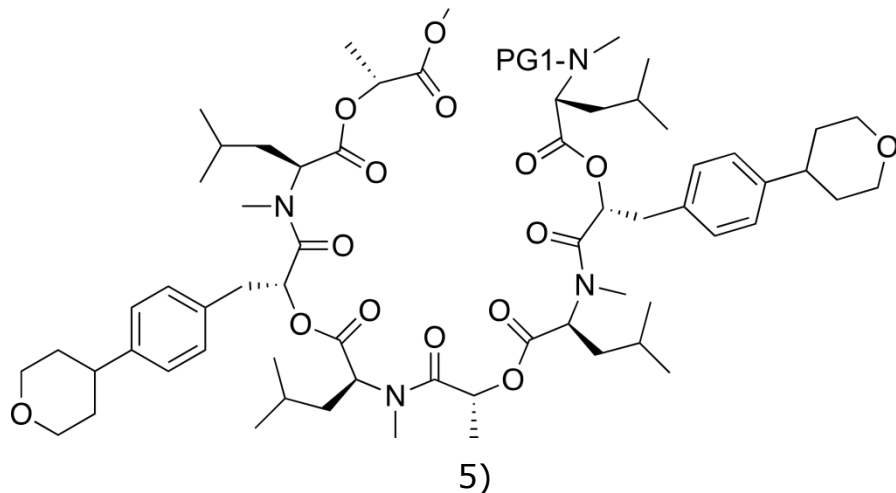
Junio 26, 2023



(II-4a)



(II- 4b)



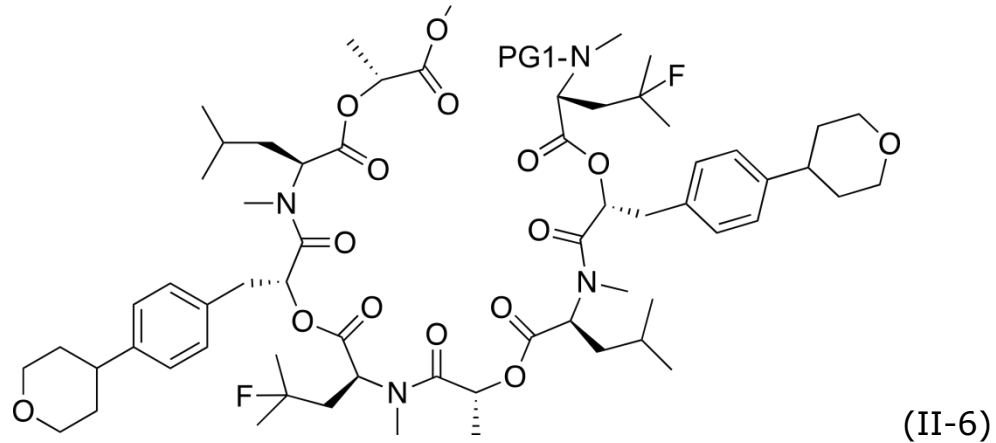
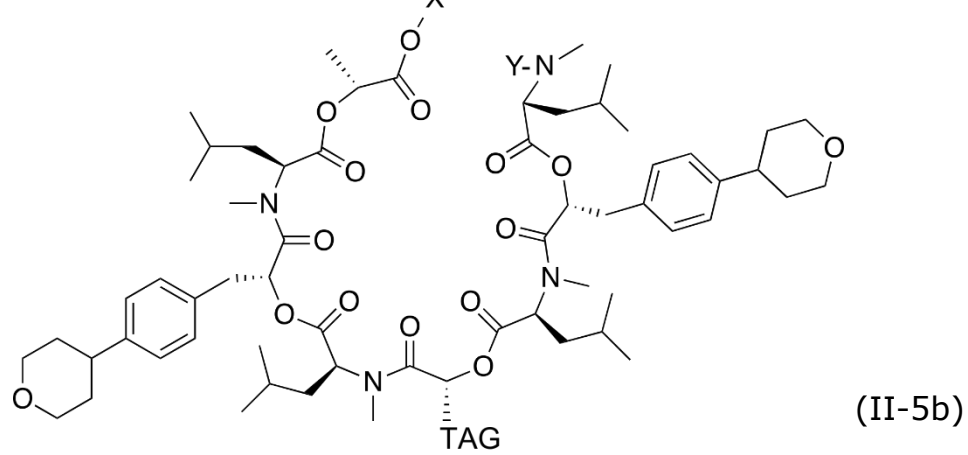
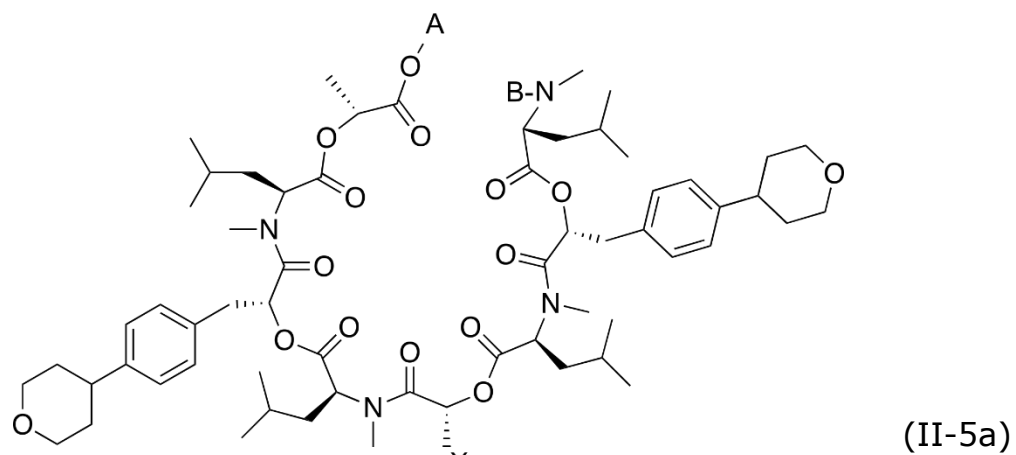
(II-

5)

P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

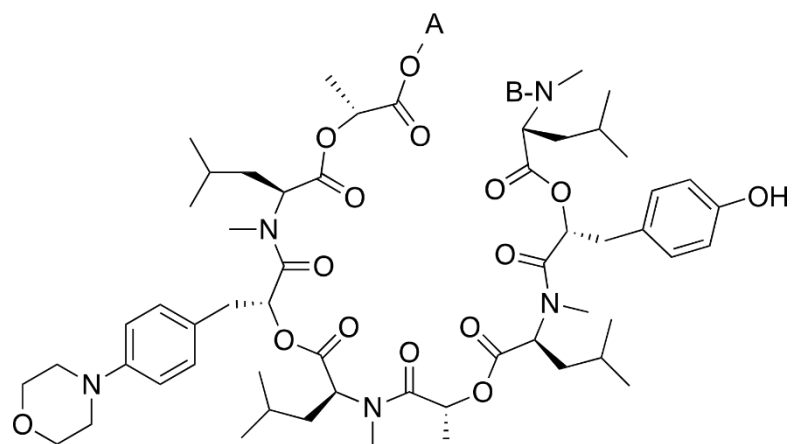
Junio 26, 2023



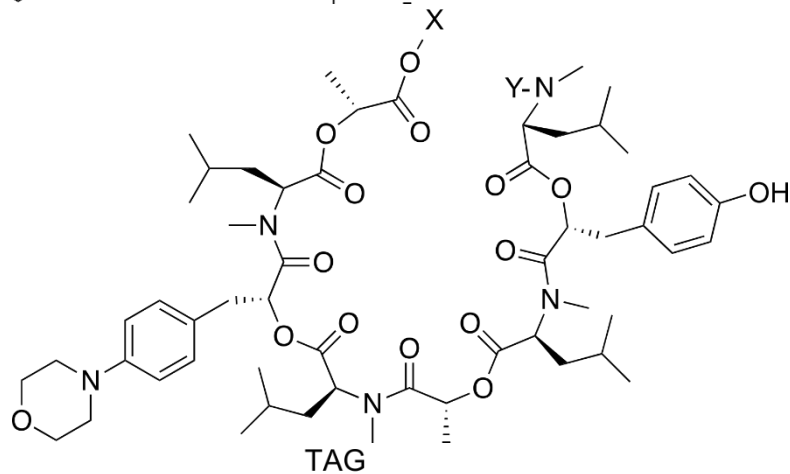
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

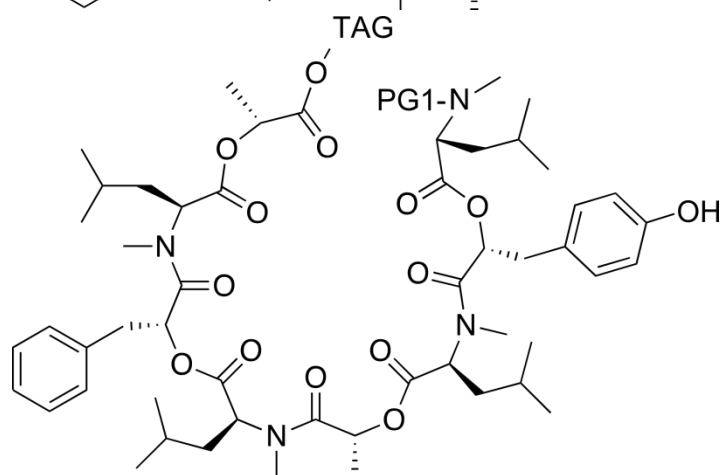
Junio 26, 2023



(II-7a)



(II-7b)

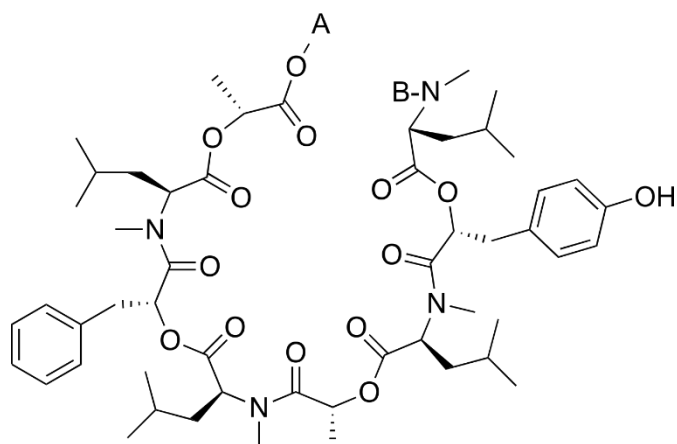


(II-8)

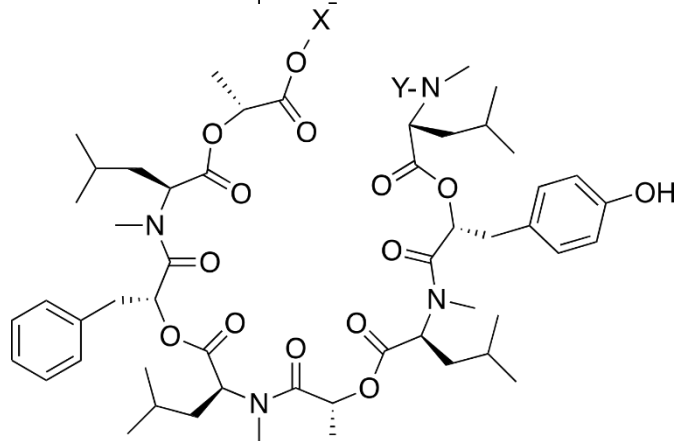
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

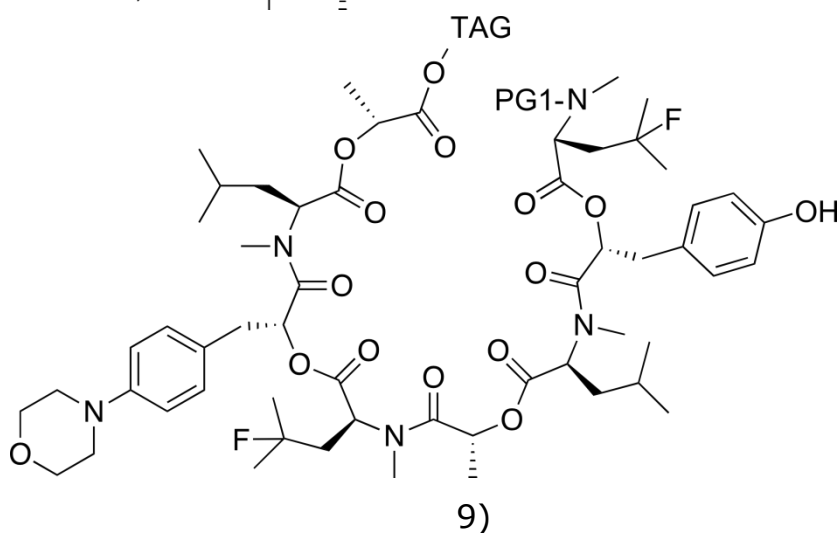
Junio 26, 2023



(II-8a)



(II-8b)

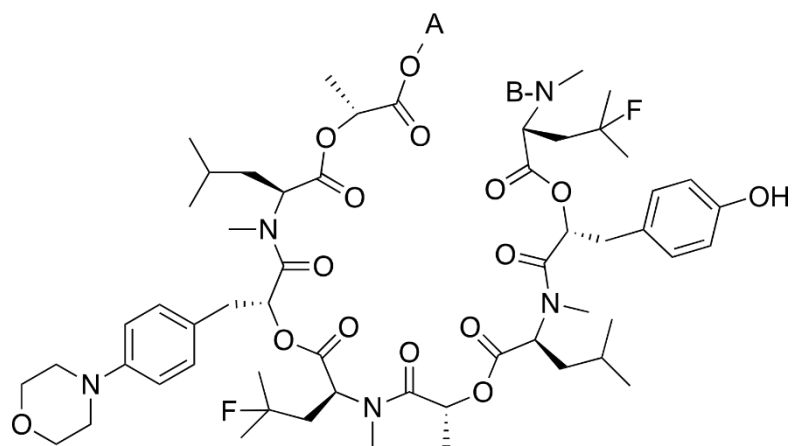


(II-9)

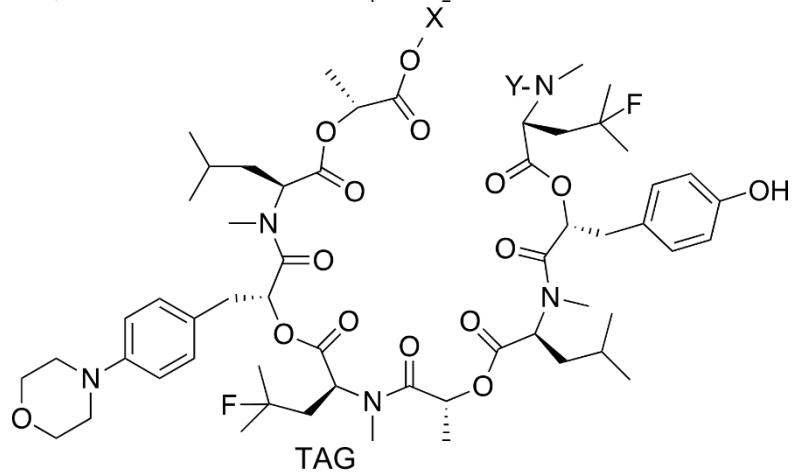
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

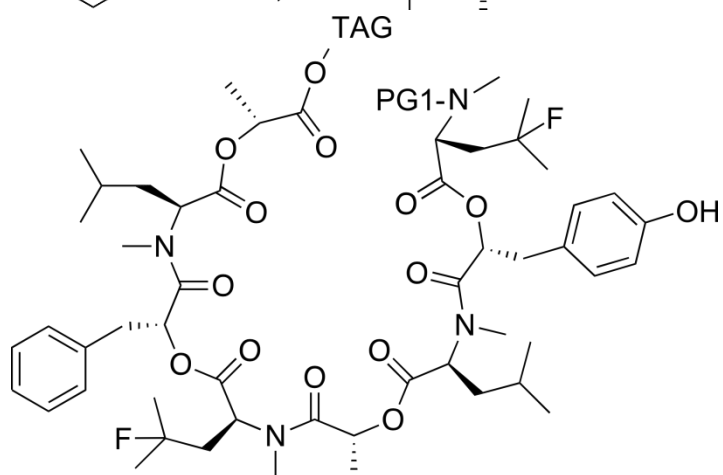
Junio 26, 2023



(II-9a)



(II-9b)

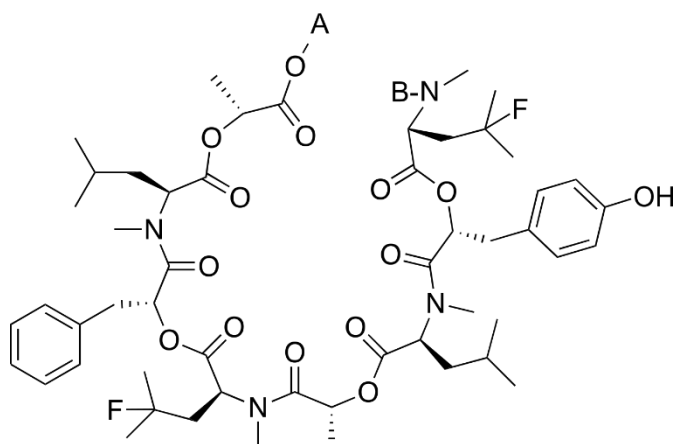


(II-10)

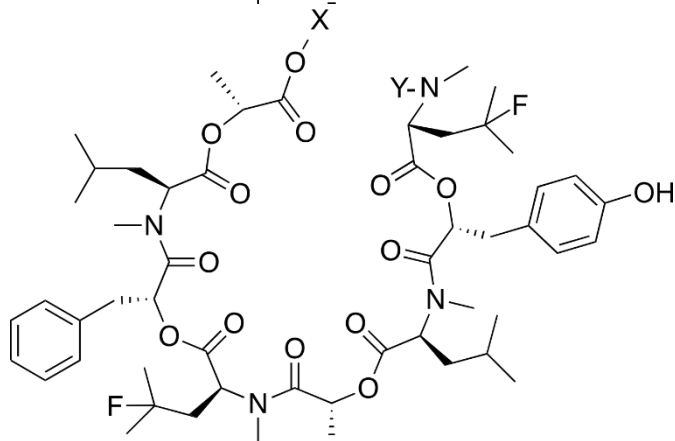
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

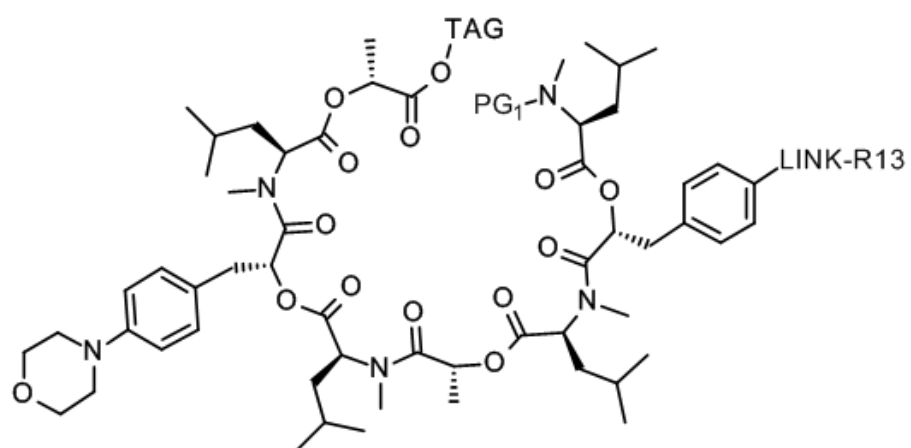
Junio 26, 2023



(II-10a)



(II-10b)



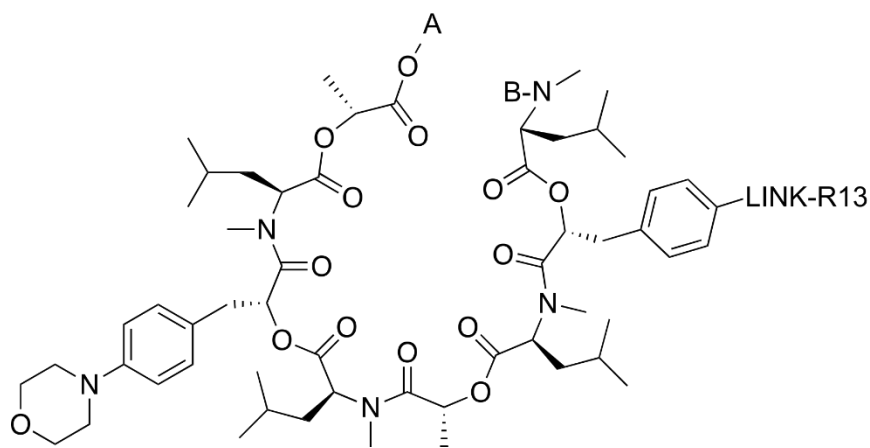
(II-

11)

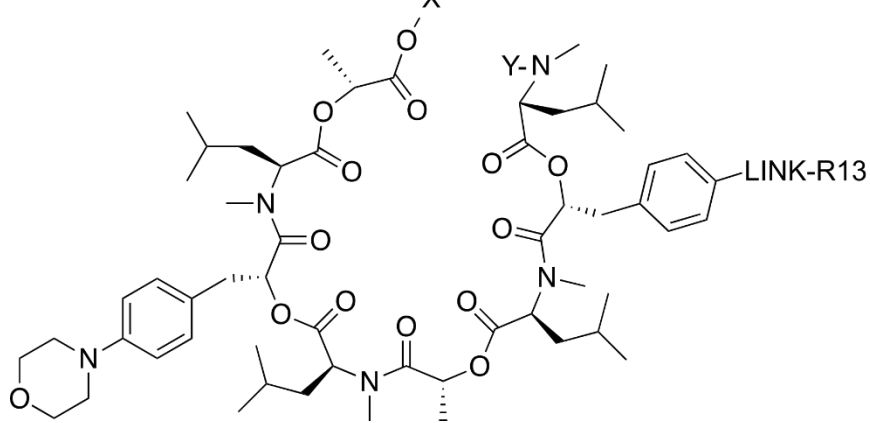
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

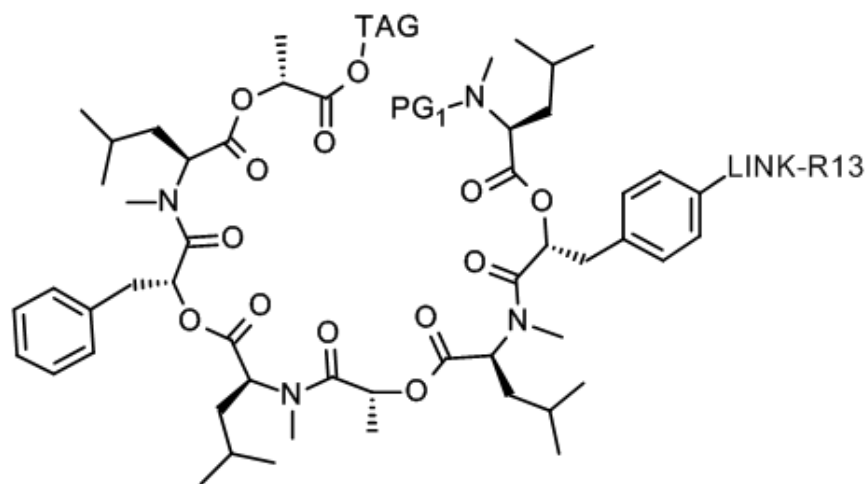
Junio 26, 2023



(II-11a)



(II-11b)

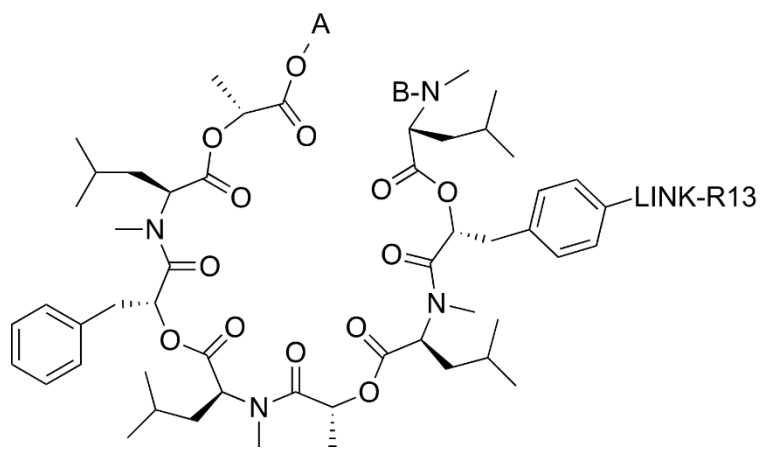


(II-12)

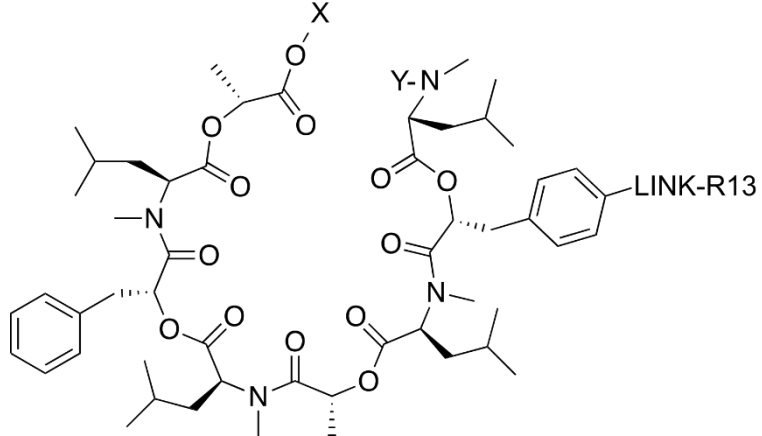
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

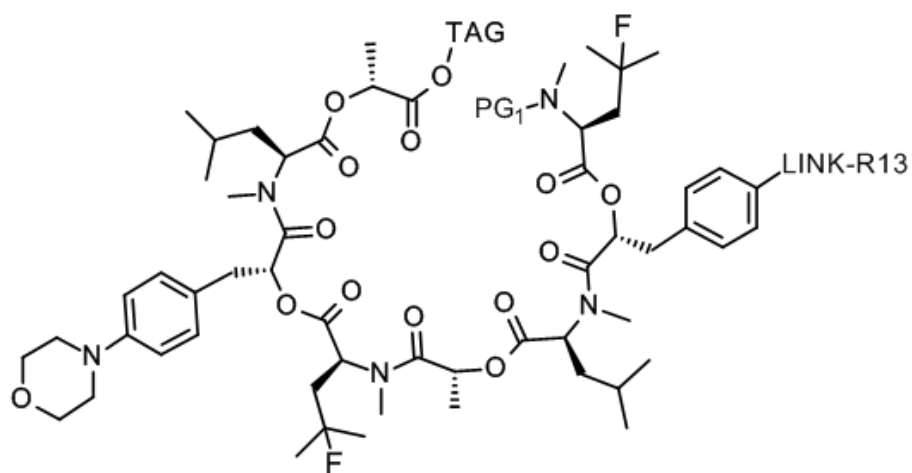
Junio 26, 2023



(II-12a)



(II-12b)



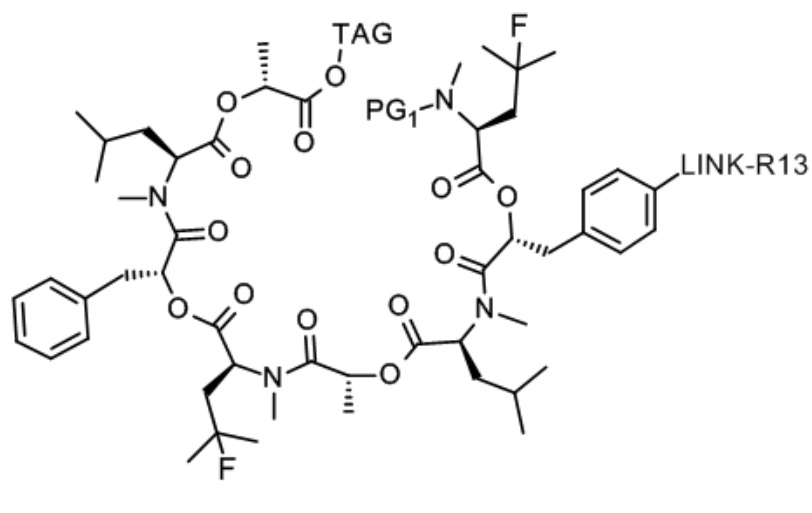
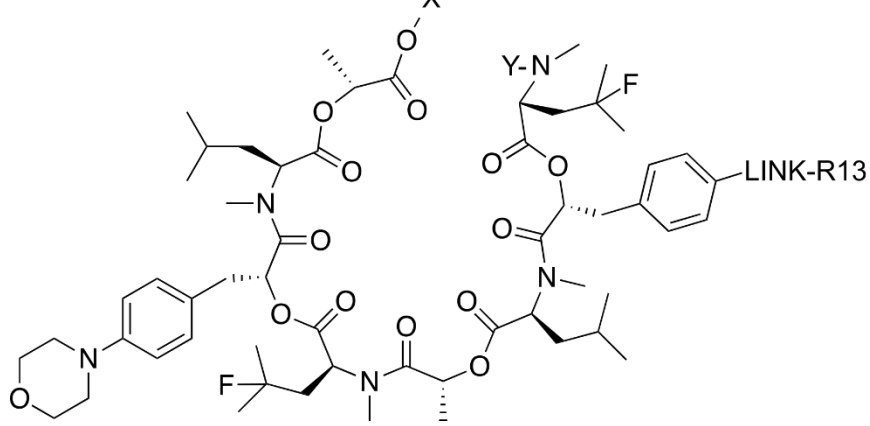
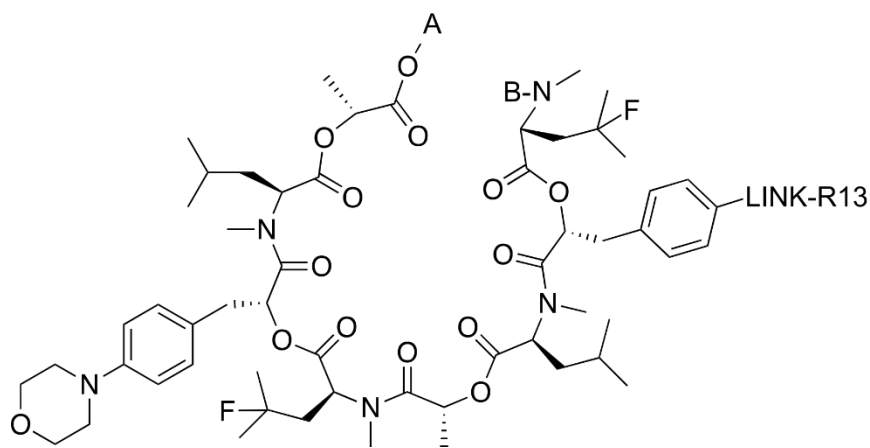
(II-

13)

P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

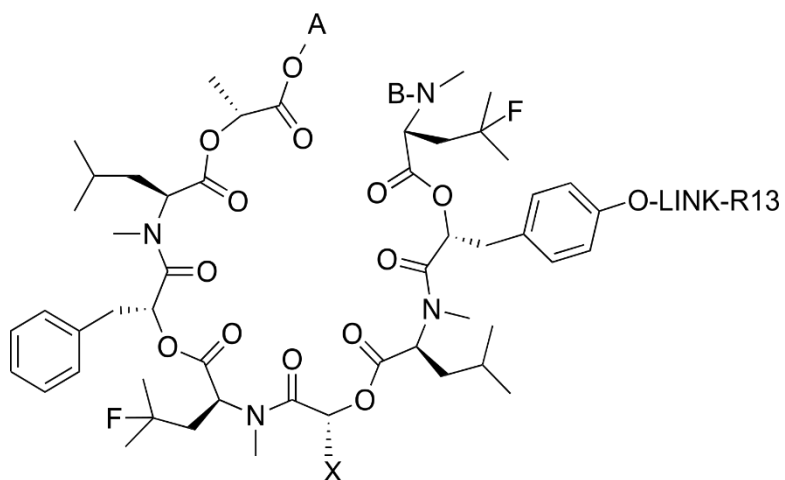
Junio 26, 2023



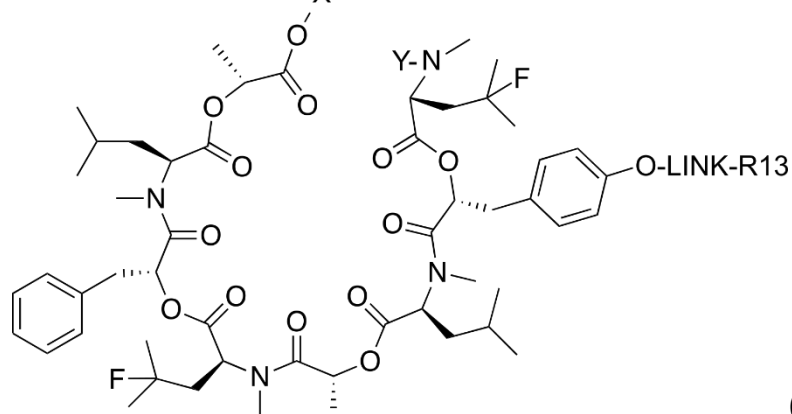
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

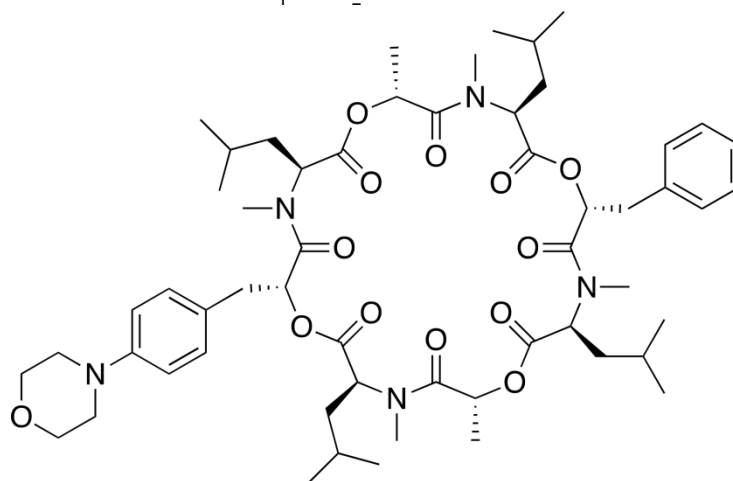
Junio 26, 2023



(II-14a)



(II- 14b)

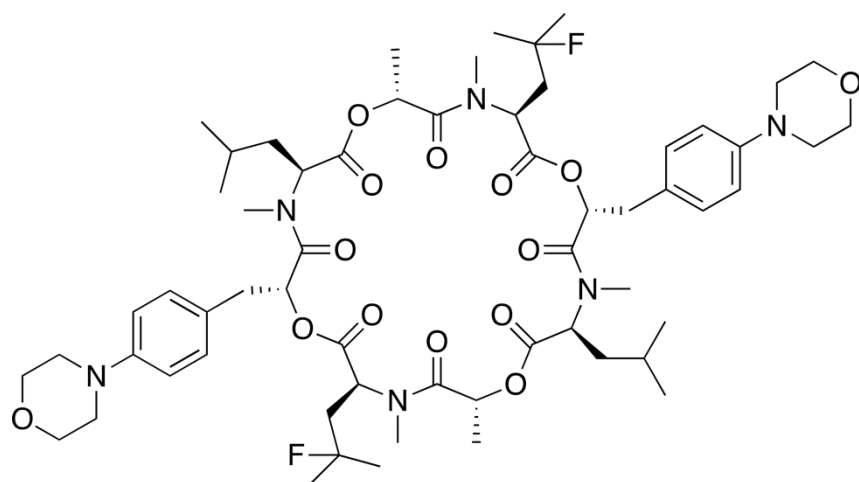


(I-1)

P-2020/16692 - NC2020/0005611

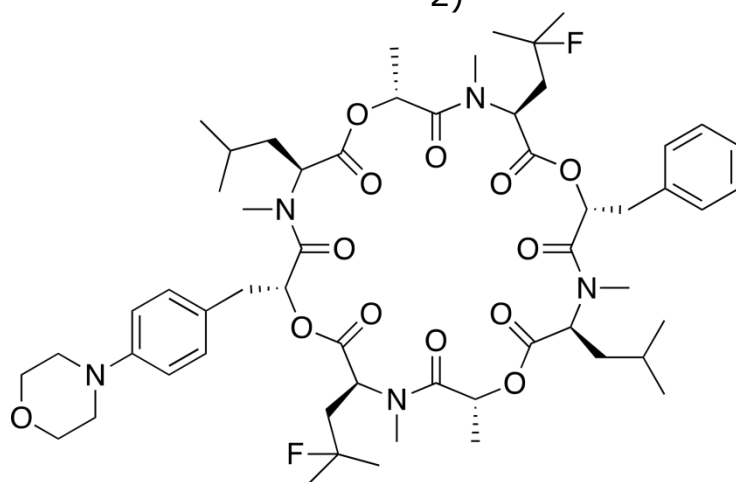
Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

Junio 26, 2023

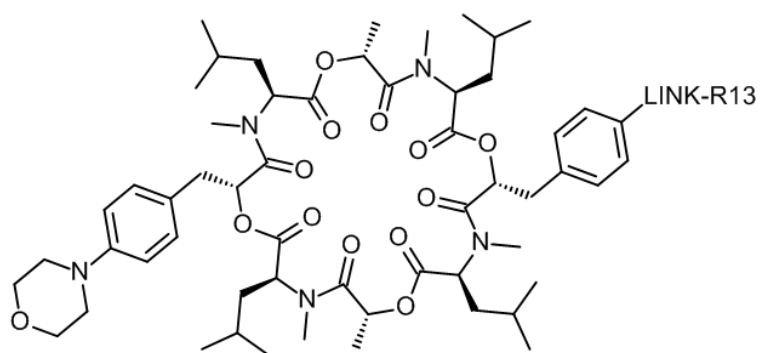


(I-

2)



(I-3)

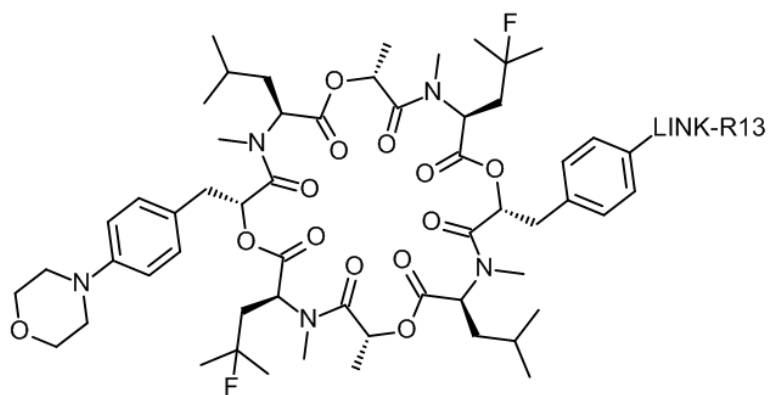


(I-4)

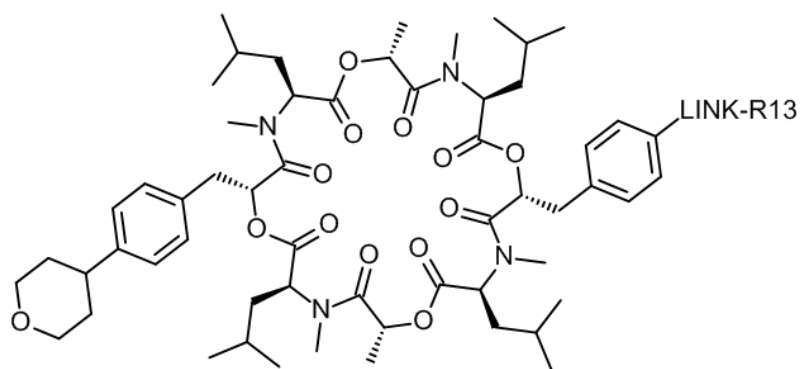
P-2020/16692 - NC2020/0005611

Reivindicaciones presentadas en respuesta a 1ra AO 5067

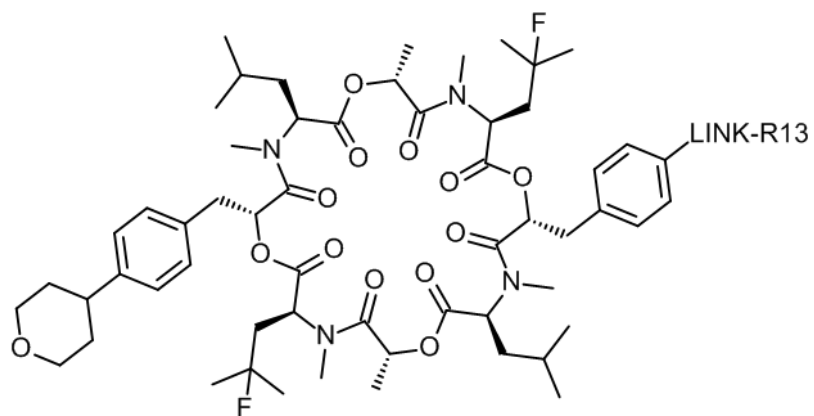
Junio 26, 2023



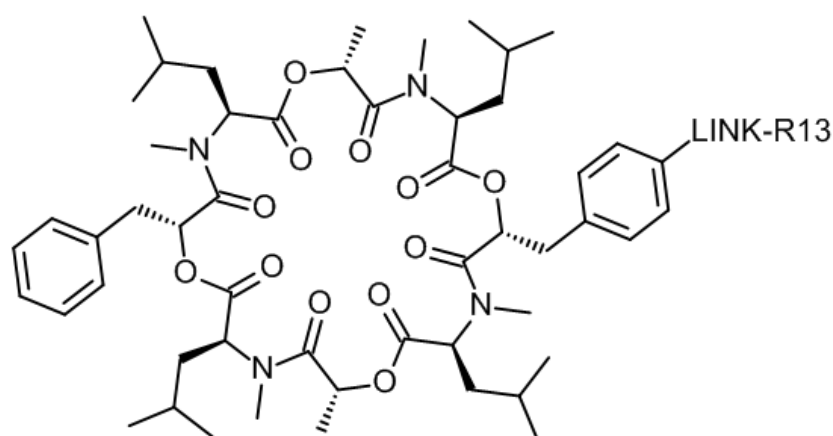
(I-5)



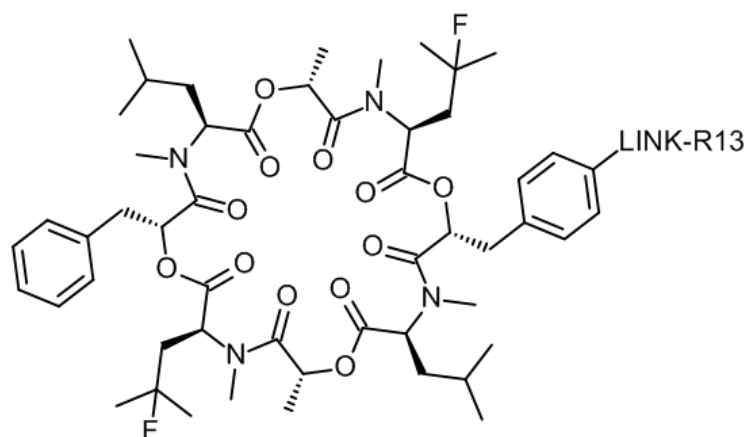
(I-6)



(I-7)



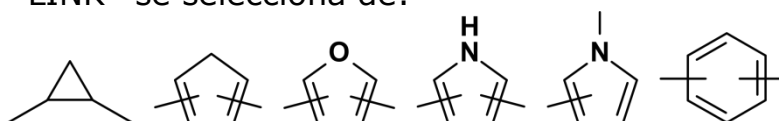
(I-8)



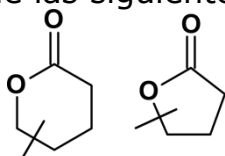
(I-9)

donde en las fórmulas (II-11a) a (II-14b) y (I-1) a (I-9), respectivamente:

5 -LINK- se selecciona de:



y R13 se selecciona de $\text{SO}_2\text{NH}(\text{CH}_3)$, SO_2NH_2 , $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, CF_3 o una de las siguientes estructuras de lactona:

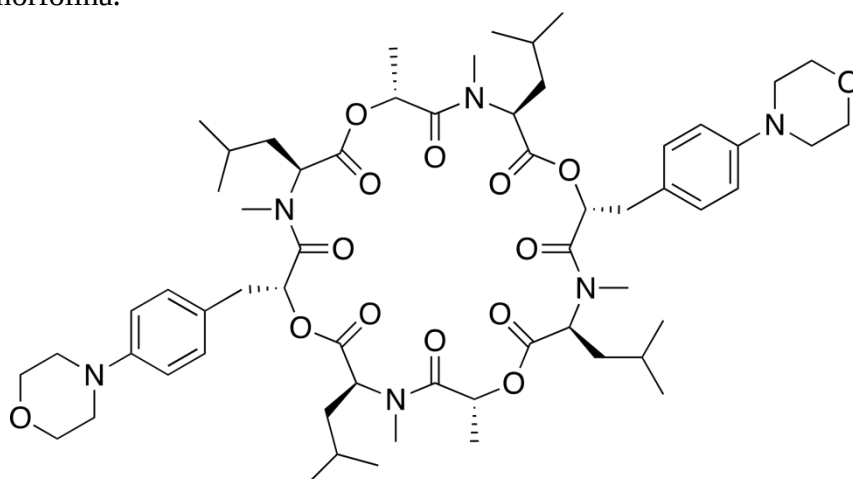


10 y en donde TAG se define como en las reivindicaciones 14 o 15, PG1 se define como en la reivindicación 8, X e Y se definen como en la reivindicación 1, B es un grupo protector amino y A es un grupo protector ácido carboxílico.

MÉTODO PARA LA SÍNTESIS DE DEPSIPÉPTIDOS CÍCLICOS

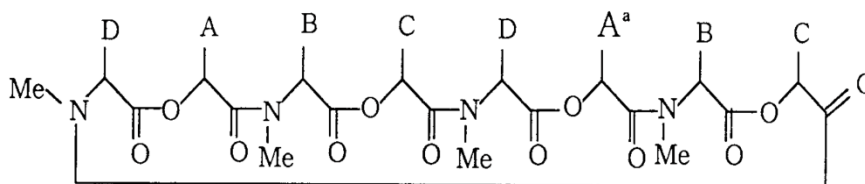
La presente invención se refiere a un método para la síntesis de depsipéptidos cíclicos, en particular, emodepsida, que implica etiquetas protectoras de grupos de ácido carboxílico específicas.

Emodepsida (ciclo[(*R*)-lactoil-*N*-metil-L-leucil-(*R*)-3-(*p*-morfolinofenil)lactoil-*N*-metil-L-leucil-(*R*)-lactoil-*N*-metil-L-leucil-(*R*)-3-(*p*-morfolinofenil)lactoil-*N*-metil-L-leucil) es un fármaco antelmíntico que es eficaz contra una cantidad de nematodos gastrointestinales. Su estructura molecular que se describe más adelante puede describirse como octadepsipéptidos cíclicos, donde un depsipéptido es un péptido donde uno o más de sus grupos amida se remplazan por los correspondientes grupos éster. En una escala técnica emodepsida puede obtenerse por derivación de la sustancia de origen natural PF1022A donde dos átomos de hidrógeno se intercambian por anillos de morfolina.



(Emodepsida)

WO 93/19053 A1 (EP 0 634 408 A1) divulga un compuesto de la fórmula general:



donde A es grupo bencilo que tiene sustituyentes adecuados o grupo fenilo que puede tener sustituyentes adecuados, A^a es grupo bencilo que puede tener sustituyentes adecuados o grupo fenilo que puede tener sustituyentes adecuados, B y D son cada uno alquilo inferior, C es hidrógeno o alquilo inferior, y una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

WO 2005/055973 A2 divulga agentes transdérmicamente aplicables que

contienen depsipéptidos cíclicos y/o praziquantel, además de la producción de estos y al uso de estos para combatir endoparásitos. Combinaciones de emodepsida y praziquantel o epsiprantel y también 1,2-isopropilidenglicol como endoparasitcidas se divulgan en WO 2006/094664 A1.

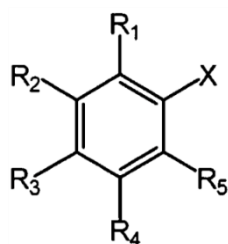
5 WO 2006/053641 A1 se refiere al uso de depsipéptidos endoparasitcidas para producir farmacéuticos para prevenir la infección vertical con endoparásitos.

La síntesis total de, entre otros, PF1022A y su derivación se describen en el artículo de revisión "Cyclodepsipeptides: A Rich Source of Biologically Active Compounds for Drug Research" por Sivatharushan Sivanathan y Jürgen Scherckenbeck,
10 *Molecules* **2014**, 19, 12368-12420; doi:10.3390/molecules190812368. Se han establecido varias síntesis totales de ciclodepsipéptidos tanto en solución como en fase sólida, permitiendo la producción de librerías combinatorias. Además, la biosíntesis de ciclodepsipéptidos específicos se aclaró y usó para la preparación quimioenzimática de análogos no naturales. El artículo de revisión también resume la literatura reciente
15 acerca de tetra a decadepsipéptidos cíclicos, compuestos exclusivamente de α -amino- y α -hidroxi ácidos.

En la síntesis de polipéptidos una estrategia de fase sólida tiene la ventaja de la fácil separación de los productos de reacción, mientras que una estrategia de fase líquida tiene la ventaja de condiciones de reacción homogéneas. Un enfoque híbrido es
20 una estrategia asistida por etiquetas donde los compuestos que tienen un grupo de etiqueta se separan fácilmente de las moléculas no etiquetadas.

Con respecto a esto, JP 2000/044493 A1 divulga un grupo protector para sintetizar una librería de compuestos que consiste en compuestos capaces de enlazarse con un compuesto a proteger en una relación 1:1, que tiene una sola estructura
25 molecular y también tiene ≥ 500 peso molecular, y consiste en 3,4,5-tris-(n-octadeciloxi)bencil alcohol, 3,4,5-tris-(n-octadeciloxi)bencil cloruro o metil 3,4,5-tris-(n-octadeciloxi)benzoato.

EP 2 003 104 A2 se refiere a un reactivo para la síntesis orgánica con la que una reacción química puede realizarse en una fase líquida y compuestos innecesarios pueden
30 separarse fácilmente a bajo costo de la fase líquida luego de completarse la reacción. Se reporta que el reactivo para la síntesis orgánica que se describe más adelante cambia reversiblemente de un estado de fase líquida a un estado de fase sólida con cambios en la composición de la solución y/o temperatura de la solución, y es para uso en reacciones de síntesis orgánica.



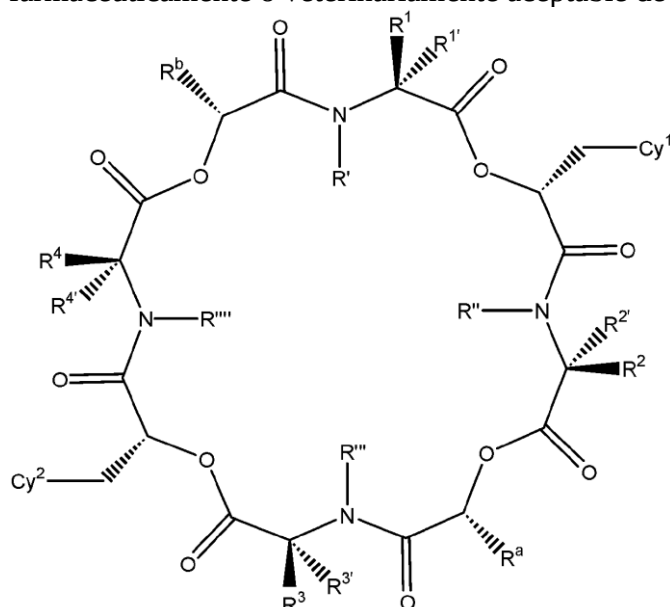
R₁ a R₅ pueden ser iguales o diferentes, y representan hidrógeno, halógeno, grupo alquilo con un número de carbono de 1 a 30 que puede tener un grupo sustituyente, grupo alcoxilo con un número de carbono de 1 a 30 que puede tener un grupo sustituyente, grupo arilo con un número de carbono de 1 a 30 que puede tener un grupo sustituyente, grupo acilo con un número de carbono de 1 a 30 que puede tener un grupo sustituyente, grupo tioalquilo con un número de carbono de 1 a 30 que puede tener un grupo sustituyente, grupo dialquilamino con un número de carbono de 1 a 30 que puede tener un grupo sustituyente, grupo nitro, o grupo amino; y al menos dos de R₁ a R₅ son grupos con un número de carbono de 18 a 30, y X representa un sitio activo al reactivo que tiene uno o más átomos que se seleccionan del grupo que consiste en un átomo de carbono, átomo de oxígeno, átomos de azufre y átomo de nitrógeno.

La publicación "Tag-Assisted Liquid-Phase Peptide Synthesis Using Hydrophobic Benzyl Alcohols as Supports" por Yohei Okada, Hideaki Suzuki, Takashi Nakae, Shuji Fujita, Hitoshi Abe, Kazuo Nagano, Toshihide Yamada, Nobuyoshi Ebata, Shokaku Kim, y Kazuhiro Chiba, *The Journal of Organic Chemistry* **2013**, 78, 320-327; doi: 10.1021/jo302127d; reporta que una síntesis de péptidos de fase líquida asistida por etiquetas se estableció satisfactoriamente en función de bencil alcoholes hidrofóbicos simples, que pueden prepararse fácilmente a partir de materiales naturalmente abundantes. Se reporta que se obtienen excelentes resultados de precipitación en cada paso, combinando las mejores propiedades de las técnicas de fase sólida y fase líquida. Se reporta que este enfoque puede aplicarse eficientemente a acoplamientos de fragmentos, permitiendo la síntesis química de varios péptidos bioactivos.

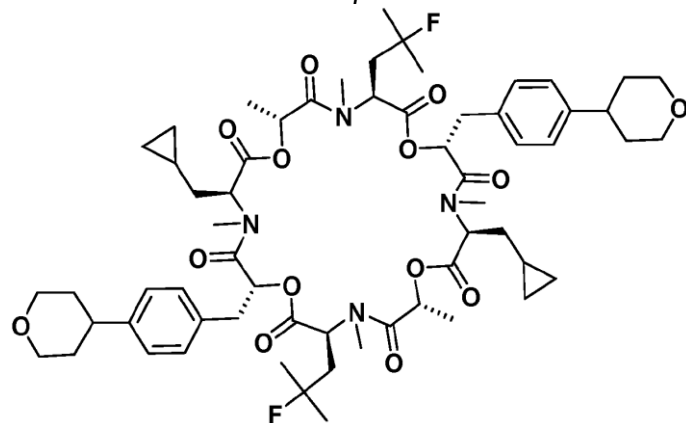
La publicación "A Novel Protecting Group for Constructing Combinatorial Peptide Libraries" por Hitoshi Tamiaki, Tomoyuki Obata, Yasuo Azefu y Kazunori Toma, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **2001**, 74, 733-738; doi <http://dx.doi.org/10.1246/bcsj.74.733>; divulga 3,4,5-tris(octadeciloxi)bencil alcohol, HO-Bzl(OC₁₈)₃ que se preparó a partir de ácido gálico y estearil bromuro. Usando elongación convencional en pasos, se sintetizaron péptidos N,C-protectados, Fmoc-AA_n-...-AA₁-OBzl(OC₁₈)₃. Los bencil ésteres sustituidos se escindieron selectivamente por un tratamiento con 4 M cloruro de hidrógeno en acetato de etilo para proporcionar Fmoc-AA_n-...-AA₁-OH y HO-Bzl(OC₁₈)₃. Por ende, se reporta que el grupo bencilo

sustituido es eficaz para la protección de grupos carboxilo de extremo C en síntesis de péptidos de fase líquida. Debido a que el grupo bencilo sustituido tiene un peso molecular moderadamente alto, se reporta que Fmoc-AA_n...-AA₁-OBzl(OC₁₈)₃ es fácilmente purificado por cromatografía por exclusión de tamaño; se reportó que todos los péptidos protegidos se eluyeron en la fracción vacía de una columna de filtración en gel Sephadex LH-20. Se reporta que la combinación del grupo protector carboxilo Bzl(OC₁₈)₃ con purificación simple por filtración en gel simple brinda una ruta novedosa para construir librerías de péptidos combinatorias en la fase de solución.

WO 2017/116702 A1 se refiere a un compuesto depsipéptido cíclico o una sal farmacéuticamente o veterinariamente aceptable de la siguiente fórmula:



A modo de ejemplo, un compuesto con la designación 7-34A como se describe más adelante muestra un valor de EC₅₀ entre 0,1 µM y 1,0 µM en una prueba *in vitro* contra microfilaria de *Dirofilaria immitis*:



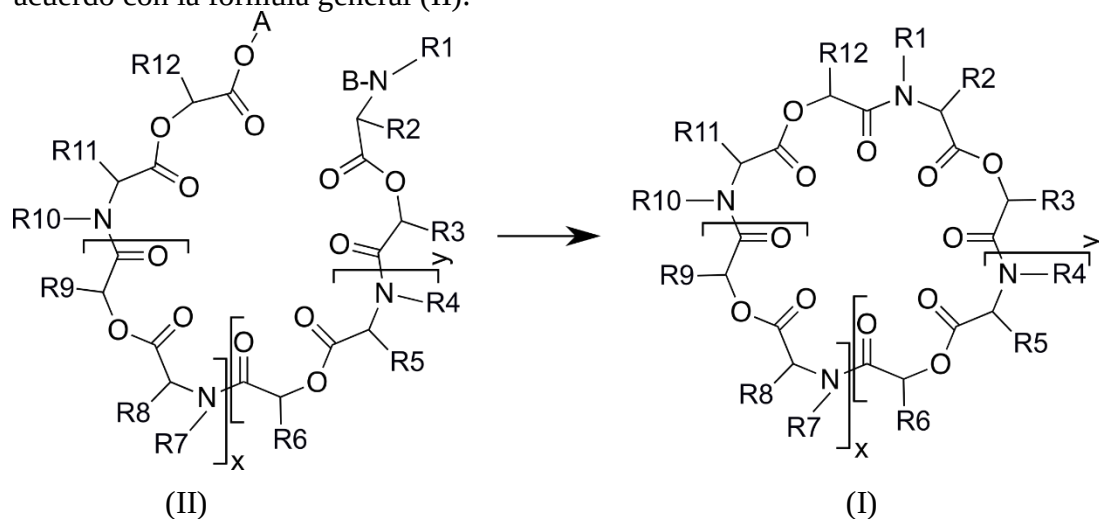
(7-34A de WO 2017/116702 A1)

La presente invención tiene el objeto de proveer una mejor ruta sintética a emodepsida y depsipéptidos cíclicos relacionados. Otro objeto de la invención es

proveer depsipéptidos novedosos que pueden sintetizarse usando esta ruta.

Este objeto se logra por un método de acuerdo con la reivindicación 1 y depsipéptidos de acuerdo con la reivindicación 22. Modalidades ventajosas de la invención son la materia de las reivindicaciones dependientes. Pueden combinarse libremente salvo que el contexto diga lo contrario.

Por ende, la presente invención provee un método para la síntesis de depsipéptidos cíclicos de acuerdo con la fórmula general (I) a partir de depsipéptidos de acuerdo con la fórmula general (II):



donde B es un grupo protector amino y A es un grupo protector ácido carboxílico,

el método comprende los pasos de:

- desproteger el grupo amino que se protege por el grupo B, obteniendo así un grupo amino desprotegido;
- desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo A, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;
- condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido cíclico (I)

por lo que x e y son, independientemente uno del otro, 0, 1 o 2 con la condición de que $x+y \geq 1$ (preferentemente, x e y son 1) y R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11 y R12 cada uno, independientemente uno del otro, representan hidrógeno, alquilo-C1-C8 de cadena recta o ramificada, en particular, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, sec-pentilo, hexilo, isohexilo, sec-hexilo, heptilo, isoheptilo, sec-heptilo, terc-heptilo, octilo, isooctilo, sec-octilo, alquilo C1-C8 halogenado de cadena recta o ramificada, en particular, sec-butilo fluorinado, hidroxialquilo-C1-C6, en particular, hidroximetilo, 1-

hidroxietilo, alcanoiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, acetoximetilo, 1-acetoxietilo, alcoxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metoximetilo, 1-metoxietilo, aril-alquiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, benciloximetilo, 1-benciloxietilo, mercapto-alquilo-C1-C6, en particular, mercaptometilo, alquiltio-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metiltioetilo, alquilsulfinilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilsulfiniletilo, alquilsulfonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilsulfoniletilo, carboxi-alquilo-C1-C6, en particular, carboximetilo, carboxietilo, alcoxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metoxicarbonilmetilo, etoxicarboniletilo, arilalcoxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, benciloxicarbonilmetilo, carbamoil-alquilo-C1-C6, en particular, carbamoilmetilo, carbamoiletilo, amino-alquilo-C1-C6, en particular, aminopropilo, aminobutilo, alquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilaminopropilo, metilaminobutilo, dialquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, dimetilaminopropilo, dimetilaminobutilo, guanidino-alquilo-C1-C6, en particular, guanidinopropilo, alcoxicarbonilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, terc-butoxicarbonilaminopropilo, terc-butoxicarbonilaminobutilo, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)amino-alquilo-C1-C6, en particular, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)aminopropilo, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)aminobutilo, alquenilo-C2-C8, en particular, vinilo, alilo, butenilo, cicloalquilo-C3-C7, en particular, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, cicloalquilo-C3-C7-alquilo-C1-C4, en particular, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, cicloheptilmetilo, bencilo, bencilo sustituido, fenilo, fenil-alquilo-C1-C4, en particular, fenilmetilo que puede estar opcionalmente sustituido por radicales del grupo que consiste en halógeno, en particular, flúor, cloro, bromo o yodo, hidroxilo, alcoxi-C1-C4, en particular, metoxi o etoxi, alquilo-C1-C4, en particular, metilo.

Los grupos protectores A y B pueden ser ortogonales en el sentido que cuando el grupo B está desprotegido, el grupo A está estable; sin embargo, es también una modalidad de la presente invención que A y B estén desprotegidos simultáneamente.

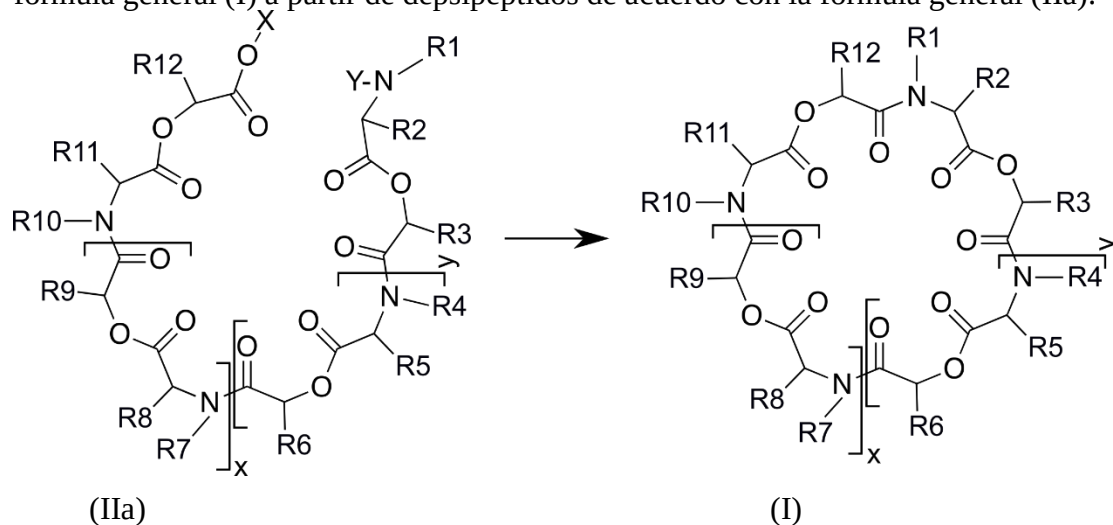
En el método de acuerdo con la invención se encontró sorprendentemente que los depsipéptidos cíclicos (I), en particular, emodepsida y estructuras estrechamente relacionadas, pueden sintetizarse en grandes rendimientos totales.

Luego de la desprotección los grupos amino y ácido carboxílico se hacen reaccionar para formar un enlace peptídico. Agentes de acoplamiento adecuados junto con una base como N,N-Diisopropiletilamina incluyen PyBOP (benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino fosfonio hexafluorofosfato), BOP ((Benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio hexafluorofosfato), BOP-Cl (Cloruro Bis(2-oxo-3-

oxazolidinil)fosfínico), EDCI (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida), DEPBT (3-(dietoxifosforiloxi)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona), HATU (1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido hexafluorofosfato), HBTU (2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato) y, más preferido, T3P® (anhídrido propilfosfónico, 2,4,6-Tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrilfosforinano-2,4,6-trióxido, PPACA).

En una modalidad del método de acuerdo con la invención x es 1, y es 1, R1, R4, R7 y R10 son metilo, R6 y R12 son metilo, R5 y R11 son, independientemente uno del otro, alquilo-C1-C4 de cadena recta o ramificada o alquilo-C1-C4 halogenado de cadena recta o ramificada y R3 y R9 son, independientemente uno del otro, bencilo o bencilo sustituido. De acuerdo con una modalidad de la invención preferida, R3 y/o R9 son bencilo sustituido con p-morfolino.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, A es lábil al ácido mientras que B es lábil a la hidrogenólisis. Por ende, es una modalidad de la presente invención proveer un método para la síntesis de depsipéptidos cíclicos de acuerdo con la fórmula general (I) a partir de depsipéptidos de acuerdo con la fórmula general (IIa):



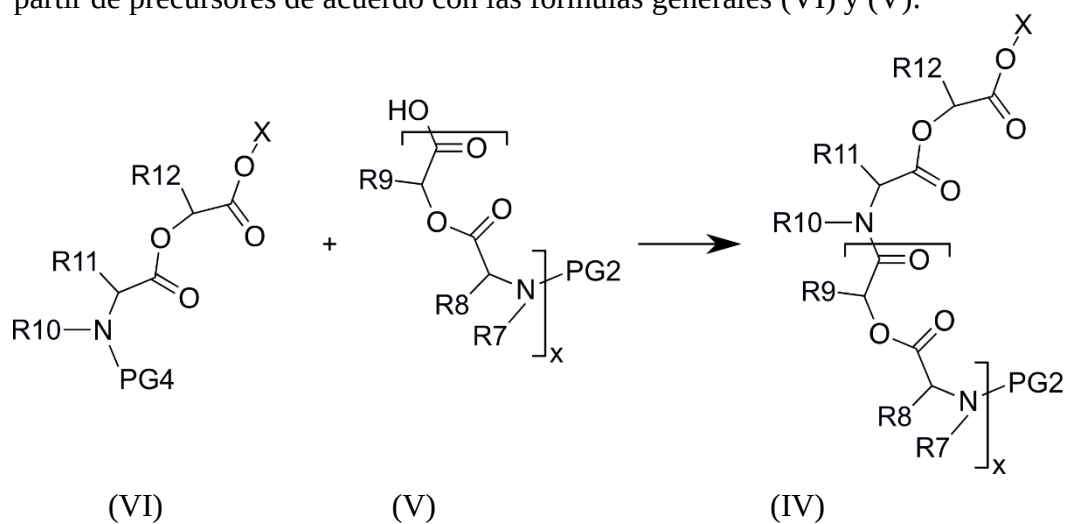
donde Y un grupo protector amino y X es un grupo protector ácido carboxílico, el método comprende las etapas de:

- desproteger el grupo amino que se protege por el grupo Y en presencia de un ácido, obteniendo así un grupo amino desprotegido;
- desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo X por hidrogenólisis, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;
- condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido cíclico (I)

En el método de acuerdo con esta modalidad se encontró sorprendentemente que

donde R1 a R12, X, Y, x, e y tienen un significado como se define anteriormente (en particular, x e y pueden ser 1), PG2 es un grupo protector amino y PG3 es un grupo protector ácido carboxílico. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (IIa) a (I) anteriormente.

Preferentemente el precursor de acuerdo con la fórmula general (IV) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VI) y (V):



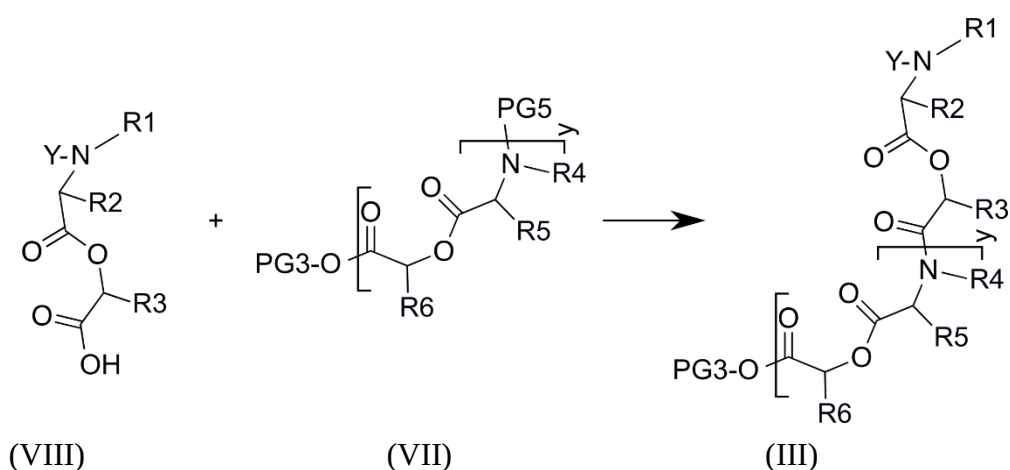
por:

- en el precursor (VI), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG4 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VI) y grupo ácido carboxílico del precursor (V), obteniendo así el precursor (IV);

donde R7 a R12, X y x tienen un significado como se define anteriormente (en particular, x puede ser 1), PG2 tiene un significado como se define anteriormente y PG4 es un grupo protector amino. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (II) a (I) anteriormente.

También se prefiere que el precursor de acuerdo con la fórmula general (III) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VIII) y (VII):

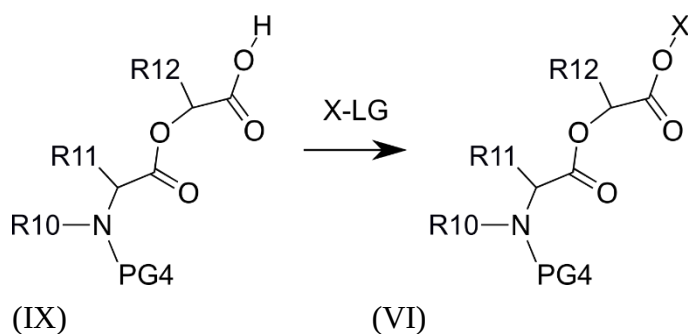


por:

- en el precursor (VII), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG5 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;
- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VII) y grupo ácido carboxílico del precursor (VIII), obteniendo así el precursor (III);

donde R1 a R6, Y e y tienen un significado como se define anteriormente (en particular, y puede ser 1), PG3 tiene un significado como se define anteriormente y PG5 es un grupo protector amino. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (II) a (I) anteriormente.

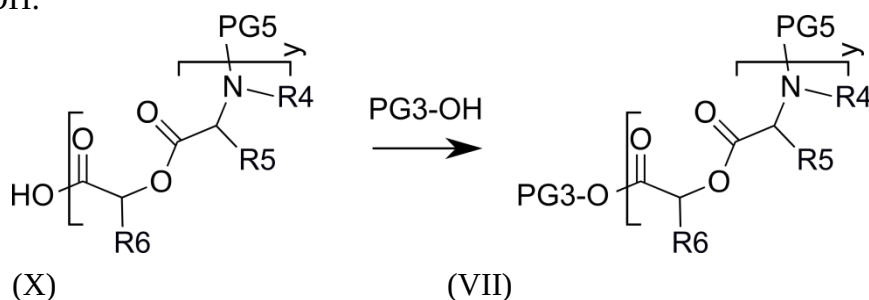
También se prefiere que el precursor de acuerdo con la fórmula general (VI) se obtiene de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (IX) con X-LG:



donde R10 a R12, y X tienen un significado como se define anteriormente y PG4 tiene un significado como se define anteriormente y LG es un grupo saliente. La protección o etiquetado del grupo ácido carboxílico en (IX) puede efectuarse usando procedimientos estándar, LG a menudo será halogenuro, especialmente cloruro. De manera alternativa LG puede ser -OH, luego a menudo aplicarán protocolos de condensación estándar.

También se prefiere que el precursor de acuerdo con la fórmula general (VII) se

obtiene de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (X) con PG3-OH:

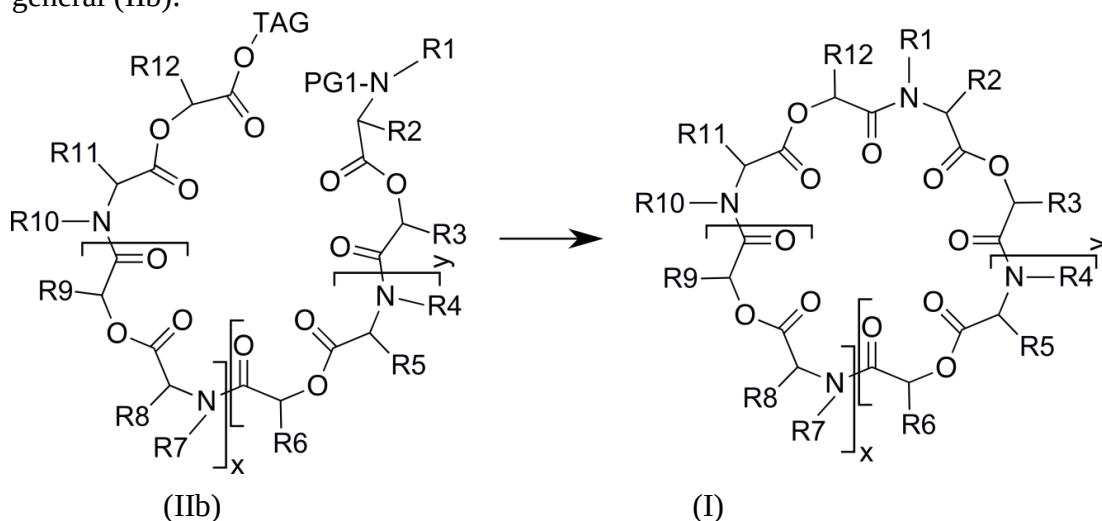


5 donde R4 a R6, e y tienen un significado como se define anteriormente, PG3 también tiene un significado como se define anteriormente y PG5 también tiene un significado como se define anteriormente.

También se prefiere que los precursores (III) y (IV) sean idénticos.

También se prefiere que R3 y R9 sean idénticos, R1 y R7 sean idénticos, R2 y
 10 R8 sean idénticos, R4 y R10 sean idénticos, R5 y R11 sean idénticos y R6 y R12 sean idénticos.

De acuerdo con una modalidad alternativa de la presente invención, A es lábil a la base mientras que B es lábil al ácido. Por ende, una modalidad alternativa de la presente invención provee un método para la síntesis de depsipéptidos cíclicos de
 15 acuerdo con la fórmula general (I) a partir de depsipéptidos de acuerdo con la fórmula general (IIb):



20 donde PG1 es un grupo protector amino y TAG es un grupo protector ácido carboxílico,

el método comprende las etapas de:

- desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG1 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo TAG en presencia de un ácido, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;
- condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido cíclico (I)

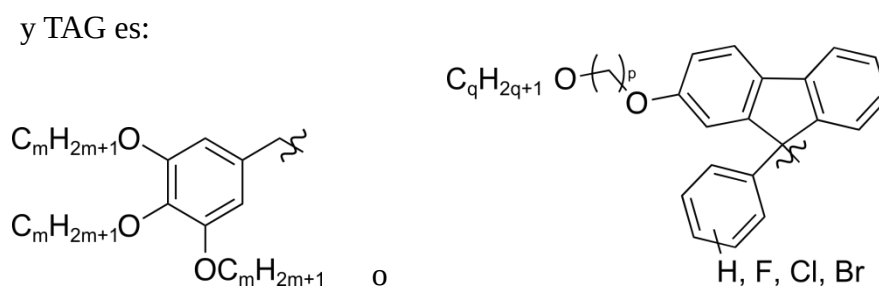
5 El grupo TAG comprende un resto Arilo-O-(CH₂)_n- donde Arilo representa un resto aromático y n es ≥ 13 , x e y son, independientemente uno del otro, 0, 1 o 2 con la condición de que $x+y \geq 1$ (preferentemente, x e y son 1) y R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11 y R12 cada uno, independientemente uno del otro, representan hidrógeno, alquilo-C1-C8 de cadena recta o ramificada, en particular, metilo, etilo, 10 propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, sec-pentilo, hexilo, isohexilo, sec-hexilo, heptilo, isoheptilo, sec-heptilo, terc-heptilo, octilo, isooctilo, sec-octilo, alquilo C1-C8 halogenado de cadena recta o ramificada, en particular, sec-butilo fluorinado, hidroxialquilo-C1-C6, en particular, hidroximetilo, 1-hidroxietilo, alcanoiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, acetoximetilo, 1-acetoxietilo, alcoxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metoximetilo, 1-metoxietilo, 15 arilalquiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, benciloximetilo, 1-benciloxietilo, mercapto-alquilo-C1-C6, en particular, mercaptometilo, alquiltio-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metiltioetilo, alquilsulfinilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilsulfiniletilo, alquilsulfonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilsulfoniletilo, 20 carboxi-alquilo-C1-C6, en particular, carboximetilo, carboxietilo, alcoxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metoxicarbonilmetilo, etoxicarboniletilo, arilalcovicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, benciloxicarbonilmetilo, carbamoil-alquilo-C1-C6, en particular, carbamoilmetilo, carbamoiletilo, amino-alquilo-C1-C6, en particular, aminopropilo, aminobutilo, alquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilaminopropilo, metilaminobutilo, dialquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, 25 en particular, dimetilaminopropilo, dimetilaminobutilo, guanidino-alquilo-C1-C6, en particular, guanidinopropilo, alcovicarbonilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, terc-butoxicarbonilaminopropilo, terc-butoxicarbonilaminobutilo, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)amino-alquilo-C1-C6, en particular, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)aminopropilo, 30 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)aminobutilo, alqueno-C2-C8, en particular, vinilo, alilo, butenilo, cicloalquilo-C3-C7, en particular, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, cicloalquilo-C3-C7-alquilo-C1-C4, en particular, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, cicloheptilmetilo, bencilo, bencilo sustituido, fenilo, fenil-alquilo-C1-C4, en particular, 35 fenilmetilo que puede estar opcionalmente sustituido por radicales del grupo que

consiste en halógeno, en particular, flúor, cloro, bromo o yodo, hidroxilo, alcoxi-C1-C4, en particular, metoxi o etoxi, alquilo-C1-C4, en particular, metilo.

En el método de acuerdo con la invención se encontró sorprendentemente que los depsipéptidos cíclicos (I), en particular, emodepsida y estructuras estrechamente
5 relacionadas, pueden sintetizarse en grandes rendimientos totales usando grupos protectores de ácido carboxílico hidrofóbico TAG. Estos grupos pueden dejar las moléculas a las que están unidos ("moléculas etiquetadas") insolubles en solventes polares como metanol. Por ende, las moléculas etiquetadas pueden precipitarse de una mezcla de reacción y el propio grupo de etiquetado, luego de la desprotección, puede
10 también separarse usando esta técnica. Asimismo, el grupo de etiquetado hidrofóbico permite que las moléculas etiquetadas sean solubles en solventes no polares como diclorometano.

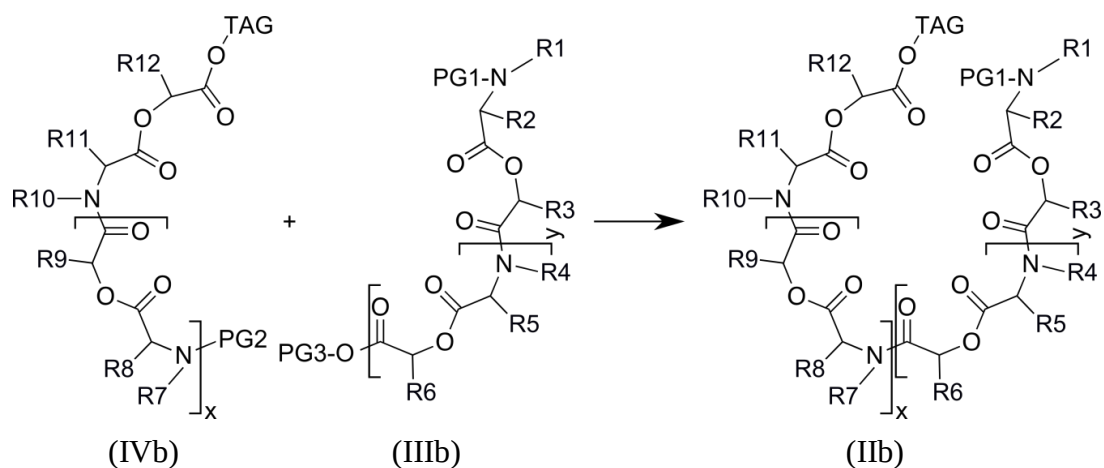
La desprotección del grupo amino al retirar el grupo de protección PG1 puede realizarse usando procedimientos estándar asistidos por base como tratamiento con una
15 solución de piperidina en diclorometano. Del mismo modo, la desprotección del grupo ácido carboxílico al retirar el grupo TAG puede realizarse usando protocolos para retirar un grupo bencilo como tratamiento con una solución de ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano.

En otra modalidad del método de acuerdo con la invención PG1 es 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc), t-butil carbamato (Boc), bencil carbamato (Z), acetamida, trifluoroacetamida, ftalimida, bencilo (Bn), trifenilmetilo (Tr), bencilideno o p-toluenosulfonamida (Ts)
20 y TAG es:



25 donde m es ≥ 15 a ≤ 25 , p es ≥ 8 a ≤ 18 y q es ≥ 15 a ≤ 25 . Preferentemente, m es 18, 19, 20, 21 o 22, p es 11, 12 o 13 y q es 21, 22 o 23.

En otra modalidad del método de acuerdo con la invención el depsipéptido de acuerdo con la fórmula general (IIb) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (IVb) y (IIIb):

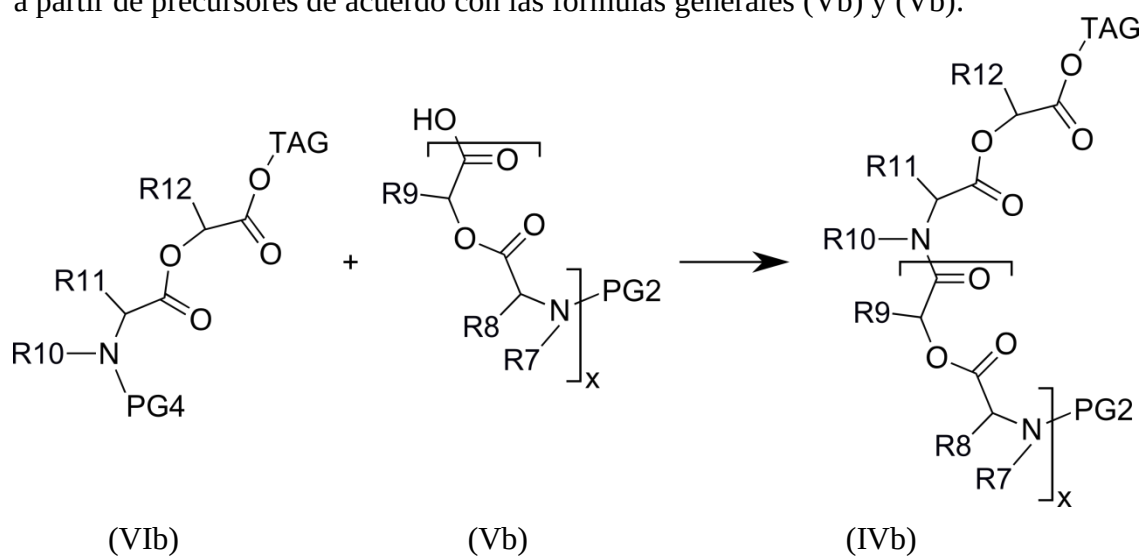


por:

- en el precursor (IVb), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG2 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;
- en el precursor (IIIb), desproteger el ácido carboxílico que se protege por el grupo PG3 en presencia de un ácido, obteniendo así un grupo ácido carboxílico desprotegido;
- condensación de los grupos amino y ácido carboxílico desprotegidos, obteniendo así el depsipéptido (IIb);

donde R1 a R12, TAG, PG1, x, e y tienen un significado como se define anteriormente (en particular, x e y pueden ser 1), PG2 es un grupo protector amino y PG3 es un grupo protector ácido carboxílico. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (II) a (I) anteriormente.

Preferentemente el precursor de acuerdo con la fórmula general (IVb) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (Vb) y (Vb):



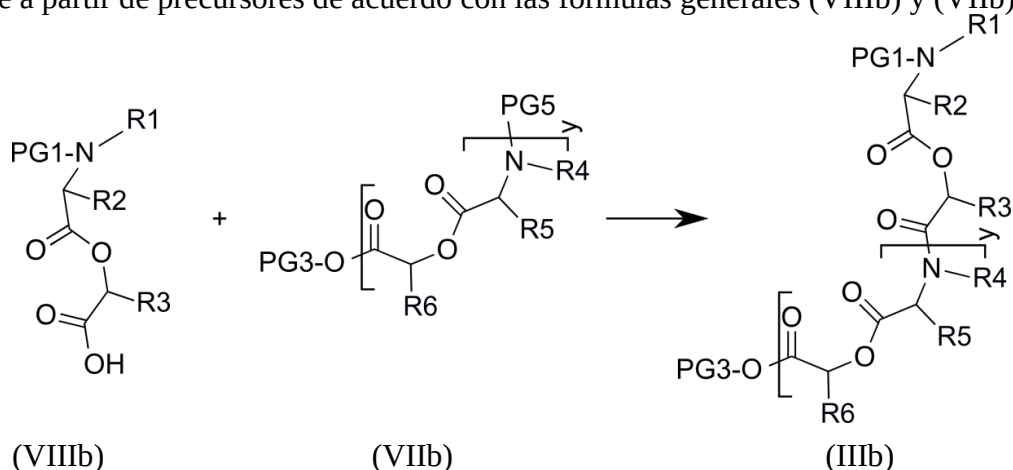
por:

- en el precursor (VIb), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG4 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VIb) y grupo ácido carboxílico del precursor (Vb), obteniendo así el precursor (IVb);

5 donde R7 a R12, TAG y x tienen un significado como se define anteriormente (en particular, x puede ser 1), PG2 tiene un significado como se define anteriormente y PG4 es un grupo protector amino. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (IIb) a (I) anteriormente.

10 También se prefiere que el precursor de acuerdo con la fórmula general (IIIb) se obtiene a partir de precursores de acuerdo con las fórmulas generales (VIIIb) y (VIIb):



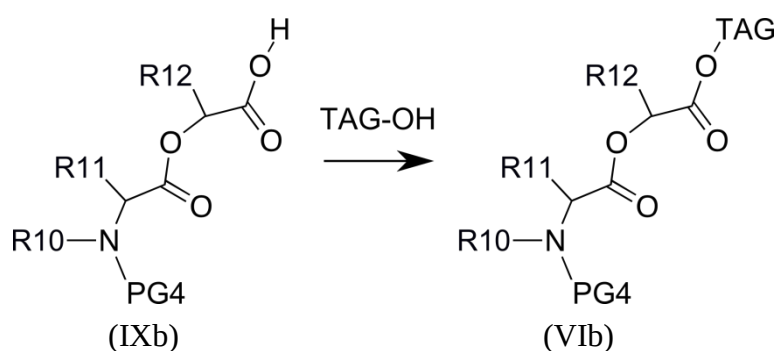
por:

15 - en el precursor (VIIb), desproteger el grupo amino que se protege por el grupo PG5 en presencia de una base, obteniendo así un grupo amino desprotegido;

- condensación del grupo amino desprotegido del precursor (VIIb) y grupo ácido carboxílico del precursor (VIIIb), obteniendo así el precursor (IIIb);

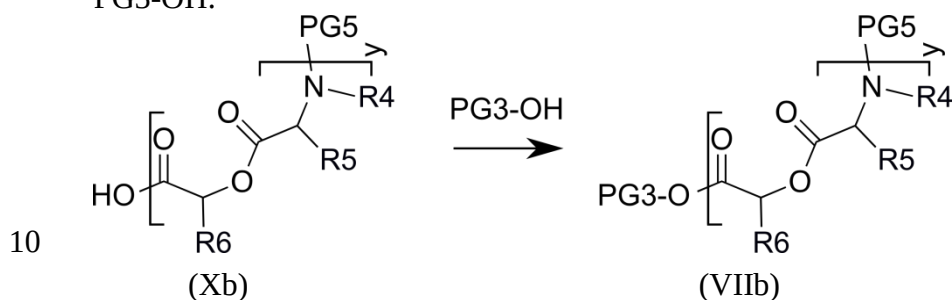
20 donde R1 a R6, PG1 e y tienen un significado como se define anteriormente (en particular, y puede ser 1), PG3 tiene un significado como se define anteriormente y PG5 es un grupo protector amino. Los métodos de desprotección y condensación pueden ser iguales que los señalados con relación a la reacción de compuestos (IIb) a (I) anteriormente.

25 También se prefiere que el precursor de acuerdo con la fórmula general (VIb) se obtiene de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (IXb) con TAG-OH:



donde R10 a R12, y TAG tienen un significado como se define anteriormente y PG4 tiene un significado como se define anteriormente. La protección o etiquetado del grupo ácido carboxílico en (IXb) puede efectuarse usando sistema de condensación estándar como DCC/DMAP.

También se prefiere que el precursor de acuerdo con la fórmula general (VIIb) se obtiene de la esterificación de un precursor de acuerdo con la fórmula general (X) con PG3-OH:



donde R4 a R6, e y tienen un significado como se define anteriormente, PG3 también tiene un significado como se define anteriormente y PG5 también tiene un significado como se define anteriormente.

También se prefiere que PG3 sea TAG como se define anteriormente.

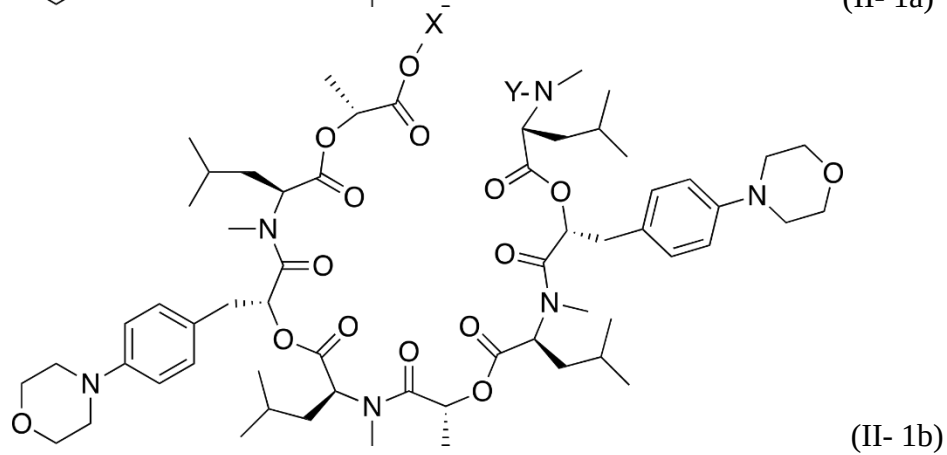
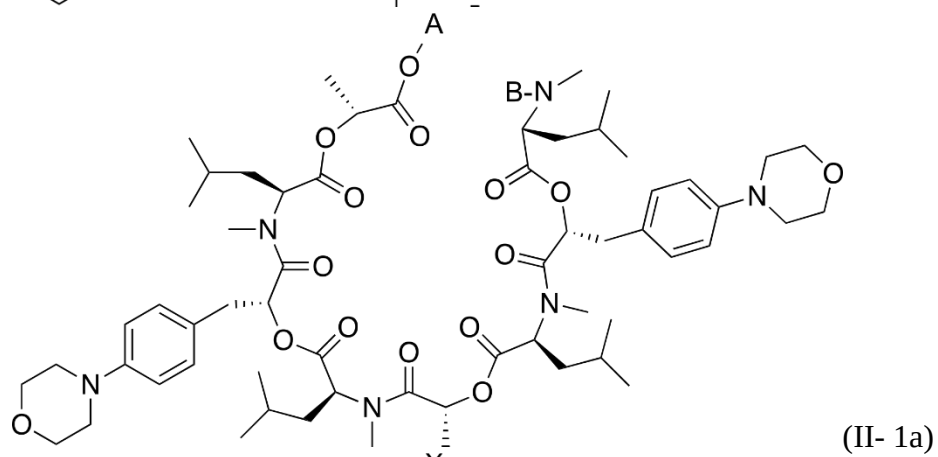
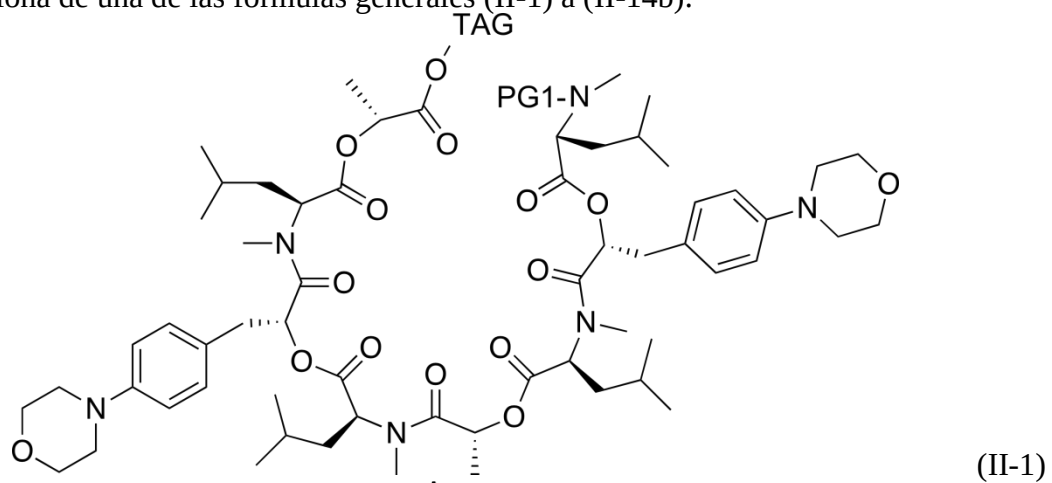
En otra modalidad del método de acuerdo con la invención al menos un paso de reacción de los pasos de reacción que resultan en una molécula con TAG es seguido por la precipitación de producto de reacción bruto en metanol, purificando así el producto de reacción bruto.

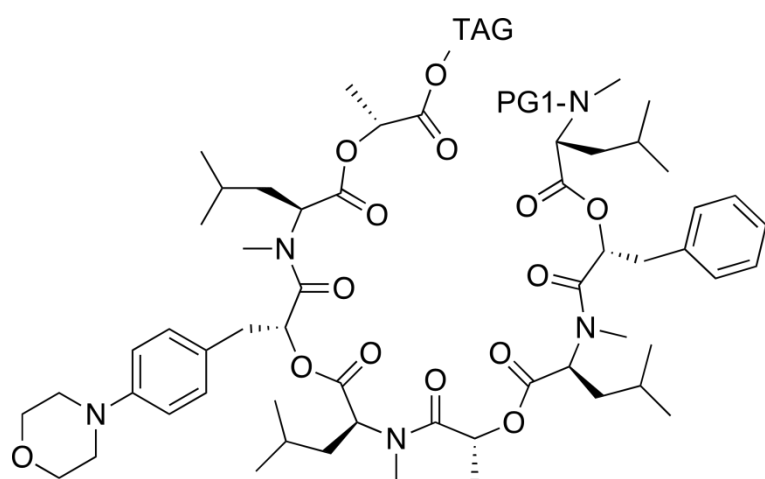
En otra modalidad del método de acuerdo con la invención al menos un paso de los pasos de reacción donde los grupos de ácido carboxílico protegidos por TAG se desprotegen es seguido por la precipitación de TAG-OH escindido en metanol y remoción del precipitado por filtración, purificando así el producto de reacción bruto.

También se prefiere que los precursores (IIIb) y (IVb) sean idénticos.

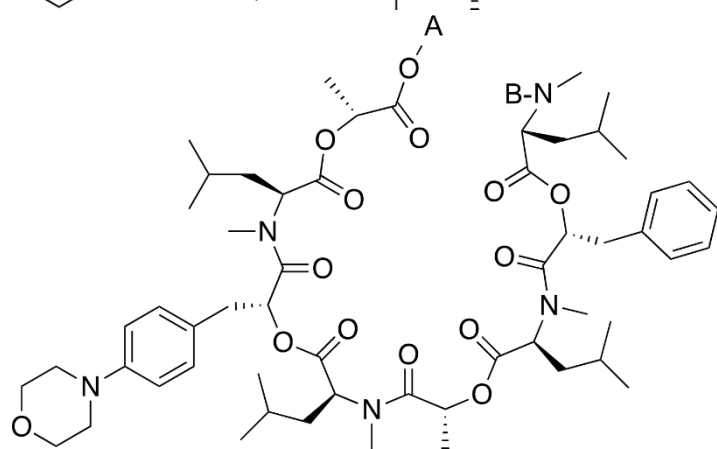
También se prefiere que R3 y R9 sean diferentes entre sí, R1 y R7 sean idénticos, R2 y R8 sean idénticos, R4 y R10 sean idénticos, R5 y R11 sean idénticos y R6 y R12 sean idénticos.

En otra modalidad del método de acuerdo con la invención el depsipéptido se selecciona de una de las fórmulas generales (II-1) a (II-14b):

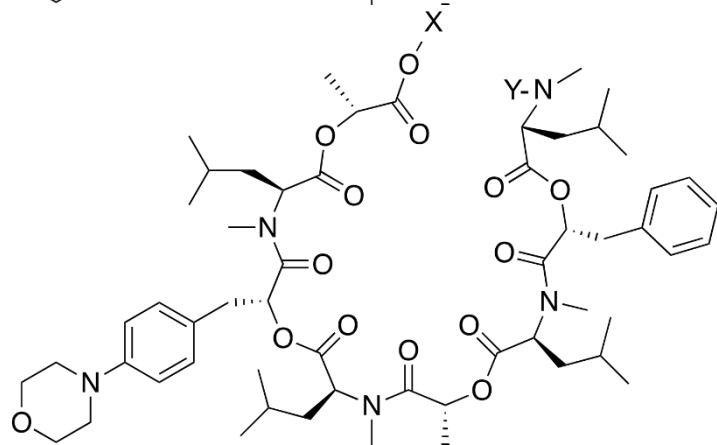




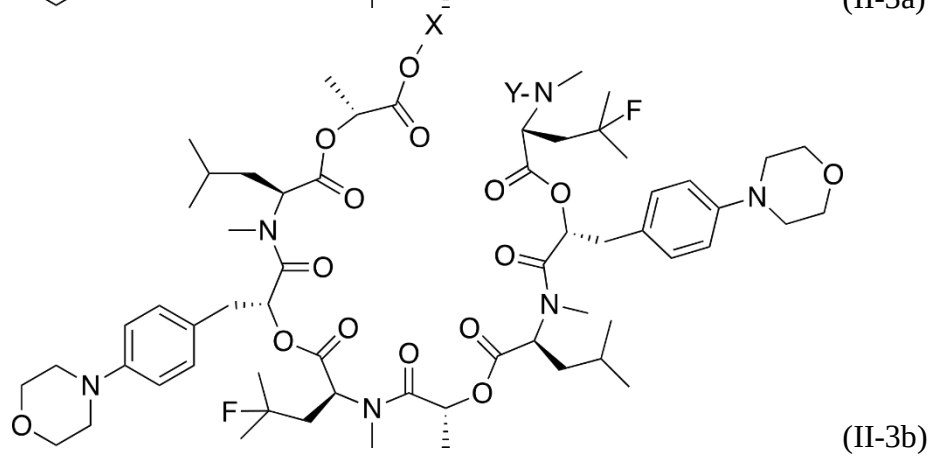
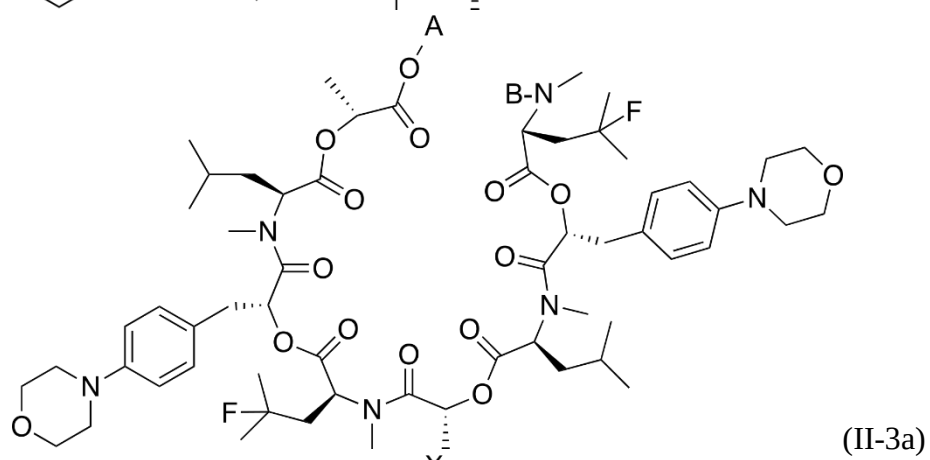
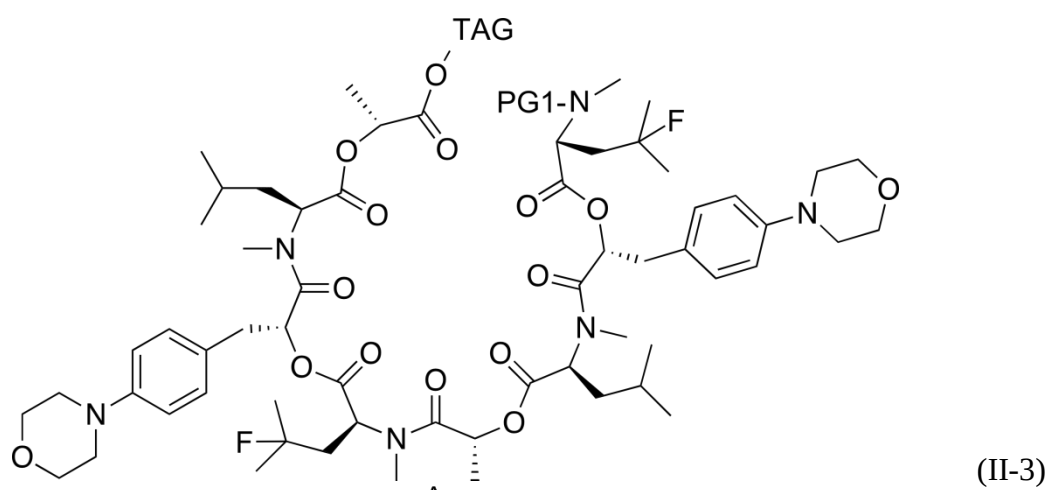
(II-2)

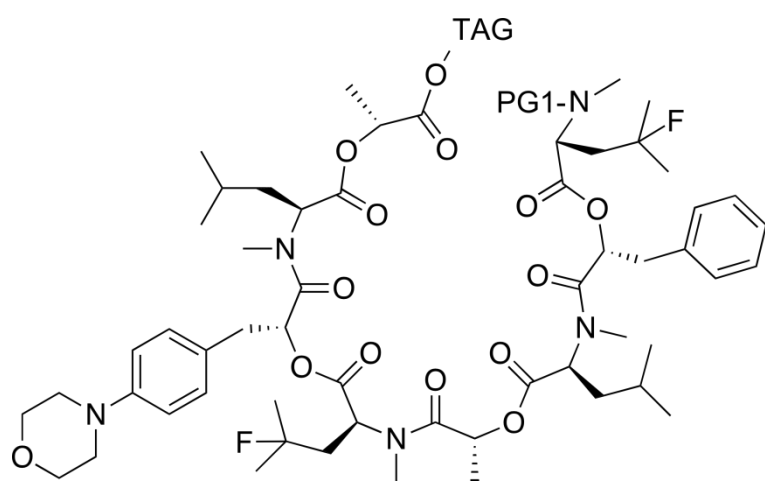


(II-2a)

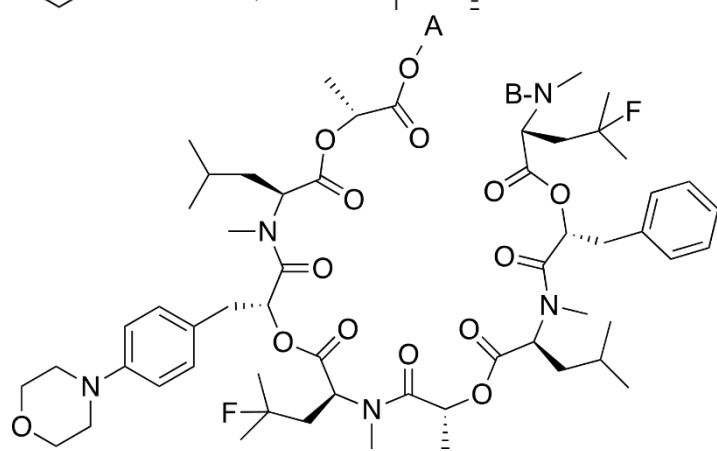


(II- 2b)

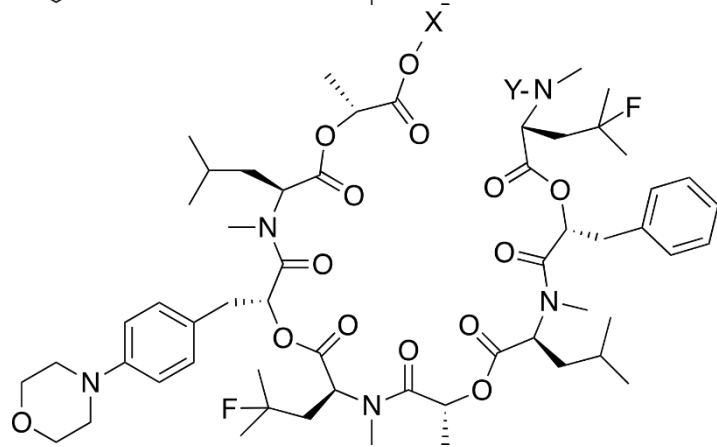




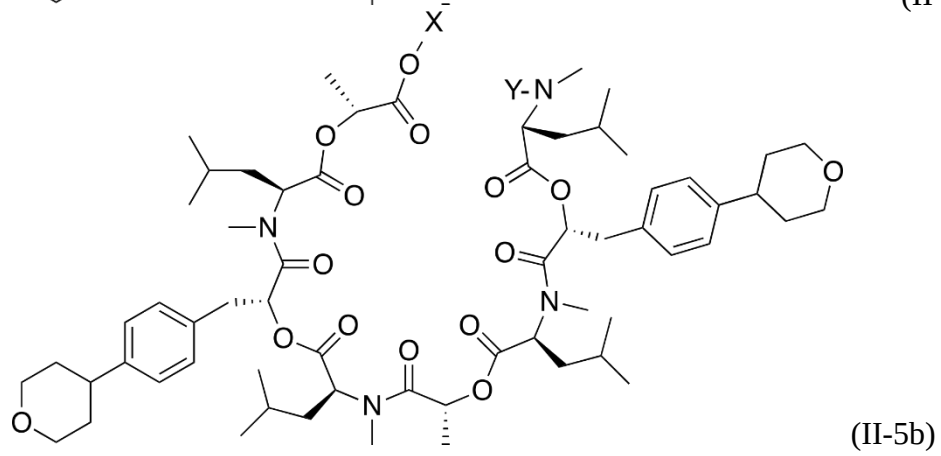
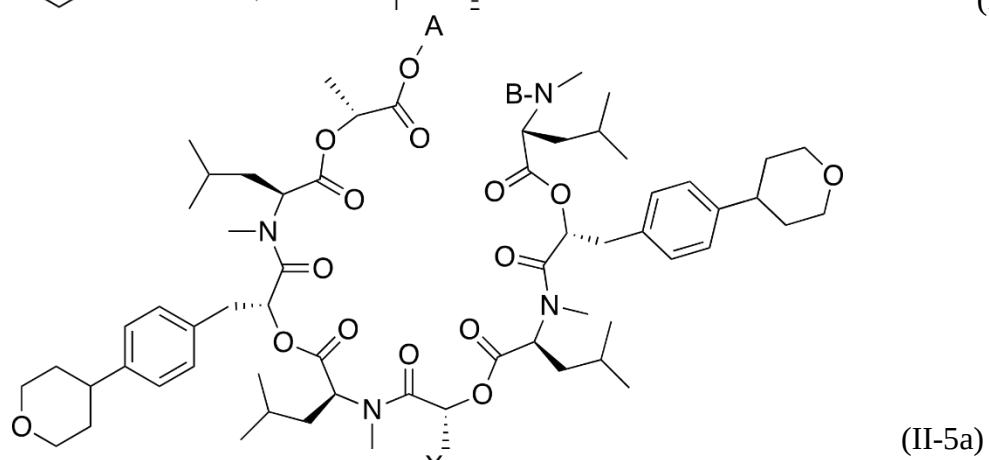
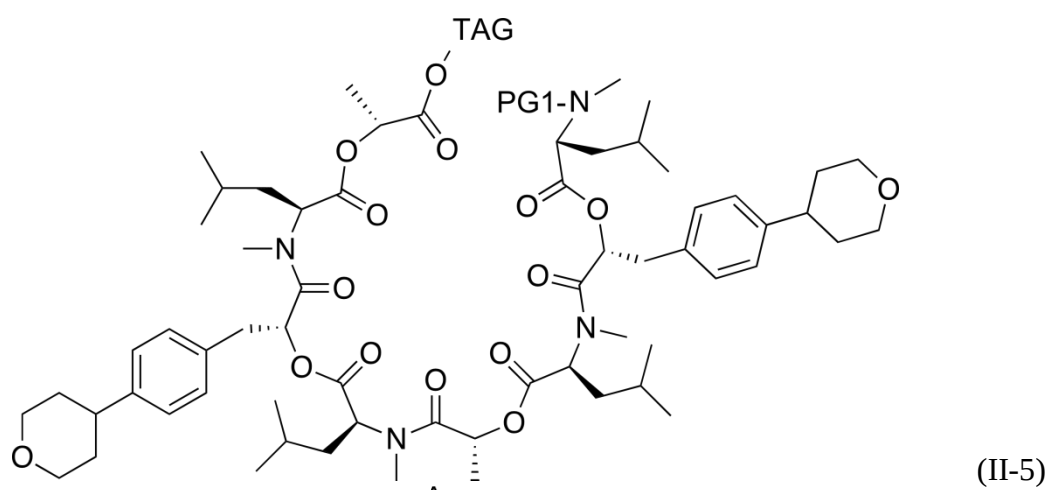
(II-4)

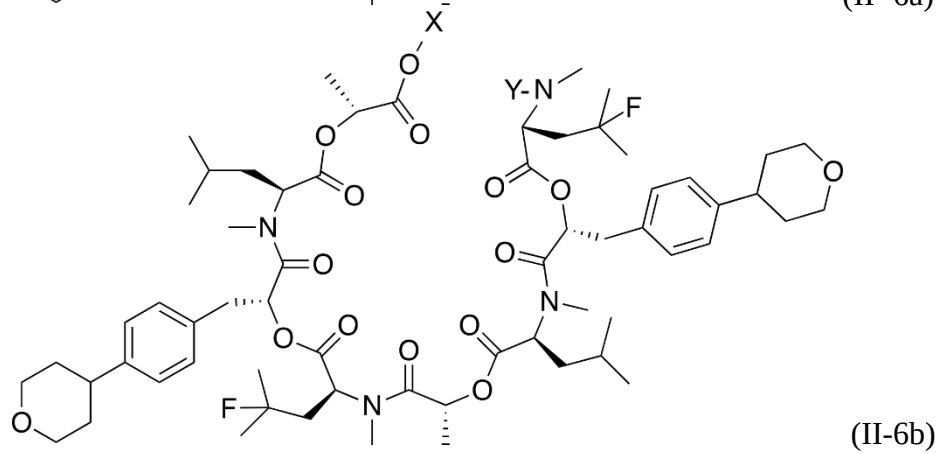
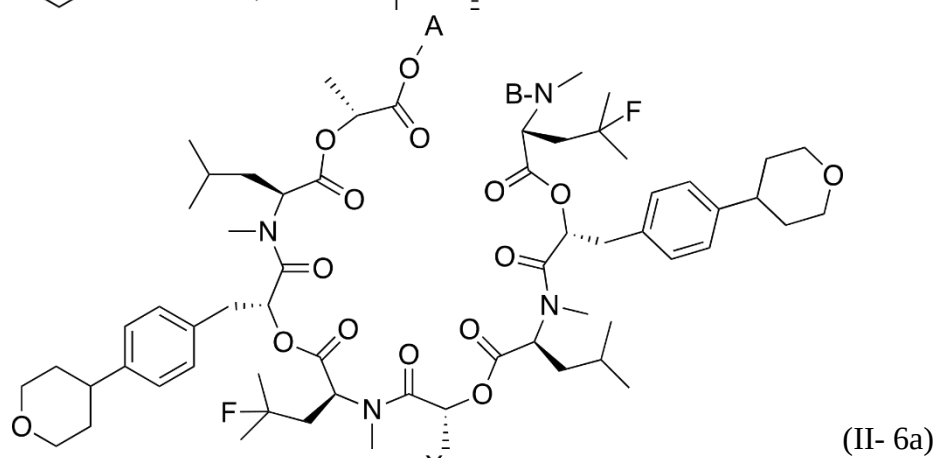
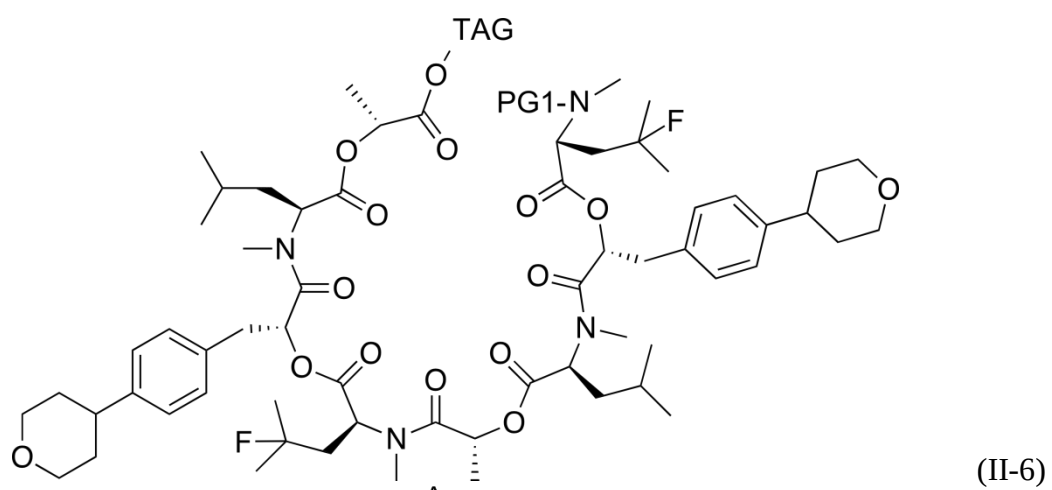


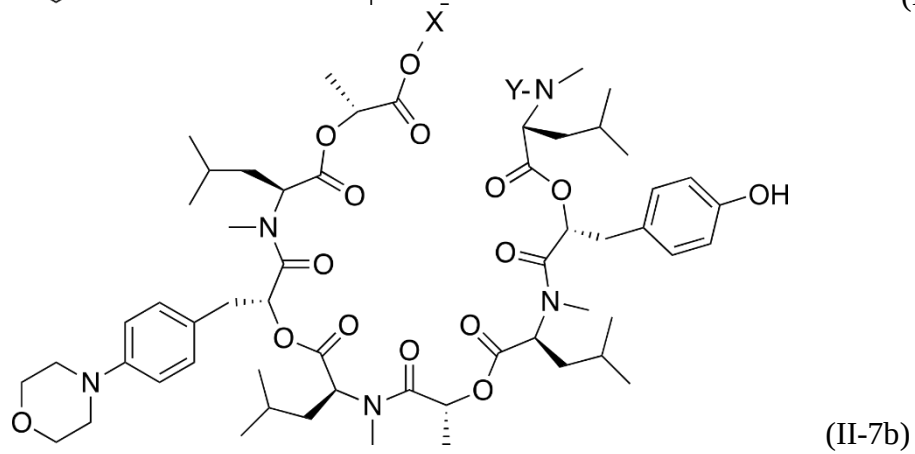
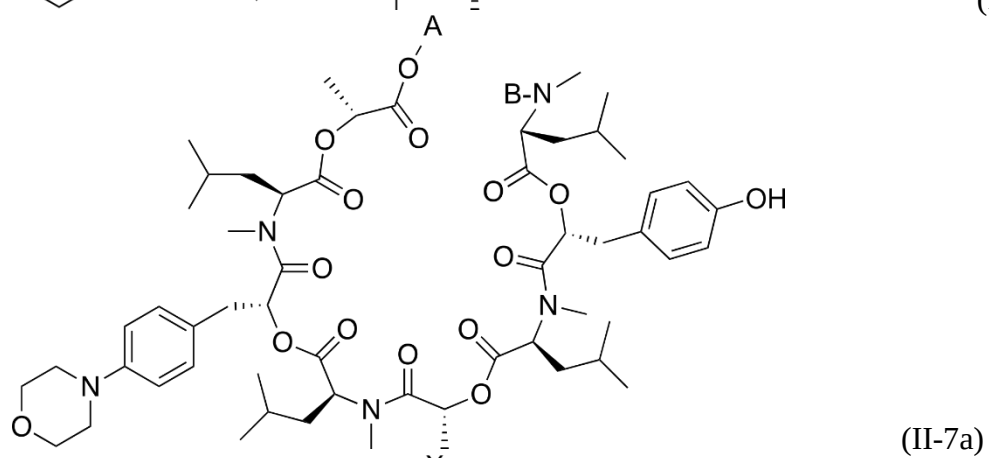
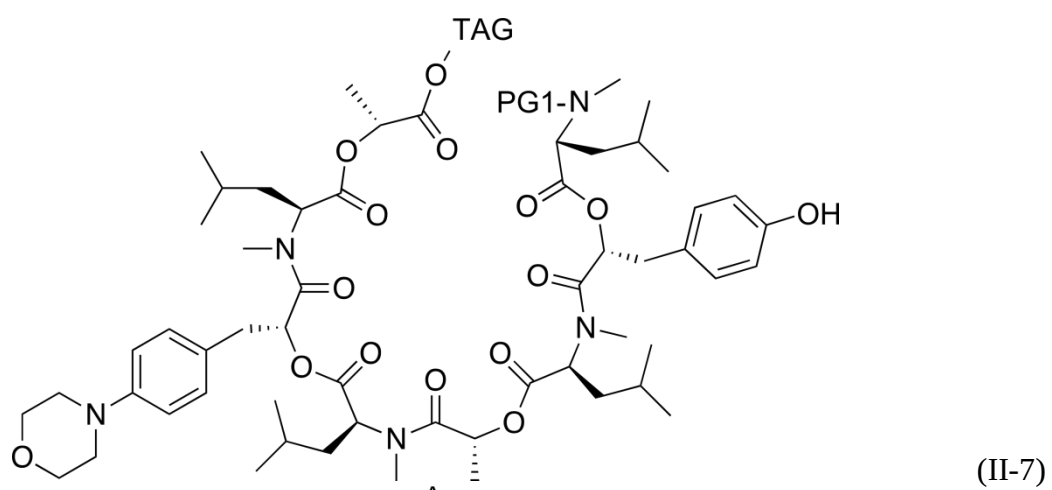
(II-4a)

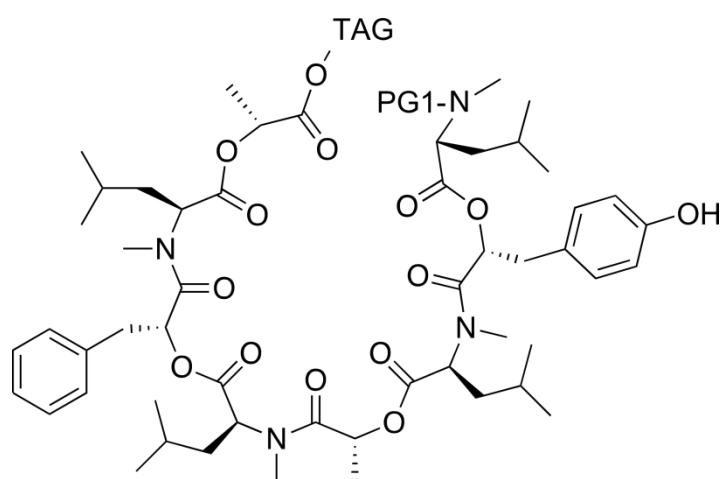


(II- 4b)

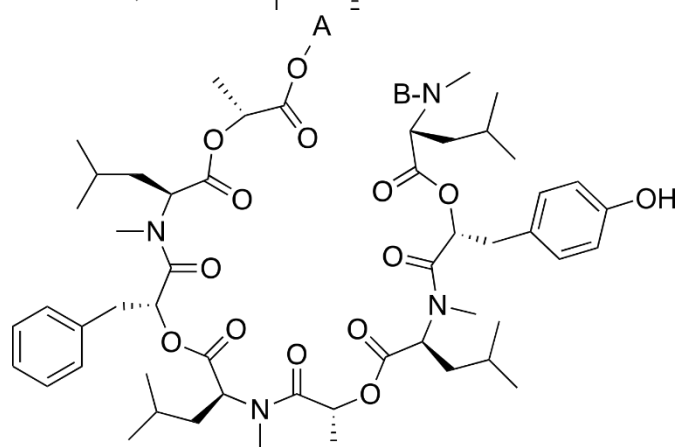




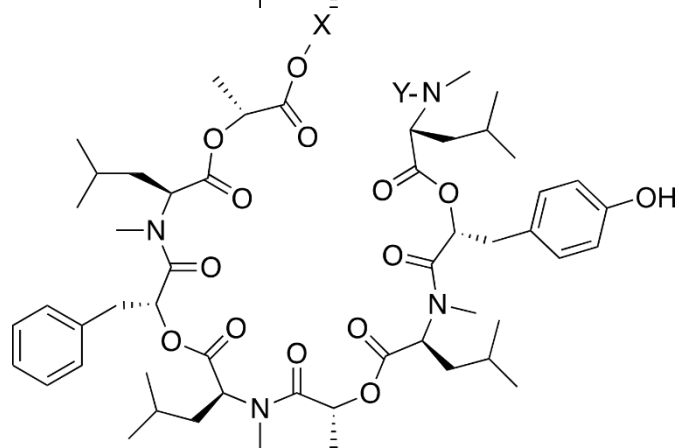




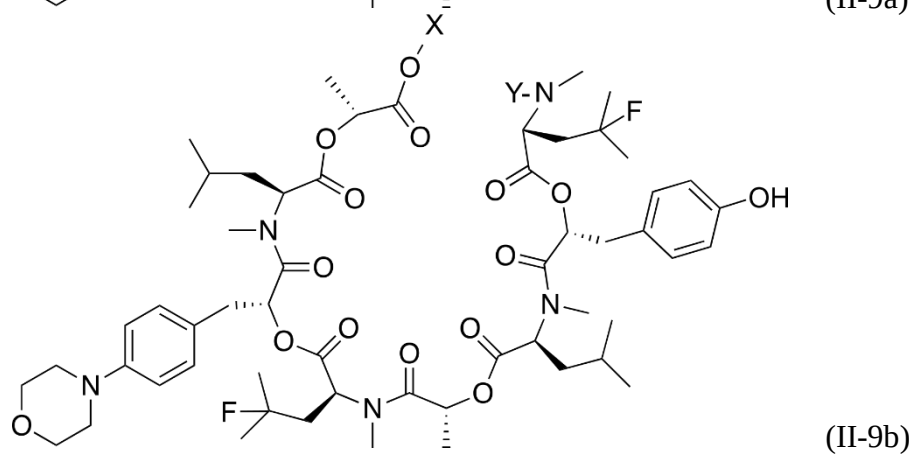
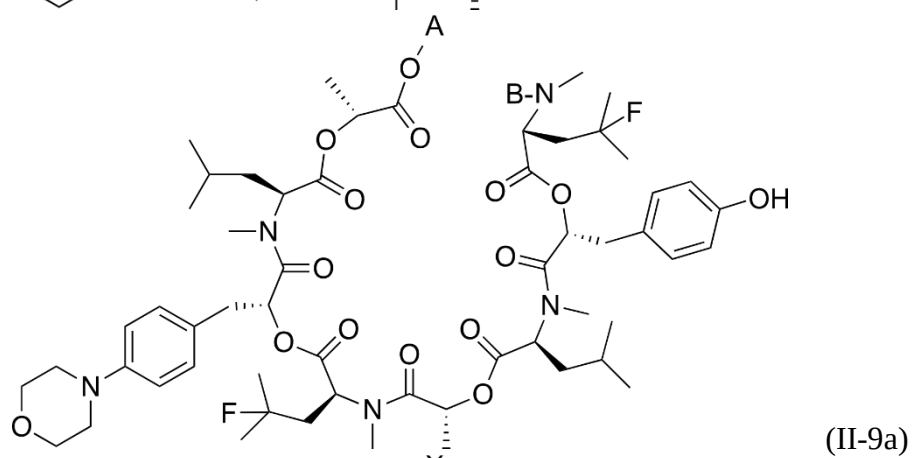
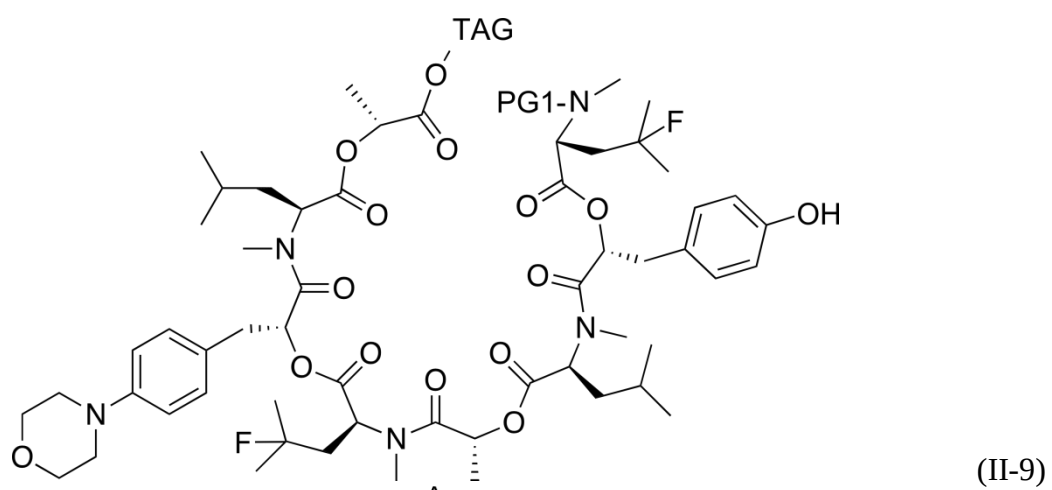
(II-8)

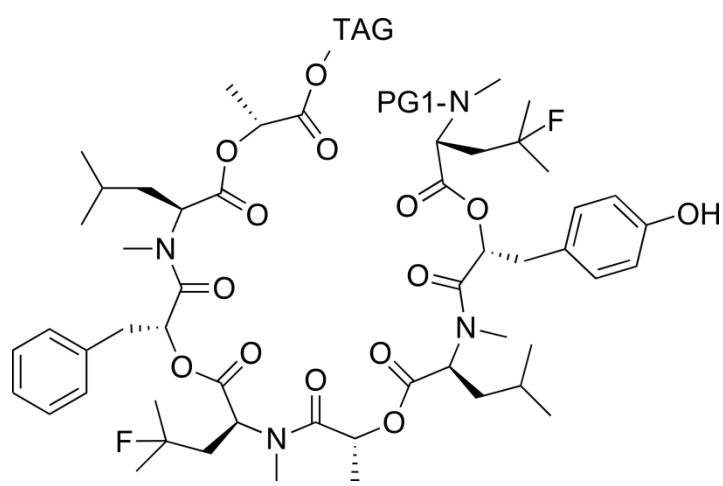


(II-8a)

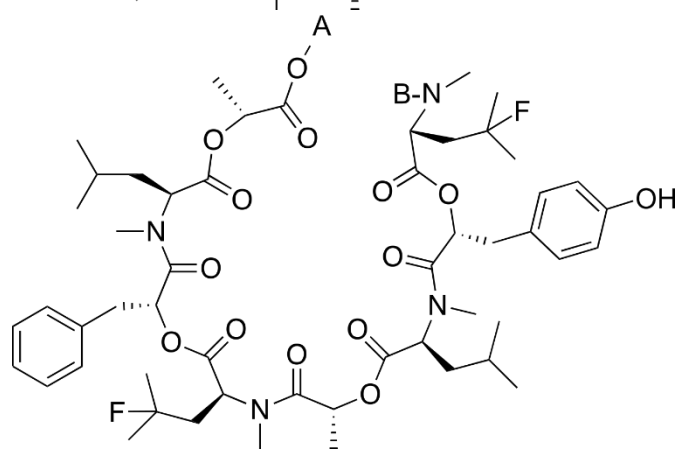


(II-8b)

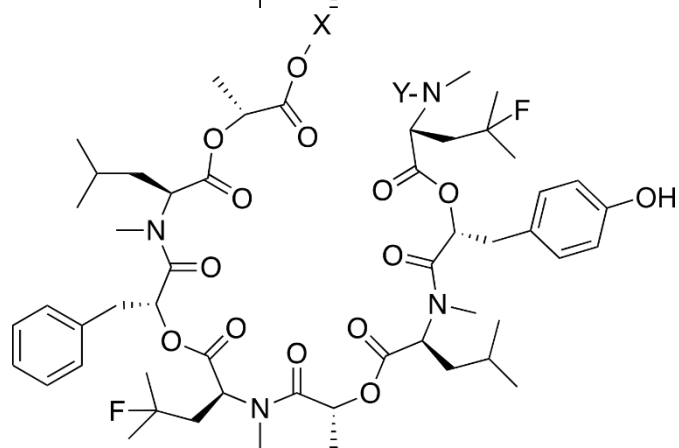




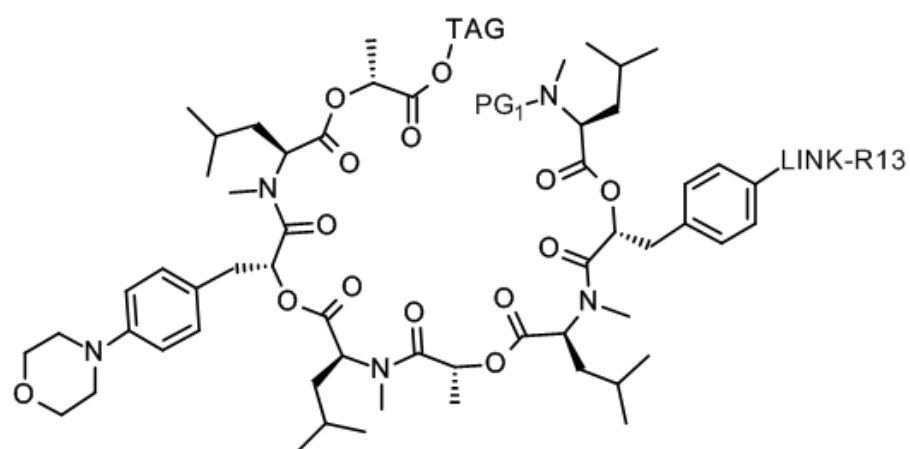
(II-10)



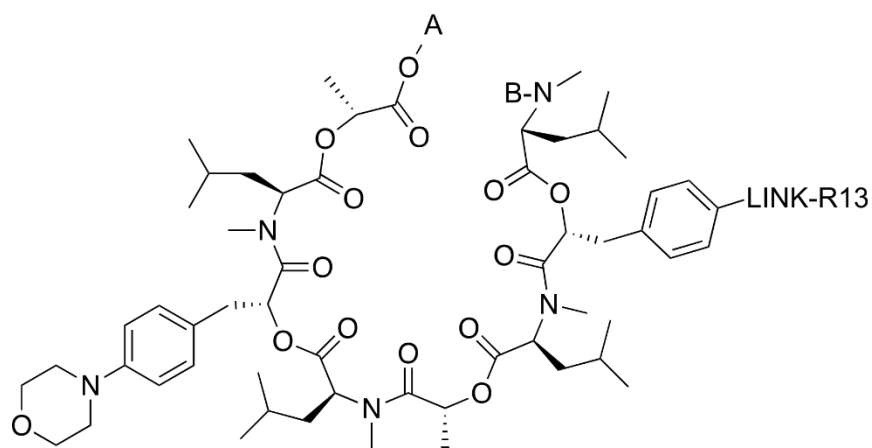
(II-10a)



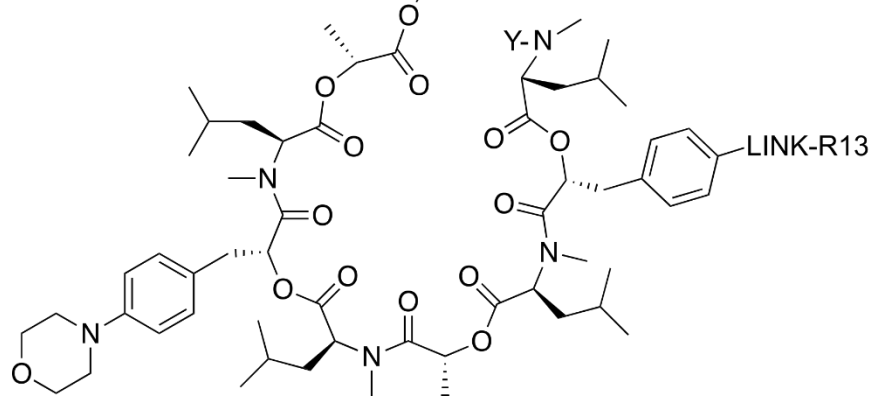
(II-10b)



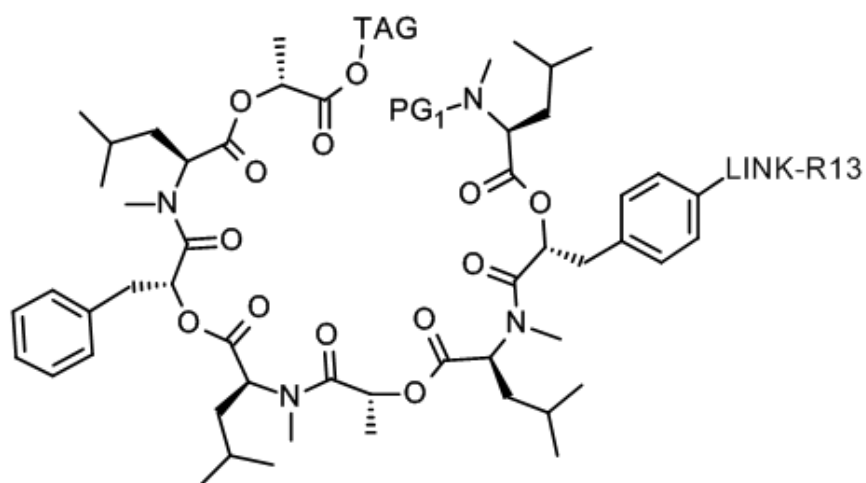
(II-11)



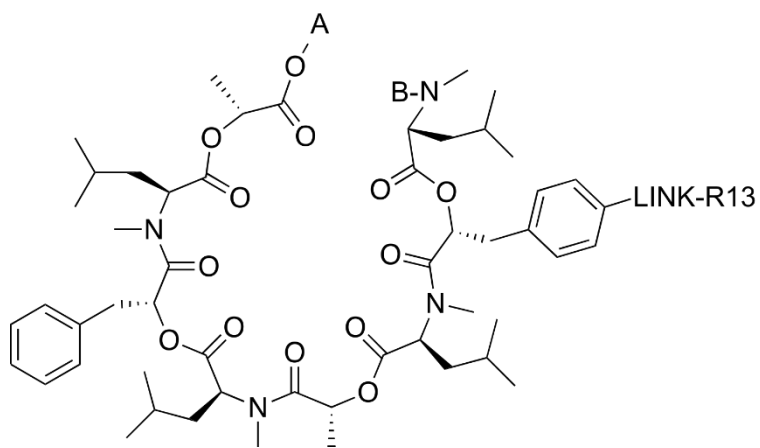
(II-11a)



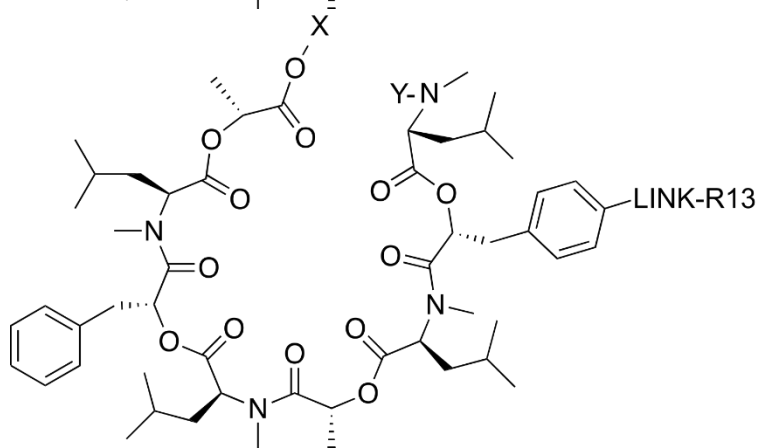
(II-11b)



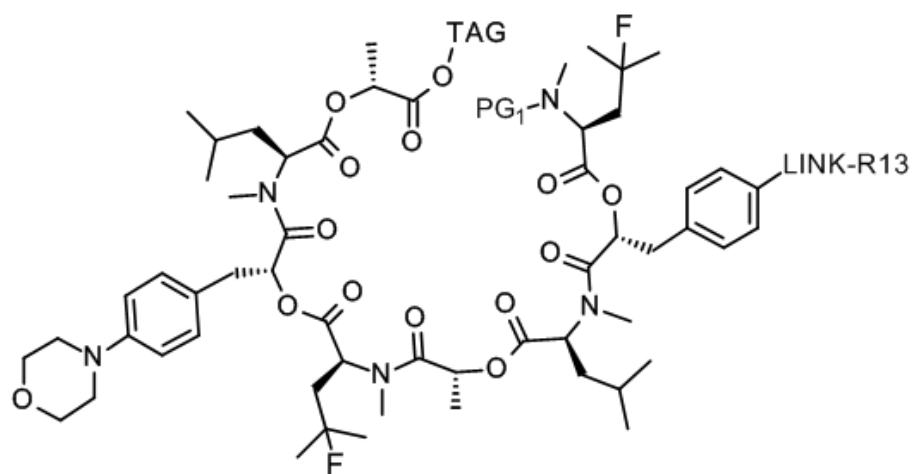
(II-12)



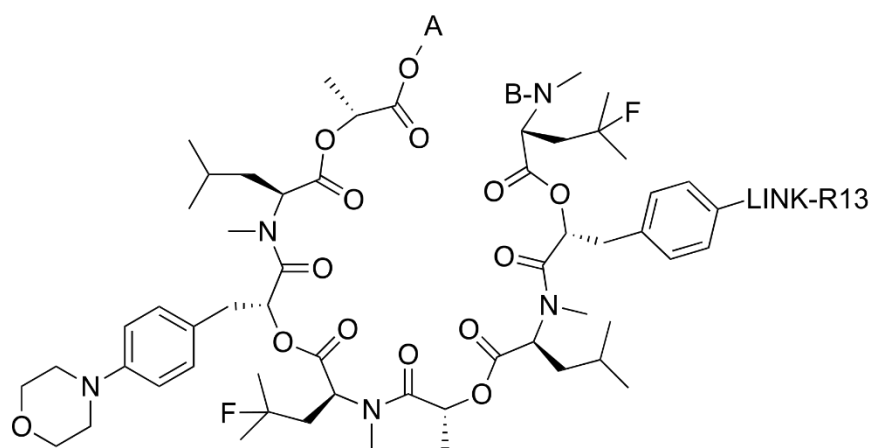
(II-12a)



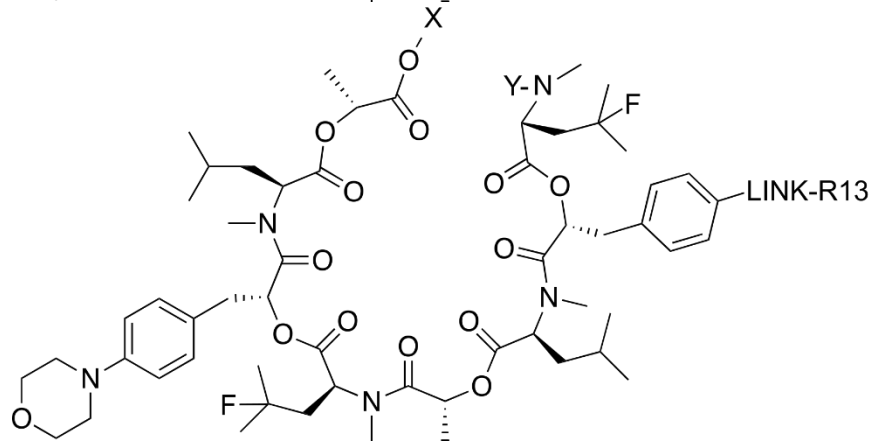
(II-12b)



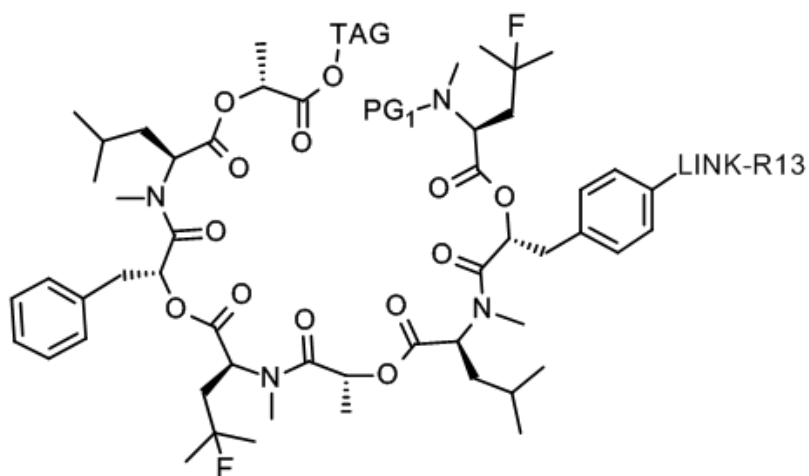
(II-13)



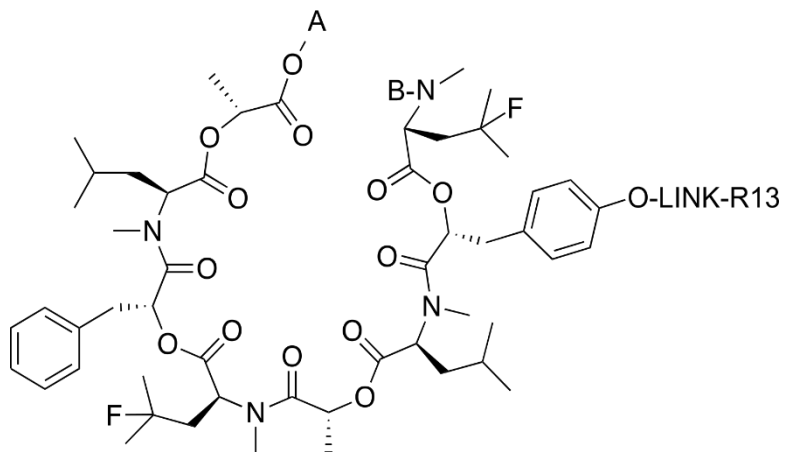
(II-13a)



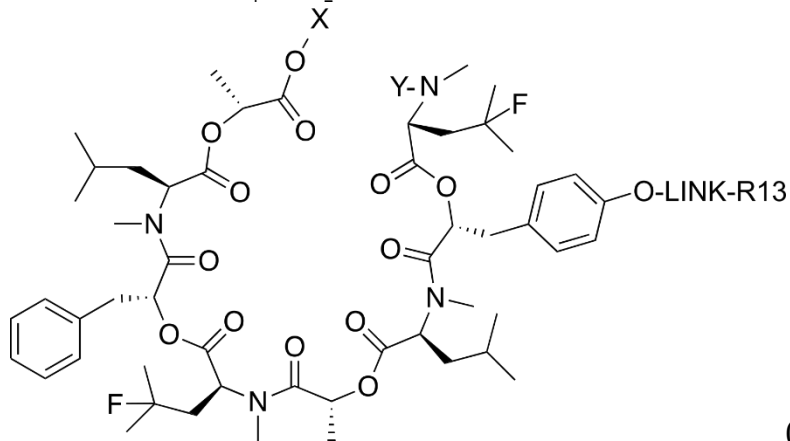
(II-13b)



(II-14)

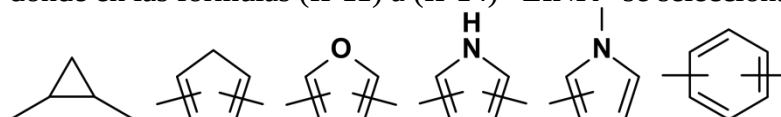


(II-14a)

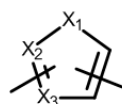


(II-14b)

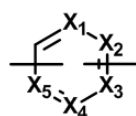
donde en las fórmulas (II-11) a (II-14) –LINK– se selecciona de:



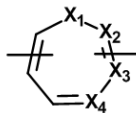
5



donde X1 puede ser C, N, S, O, X2 y X3 puede ser C o N;

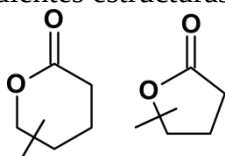


donde X1 puede ser C, N, S, O, X2, X3 y X4 puede ser C o N;



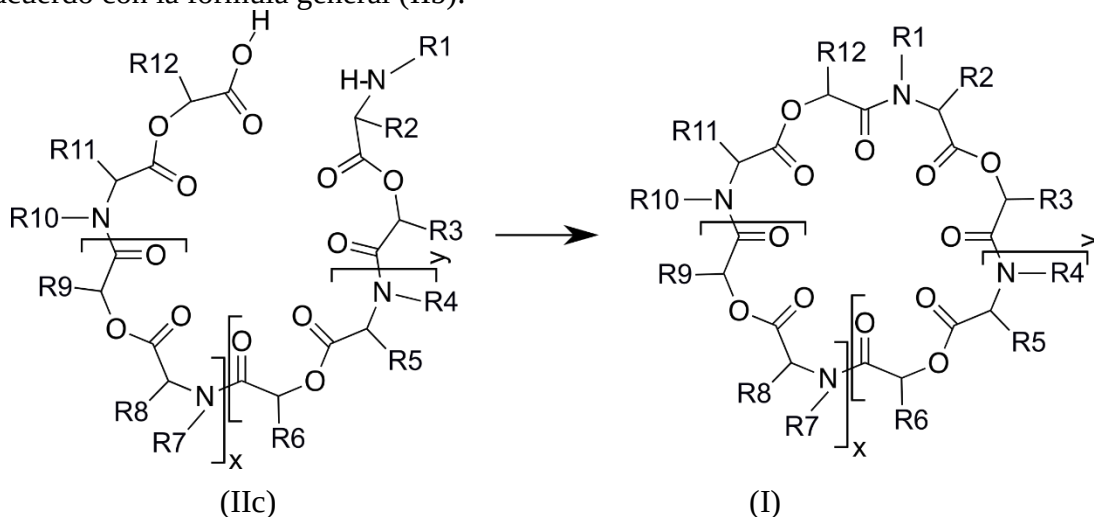
donde X1, X2, X3 y X4 pueden ser C o N;

y donde R13 se selecciona de $\text{SO}_2\text{NH}(\text{CH}_3)$, SO_2NH_2 , $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, CF_3 o una de las siguientes estructuras de lactona:



5

La presente invención asimismo provee un método para la síntesis de depsipéptidos cíclicos de acuerdo con la fórmula general (1) a partir de depsipéptidos de acuerdo con la fórmula general (IIb):



10

que comprende los pasos de

- Proveer una mezcla de compuesto (IIc) y una base en un solvente que tiene un valor $E_T(30)$ de ≥ 30 y ≤ 43

- Lento, preferentemente adición gota a gota de una solución de un agente de acoplamiento en el solvente para formar el depsipéptido cíclico (I)

15

por lo que x e y son, independientemente uno del otro, 0, 1 o 2 con la condición de que $x+y \geq 1$ (preferentemente, x e y son 1) y R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11 y R12 cada uno, independientemente uno del otro, representan hidrógeno, alquilo-C1-C8 de cadena recta o ramificada, en particular, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, sec-pentilo, hexilo, isohexilo, sec-hexilo, heptilo, isoheptilo, sec-heptilo, terc-heptilo, octilo, isooctilo, sec-octilo, alquilo C1-C8 halogenado de cadena recta o ramificada, en

20

particular, sec-butilo fluorinado, hidroxil-alquilo-C1-C6, en particular, hidroximetilo, 1-hidroxietilo, alcanoiloxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, acetoximetilo, 1-acetoxietilo, alcoxi-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metoximetilo, 1-metoxietilo, aril-alquilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, benciloximetilo, 1-benciloxietilo, mercapto-alquilo-C1-C6, en particular, mercaptometilo, alquiltio-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metiltioetilo, alquilsulfinilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilsulfiniletilo, alquilsulfonilo-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilsulfoniletilo, carboxi-alquilo-C1-C6, en particular, carboximetilo, carboxietilo, alcoxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metoxicarbonilmetilo, etoxicarboniletilo, arilalcoxicarbonil-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, benciloxicarbonilmetilo, carbamoil-alquilo-C1-C6, en particular, carbamoilmetilo, carbamoiletilo, amino-alquilo-C1-C6, en particular, aminopropilo, aminobutilo, alquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, metilaminopropilo, metilaminobutilo, dialquilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, dimetilaminopropilo, dimetilaminobutilo, guanidino-alquilo-C1-C6, en particular, guanidinopropilo, alcoxicarbonilamino-C1-C4-alquilo-C1-C6, en particular, terc-butoxicarbonilaminopropilo, terc-butoxicarbonilaminobutilo, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)amino-alquilo-C1-C6, en particular, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)aminopropilo, 9-fluorenilmetoxicarbonil(Fmoc)aminobutilo, alquenilo-C2-C8, en particular, vinilo, alilo, butenilo, cicloalquilo-C3-C7, en particular, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, cicloalquilo-C3-C7-alquilo-C1-C4, en particular, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, cicloheptilmetilo, bencilo, bencilo sustituido, fenilo, fenil-alquilo-C1-C4, en particular, fenilmetilo que puede estar opcionalmente sustituido por radicales del grupo que consiste en halógeno, en particular, flúor, cloro, bromo o yodo.

El término “lento” especialmente significa y/o incluye que la solución de agente de acoplamiento se agrega a una tasa de ≤ 2 (mol)-% por minuto, preferentemente ≤ 1 (mol)-% por minuto más preferido $\leq 0,5$ (mol)-% por minuto.

En el método de acuerdo con la invención se encontró sorprendentemente que los depsipéptidos cíclicos (I), en particular, emodepsida y estructuras estrechamente relacionadas, pueden sintetizarse en grandes rendimientos totales. Sin limitarse a ninguna teoría, los inventores consideran que esto se debe a la escasa solubilidad del depsipéptido cíclico (I) en el solvente en contraste a la forma abierta (IIb).

El término “valor $E_T(30)$ ” se refiere a $E_T(30)$ de acuerdo con Reichardt, *Angew. Chem.* 1979,119-131, donde se enumera un método para determinar tales valores y los valores medidos para varios solventes estándar.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, el valor $E_T(30)$ del solvente es ≥ 34 y ≤ 39 .

El término “solvente” en el sentido de la presente invención también incluirá una mezcla de solventes.

5 De acuerdo con una modalidad de la presente invención, el solvente comprende acetato de etilo, de acuerdo con una modalidad de la presente invención, el solvente es acetato de etilo.

Los agentes de acoplamiento adecuados que son modalidades de la presente invención se brindan anteriormente. De acuerdo con una modalidad de la presente
10 invención, el agente de acoplamiento comprende T3P, de acuerdo con una modalidad de la presente invención, el agente de acoplamiento es T3P.

De acuerdo con una modalidad, la relación de agente de acoplamiento a compuesto (IIc) antes de la reacción (en mol:mol) es $\geq 1:1$ a $\leq 5:1$, preferentemente $\geq 2:1$ a $\leq 3:1$.

15 De acuerdo con una modalidad, la relación de base a compuesto (IIb) antes de la reacción (en mol:mol) es $\geq 2:1$ a $\leq 10:1$, preferentemente $\geq 4:1$ a $\leq 6:1$.

Bases adecuadas que en la medida sean modalidades de la presente invención comprenden *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA), Trietilamina, Dimetilaminopiridina (DMAP), *N*-metilmorfolina, piridina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-
20 diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN) o mezclas de estos. Más preferido es *N,N*-diisopropiletilamina.

De acuerdo con una modalidad, la temperatura durante la adición del agente de acoplamiento es ≤ 25 °C.

En una modalidad del método de acuerdo con la invención *x* es 1, *y* es 1, R1, R4, R7 y R10 son metilo, R6 y R12 son metilo, R5 y R11 son, independientemente uno del otro, alquilo-C1-C4 de cadena recta o ramificada o alquilo-C1-C4 halogenado de
25 cadena recta o ramificada y R3 y R9 son, independientemente uno del otro, bencilo o bencilo sustituido. De acuerdo con una modalidad de la invención preferida, R3 y/o R9 son bencilo sustituido con *p*-morfolino.

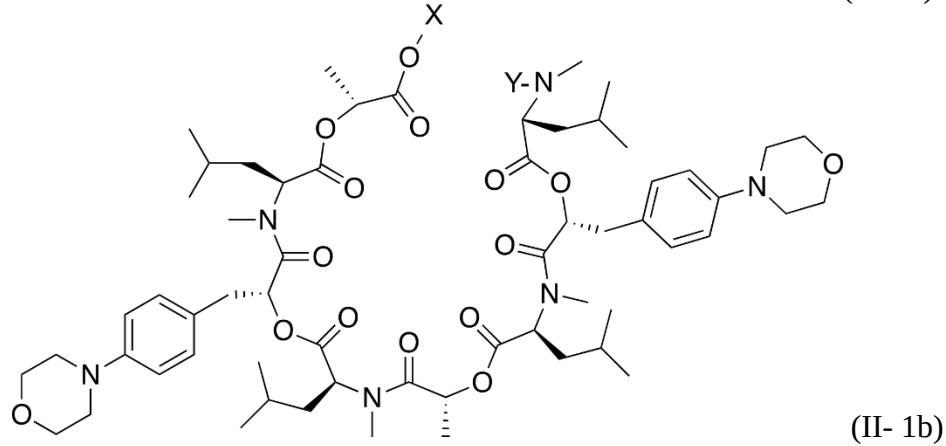
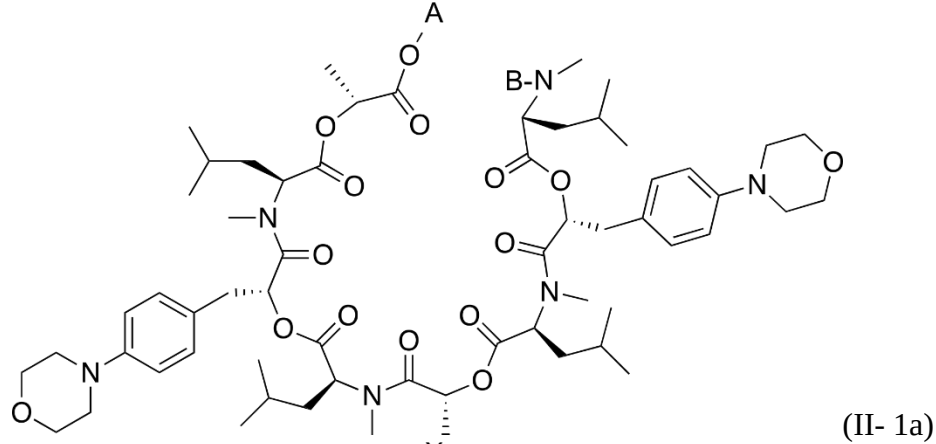
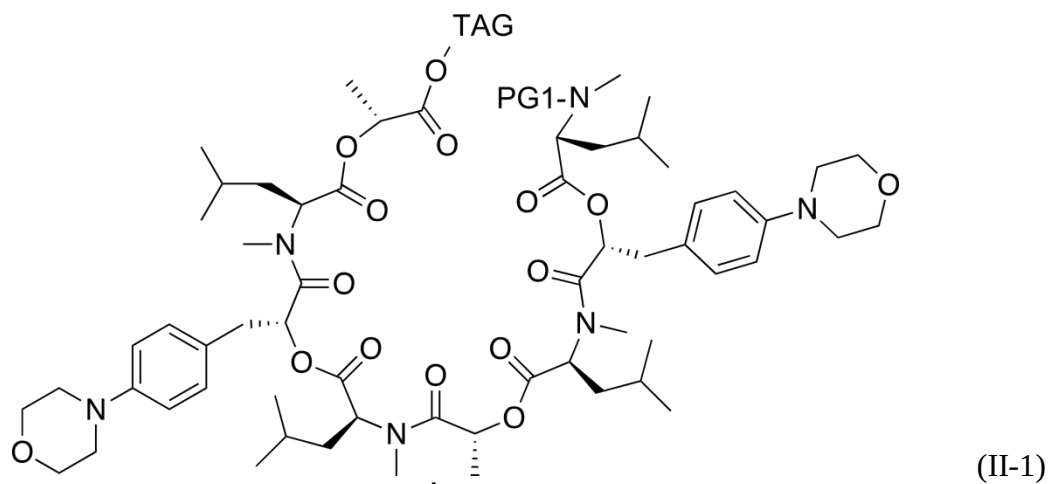
30 En una modalidad del método de acuerdo con la invención R3 y R9 son idénticos, R1 y R7 son idénticos, R2 y R8 son idénticos, R4 y R10 son idénticos, R5 y R11 son idénticos y R6 y R12 son idénticos.

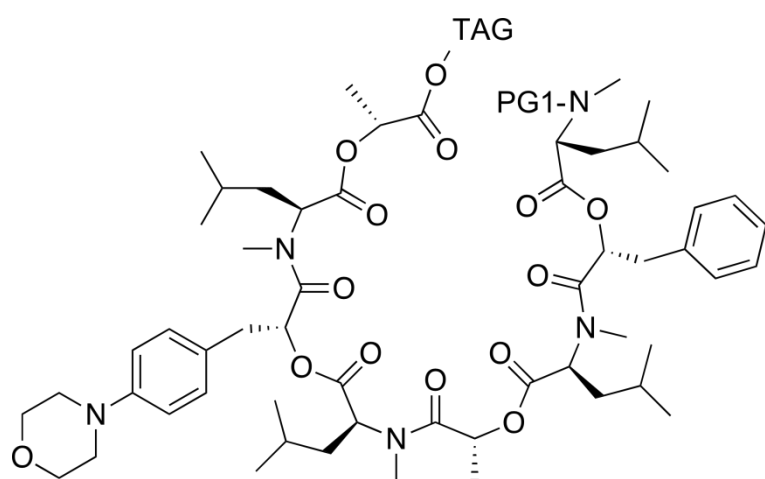
De acuerdo con una modalidad preferida de la presente invención, el compuesto IIb se sintetiza del compuesto II o IIa al desproteger los grupos protectores A y B o X e
35 Y respectivamente. El Compuesto IIb puede aislarse o usarse in situ para sintetizar el

depsipéptido (I).

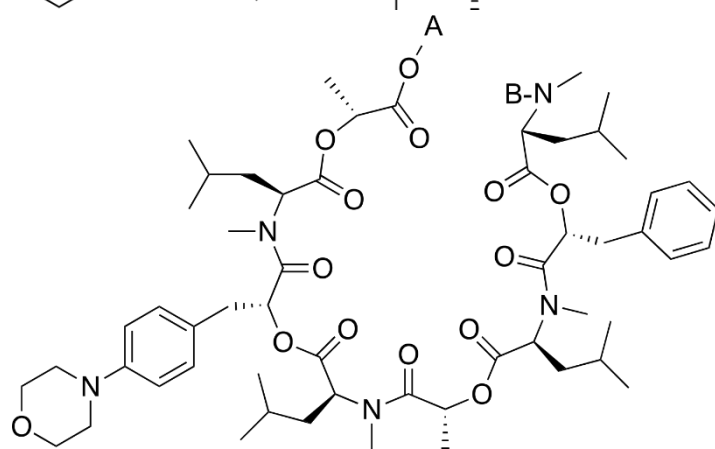
La presente invención también se refiere a un depsipéptido cíclico o lineal que se selecciona de una de las fórmulas generales (II-1) a (II-14b) o (I-1) a (I-9) como se describe más adelante o una sal farmacéuticamente o veterinariamente aceptable de estos:

5

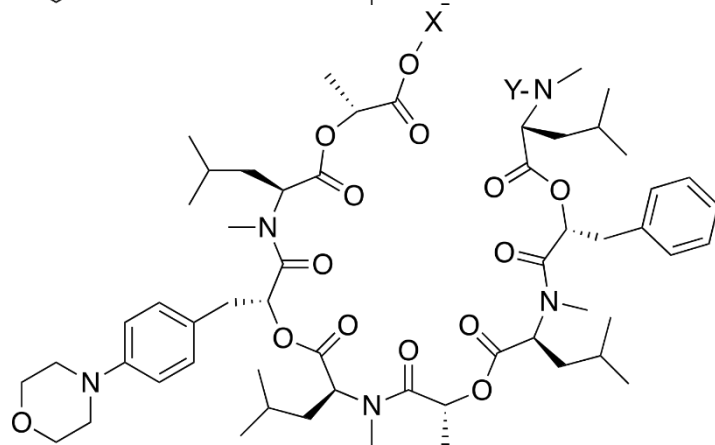




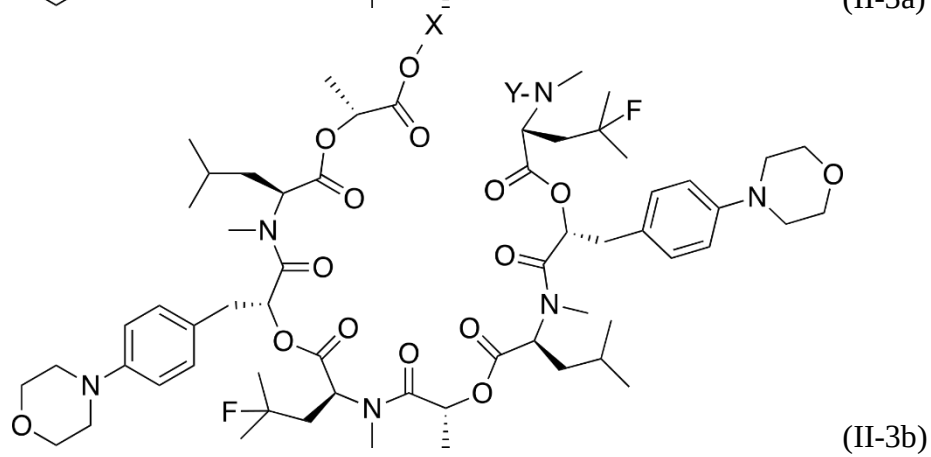
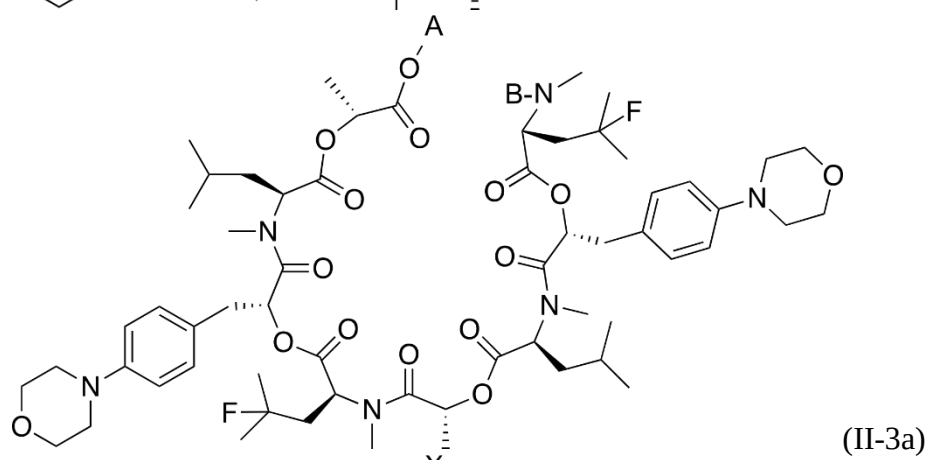
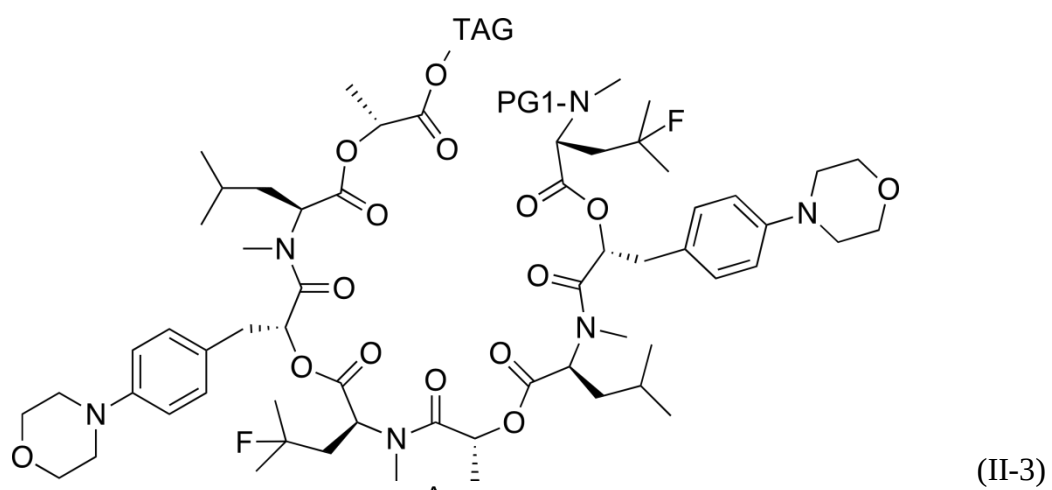
(II-2)

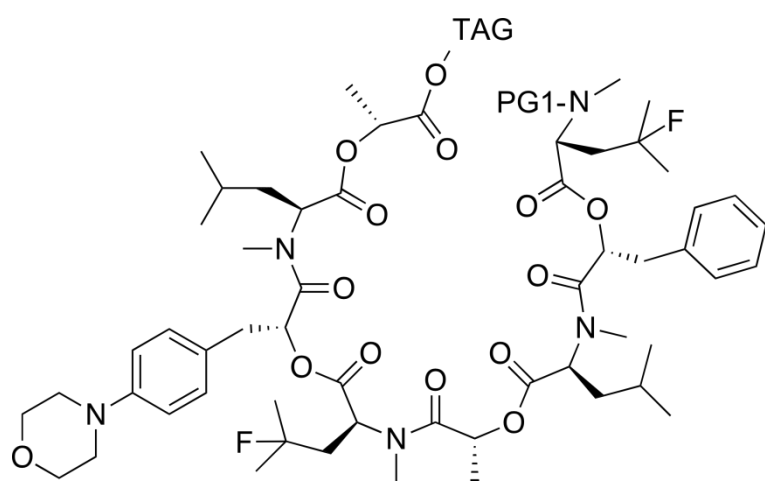


(II-2a)

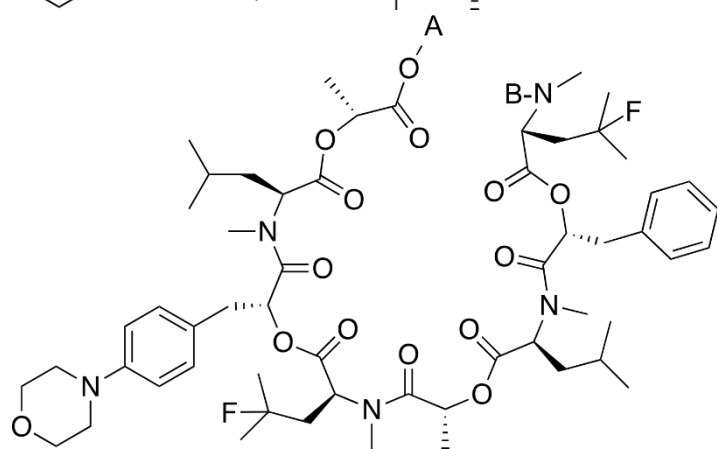


(II- 2b)

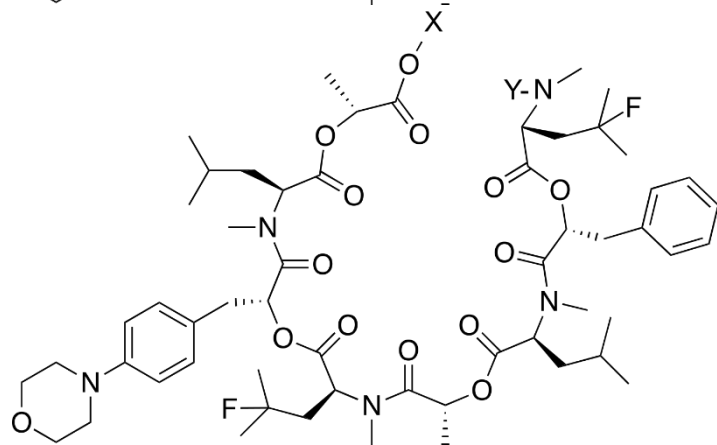




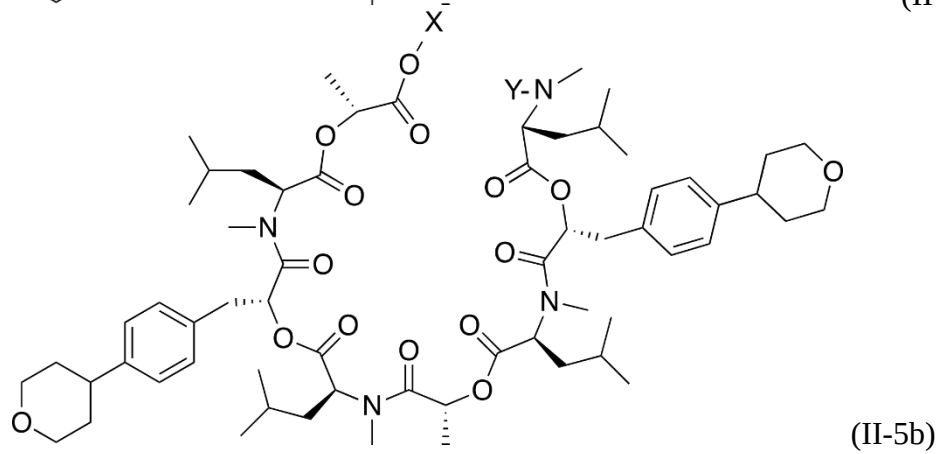
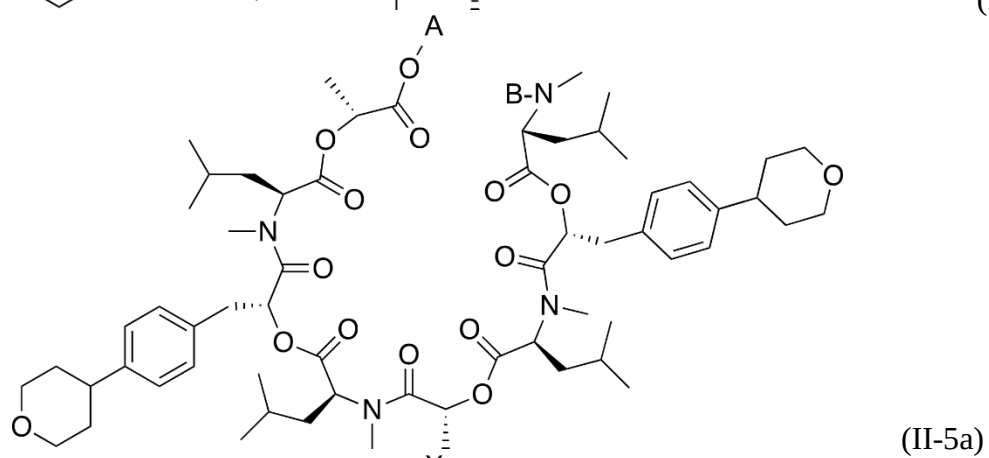
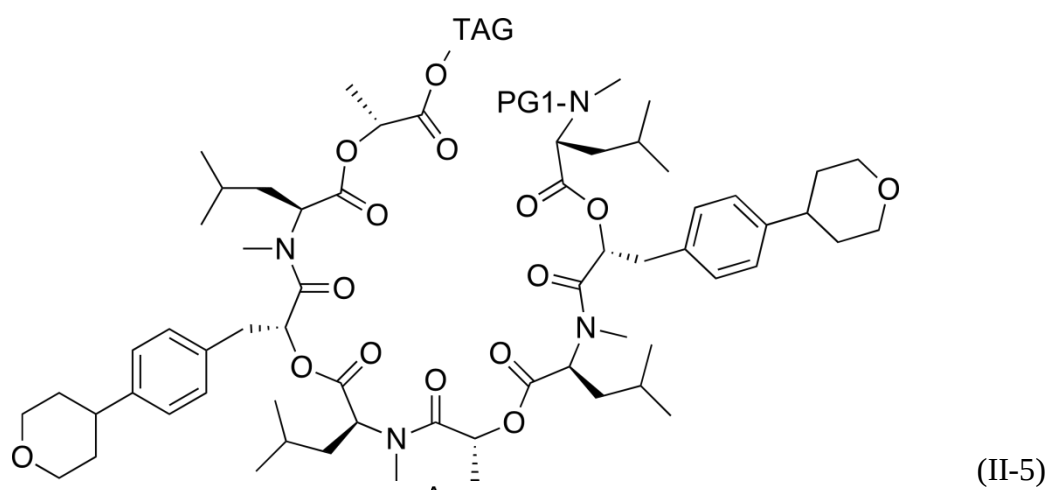
(II-4)

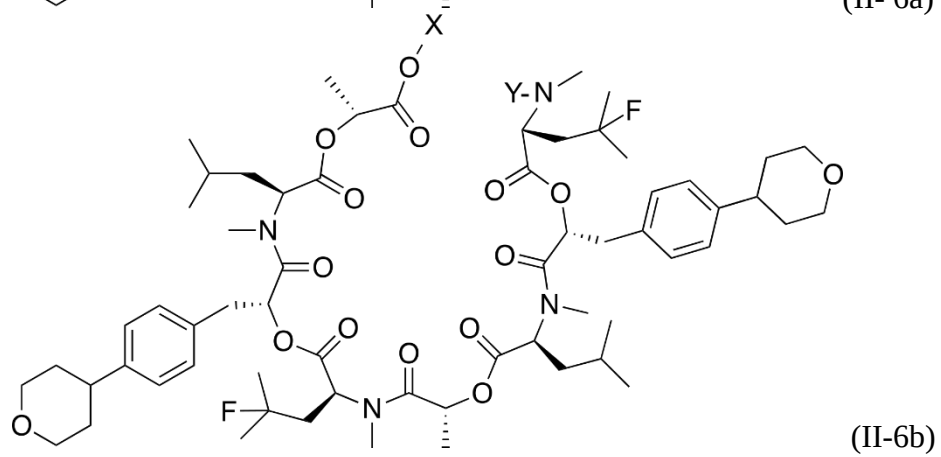
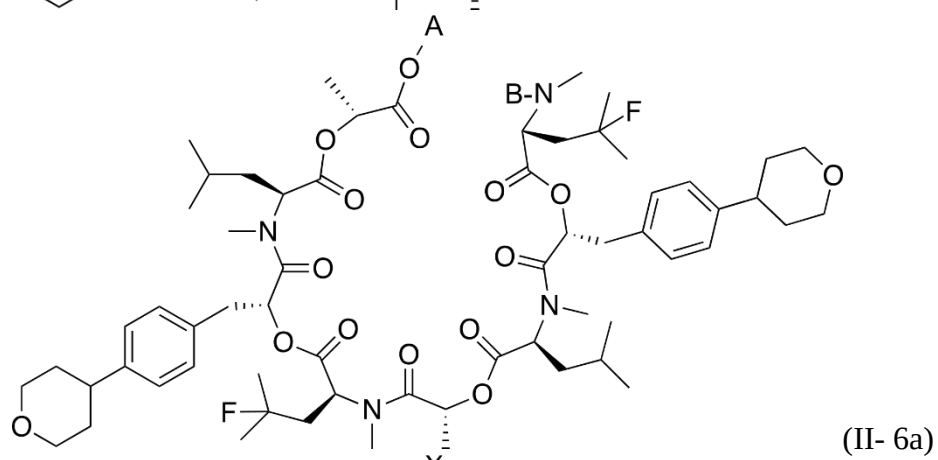
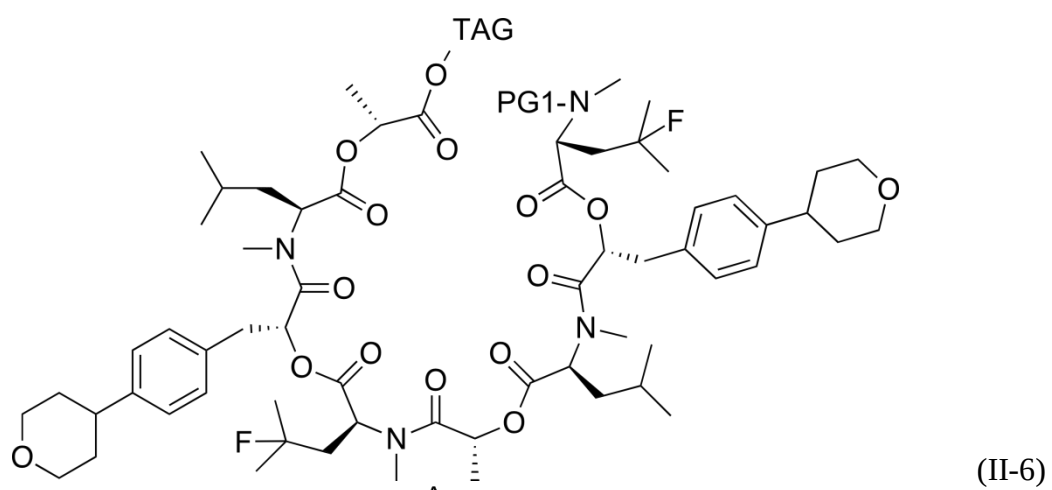


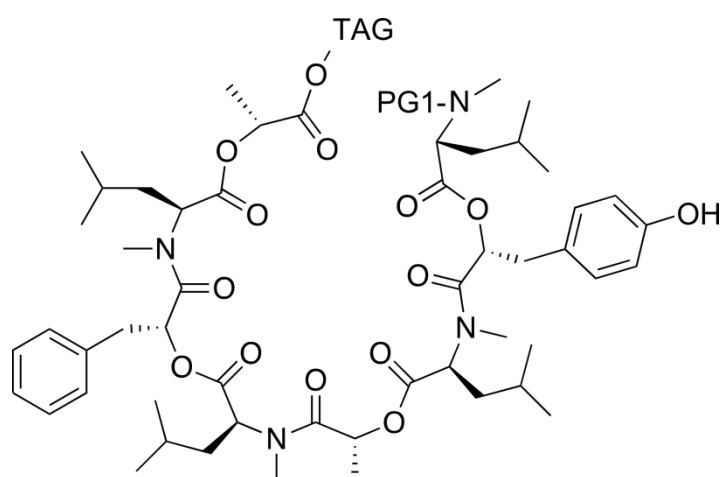
(II-4a)



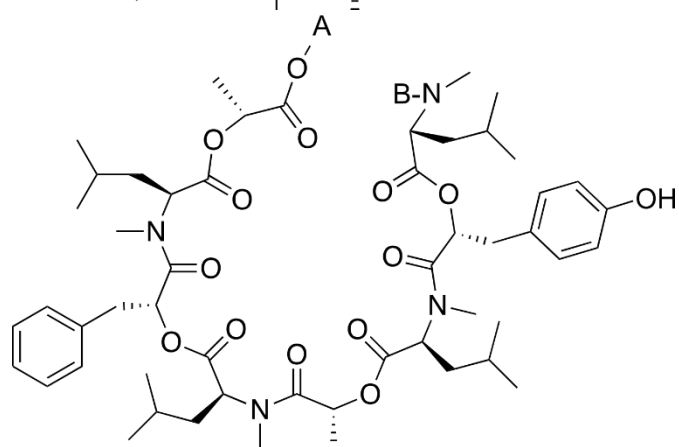
(II-4b)



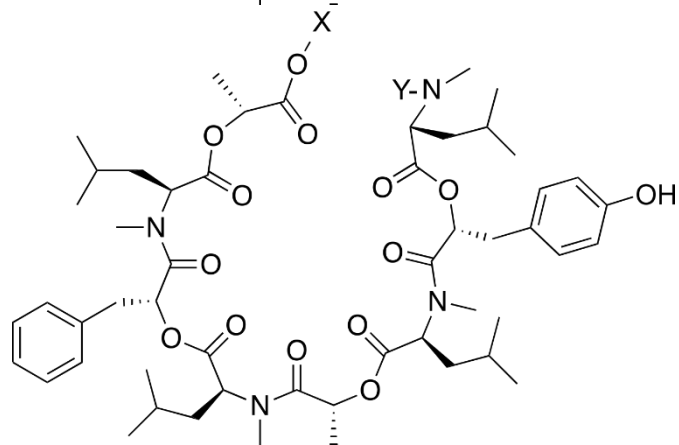




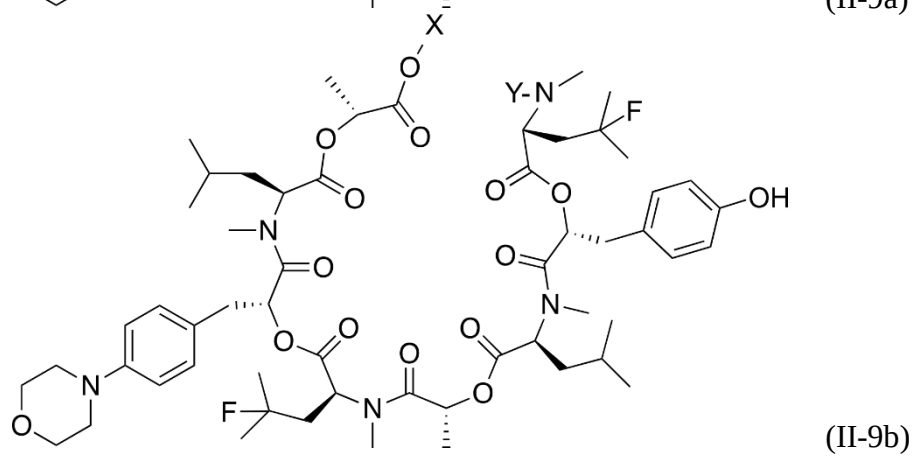
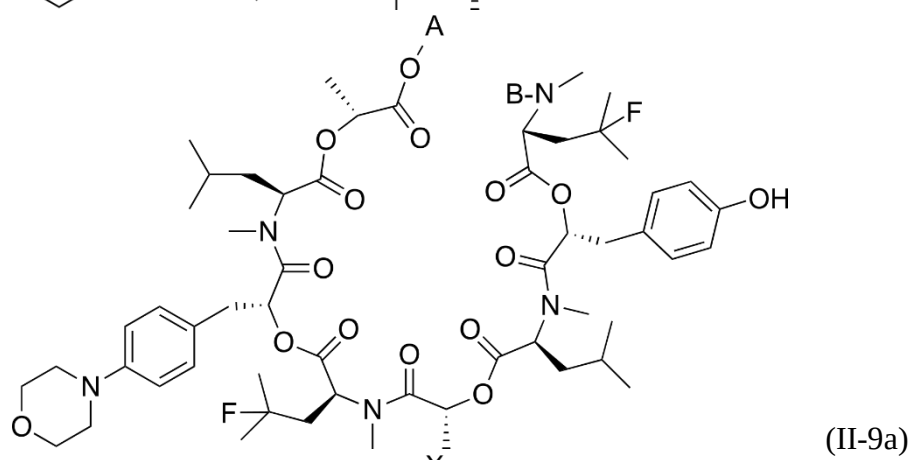
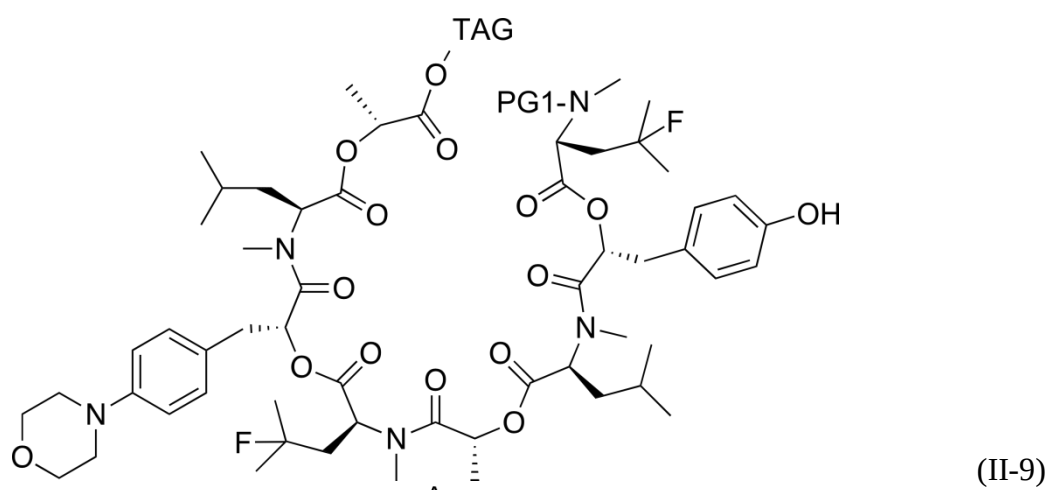
(II-8)

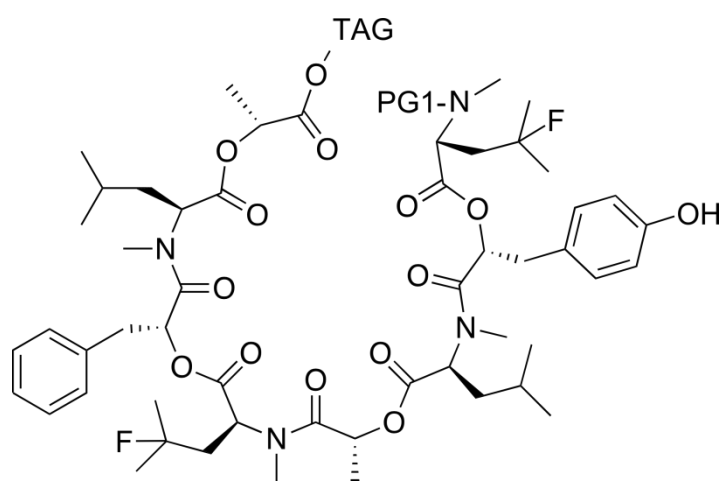


(II-8a)

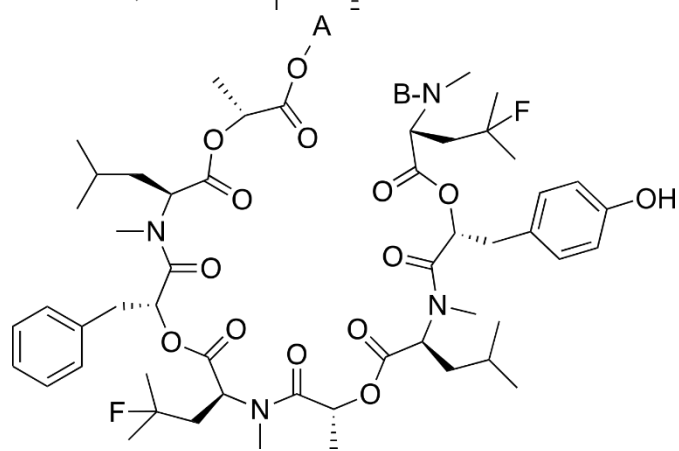


(II-8b)

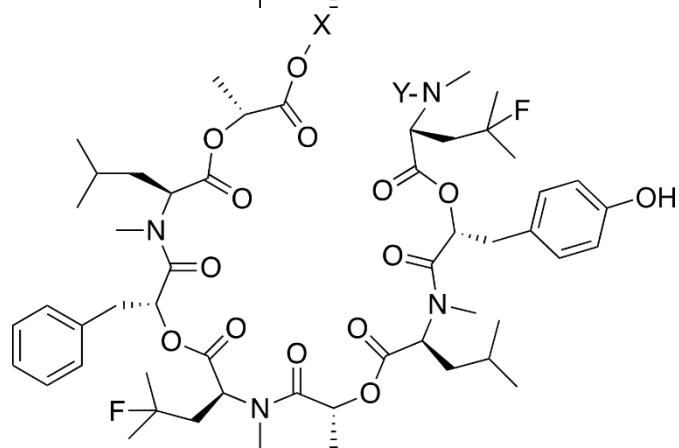




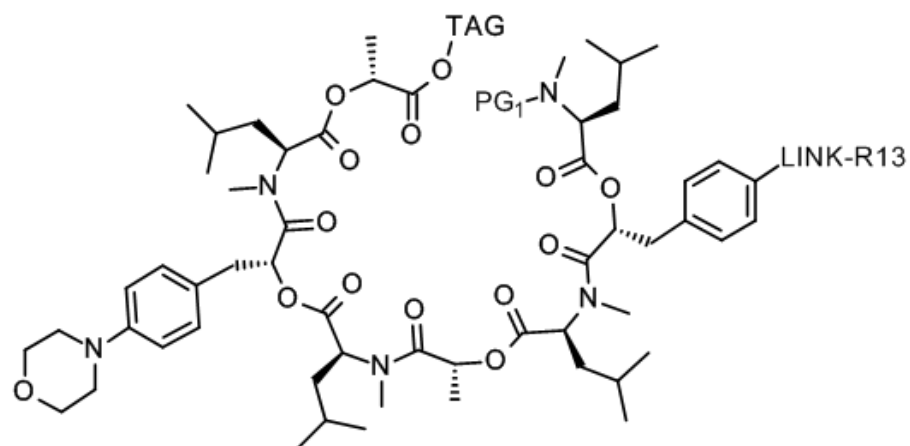
(II-10)



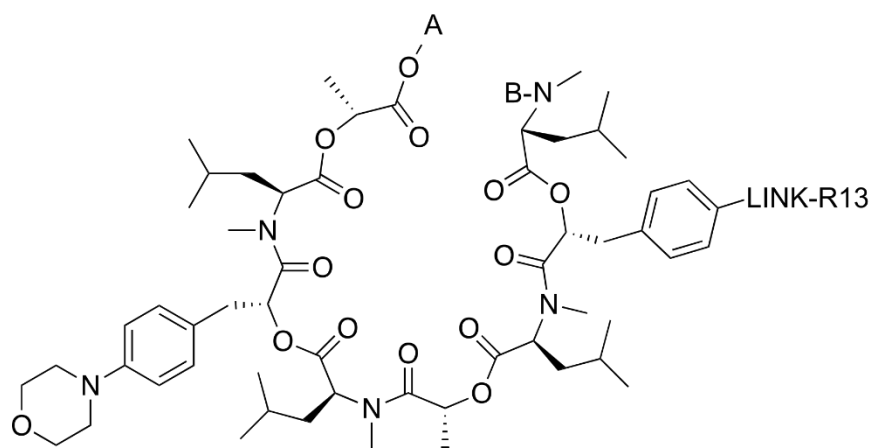
(II-10a)



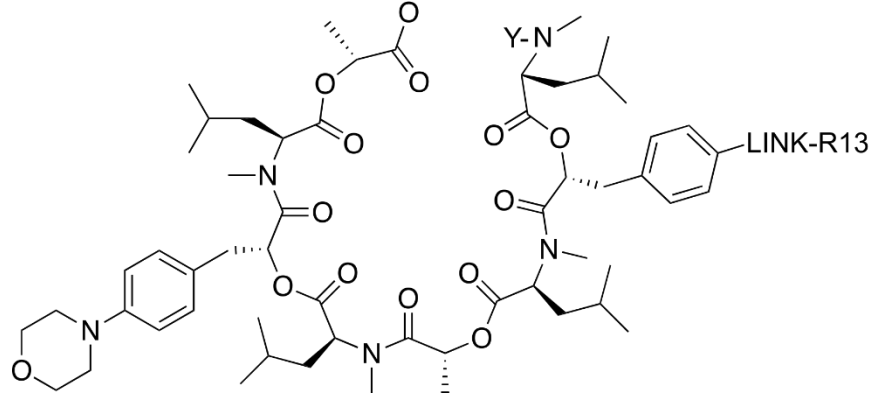
(II-10b)



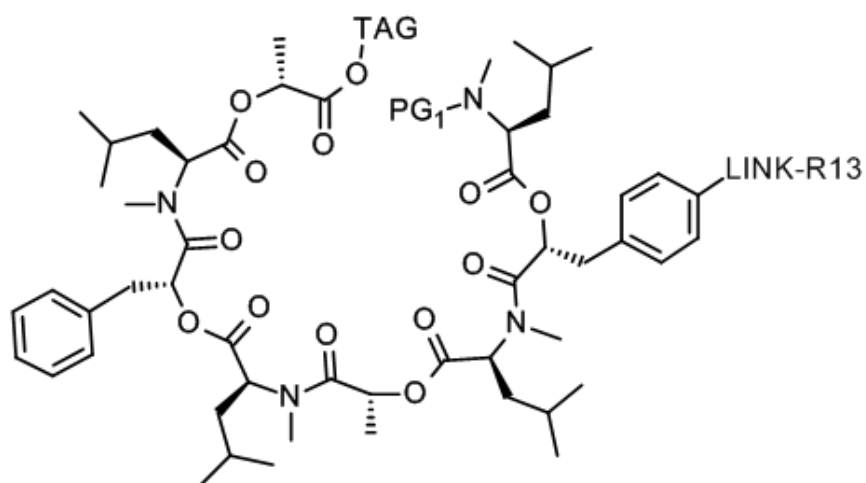
(II-11)



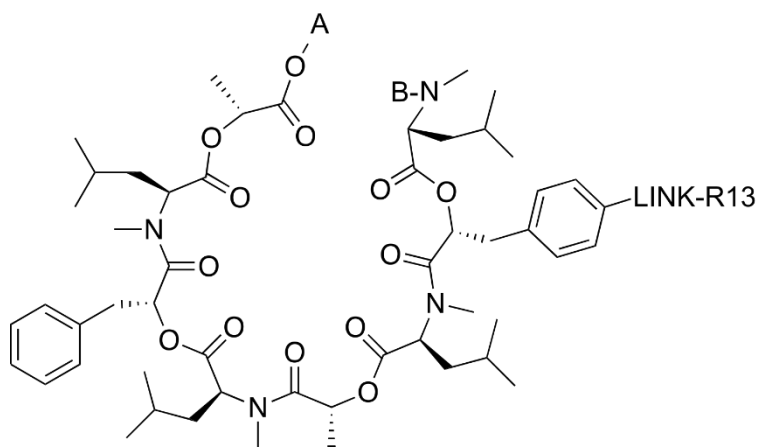
(II-11a)



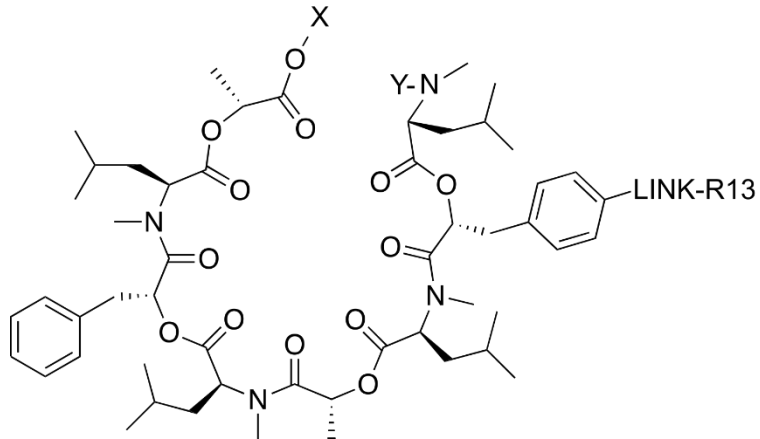
(II-11b)



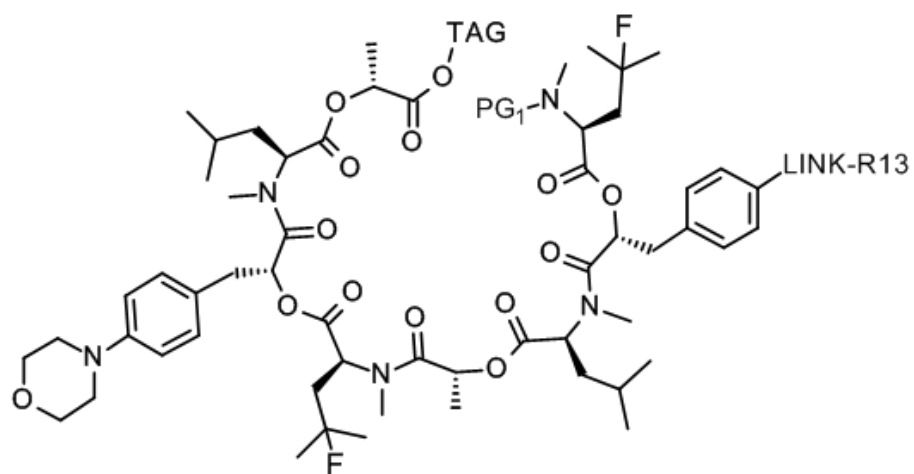
(II-12)



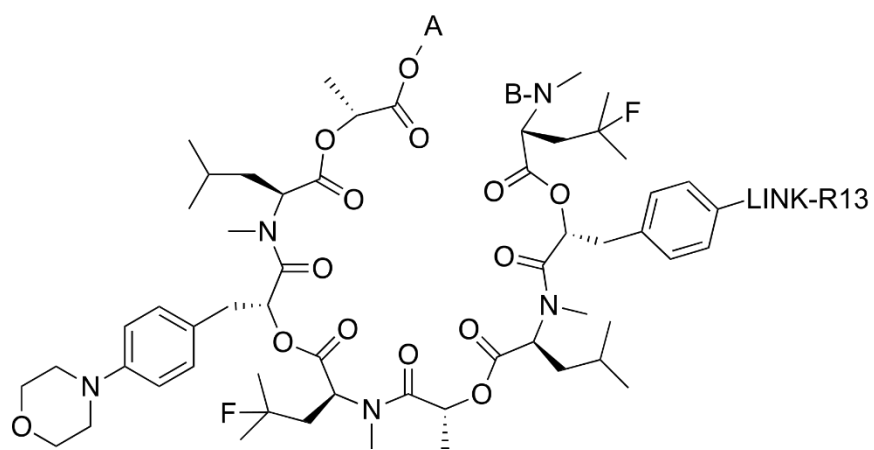
(II-12a)



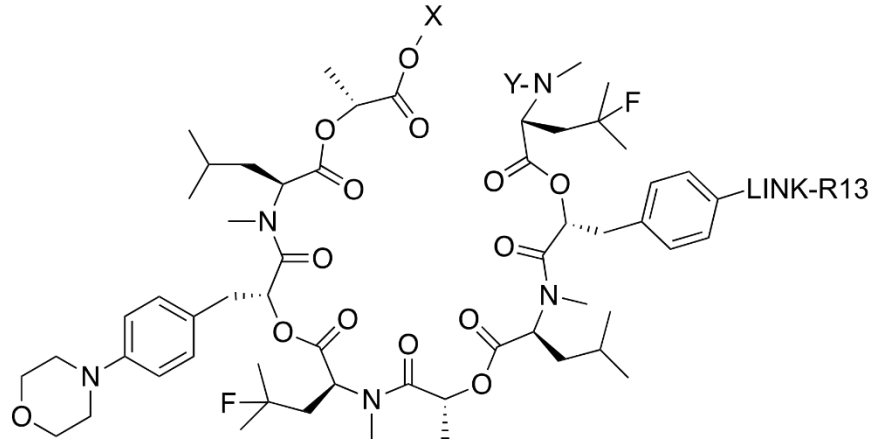
(II-12b)



(II-13)



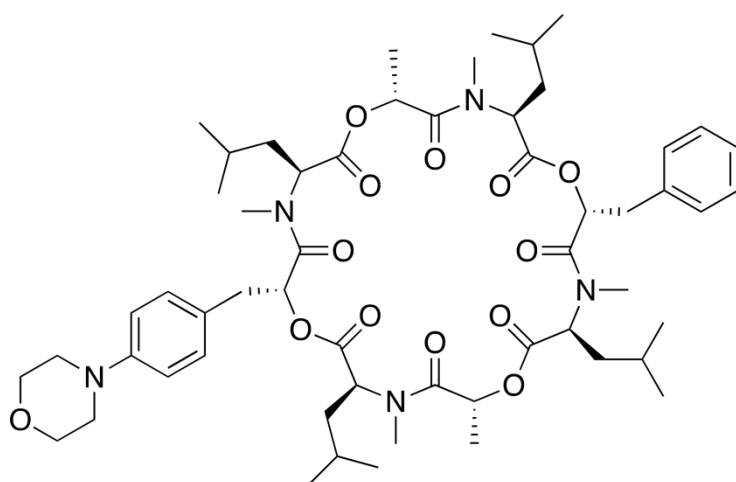
(II-13a)



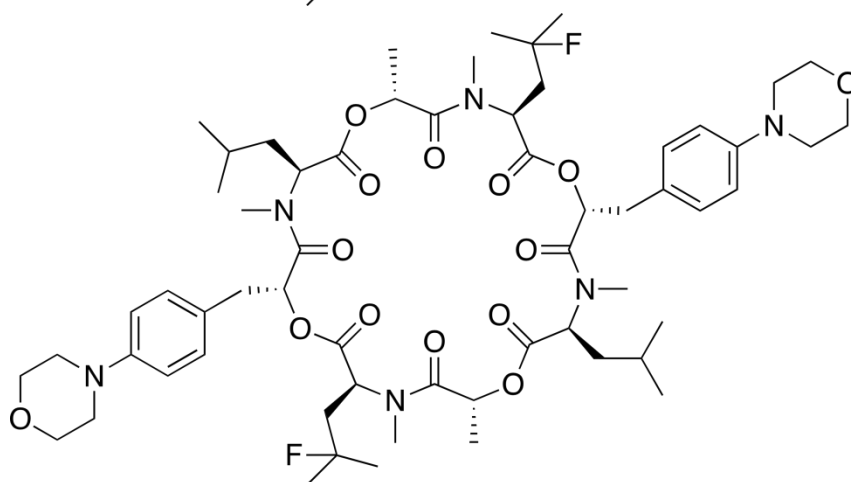
(II-13b)

The chemical structure shows a complex molecule, likely a peptide derivative. It features a central amide bond. On the left, there is a benzyl group attached to a chiral center. This is followed by a fluorinated side chain. The central part of the molecule contains a linker labeled "O-LINK-R13". On the right, there is a fluorinated side chain and a chiral center with a methyl group. The structure is highly detailed, showing stereochemistry and various functional groups.

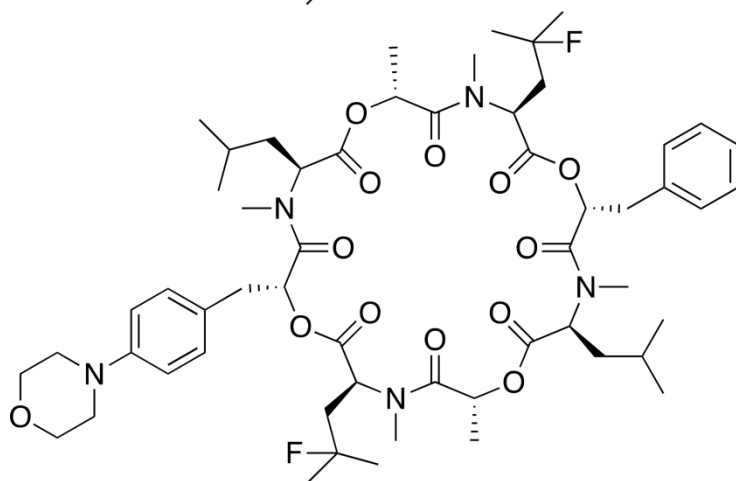
(II- 14b)



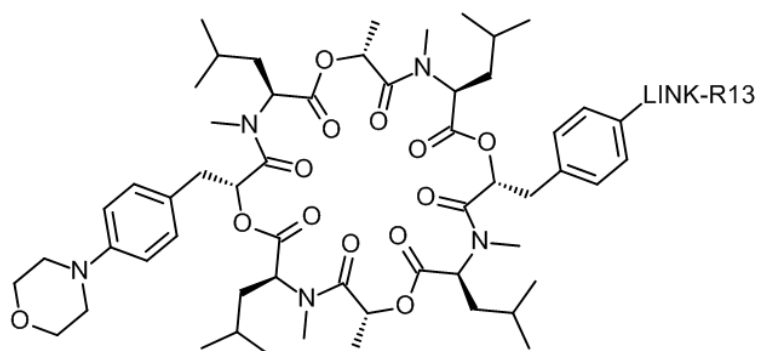
(I-1)



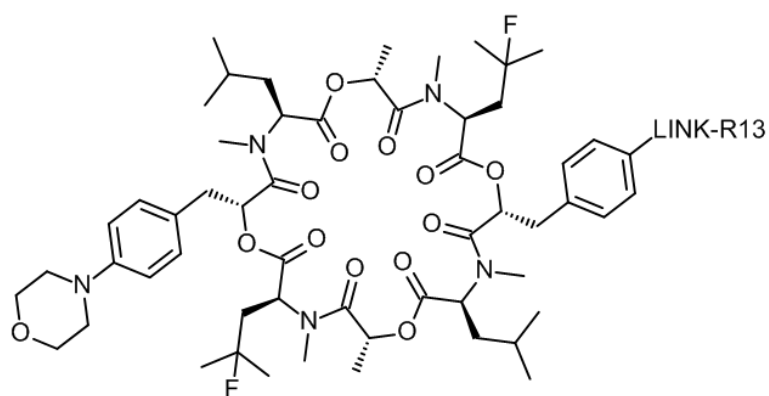
(I-2)



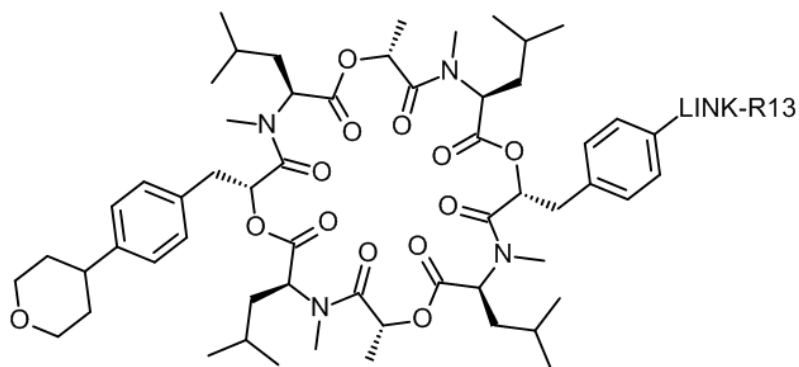
(I-3)



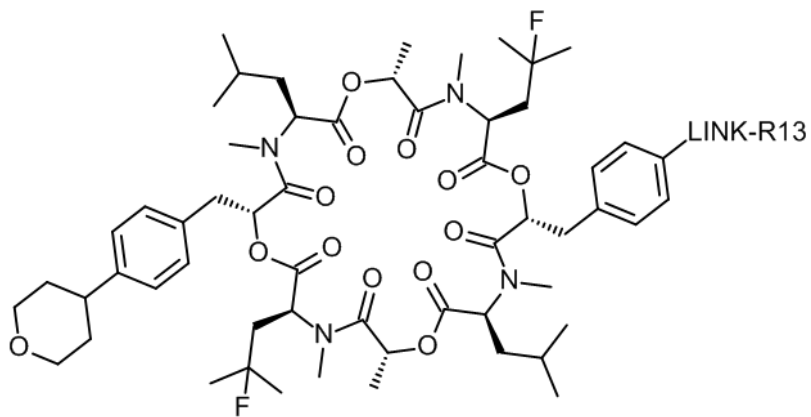
(I-4)



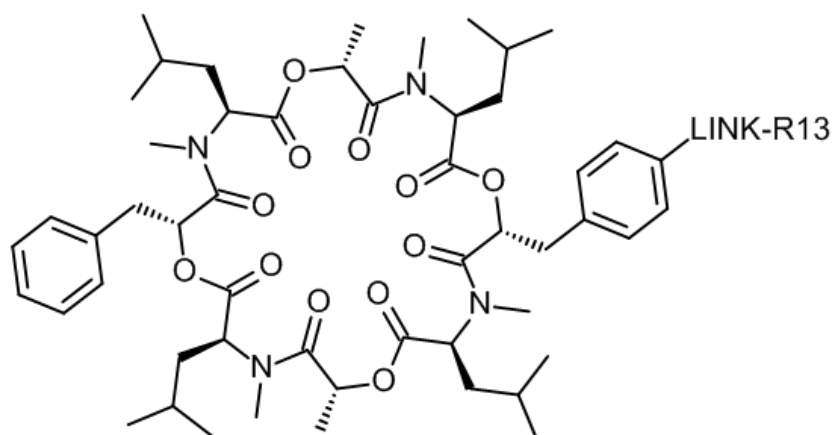
(I-5)



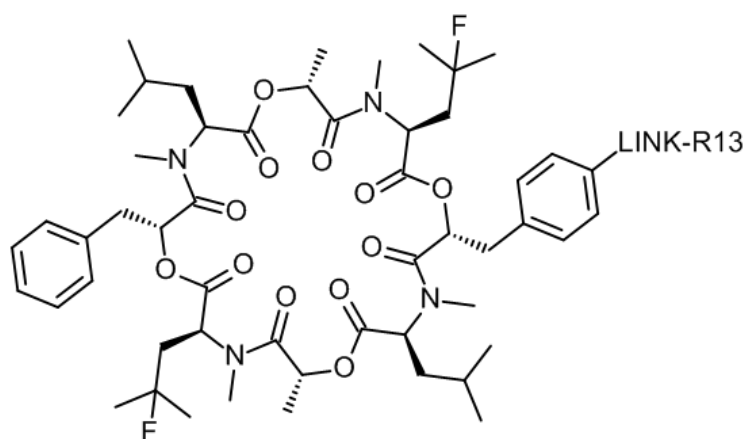
(I-6)



(I-7)



(I-8)

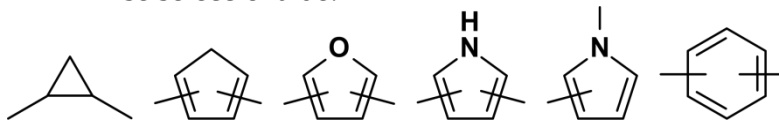


(I-9)

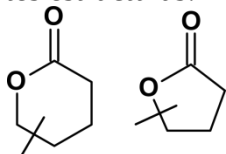
donde en las fórmulas (II-11) a (II-14) y (I-1) a (I-9), respectivamente:

A, B, X e Y son como se define anteriormente,

5 –LINK– se selecciona de:



y R13 se selecciona de SO₂NH(CH₃), SO₂NH₂, OC(O)CH₃, CF₃ o una de las siguientes estructuras:



10 Los términos "sal veterinariamente aceptable" y "sal farmacéuticamente aceptable" se usan en toda la memoria descriptiva para describir cualquier sal de los compuestos que son aceptables para administración para aplicaciones farmacéuticas o veterinarias, y que provee el compuesto activo tras la administración.

Las sales veterinariamente aceptables incluyen las derivadas de bases y ácidos

orgánicos o inorgánicos veterinariamente aceptables. Sales adecuadas incluyen las que comprenden metales alcalinos como litio, sodio o potasio, metales alcalinotérreos como calcio, magnesio y bario. Sales que comprende metales de transición que incluyen, de modo no taxativo, manganeso, cobre, zinc y hierro también son adecuados. Asimismo, las sales que comprenden cationes de amonio así como también cationes de amonio sustituidos, donde uno o más de los átomos de hidrógeno se remplazan por grupos alquilo o arilo están comprendidas por la invención. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos que incluyen, de modo no taxativo, ácidos hidroháluros (HCl, HBr, HF, HI), ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares son particularmente adecuados. Sales inorgánicas adecuadas también incluyen, de modo no taxativo, sales de bicarbonato, y carbonato. En algunas modalidades, ejemplos de sales veterinariamente y agrícola-mente aceptables son sales de adición de ácido orgánico formadas con ácidos orgánicos que incluyen, de modo no taxativo, maleato, dimaleato, fumarato, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartarato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato, y α -glicerofosfato. Por supuesto, pueden usarse otros ácidos orgánicos aceptables.

Las sales de metal alcalino (por ejemplo, sodio, potasio o litio) o metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio) de los compuestos pueden también realizarse haciendo reaccionar un residuo lo suficientemente ácido en los compuestos con un hidróxido del metal alcalino o metal alcalinotérreo.

Las sales veterinariamente aceptables pueden obtenerse usando procedimientos estándar conocidos en la técnica, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto lo suficientemente básico como una amina con un grupo funcional adecuadamente ácido presente en el compuesto, o haciendo reaccionar un ácido adecuado con un grupo funcional adecuadamente básico en los compuestos de la invención.

Ejemplos

La presente invención se describe adicionalmente mediante referencia a los siguientes ejemplos sin pretender limitarse por estos.

5 1. Método general

Los elementos básicos de partida se prepararon a partir de reactivos comercialmente disponibles. A menos que se especifique de otro modo, los reactivos y solventes se obtuvieron de proveedores comerciales de alta calidad y se usaron sin purificación adicional. Metanol y tolueno seco, CH₂Cl₂ se obtuvieron de Kanto Chemical Co., Inc. Todas las reacciones se monitorearon por cromatografía de capa fina (TLC) usando placas pre-recubiertas con gel de sílice Merck 60 F254 (0,25 mm). La cromatografía ultrarrápida se llevó a cabo con gel de sílice Kanto Chemical (Kanto Chemical, gel de sílice 60 N, esférico neutro, 0,040–0,050 mm, Cat.-No. 37563–84). Los espectros ¹H y ¹³C NMR se registraron en JEOL JNM-ECA-500 (500 MHz para ¹H-NMR y 125 MHz para ¹³C-NMR). Los giros químicos se expresan en ppm posterior a los picos de solvente interno para CDCl₃ (¹H; δ = 7,26 ppm, ¹³C; δ = 77,0 ppm), CD₃OD (¹H; δ = 3,31 ppm, ¹³C; δ = 49,0 ppm) y los valores *J* se expresan en Hertz. Las siguientes abreviaturas se usaron para explicar las multiplicidades: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, dd = doblete doble, ddd = doblete doble, dt = triplete doble, dq = cuartete doble, m = multiplete, br = amplio. Todos los espectros infrarrojos se midieron en un espectrómetro Horiba FT-210. Los espectros de masas de alta y baja resolución se midieron en JEOL JMS-AX505 HA, JEOL JMS-700 MStation y JEOL JMS-T100LP. Las rotaciones ópticas se midieron usando el polarímetro JASCO P-1010. Los puntos de fusión se midieron en un aparato YANACO MP-500P o OptiMelt (Stanford Research Systems).

Método general para desprotección Fmoc

El sustrato protegido Fmoc se disolvió en 5 % piperidina/CH₂Cl₂ (generalmente 0,05 M para sustrato) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió posteriormente hasta –5 °C y se agregó MeOH (exceso 30 quintuplo de solución de reacción). La solución heterogénea resultante se agitó durante otros 30 min a –5 °C, y el precipitado incoloro se filtró y lavó con más MeOH para proporcionar la correspondiente amina como un polvo incoloro.

Método general para la escisión de la función TAGa

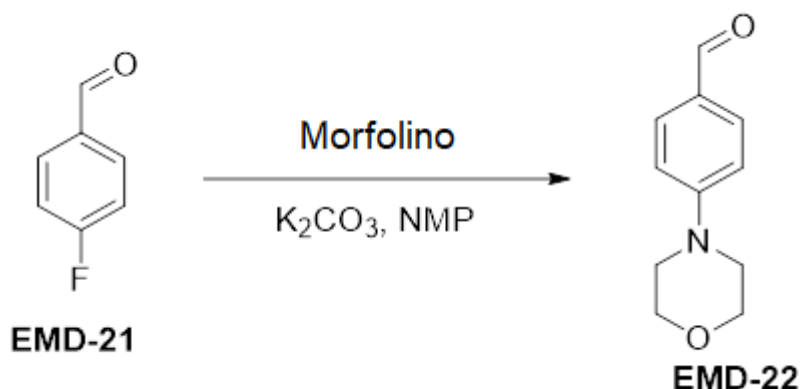
Los sustratos etiquetados con TAGa disueltos en 50 % TFA/CH₂Cl₂ (0,05 M por sustrato) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante generalmente 1 h. La

mezcla de reacción se concentró posteriormente con tolueno (x 3) para retirar TFA. A un matraz se agregó luego CH_2Cl_2 a $-5\text{ }^\circ\text{C}$, luego se agregó MeOH (exceso quíntuplo de CH_2Cl_2). La solución heterogénea resultante se agitó durante otros 30 min a $-5\text{ }^\circ\text{C}$, y el precipitado incoloro se filtró y lavó con más MeOH. Los filtrados combinados se concentraron al vacío. Al producto resultante se agregó 4 M HCl/Dioxano (0,05 M por producto) y se concentró con tolueno (x 3) para proporcionar el correspondiente ácido carboxílico como un aceite generalmente pardo. El material bruto se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

producto) y se concentró con tolueno (x 3) para proporcionar el correspondiente ácido carboxílico como un aceite generalmente pardo. El material bruto se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

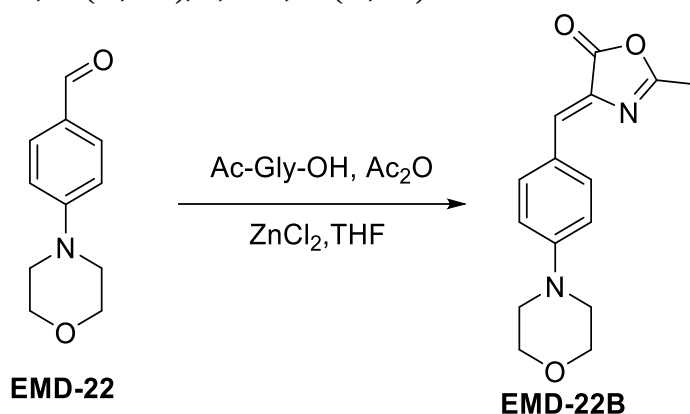
2. Síntesis de emodepsida

A continuación se describe la síntesis de emodepsida, usando el compuesto Bencil (R)-2-hidroxi-3-(4-morfolinofenil)propanoato (denominado EMD-8) que se sintetiza de p-fluoruro benzaldehído de acuerdo con el esquema de la Fig. 1. Usando este compuesto, la emodepsida se sintetizó de acuerdo con el esquema de la Fig. 2.

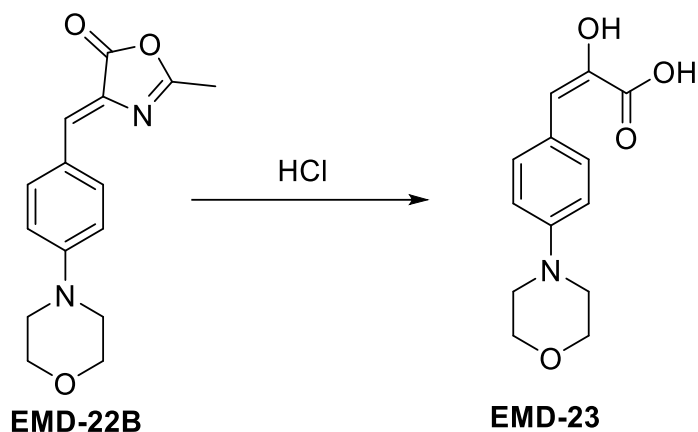


4-Morfolinobenzaldehído (EMD-22): En un reactor de 100 l, se colocó una solución de 4-fluorobenzaldehído (EMD-21, 3,6 kg, 29,0 mol, 1,0 eq) en 1-metil-2-pirrolidina (36 l, 10,0 V), morfolina (7,6 kg, 87 mol, 3,0 eq), K_2CO_3 (10,0 kg, 72,5 mol, 2,5 eq). La mezcla resultante se agitó al menos durante 6 h a $125\sim 130\text{ }^\circ\text{C}$. La reacción se monitoreó por TLC hasta no haber más EMD-21. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (18 l, 5 V), H_2O (72 l, 20 V), y se separó. La fase de agua se extrajo con acetato de etilo (18 l x 2) y se combinó la fase orgánica, y se lavó con H_2O (36,0 l x 3). Los extractos orgánicos se concentraron al vacío a menos de $45\text{ }^\circ\text{C}$ hasta no haber más destilado. El residuo se eluyó con heptano/acetato de etilo (5:1, v/v, 7,2 l) y se

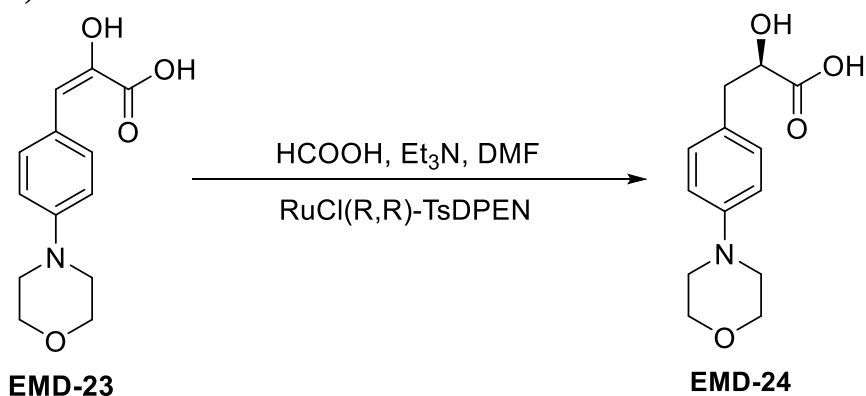
concentró al vacío a menos de 45 °C. Luego, al residuo anterior se agregó heptano/acetato de etilo (5:1, v/v, 21,6 l) a 20~25 °C. La solución se agitó a 20~25 °C durante 16 h. La mezcla se filtró, y la torta de filtrado se lavó con heptano (7,3 l). Los sólidos se secaron al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 4,67 kg (84,8 %) de 4-Morfolinobenzaldehído (EMD-22) como un sólido amarillo. MS (ES, m/z): 192 (M+H); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 9,74 (s, 1H), 7,74 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,07(d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,75-3,74 (m, 4H), 3,35-3,33 (m, 4H).



(Z)-2-metil-4-(4-morfolinobencilideno)oxazol-5(4H)-ona (EMD-22B): En un reactor de 100 l, se colocó una solución de *N*-acetilglicina (1,22 kg, 10,46 mol, 1,0 eq) en tetrahidrofurano (20 l, 10 V), anhídrido acético (3,2 kg, 31,38 mol, 3,0 eq), cloruro de zinc(II) (1,48 kg, 10,46 mol, 1,0 eq). La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 1 h y se agregó EMD-22 (2,0 kg, 10,46 mol, 1,0 eq). Luego, la mezcla se agitó a 70 °C durante otras 16 h y se monitoreó por LCMS. Luego de enfriarse hasta 20~25 °C, se agregó H₂O (40 l). Luego, la mezcla se agitó a 0~5 °C durante 3 h y se filtró. La torta de filtrado se lavó con H₂O (10 l), y se secó al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 2,29 kg (80,4 %) de (Z)-2-metil-4-(4-morfolinobencilideno)oxazol-5(4H)-ona (EMD-22B) como un sólido pardo. MS (ES, m/z): 273 (M+H); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 7,84 (s, 1H), 7,47(d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,02(d, J = 9,1 Hz, 2H), 3,74-3,71 (m, 4H), 3,32-3,27 (m, 4H).



Ácido (*E*)-2-hidroxi-3-(4-morfolinofenil)acrílico (EMD-23): En un reactor de 50 l, se colocó una solución de EMD-22B (2,2 kg, 8,08 mol, 1,0 eq) en 1,4-dioxano (8,8 l, 4,0 V), HCl (8,8 l, 4,0 V) a 20~25 °C. La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 3 h y se monitoreó por LCMS. Luego de enfriarse hasta 0~10 °C, la mezcla se agitó a 0~10 °C durante 16 h y se filtró. La torta de filtrado se secó al vacío a 40~45 °C, El producto bruto se eluyó con H₂O (4,4 l) y se agitó a 0~10 °C durante 2 h. La mezcla se filtró, y la torta de filtrado se secó al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 1,17 kg (56,0 %) de ácido (*E*)-2-hidroxi-3-(4-morfolinofenil)acrílico (EMD-23) como un sólido pizarra. MS (ES, *m/z*): 250 (M+H); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) 7,66 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,97(d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,35 (s, 1H), 4,05 (s, 1H, -OH), 3,77-3,74 (m, 4H), 3,19-3,16 (m, 4H).

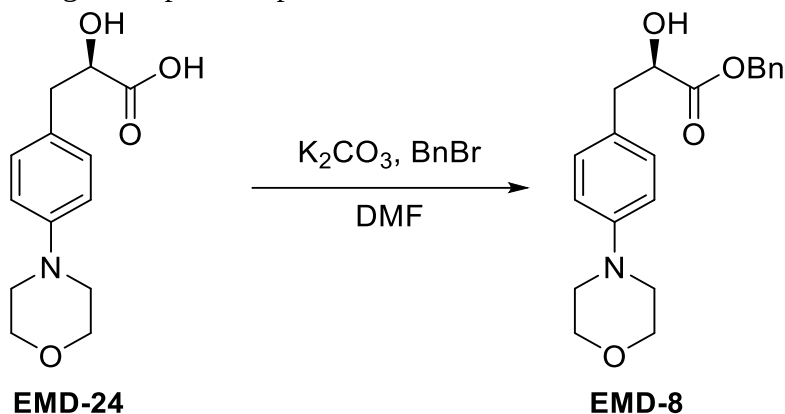


15

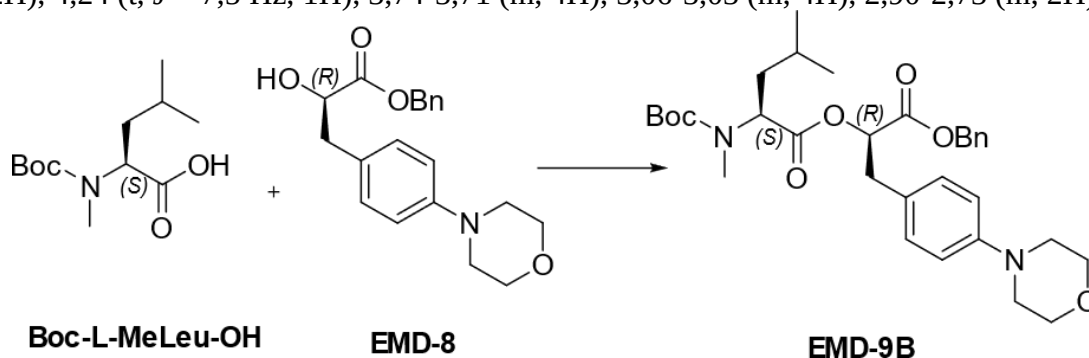
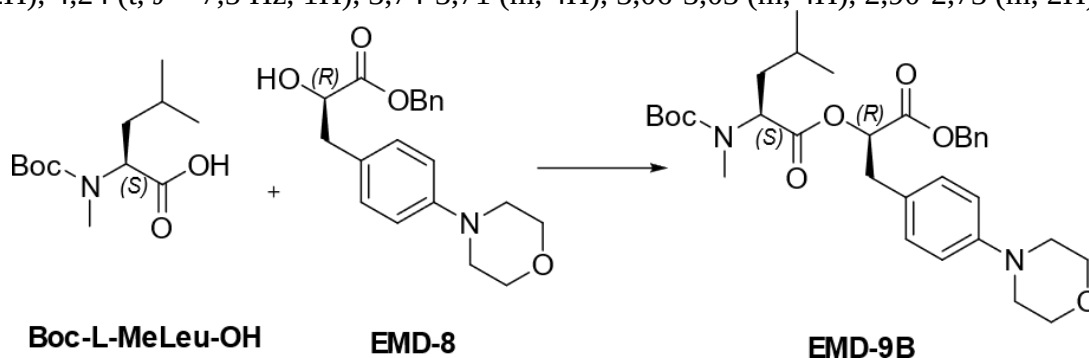
Ácido (*R*)-2-hidroxi-3-(4-morfolinofenil)propanoico (EMD-24): En un matraz de fondo redondo de 2 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó en una solución de EMD-23 (66,0 g, 0,26 mol, 1,0 eq) en *N,N*-dimetilformamida (660 ml, 10,0 V), Et₃N (107,2 g, 1,06 mol, 4,0 eq), RuCl(R,R)-TsDPEN (1,69 g, 0,0026 mol, 0,01 eq) a 20~25 °C. A la mezcla anterior se agregó ácido fórmico (36,59 g,

20

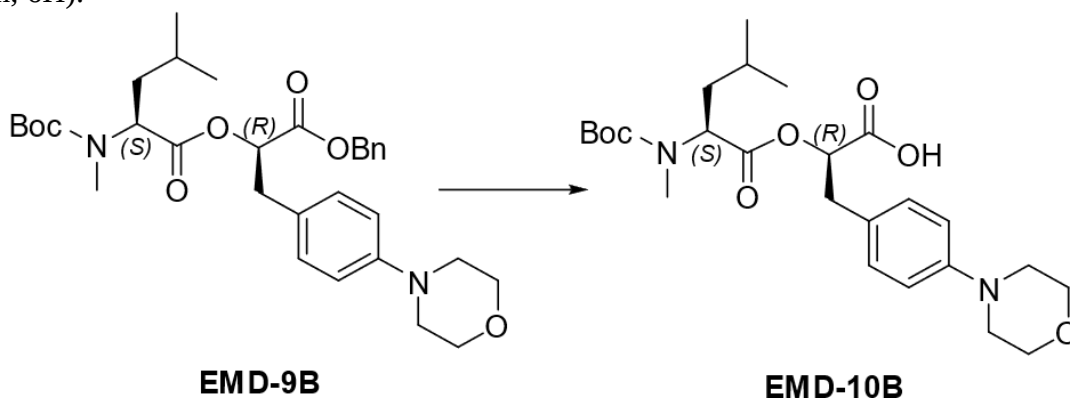
0,79 mol, 3,0 eq) gota a gota durante 2 h a 20~25 °C en atmósfera de N₂. Luego, la mezcla se agitó a 20~25 °C y se monitoreó por LCMS. La reacción se notó para M1, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.



(R)-2-hidroxi-3-(4-morfolinofenil)propanoato de bencilo (EMD-8): A una mezcla de (M1) se agregó K_2CO_3 (109,0 g, 0,78 mol, 3,0 eq) y gota a gota bromuro de bencilo (54,0 g, 0,32 mol, 1,2 eq) a 20~25 °C durante 1 h. Luego, la mezcla se agitó a 55~60 °C durante otras 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (330 ml, 5 V), H_2O (1,2 l, 20 V), y se separó. La fase de agua se extrajo con acetato de etilo (330 ml x 2) y se combinó la fase orgánica, y se lavó con H_2O (660 ml x 3). Los extractos orgánicos se concentraron al vacío a menos de 45 °C hasta no haber más destilado. El residuo se eluyó con heptano/acetato de etilo (3:1, v/v, 132 ml) y se concentró al vacío a menos de 45 °C. Luego, al residuo anterior se agregó heptano/acetato de etilo (3:1, v/v, 264 ml) a 20~25 °C. La mezcla se filtró, y la torta de filtrado se lavó con heptano (132 ml). Los sólidos se secaron al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 52 g (58 %) de (R)-2-hidroxi-3-(4-morfolinofenil)propanoato de bencilo (EMD-8) como un sólido amarillo. MS (ES, m/z): 342 (M+H); 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 7,40-7,27 (m, 5H), 7,05 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 5,17 (s, 2H), 4,24 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,74-3,71 (m, 4H), 3,06-3,03 (m, 4H), 2,90-2,73 (m, 2H).

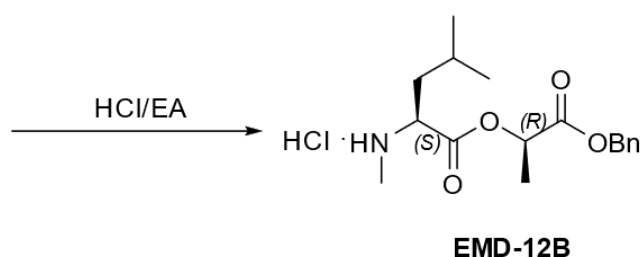
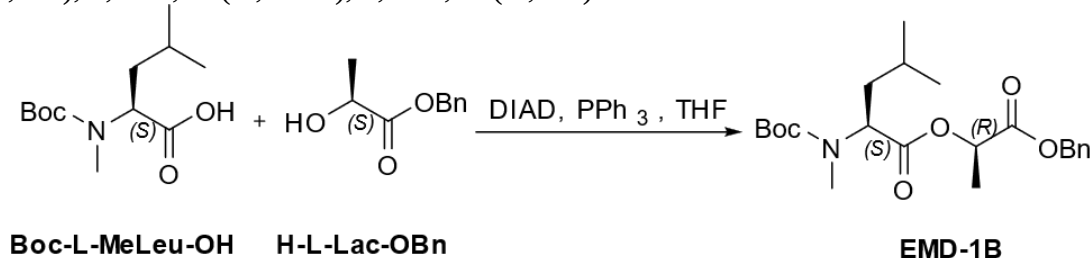


(R)-1-(benciloxi)-3-(4-morfolinofenil)-1-oxopropan-2-il-N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-leucinato (EMD-9B): En un reactor de 2 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó en una solución de EMD-8 (1,96 kg, 5,75 mol, 1,0 eq) en diclorometano (14,1 l, 10, V), *N*-(terc-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-leucina (1,41 kg, 5,75 mol, 1,0 eq), DMAP (0,77 kg, 6,32 mol, 1,1 eq), EDCI (1,21 kg, 6,32 mol, 1,1 eq) a 20~25 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante al menos 3 h y se monitoreó por LCMS. La mezcla se concentró al vacío a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. El residuo se disolvió en MTBE (14,1 ml) y se filtró HCl (ac, 1 N, 14,1 l). La fase orgánica se lavó con HCl (ac, 1 N, 14,1 l), NaHCO₃ (sat, 14,1 l x 2), y se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Luego el residuo se redisolvió en heptano/MTBE (28,2 l, 8:1, v/v), y se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Al residuo anterior se agregó heptano/MTBE (15,5 l, 8:1, v/v) a 20~25 °C y cristal de siembra (0,2 %, p/p), y la agitación se mantuvo durante la noche a 20~25 °C. La mezcla se filtró; la torta de filtrado se lavó con heptano (7,0 l). Los sólidos se secaron al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 2,56 kg (78,3 %) de (R)-1-(benciloxi)-3-(4-morfolinofenil)-1-oxopropan-2-il-N-(tercbutoxicarbonil)-*N*-metil-L-leucinato (EMD-9B) como un sólido amarillo claro. MS (ES, *m/z*): 569 (M+H); ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) 7,38-7,26 (m, 5H), 7,10 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 5,25-5,22 (m, 1H), 5,12-5,10 (m, 2H), 4,07-3,99 (m, 1 H), 3,79-3,76 (m, 4H), 3,19-2,97 (m, 6H), 2,57 (s, 3H), 1,42-1,34 (m, 11H), 1,24-1,15 (m, 1H), 0,88-0,82 (m, 6H).



Ácido (R)-2-((N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-leucil)oxi)-3-(4-morfolinofenil)propanoico (EMD-10B): En un reactor de 50 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de EMD-9B (400 g, 0,7 mol, 1,0 eq) en EtOH (4,0 l, 10,0 V) a 20~25 °C. El reactor se evacuó y enjuagó con nitrógeno tres veces y se agregó Pd/C (28,0 g, 7 % p/p). Luego el reactor se evacuó y enjuagó con nitrógeno tres veces nuevamente, y se mantuvo hidrógeno burbujeando

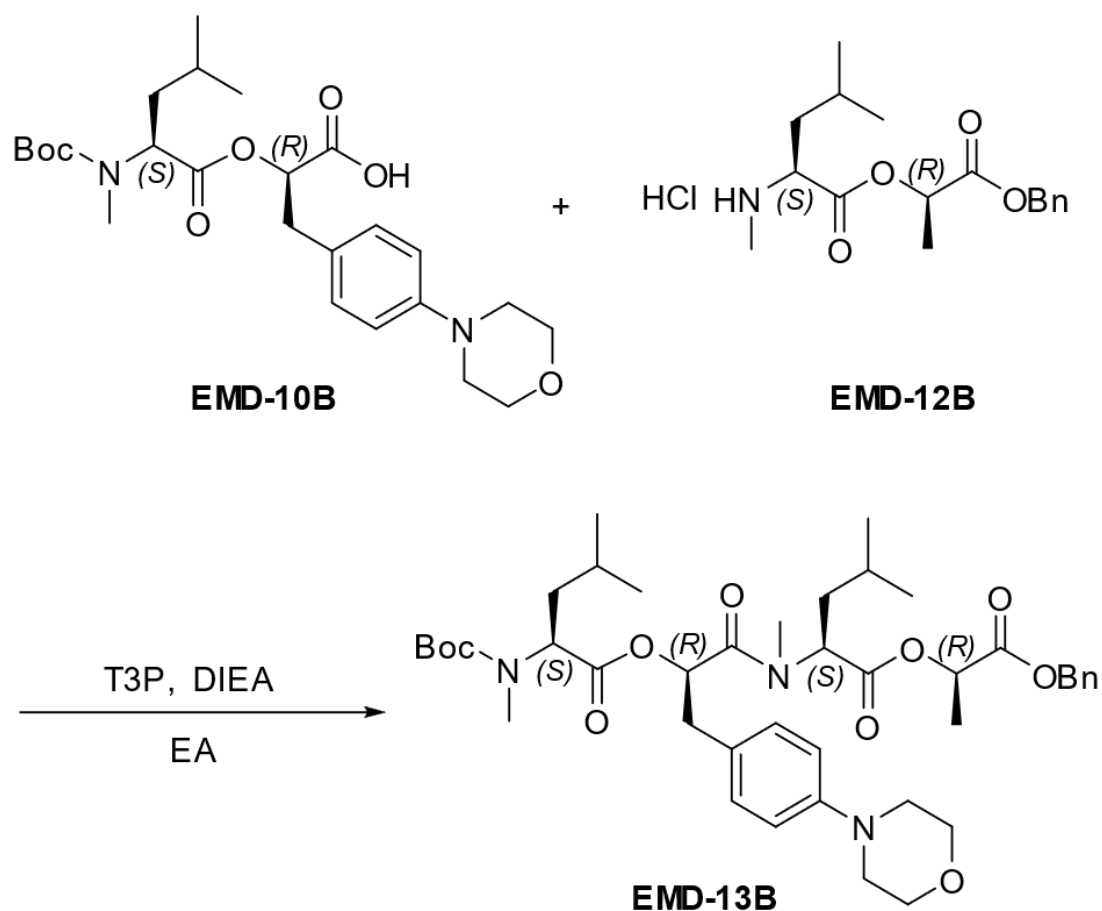
debajo de la superficie de la mezcla de reacción. La mezcla se agitó durante al menos 4 h a 20~25 °C y se monitoreó por HPLC. Luego de completarse la reacción, se detuvo el burbujeo de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de celite (2,0 kg) y la torta de filtrado se enjuagó con EA (0,8 l), y el filtrado se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Esto resultó en 317,7 g (94,4 %) de ácido (R)-2-((N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-leucil)oxi)-3-(4-morfo-linofenil)propanoico (EMD-10B) como un aceite amarillo oscuro; MS (ES, m/z): 479 (M+H); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 7,10 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 5,03-5,02 (m, 1H), 4,81-4,53 (m, 1H), 3,73 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H), 3,05 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H), 2,96-2,90 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 1,42-1,16 (m, 12 H), 0,89-0,84 (m, 6H).



(R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il metil-L-leucinato (EMD-12B): En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó en una solución de *N*-(terc-butoxicarbonil)-*N*-metil-L-leucina (240,3 g, 0,98 mol, 1,0 eq) en THF (3,9 l, 16 v), (*S*)-2-hidroxipropanoato de bencilo (176,5 g, 0,98 mol, 1,0 eq), trifenilfosfina (385,1 g, 1,47 mol, 1,5 eq) a 20~25 °C. Luego de enfriarse hasta menos de 10 °C, diisopropil azodiformiato (297 g, 1,47 mol, 1,5 eq) se agregó gota a gota con agitación a menos de 10 °C. Luego, se calentó hasta 20~25 °C y se agitó durante al menos 2 h. La reacción se monitoreó por HPLC hasta que el (*S*)-2-hidroxipropanoato de bencilo fue menos de o igual a 0,5 %. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo (3,9 l) y se lavó con NaHCO_3 (sat, 3,9 l x 2), salmuera (3,9 l x 2). La fase orgánica se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. El residuo se intercambió con terc-butil metil éter (240 ml x 2), se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado, y se suspendió con terc-butil metil éter (960 ml) durante al menos 3 h. La

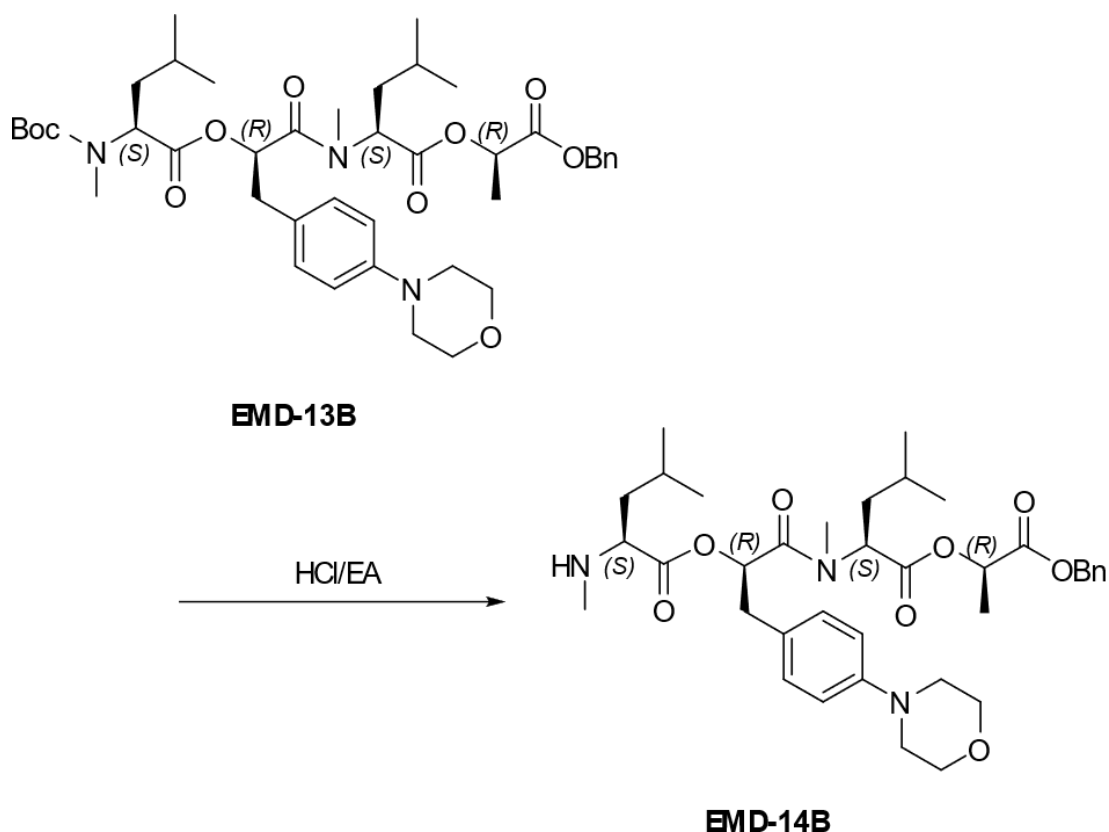
mezcla se filtró y la torta de filtrado se lavó con terc-butil metil éter (240 ml). El filtrado se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Esto resultó en el producto bruto de (R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-leucinato (EMD-1B) como un aceite amarillo, que se usó para el siguiente paso sin purificación adicional.

En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de EMD-1B en HCl/EA (1,2 l, 5,0 eq) a menos de 25 °C. La mezcla se agitó durante al menos 1 h a 20~25 °C y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-1B fue menos de o igual a 0,5 %. La solución se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. El residuo se intercambió con terc-butil metil éter (240 ml x 2), se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado, y se redisolvió con terc-butil metil éter (1,92 l). Luego, el cristal de siembra (0,1 %, p/p) se agregó y agitó durante al menos 5 h a 20~25 °C. La mezcla se filtró y la torta de filtrado se lavó con terc-butil metil éter (0,24 l). El sólido se secó al vacío a 40±5 °C y se obtuvieron 270 g de producto bruto como un sólido blanco. El sólido se disolvió en acetato de etilo (810 ml) al calentarlo hasta 40±5 °C y se agregó terc-butil metil éter (4,05 l). Posteriormente, se enfrió hasta 20~25 °C y se agregó cristal de siembra (0,1 %, p/p). La mezcla se filtró durante al menos 5 h a 20~25 °C, se filtró, la torta de filtrado se lavó con terc-butil metil éter (0,24 l). El sólido se secó al vacío a 40±5 °C. Esto resultó en 226,7 g (67,3 %, dos pasos) de (R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il metil-L-leucinato (EMD-12B) como un sólido blanco. MS (ES, m/z): 308 (M+H); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 7,41-7,35 (m, 5 H), 5,28 (q, $J = 7,1$ Hz, 1H), 5,20 (s, 2H), 2,51 (s, 3H), 1,77-1,71 (m, 3H), 1,50-1,48 (m, 3H), 0,90-0,87 (m, 6H).

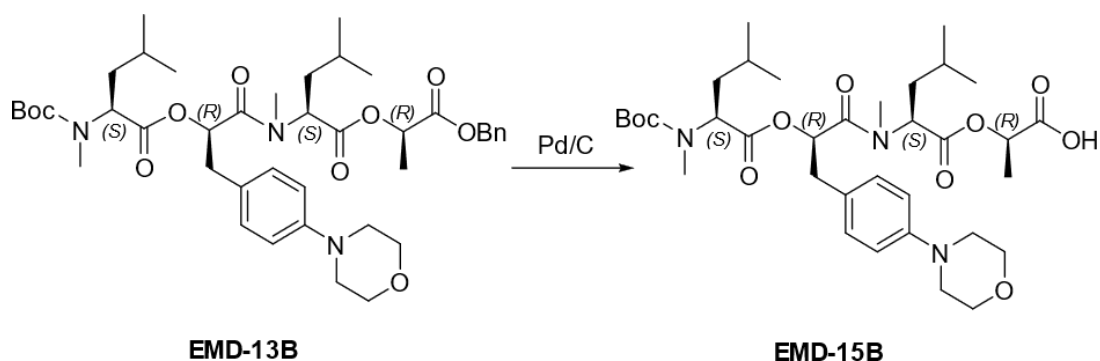


(R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-((R)-2-((N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-leucil)oxi)-3-(4-morfolinofenil)propanoil)-N-metil-L-leucinato (EMD-13B):

- 5 En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó en una solución de EMD-10B (275,0 g, 0,57 mol, 1,0 eq) en acetato de etilo (2,2 l, 8,0 V), EMD-12B (197,7 g, 0,57 mol, 1,0 eq), *N,N*-diisopropiletilamina (372,2 g, 2,88 mol, 5,0 eq) a 20~25 °C. Luego de enfriarse hasta 10 ~20 °C, se agregó anhídrido propilfosfónico (916,4 g, 1,44 mol, 2,5 eq) gota a gota con agitación a menos de 25 °C.
- 10 Luego, la mezcla se agitó a 20~25 °C durante al menos 2,5 h y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-12B fue menos de igual a 1,0 %. La solución se diluyó con heptano (2,75 l) a 0~10 °C y se inactivó lentamente con HCl (ac, 1,0 N, 2,75 l). La fase orgánica se lavó con HCl (ac, 1.0 N, 2,75 l), NaHCO₃ (sat, 2,75 l x 2), se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Esto resultó en 429,8 g (97,4 %) de (R)-1-
- 15 (benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-((R)-2-((N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-L-leucil)oxi)-3-(4-morfolinofenil)propanoil)-N-metil-L-leucinato (EMD-13B) como un aceite espeso amarillo. MS (ES, *m/z*): 768 (M+H);

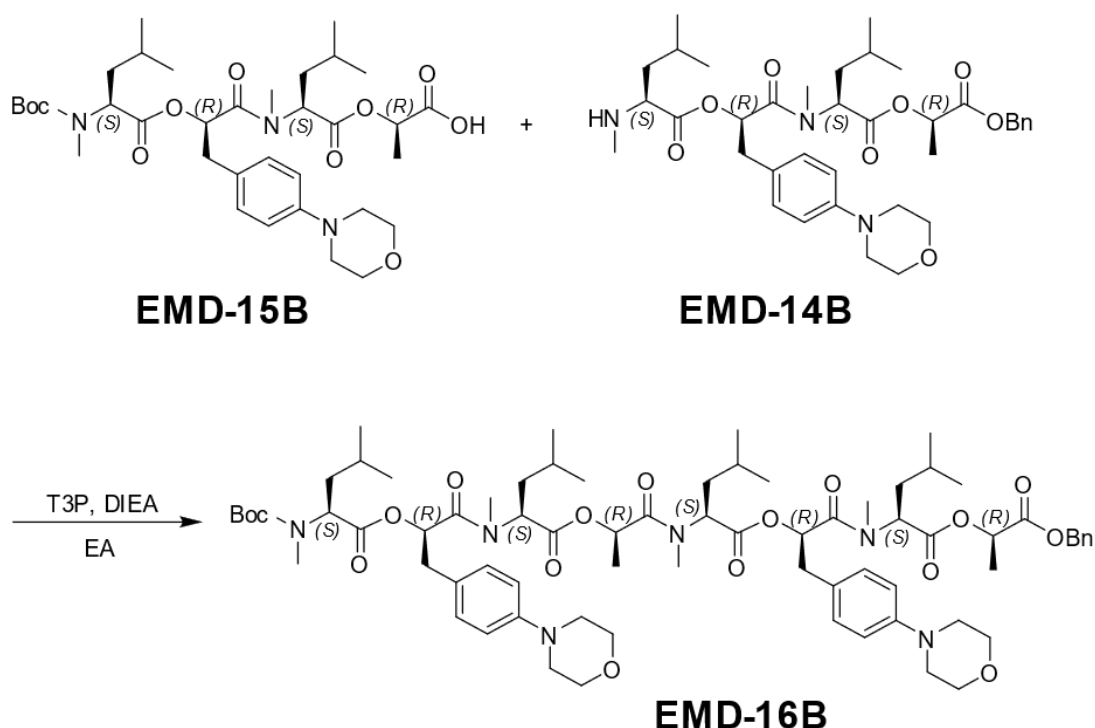


(R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il-N-metil-N-((R)-2-((metil-L-leucil)oxi)-3-(4-morfol-inofenil)propanoil)-L-leucinato (EMD-14B): En un reactor de 5 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de EMD-13B (245 g, 0,32 mol, 1,0 eq) en HCl/EA (735, 3,0 V) a menos de 25 °C. La mezcla se agitó durante al menos 1 h a 20~25 °C y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-13B fue menos de o igual a 0,5 %. La solución resultante se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado y se intercambió con acetato de etilo (245 ml x 2) a menos de 40 °C. El residuo se disolvió en acetato de etilo (735 ml) y se agregó *N,N*-diisopropiletilamina (245 g) se agregó a 20 ~25 °C. La mezcla se lavó con NaHCO₃ (sat, 735 ml x 2). La solución orgánica se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Esto resultó en 186,9 g (89,9 %) de (R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il-N-metil-N-((R)-2-((metil-L-leucil)oxi)-3-(4-morfol-inofenil)propanoil)-L-leucinato (EMD-14B) como un aceite amarillo. MS (ES, *m/z*): 668 (M+H); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) 7,41-7,32 (m, 5 H), 7,17 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,86 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 5,50-5,47 (m, 1H), 5,20-5,04 (m, 4H), 4,23-3,99 (m, 1H), 3,74-3,72 (m, 4H), 3,09-2,76 (m, 10H), 2,22-1,99 (m, 3H), 1,63-1,35 (m, 5H), 1,29-1,16 (m, 4H), 0,97-0,70 (m, 12H).



Ácido (6S,9R,12S,15R)-6,12-diisobutil-2,2,5,11,15-pentametil-9-(4-morfolinobencil)-4,7,10,13-tetraoxo-3,8,14-trioxa-5,11-diazaheptadecan-16-oico

- 5 **(EMD-15B)**: En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de EMD-13B (274,2 g, 0,36 mol, 1,0 eq) en EtOH (2,8 l, 10,0 V) a 20~25 °C, El reactor se evacuó y enjuagó con nitrógeno tres veces y se agregó Pd/C (19,2 g, 7 % p/p). Luego el reactor se evacuó y enjuagó con nitrógeno tres veces nuevamente, y se mantuvo hidrógeno burbujeando debajo de la superficie de la
- 10 mezcla de reacción. La mezcla se agitó durante al menos 4 h a 20~25 °C y se monitoreó por HPLC. Luego de completarse la reacción, se detuvo el burbujeo de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de celite (2,0 kg) y la torta de filtrado se enjuagó con acetato de etilo (0,56 l), y el filtrado se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Esto resultó en 237,4 g (98,0 %) de ácido (6S,9R,12S,15R)-6,12-diisobutil-2,2,5,11,15-
- 15 pentametil-9-(4-morfolinobencil)-4,7,10,13-tetraoxo-3,8,14-trioxa-5,11-diazaheptadecan-16-oico (EMD-15B) como un aceite amarillo; MS (ES, m/z): 678 (M+H); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 7,15 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 5,52-5,40 (m, 1H), 5,09-5,02 (m, 1H), 4,91-4,53 (m, 2 H), 3,74-3,72 (m, 4H), 3,15-3,04 (m, 5H), 2,94-2,86 (m, 4H), 2,65-2,64 (m, 3H), 1,43-1,28 (m, 16H), 0,93-0,77 (m,
- 20 12H).



(R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-metil-N-((6S,9R,12S,15R,18S,21R)-6,12,18-triiso

5 **butil-2,2,5,11,15,17-hexametil-9,21-bis(4-morfolinobencil)-4,7,10,13,16,19-hexaoxo**

-3,8,14,20-tetraoxa-5,11,17-triazadocosan-22-oil)-L-leucinato (EMD-16B):

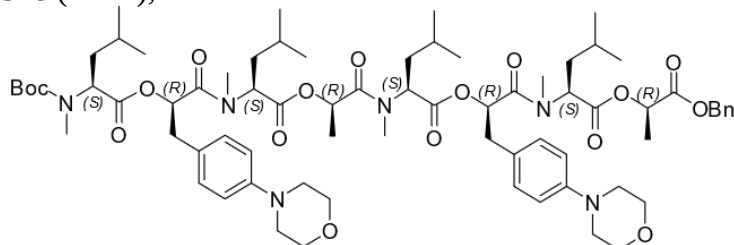
En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó en una solución de EMD-15B (147,6 g, 0,22 mol, 1,0 eq) en acetato de etilo

10 (2,2 l, 8,0 V), EMD-14B (145,5 g, 0,22 mol, 1,0 eq), *N,N*-diisopropiletilamina (139,6 g, 1,08 mol, 5,0 eq) a 20~25 °C. Luego de enfriarse hasta 10 ~20 °C, se agregó anhídrido propilfosfónico (346,4 g, 0,54 mol, 2,5 eq) gota a gota con agitación a menos de 25 °C. Luego, la mezcla se agitó a 20~25 °C durante al menos 2,5 h y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-12B fue menos de igual a 0,5 %. La solución se diluyó con heptano

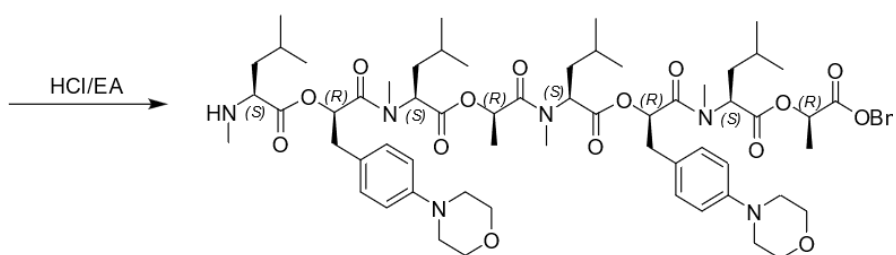
15 (2,2 l) a 0~10 °C y se inactivó lentamente con HCl (ac, 1,0 N, 2,2 l). La fase orgánica se lavó con HCl (ac, 1,0 N, 2,2 l), NaHCO₃ (sat, 2,2 l x 2), se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado, y se intercambió con heptano/MTBE (0,44 l, 1,5:1, v/v) a menos de 40 °C. El residuo se disolvió en heptano/MTBE (1,65 l, 1,5:1, v/v) y se agregó cristal de siembra (0,1 %, p/p) a 20~25 °C. La mezcla se agitó durante al menos

20 16 h a 20~25 °C y se filtró. La torta de filtrado se lavó con heptano (0,66 l), se secó al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 242,4 g (83,4 %) de (R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-metil-N-((6S,9R,12S,15R,18S,21R)-6,12,18-triiso-butyl-2,2,5,11,15,17-hexametil-

9,21-bis(4-morfolinobencil)-4,7,10,13,16,19-hexaoxo-3,8,14,20-tetraoxa-5,11,17-triazadocosan-22-oil)-L-leucinato (EMD-16B) como un sólido blanco: MS (ES, m/z): 1328 (M+H);



EMD-16B



EMD-20B

5

(R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-((2R,5S,8R,11S,14R,17S)-5,11-diisobutil-6,8,12,19-

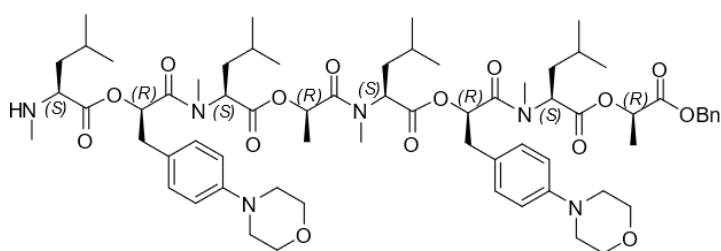
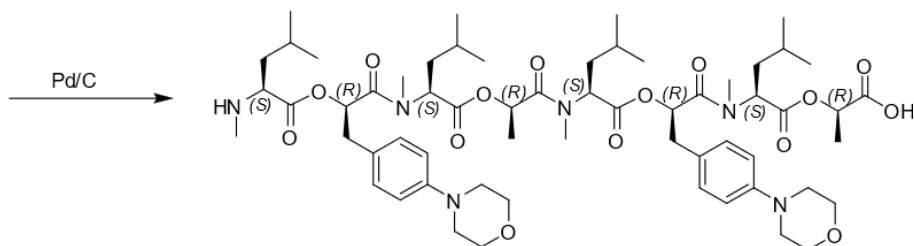
-tetrametil-17-(metilamino)-2,14-bis(4-morfolinobencil)-4,7,10,13,16-

pentaoxo-3,9,15-trioxa-6,12-diazaicosanoil)-N-metil-L-leucinato (EMD-20B): En un

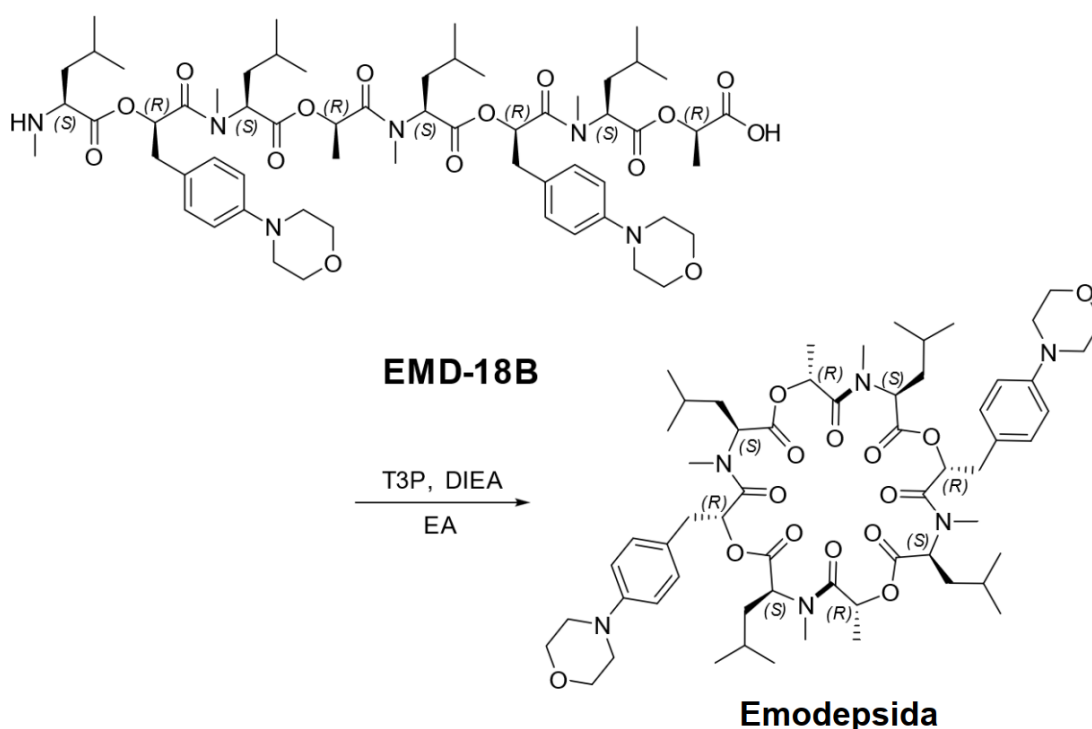
10 reactor de 5 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de EMD-16B (376,4 g, 0,28 mol, 1,0 eq) en HCl/EA (1128 ml, 3,0 V) a menos de 25 °C. La mezcla se agitó durante al menos 1 h a 20~25 °C y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-16B fue menos de o igual a 0,5 %. La solución resultante se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado y se intercambió con acetato de etilo (376,4 ml x 2) a menos de 40 °C. El residuo se disolvió en acetato de etilo (1128 ml) y se agregó *N,N*-diisopropiletilamina (376,4 g) se agregó a 20~25 °C. La mezcla se lavó con NaHCO₃ (sat, 1128 ml x 2). La solución orgánica se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. Esto resultó en 313,56 g (90,1 %) de (R)-1-(benciloxi)-1-oxopropan-2-il N-((2R,5S,8R,11S,14R,17S)-5,11-diisobutil-6,8,12,19-

15 tetrametil-17-(metilamino)-2,14-bis(4-morfolinobencil)-4,7,10,13,16-pentaoxo-3,9,15-trioxa-6,12-diazaicosanoil)-N-metil-L-leucinato (EMD-20B) como un aceite amarillo; MS (ES, m/z): 1228 (M+H);

20

**EMD-20B****EMD-18B**

- Ácido (3S,6R,9S,12R,15S,18R,21S,24R)-3,9,15,21-tetraisobutil-8,12,14,20,24-pentametil-6,18-bis(4-morfolinobencil)-4,7,10,13,16,19,22-heptaoxo-5,11,17,23-tetraoxa-2,8,14,20-tetraazapentacosan-25-oico (EMD-18B):** En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de EMD-20B (313,56 g, 0,26 mol, 1,0 eq) en EtOH (3,2 l, 10,0 V) a 20~25 °C, El reactor se evacuó y enjuagó con nitrógeno tres veces y se agregó Pd/C (21,95 g, 7 % p/p). Luego el reactor se evacuó y enjuagó con nitrógeno tres veces nuevamente, y se mantuvo hidrógeno burbujando debajo de la superficie de la mezcla de reacción. La mezcla se agitó durante al menos 4 h a 20~25 °C y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-20B fue menos de o igual a 1,0 %. Luego de completarse la reacción, se detuvo el burbujeo de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de celite (2,0 kg) y la torta de filtrado se enjuagó con acetato de etilo (0,64 l x 3), y el filtrado se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado. El residuo se suspendió con acetato de etilo durante al menos 3 h y se filtró; la torta de filtrado se enjuagó con acetato de etilo (0,32 l x 2). El sólido se secó al vacío a 40~45 °C. Esto resultó en 234,2 g (80,6 %) de ácido (3S,6R,9S,12R,15S,18R,21S,24R)-3,9,15,21-tetraisobutil-8,12,14,20,24-pentametil-6,18-bis(4-morfolinobencil)-4,7,10,13,16,19,22-heptaoxo-5,11,17,23-tetraoxa-2,8,14,20-tetraazapentacosan-25-oico (EMD-18B) como un sólido blancuzco; MS (ES, *m/z*): 1138 (M+H); ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) 7,34-7,16 (m, 8H), 5,68-5,28 (m, 3H), 5,11-5,04 (m, 3H), 4,93-4,86 (m, 1H), 4,03-3,99 (m, 1H), 3,85-3,82 (m, 8H), 3,23-3,22 (m, 8H), 3,23-2,76 (m, 13H), 2,49 (s, 2H), 2,07 (s, 2H), 1,66-1,45 (m, 8H), 1,43-1,16 (m, 10H), 0,99-0,64 (m, 24H).



(3S,6R,9S,12R,15S,18R,21S,24R)-3,9,15,21-tetraisobutil-4,6,10,16,18,22-hexametil-12,24-bis(4-morfolinobencil)-1,7,13,19-tetraoxa-4,10,16,22-

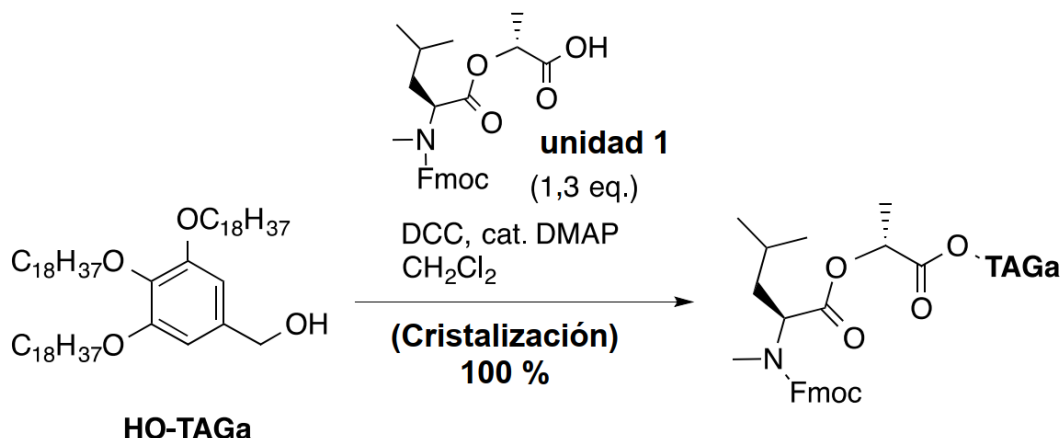
- 5 **tetraazaciclótetracosan-2,5,8,11,14,17,20,23-octaona (Emodepsida):** En un reactor de 10 l purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó en una solución de EMD-18B (234,2 g, 0,21 mol, 1,0 eq) en acetato de etilo (3,8 l, 16,0 V), *N,N*-diisopropiletilamina (131,84 g, 1,02 mol, 5,0 eq) a 20~25 °C. Luego de enfriarse hasta 10 ~20 °C, se agregó anhídrido propilfosfónico (324,5 g, 0,51 mol, 2,5 eq) gota a
- 10 gota con agitación a menos de 25 °C. Luego, la mezcla se agitó a 20~25 °C durante al menos 2,5 h y se monitoreó por HPLC hasta que EMD-18B fue menos de igual a 0,5 %. La mezcla se diluyó con heptano (2,38 l) a 0~10 °C y se inactivó lentamente con HCl (ac, 1,0 N, 2,38 l). La fase orgánica se lavó con HCl (ac, 1,0 N, 2,38 l), NaHCO₃ (sat, 2,38 l x 2), se concentró a menos de 40 °C hasta no haber más destilado, y se
- 15 intercambió con EtOH (0,48 l x 2) a menos de 40 °C. El residuo se disolvió en EtOH (0,72 l) a 45~55 °C y el cristal de siembra (0,1 %, p/p) se agregó a 20~25 °C. La mezcla se agitó durante al menos 16 h a 20~25 °C y se filtró. La torta de filtrado se enjuagó con EtOH (0,24 l). El sólido se secó al vacío a 40±5 °C. El producto bruto se recrystalizó con acetato de etilo. Esto resultó en 118,24 g (51,3 %) de
- 20 (3S,6R,9S,12R,15S,18R,21S,24R)-3,9,15,21-tetraisobutil-4,6,10,16,18,22-hexametil-12,24-bis(4-morfolinobencil)-1,7,13,19-tetraoxa-4,10,16,22-tetraazaciclótetracosan-2,5,8,11,14,17,20,23-octaona (Emodepsida) como un sólido blanco; MS (ES, *m/z*): 1120

(M+H); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) 7,16 (d, $J = 8,7$ Hz, 4H), 6,87 (d, $J = 8,2$ Hz, 4H), 5,68 (q, $J = 8,0$ Hz, 1H), 5,51-4,04 (m, 7H), 3,74-3,71 (m, 8H), 3,08-3,04 (m, 8H), 2,99-2,96 (m, 4H), 2,90-2,88 (m, 4H), 2,83-2,82 (m, 4H), 2,78 (s, 2H), 2,70 (s, 2H), 1,78-1,38 (m, 8H), 1,31-1,14 (m, 6H), 0,97-0,69 (m, 28H).

5 3. Preparación de PF1022A (Método 1; ver esquemas de reacción en la FIG. 3 y espectros NMR en la FIG. 4)

3-1. Procedimiento sintético

N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa



10

A una solución agitada de **HO-TAGa** (1,69 g, 1,85 mmol) en CH_2Cl_2 (37 ml) se agregó 0,2 M solución de tolueno de **unidad 1** (12,0 ml, 2,40 mmol), 4-dimetilaminopiridina (12 mg, 93,0 μmol), y N,N' -diciclohexilcarbodiimida (1,30 g, 2,78 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 . Luego de agitarse durante 2 h, la mezcla de reacción se enfrió luego hasta -5°C y se agregó MeOH (185 ml). La solución heterogénea resultante se agitó durante otros 15 min a -5°C , y el precipitado incoloro se filtró y lavó con más MeOH (500 ml) para proporcionar **N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** (2,46 g, 100 %) como un polvo incoloro.

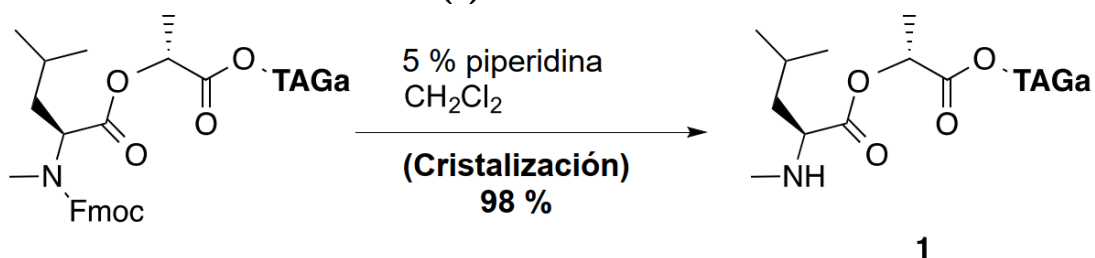
mp: $44 - 45^\circ\text{C}$

20 $[\alpha]_D^{24}$: $-10,2$ (c 1,0, CHCl_3)

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,78-7,74 (complejo m, 2H), 7,60-7,56 (complejo m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,29 (m, 2H), 6,50 (s, 4/3H), 6,48 (s, 2/3H), 5,12-5,00 (complejo -m, 4H), 4,67 (dd, $J = 6,3, 9,7$ Hz, 3/10H), 4,58 (dd, $J = 6,3$ Hz, 10,9 Hz, 4/10H), 4,50 (dd, $J = 6,9$ Hz, 10,3 Hz, 6/10H), 4,38-4,34 (complejo m, 9/10H), 4,30 (m, 5/10H), 4,23 (t, $J = 6,3$ Hz, 3/10H), 3,93 (m, 6H), 2,86 (s, 2H), 2,83 (s 1H), 1,76 (m, 6H), 1,64-1,42 (complejo m, 9H), 1,31-1,14 (complejo m, 87H), 0,96-0,87 (complejo m, 14H), 0,78 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H).

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1334.0748 (M^+ , calculado para $\text{C}_{86}\text{H}_{143}\text{NO}_9$:

1334.0763)

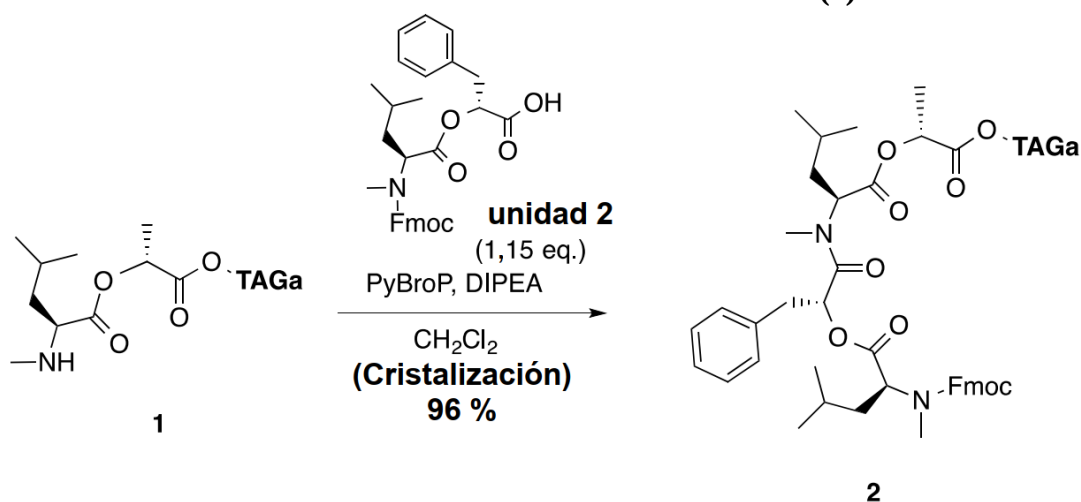
N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa (1)

5 Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** (1,00 g, 0,749 mmol) se convirtió en **1** (816 mg, 98 %) como un polvo incoloro.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6,50 (s, 2H), 5,16 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,08 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 5,04 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 3,93 (m, 6H), 3,30 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 2,37 (s, 3H), 1,75 (m, 6H), 1,53-1,42 (complejo m, 10H), 1,32–1,25 (complejo m, 86H), 0,93–0,86 (complejo m, 15H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 170,6, 153,3, 138,4, 130,2, 106,4, 73,5, 69,2, 68,9, 67,6, 61,4, 42,2, 34,5, 32,0, 30,4, 29,8 (x2), 29,5 (x2), 26,2, 25,0, 22,8, 22,6, 22,5, 17,1, 14,2.

15 HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z* : 1113.0151 [(M+H)⁺, calculado para C₇₁H₁₃₄NO₇ : 1113.0160]

N-Fmoc-N-MeLeu-D-PhLac-N-MeLeu-D-LacO-TAGa (2)

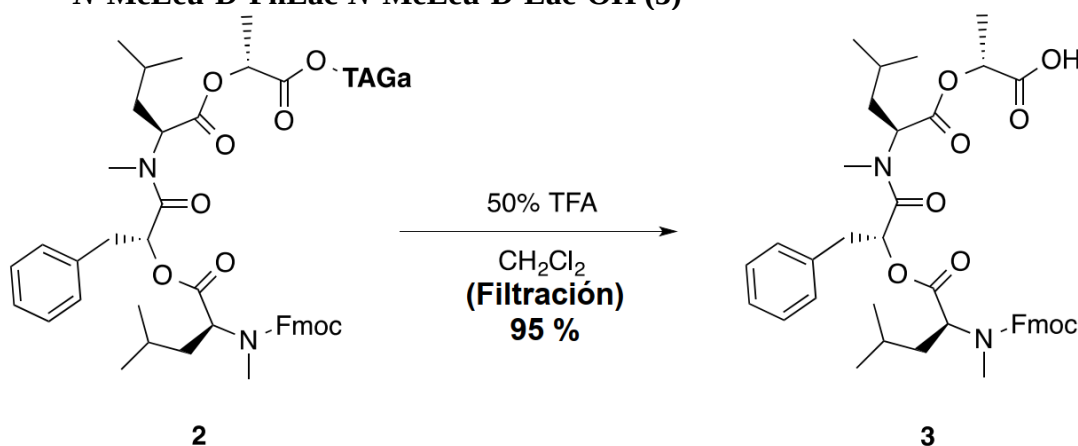
20 A una solución agitada de **1** (800 mg, 0,719 mmol) en CH₂Cl₂ (25 ml) se agregó la **unidad 2** (426 mg, 0,827 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,429 ml, 2,52 mmol), y PyBroP (496 mg, 1,222 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 88 h,

la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-**Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** para proporcionar **2** (1,11 g, 96 %) como un polvo incoloro.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,76-7,72 (complejo m, 2H), 7,62-7,40 (complejo m, 2H), 7,39-7,17 (complejo m, 9H), 6,47 (m, 2H), 5,47-5,27 (complejo m, 2H), 5,15-4,97 (complejo m, 4H), 4,69-4,13 (complejo m, 3H), 3,92 (complejo m, 6H), 3,07 (m, 2H), 2,85 (complejo, 6H), 1,80-1,25 (complejo m, 105H), 1,02-0,72 (complejo m, 21H).

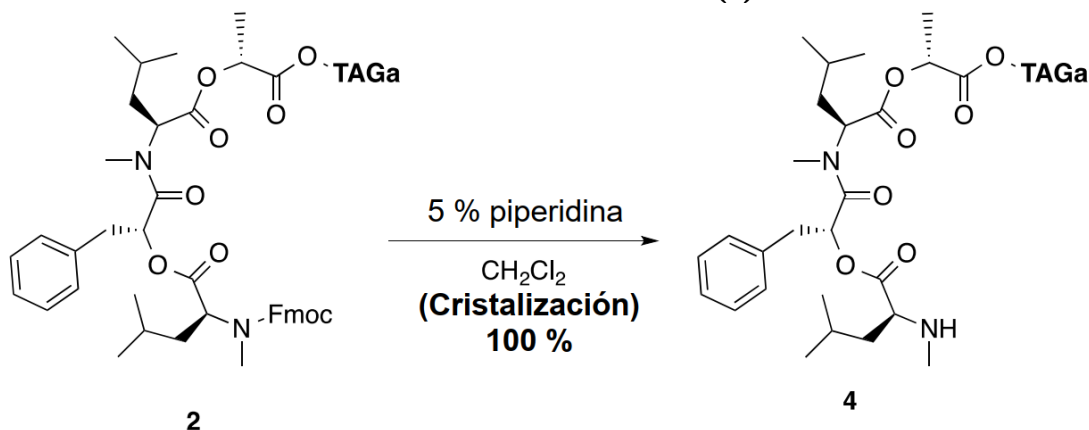
HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z* : 1632.2163 [(M+Na)⁺, calculado para C₁₀₂H₁₆₄N₂O₁₂Na: 1632.2182]

***N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-OH (3)**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, **2** (614 mg, 0,381 mmol) se convirtió en **3** (261 mg, 95 %) como un aceite amarillo, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

***N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-O-TAGa (4)**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de

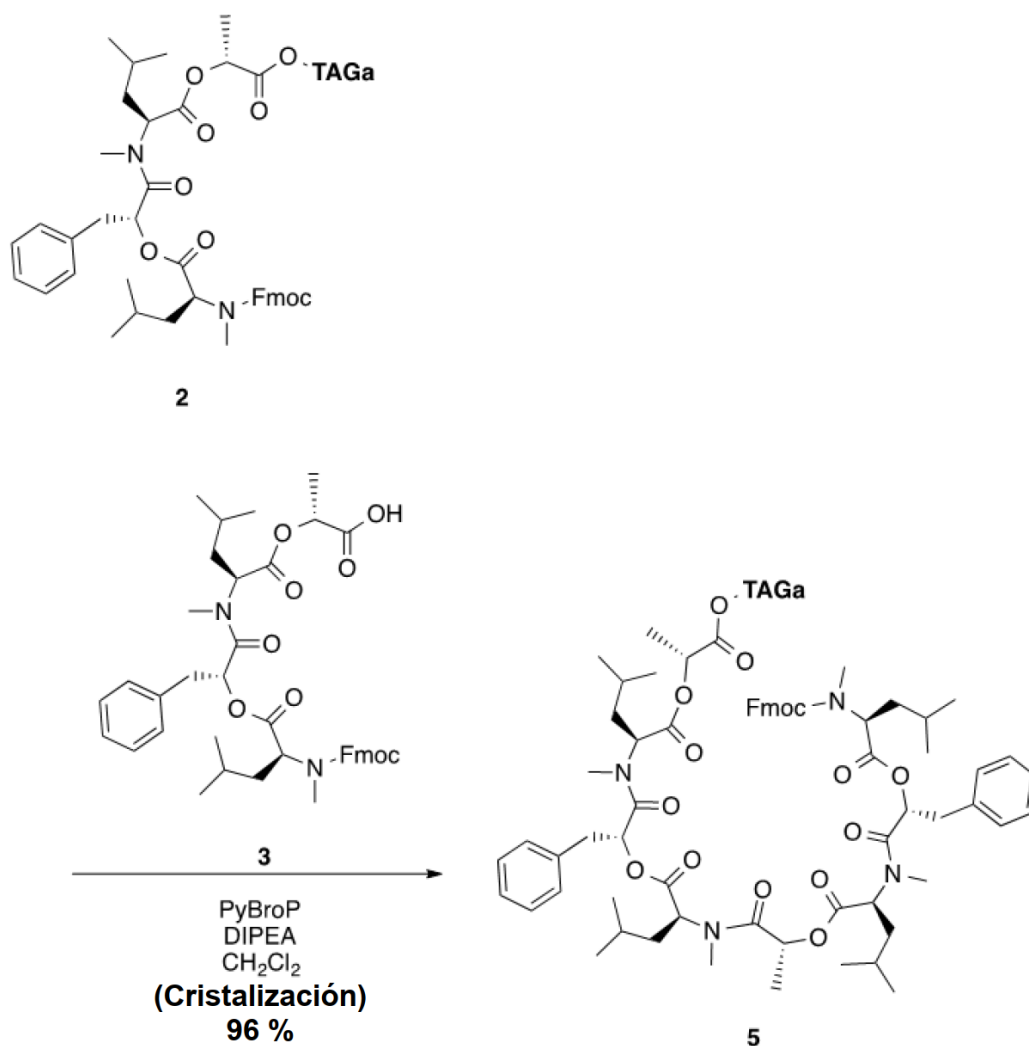
desprotección de Fmoc, **2** (472 mg, 0,293 mmol) se convirtió en **4** (404 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,27 (m, 5H), 6,49 (s, 2H), 5,50 (dd, *J* = 5,7, 8,6 Hz, 1H), 5,32 (dd, *J* = 4,6, 10,9 Hz, 1H), 5,09–5,00 (complejo m, 3H), 3,93 (m, 6H),
 5 3,28 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,09 (m, 2H), 2,92 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 1,82–1,25 (complejo m, 105H), 0,89–0,77 (complejo m, 21H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 175,6, 175,1, 175,0, 174,8, 170,9, 170,5 (x2), 170,4, 169,8, 169,7, 166,7, 165,1, 153,3, 138,5, 138,3, 135,8 (x2), 130,2, 129,5, 129,3, 128,7, 128,6, 128,5 (x2), 127,2, 107,0, 106,9, 105,4, 78,1, 73,5, 71,9, 71,6, 69,4, 69,2,
 10 68,9, 67,7, 67,5, 66,9, 65,6, 61,3, 61,2, 59,7, 57,7, 54,7, 42,3, 42,2, 42,1, 40,0, 38,8, 37,5, 36,9, 34,4, 34,3, 32,8, 32,0, 31,3, 30,4, 29,8 (x2), 29,6, 29,5 (x2), 26,2, 25,0, 24,8, 24,7, 24,6, 23,4, 22,9, 22,8, 22,5 (x2), 22,4 (x2), 21,9, 21,4, 20,5, 17,0, 16,9, 16,8, 14,2.

HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z* : 1388.1664 [(M+H)⁺, calculado para C₈₇H₁₅₅N₂O₁₀ : 1388.1682]

15 ***N*-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-PhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-PhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-O-TAGa (5)**

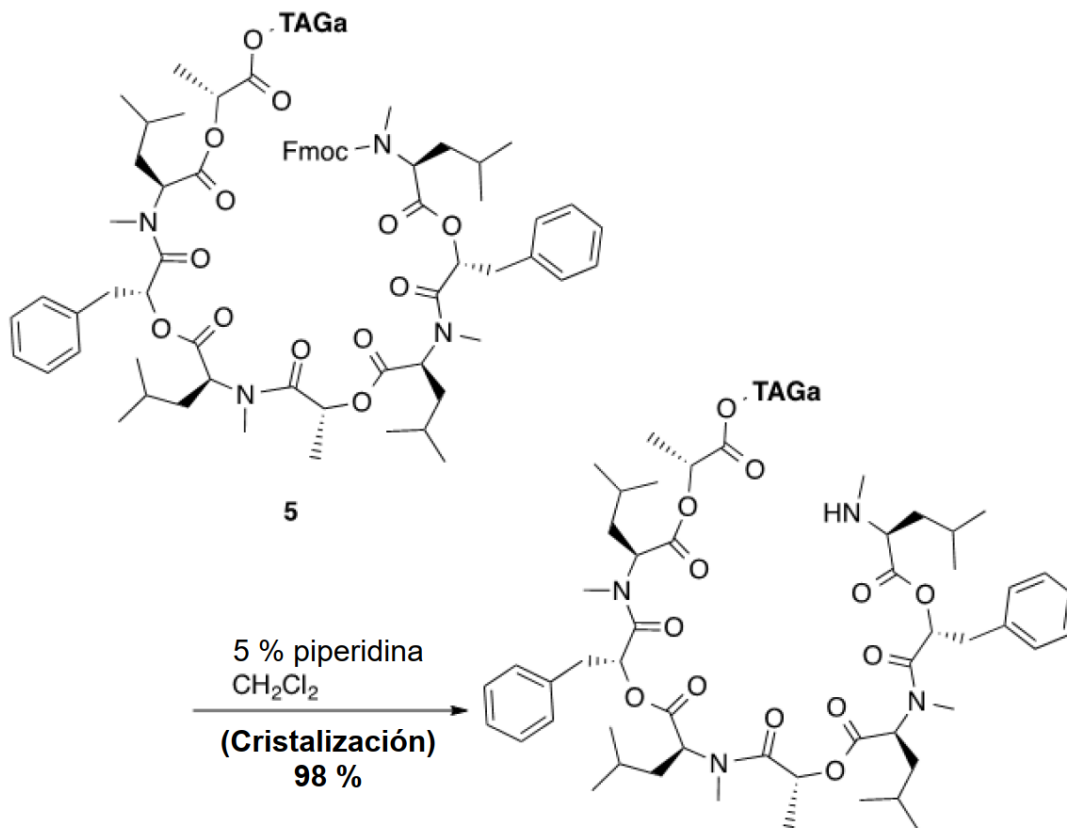


A una solución agitada de **2** (330 mg, 0,238 mmol) en CH₂Cl₂ (4,8 ml) se agregó **3** (221 mg, 0,309 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,150 ml, 0,881 mmol), y PyBroP (197 mg, 0,428 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 42 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-Fmoc-*N*-MeLeu-D-Lac-O-TAGa para proporcionar **5** (477 mg, 96 %) como un polvo incoloro.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,74 (m, 2H), 7,53 (m, 2H), 7,38 (m, 2H), 7,32–7,15 (complejo m, 12H), 6,48 (m, 2H), 5,51–4,96 (complejo m, 10H), 4,70–4,12 (complejo m, 3H), 3,93 (m, 6H), 3,23 (dd, *J* = 6,9, 13,7 Hz, 1H), 3,08–2,70 (complejo m, 15H), 1,80–1,25 (complejo m, 114H), 0,95–0,78 (complejo m, 33H).

HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z* : 2106.4949 [(M+Na)⁺, calculado para C₁₂₈H₂₀₂N₄O₁₈ Na₁: 2106.4912]

***N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-**

O-TAGa

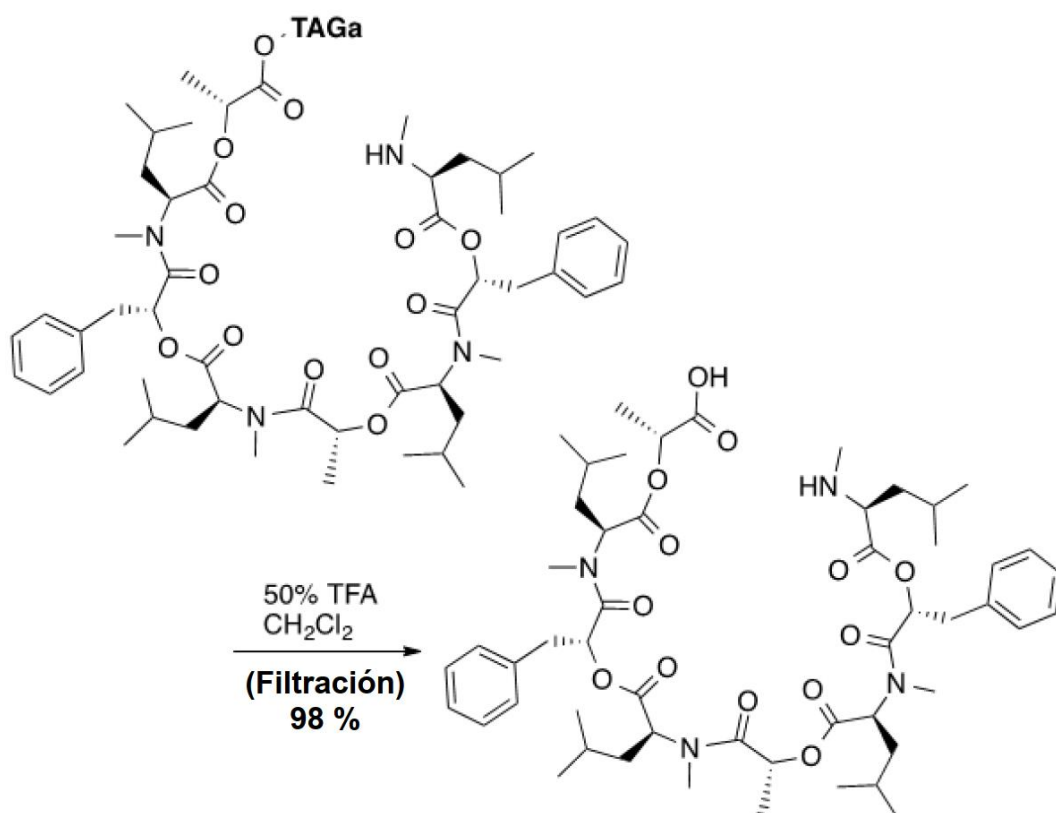
Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **5** (450 mg, 0,206 mmol) se convirtió en la correspondiente amina (398 mg, 98 %) como un polvo incoloro.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,25 (m, 10H), 6,48 (s, 2H), 5,57–4,99 (complejo m, 9H), 3,93 (m, 6H), 3,26–2,78 (complejo m, 14H), 2,24 (s, 3H), 1,80–1,25 (complejo m, 114H), 0,90–0,78 (complejo m, 33H),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 175,6, 175,2 (x2), 171,5, 171,1, 170,8 (x2), 170,6, 170,5 (x2), 170,3, 153,3, 138,5 (x2), 138,3, 136,1, 135,9, 135,5, 130,2, 130,1, 130,0, 129,8, 129,7, 129,6, 129,4 (x2), 128,8, 128,7, 128,6, 128,5, 127,4 (x2), 127,2, 127,1, 126,9, 126,8, 107,0 (x2), 106,9, 73,5, 72,5, 72,2, 71,7, 71,6, 69,8, 69,4, 69,2, 68,1, 68,0, 67,8, 67,5 (x2), 66,9, 61,4, 57,4, 55,2, 54,8, 54,6 (x2), 38,8, 37,7, 37,6, 37,4 (x2), 37,1 (x2), 37,0, 36,9, 34,7, 34,6, 32,2, 32,0, 31,9, 31,7, 31,6, 31,4, 31,3, 31,2, 30,4, 29,8 (x2), 29,6, 29,5 (x2), 26,2, 24,9, 24,8 (x2), 24,7, 24,6, 24,5, 23,5, 23,4, 23,3, 23,1 (x2), 23,0, 22,8, 22,7, 22,5, 22,4, 22,3, 22,0, 21,5, 21,4, 21,3 (x2), 20,5, 16,9, 16,8, 16,6, 14,2.

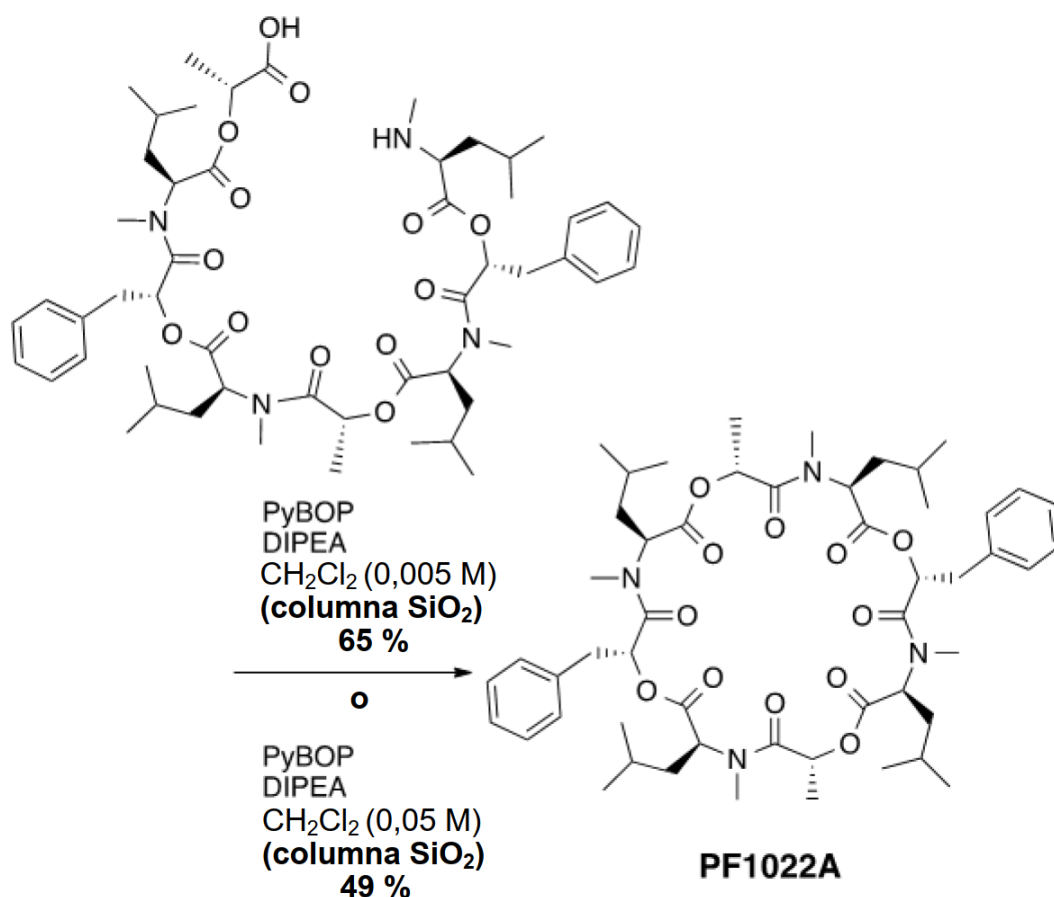
HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1862.4425 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, calculado para $\text{C}_{113}\text{H}_{193}\text{N}_4\text{O}_{16}$: 1862.4412]

***N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-OH**



5 Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, ***N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-PhLac-*N*-MeLeu-D-LacO-TAGa** (380 mg, 0,204 mmol) se convirtió en el correspondiente ácido carboxílico (198 mg, 98 %) como un aceite amarillo, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

10 **PF1022A**



Reacción para concentración 0,005 M de sustrato

Un producto bruto de reacción previa (90 mg, 0,0895 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (18 ml, 0,005 M). A la mezcla de reacción se agregó *N,N*-diisopropiletilamina (76 μ l, 4,48 mmol) y PyBOP (93 mg, 0,179 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 48 h, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (18 ml) a 0 °C y esta mezcla se extrajo con CHCl₃ (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 10 % NaHSO₄ acuoso (60 ml), y salmuera (60 ml), se secaron en Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (CHCl₃: MeOH = 400 : 1 a 40: 1) para proveer **PF1022A** (55 mg, 65 %) como un sólido incoloro.

Reacción para concentración 0,05 M de sustrato

De acuerdo con el procedimiento de ciclación mencionado anteriormente, un producto bruto de reacción previa (90 mg, 0,0895 mmol) se cicló en CH₂Cl₂ (1,8 ml, 0,05 M) con *N,N*-diisopropiletilamina (76 μ l, 4,48 mmol) y PyBOP (93 mg, 0,179 mmol) a temperatura ambiente durante 48 h para proveer **PF1022A** (40 mg, 49 %) como un sólido incoloro.

mp: 100-103 °C

$[\alpha]^{22}_D : -99,4 \text{ }^\circ\text{C}$ (c 0,06, MeOH)

IR (KBr) $\tilde{\nu}$: 1743, 1666, 1466, 1412, 1265, 1188, 1126, 1080, 1026, 748, 701

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7,29 (m, 10H), 5,82 (t, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 1H), 5,72 (m, 2H, rotámero), 5,54 (q, $J = 6,9 \text{ Hz}$, 1H), 5,44 (dd, $J = 4,6, 11,7 \text{ Hz}$, 1H), 5,40 (dd, $J = 4,6, 11,7 \text{ Hz}$, 1H, rotámero), 5,23 (dd, $J = 4,6, 11,7 \text{ Hz}$, 1H), 5,18 (q, $J = 6,9 \text{ Hz}$, 1H, rotámero), 4,77 (dd, $J = 3,4, 11,2 \text{ Hz}$, 1H), 3,14 (m, 4H), 3,00 (s, 5/2H, rotámero), 2,91 (m, 7H, rotámero), 2,82 (s, 5/2H, rotámero), 1,84 (m, 1H), 1,77–1,47 (complejo m, 11H), 1,39 (d, $J = 6,3 \text{ Hz}$, 3H), 1,05 (d, $J = 6,3 \text{ Hz}$, 3H), 0,98 (d, $J = 6,9 \text{ Hz}$, 3H), 0,80 (d, $J = 6,3 \text{ Hz}$, 3H), 0,95–0,82 (complejo m, 18H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 174,4, 173,5, 173,1, 173,1, 172,3, 172,0, 171,0, 170,7, 136,4, 136,2, 130,8, 130,7, 130,7, 129,8, 129,7, 129,7, 128,4, 128,3, 72,5, 72,3, 69,9, 68,5, 58,6, 55,7, 55,5, 55,4, 39,0, 38,9, 38,6, 38,6, 37,8, 37,3, 32,0, 31,3, 31,1, 30,0, 26,2, 26,1, 25,5, 25,2, 23,9, 23,7, 23,7, 23,6, 21,7, 21,6, 21,4, 21,1, 17,5, 17,2.

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 971.5353 $[(M+Na)^+]$, calculado para $\text{C}_{52}\text{H}_{76}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Na}_1$: 971.5357]

*Literatura (*J. Antibiot.*, **1992**, 45, 692-697)

mp: 104-106 $^\circ\text{C}$

$[\alpha]^{22}_D : -102 \text{ }^\circ\text{C}$ (c 0,1, MeOH)

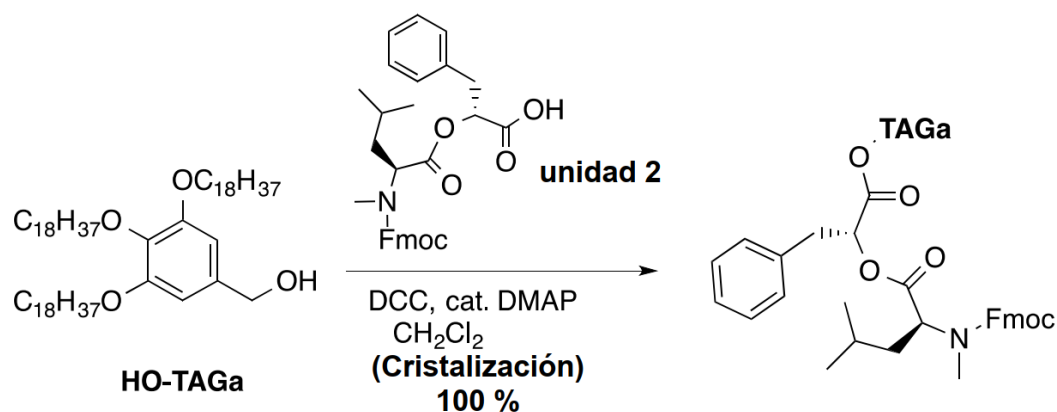
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7,30 - 7,20 (PhH, 10H), 5,80 y 5,75 ($\text{C}_\alpha\text{H-PhLac}$, 1Hx2), 5,54 y 5,16 ($\text{C}_\alpha\text{H-Lac}$, 1Hx2), 5,43, 5,42, 5,22 y 4,78 ($\text{C}_\alpha\text{H-Leu}$, 1Hx4), 3,22-3,15 ($\text{C}_\beta\text{H}_2\text{-PhLac}$, 2Hx2), 3,00, 2,90, 2,88 y 2,80 (N-Me-Leu, 3Hx4), 1,87-1,50 ($\text{C}_\beta\text{H}_2\text{-Leu}$, 2Hx4), 1,40 ($\text{C}_\gamma\text{H-Leu}$, 1Hx4), 1,38 ($\text{C}_\beta\text{H}_3\text{-Lac}$, 3H), 1,02-0,75 ($\text{C}_\delta\text{H}_3\text{-Leu}$, 6Hx4), 0,88 ($\text{C}_\beta\text{H}_3\text{-Lac}$, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 174,4, 173,4, 172,4, 172,4, 172,1, 172,1, 171,0, 170,8, 136,5, 136,2, 130,7, 130,7, 130,7, 130,7, 129,7, 129,7, 129,7, 129,7, 128,3, 128,2, 72,5, 72,3, 69,9, 68,4, 58,6, 55,7, 55,5, 55,4, 39,0, 38,9, 38,6, 38,6, 37,9, 37,4, 32,0, 31,3, 31,1, 29,9, 26,2, 26,1, 25,6, 25,2, 23,6, 23,6, 23,5, 23,5, 21,7, 21,6, 21,4, 21,0, 17,5, 17,2.

4. Preparación de PF1022A (Método 2; ver esquemas de reacción en la FIG. 5)

4-1. Procedimiento sintético

N-Fmoc-N-MeLeu-D-PhLac-O-TAGa



A una solución agitada de **HO-TAGa** (170 mg, 0,186 mmol) en CH_2Cl_2 (3,7 ml) se agregó 0,1 M solución de tolueno de **unidad 2** (2,42 ml, 0,242 mmol), 4-dimetilaminopiridina (1,1 mg, 9,30 μmol), y *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (58 mg, 0,279 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 . Luego de agitarse durante 1 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de **N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** para proporcionar **N-Fmoc-N-MeLeu-D-PhLac-O-TAGa** (266 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

mp: 44 – 45 °C

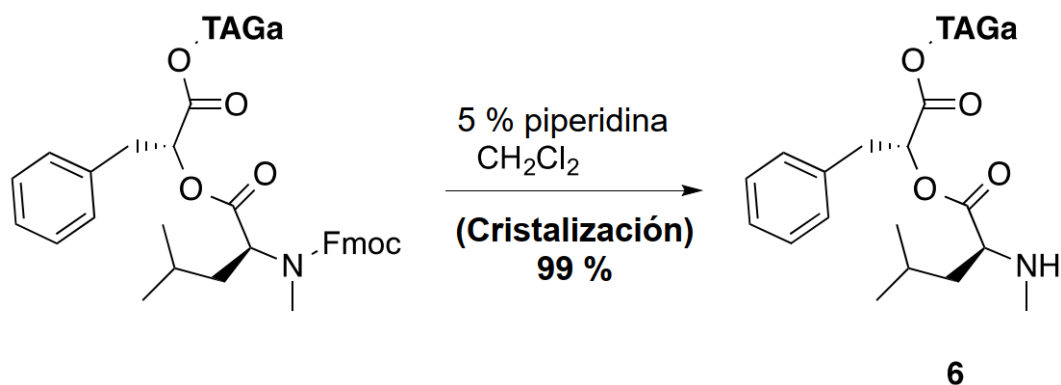
$[\alpha]_{\text{D}}^{27}$: -6,1 (*c* 1,74, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,76 (complejo m, 2H), 7,54 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,30 (m, 1H), 7,26–7,14 (complejo m, 4H), 7,08 (m, 2H) 6,44 (m, 2H), 5,20 (m, 1H), 5,04–4,94 (complejo m, 3H), 4,61–4,15 (complejo m, 3H), 3,92 (m, 6H), 3,10 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 1,76 (m, 6H), 1,60–1,25 (complejo m, 93H), 0,90–0,71 (complejo m, 15H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 177,2, 175,2, 169,5, 153,3, 138,4, 135,9, 130,0, 129,6, 129,3, 128,6, 128,4, 127,1, 107,5, 107,2, 73,5, 73,1, 69,2, 67,8, 61,6, 42,5, 37,4, 34,5, 32,0, 30,4, 29,8 (x2), 29,6, 29,5, 26,2, 24,8, 22,8, 22,6, 22,5, 14,2.

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1410.1063 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, calculado para $\text{C}_{92}\text{H}_{147}\text{NO}_9$: 1410.1076]

N-MeLeu-D-PhLac-O-TAGa (6)



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, *N-Fmoc-N-MeLeu-D-PhLac-O-TAGa* (457 mg, 0,324 mmol) se convirtió en **6** (378 mg, 99 %) como un polvo incoloro.

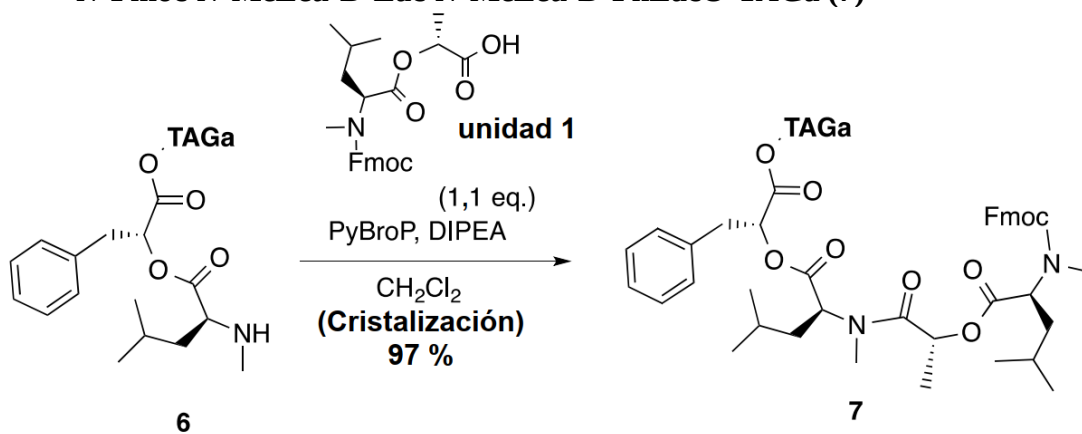
mp: 48 – 49 °C

$[\alpha]_D^{26}$: +4,2 (*c*1,10, CHCl₃)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,22 (m, 5H), 6,48 (s, 2H), 5,28 (dd, *J* = 4,0, 10,3 Hz, 1H), 5,08 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 5,04 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 3,93 (m, 6H), 3,24 (dd, *J* = 4,0 Hz, 14,3 Hz, 1H), 3,17 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,07 (dd, *J* = 9,7, 14,3 Hz, 1H), 2,18 (s, 3H), 1,76 (m, 6H), 1,48–1,25 (complejo m, 93H), 0,90-0,76 (complejo m, 15H).

HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z* : 1189.0458 [(*M*+*H*)⁺, calculado para C₇₇H₁₃₈NO₇: 1189.0473]

***N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLacO-TAGa* (7)**



15

A una solución agitada de **6** (358 mg, 0,301 mmol) en CH₂Cl₂ (0,6 ml) se agregó 0,1 M de solución de tolueno de la **unidad 1** (3,31 ml, 0,331 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,15 ml, 0,903 mmol), y PyBroP (211 mg, 0,452 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 13 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-*

20

TAGa para proporcionar **7** (468 mg, 97 %) como un polvo incoloro.

mp: 47 – 48 °C

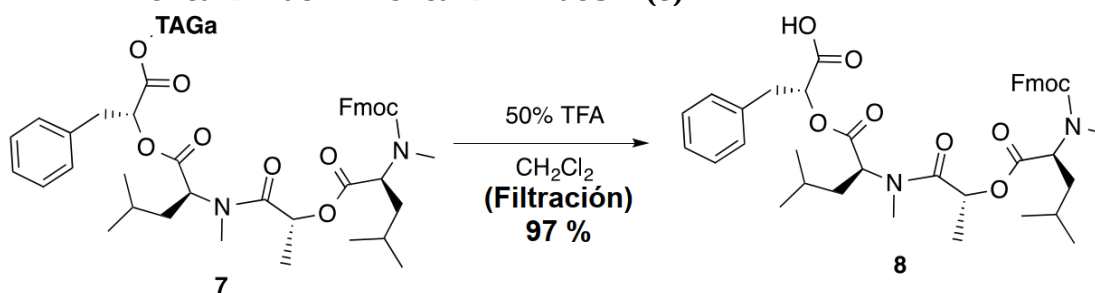
$[\alpha]_D^{26}$: -13,9 (c 1,10, CHCl₃)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,75 (m, 2H), 7,59 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,30–7,09 (complejo m, 7H), 6,44 (m, 2H), 5,36–4,96 (complejo m, 6H), 4,71–4,24 (complejo m, 3H), 3,93 (t, J = 6,5 Hz, 6H), 3,14 (m, 2H), 2,90–2,81 (complejo s, 6H), 1,80–1,25 (complejo m, 105H), 0,96–0,76 (complejo m, 21H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 171,6, 171,2, 171,1, 170,9, 169,3, 157,0, 153,3, 144,3, 143,9, 141,4 (x2), 138,4, 135,9, 130,0, 129,9, 129,8, 129,7, 129,6, 129,5, 129,3, 128,7, 128,5, 128,4, 127,7, 127,6, 127,0, 125,3, 125,1, 125,0, 124,9, 120,0, 107,5, 107,2, 74,1, 74,0, 73,9, 73,8, 73,5, 71,3, 69,2, 67,9, 67,7, 57,4, 57,2, 56,7, 56,6 (x2), 54,5 (x2), 47,4 (x2), 47,3, 37,6, 37,3, 37,2, 37,1, 37,0, 32,0, 31,1, 30,7, 30,6 (x2), 30,5, 30,4, 30,3, 30,2, 29,8 (x2), 29,6, 29,5 (x2), 26,2, 24,9, 24,8, 24,7, 24,6, 24,4, 23,4, 23,2, 22,9, 22,8, 22,1, 21,4, 21,2, 16,8, 14,2.

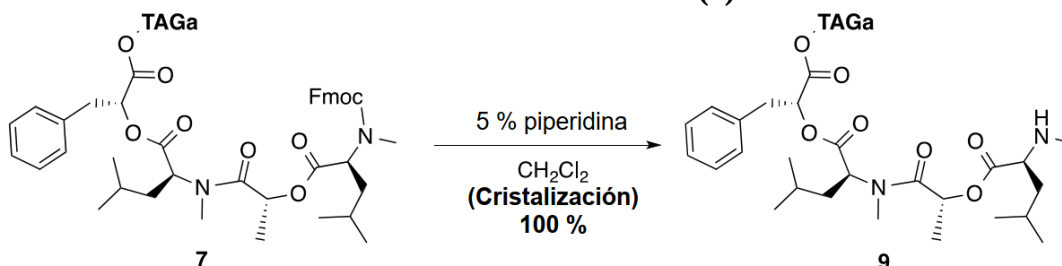
HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1609.2274 (M^+ , calculado para C₁₀₂H₁₆₈N₂O₁₂: 1609.2284)

N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLacOH (8)



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, **7** (244 mg, 0,152 mmol) se convirtió en **8** (106 mg, 97 %) como un aceite amarillo, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLacO-TAGa (9)



25

Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de

desprotección de Fmoc, **7** (204 mg, 0,127 mmol) se convirtió en **9** (176 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

mp: 47 – 48 °C

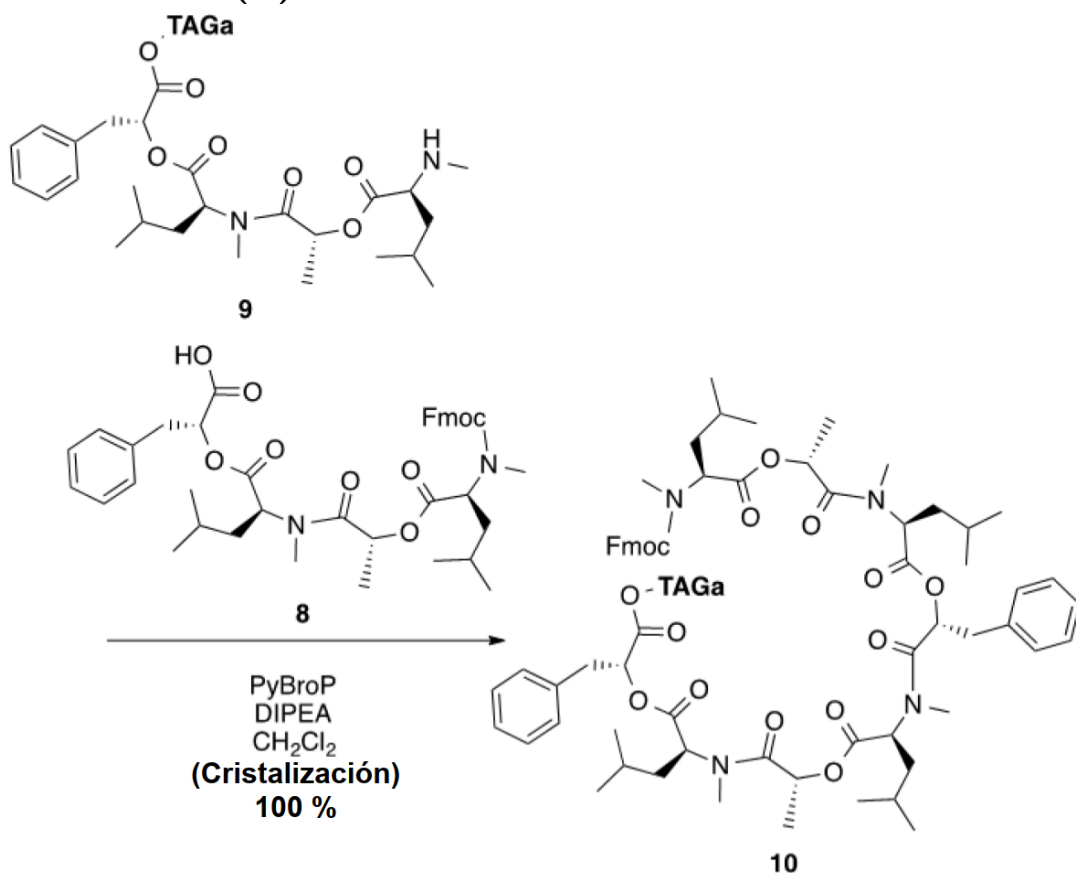
$[\alpha]_D^{26}$: -2,1 (c 11, CHCl₃)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,19 (m, 5H), 6,45 (s, 2H), 5,45 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 5,31 (ddd, J = 4,6, 11,2, 19,6 Hz, 1H), 5,22 (dd, J = 5,2, 6,9 Hz, 1H), 5,03 (m, 2H), 3,94 (m, 6H), 3,33–2,95 (complejo m, 3H), 2,80 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 1,82–1,25 (complejo m, 105H), 0,96–0,75 (complejo m, 21H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 175,0, 171,1, 171,0, 169,2, 153,3, 130,0, 129,8, 129,7, 129,3, 128,7, 128,6, 128,5, 127,4, 127,1, 126,9, 107,5, 107,2, 73,8, 73,5, 71,3, 69,2, 67,9, 67,7, 67,4, 67,3, 61,2, 57,5, 54,6, 42,3, 42,2, 37,3, 37,2, 37,0, 34,6, 32,0, 31,1, 30,4, 29,8 (x2), 29,6, 29,5 (x2), 26,2, 25,0, 24,8, 23,4, 23,0, 22,8, 22,7, 22,4, 22,1, 21,3, 16,9, 16,8, 14,2.

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1388.1676 [(M+H)⁺, calculado para C₈₇H₁₅₅N₂O₁₀: 1388.1682]

N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLac-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLac-O-TAGa (10)



A una solución agitada de **9** (155 mg, 96,2 μmol) en CH_2Cl_2 (1,9 ml) se agregó **8** (103 mg, 0,144 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (73 μl , 0,434 mmol), y PyBroP (112 mg, 0,241 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 66 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-Fmoc-**5 N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** para proporcionar **10** (201 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

mp: 47 – 48 °C

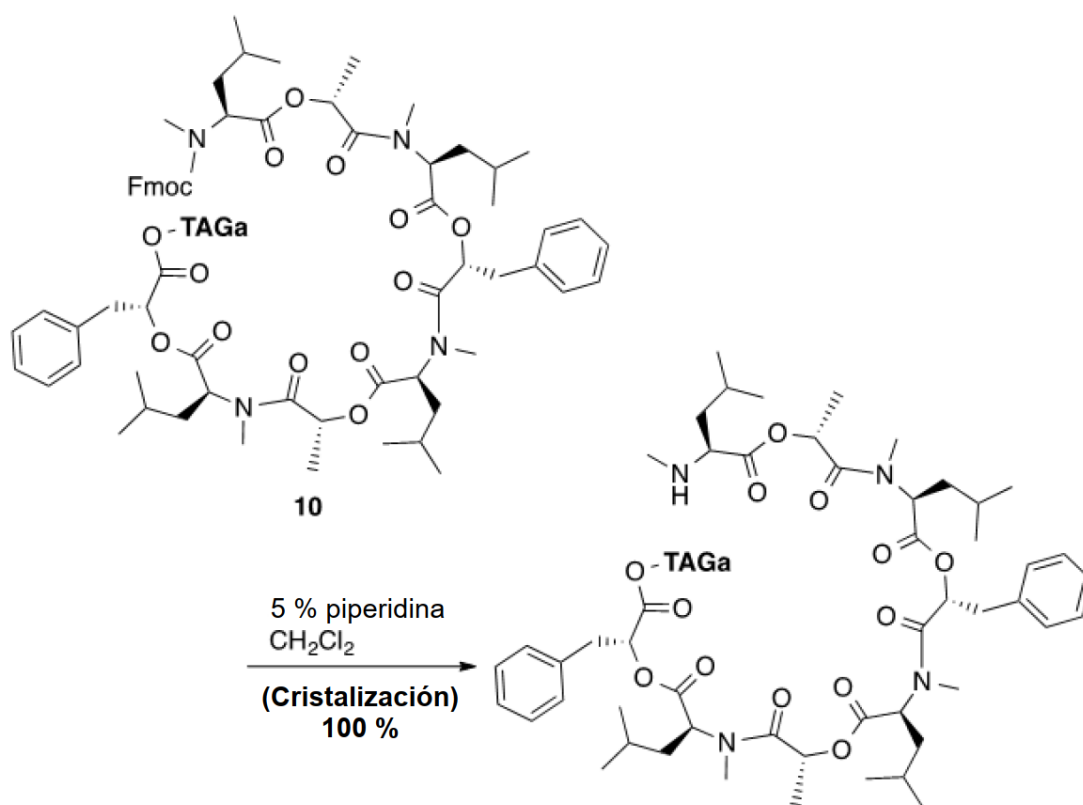
$[\alpha]_{\text{D}}^{27}$: -27,2 (c 1,1, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,75 (m, 2H), 7,59 (m, 2H), 7,38 (m, 2H), 7,30–7,12 (complejo m, 12H), 6,44 (m, 2H), 5,43–4,96 (complejo m, 10H), 4,69–4,22 (complejo m, 3H), 3,93 (m, 6H), 3,24–2,69 (complejo m, 16H), 1,80–1,25 (complejo m, 114H), 0,95–0,75 (complejo m, 33H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 174,1, 171,5, 171,4, 171,3, 171,2, 171,1 (x2), 170,9, 170,8, 170,7, 170,6, 170,5, 170,4, 170,0, 169,2, 157,0, 156,5, 153,3, 144,3, 144,2, 144,0 (x2), 141,4 (x2), 138,6, 138,4, 136,1, 136,0, 135,9 (x2), 135,7, 135,6, 135,3, 130,0, 129,8, 129,7, 129,6, 129,5, 129,3, 128,8, 128,7, 128,6, 128,4, 127,7, 127,4, 127,1 (x2), 127,0, 125,3, 125,2, 125,1, 125,0, 120,0, 107,5, 107,2, 107,1, 73,9, 73,5, 72,5, 71,3, 69,2, 68,0, 67,7, 57,5, 56,6 (x2), 55,1, 55,0, 54,9, 54,7, 54,4, 47,4, 47,3, 40,9, 40,6, 38,7, 37,6, 37,3, 37,2, 37,1, 32,0, 31,9, 31,7, 31,5, 31,3, 31,2, 31,0, 30,7, 30,6, 30,4, 30,3, 29,8 (x2), 29,6, 29,5 (x2), 25,0, 24,9, 24,8, 24,7, 24,5, 24,4 (x2), 23,4, 23,3, 23,1, 23,0, 22,9, 22,8, 22,3, 22,1, 22,0, 21,3, 21,2, 16,8, 16,6, 16,5, 14,2.

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 2106.4910 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$, calculado para $\text{C}_{128}\text{H}_{202}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{Na}$: 2106.4912]

25 N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLac-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-PhLac-O-TAGa



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **10** (181 mg, 86,8 μmol) se convirtió en la correspondiente amina (163 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

mp: 47 – 48 °C

$[\alpha]_{\text{D}}^{27}$: –18,7 (*c* 1,3, CHCl_3)

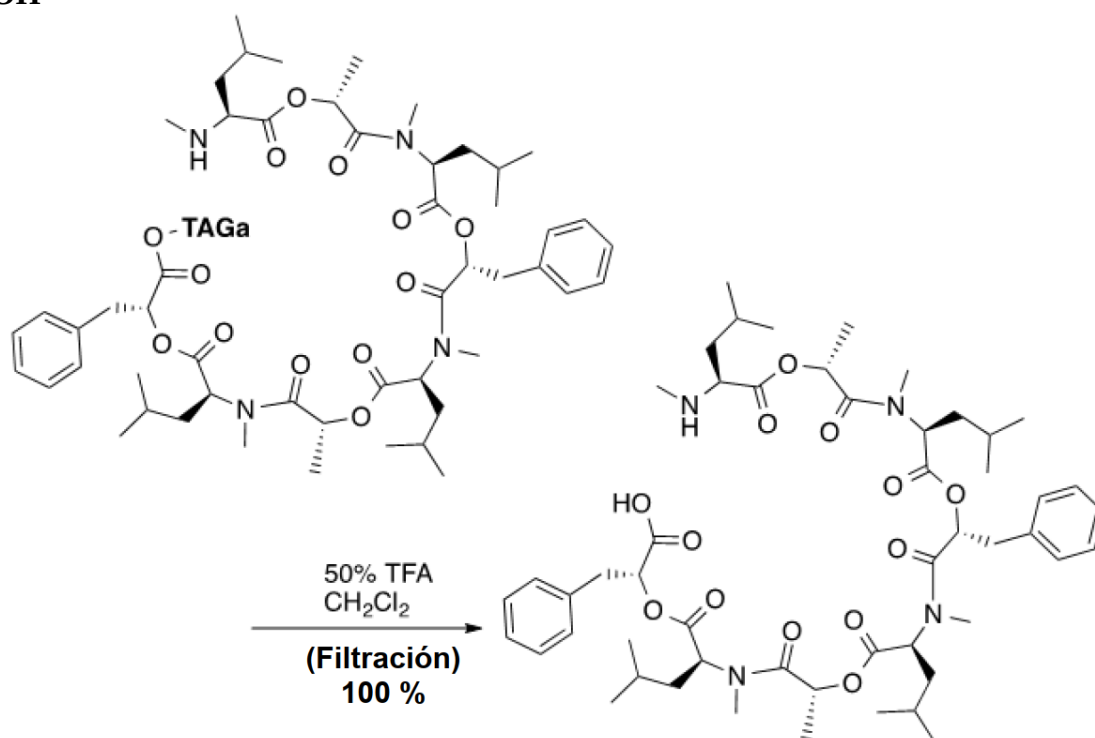
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,20 (m, 10H), 6,44 (s, 2H), 5,50–4,95 (complejo m, 9H), 3,93 (m, 6H), 3,31–2,72 (complejo m, 14H), 2,36 (m, 3H), 1,80–1,25 (complejo m, 114H), 0,99–0,81 (complejo m, 33H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 171,4, 171,2, 171,0, 170,9, 170,6, 170,4, 153,3, 138,3, 136,1, 136,0, 135,9, 135,8, 130,0, 129,8 (x2), 129,7, 129,6 (x3), 129,5, 129,4, 129,2, 129,2 (x2), 128,8, 128,7, 128,6, 128,4, 127,4, 127,3, 127,2 (x2), 127,1, 127,0, 107,5, 107,2, 107,1, 73,9, 73,5, 72,3, 72,2, 71,3, 69,2, 68,0 (x2), 67,7, 67,4, 61,3, 55,2, 55,0, 54,8, 54,5, 54,4, 42,4, 40,6, 38,7, 37,7, 37,2, 37,1, 34,7 (x2), 32,0, 31,7, 31,5, 31,0, 30,4, 29,8 (x2), 29,6, 29,5 (x2), 26,2, 25,0, 24,9 (x2), 24,7, 23,5, 23,4 (x2), 23,3, 23,2, 23,0, 22,8, 22,4, 22,1, 21,9, 21,3 (x2), 16,9, 16,8 (x3), 16,7, 16,6, 16,5, 14,2.

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1862.4462 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, calculado para $\text{C}_{113}\text{H}_{193}\text{N}_4\text{O}_{16}$: 1862.4412]

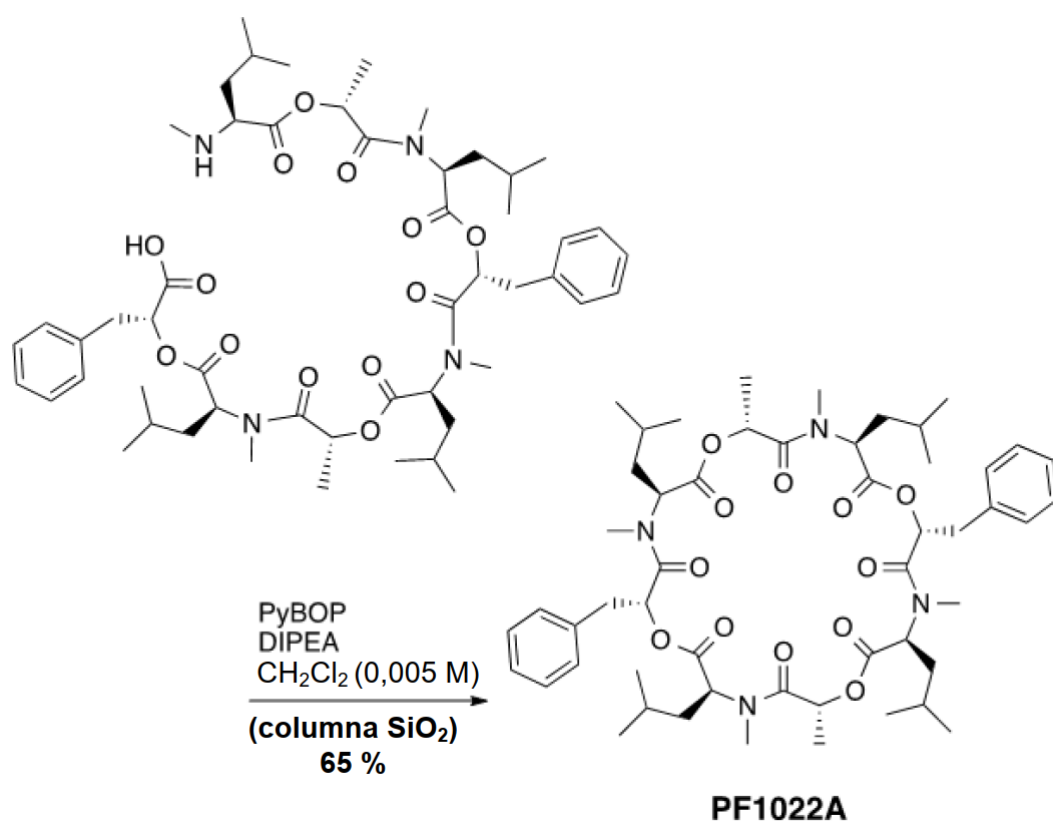
***N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-PhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-PhLac-**

OH



5 Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, *N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-PhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-PhLac-**O-TAGa** (143 mg, 0,768 mmol) se convirtió en el correspondiente ácido carboxílico (78 mg, 100 %) como un aceite amarillo, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

PF1022A



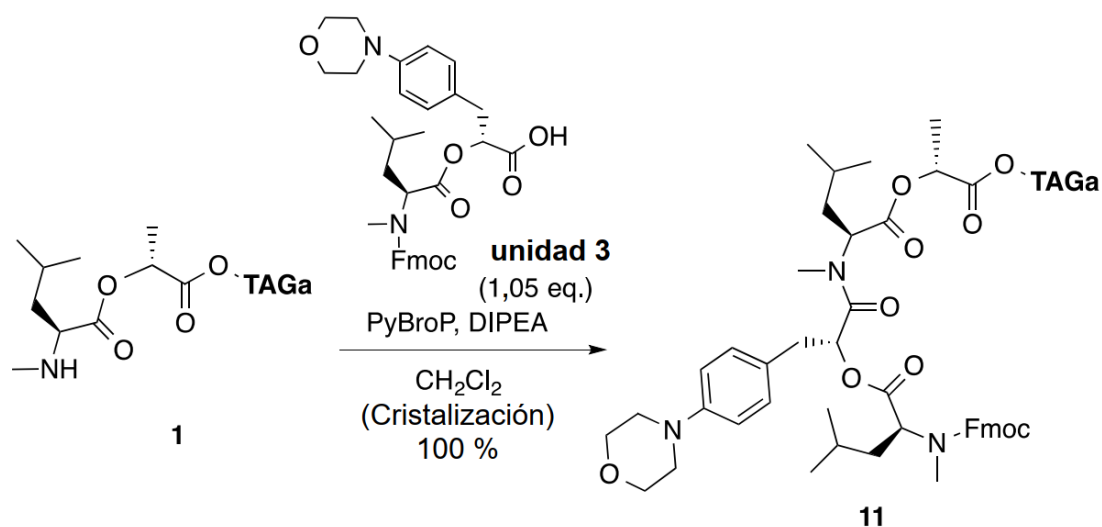
Un producto bruto de reacción previa (78 mg, 0,0777 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 (16 ml, 0,005 M). A la mezcla de reacción se agregó *N,N*-diisopropiletilamina (66 μl , 0,389 mmol) y PyBOP (81 mg, 0,155 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitar durante 48 h, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO_3 acuoso saturado (16 ml) a 0 °C y esta mezcla se extrajo con CHCl_3 (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 10 % NaHSO_4 acuoso (60 ml), y salmuera (60 ml), se secaron en Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (CHCl_3 : MeOH = 400 : 1 a 40: 1) para proveer PF1022A (48 mg, 65 %) como un sólido incoloro.

Todos los datos físicos para PF1022A sintético coincidieron con los datos de PF1022A auténtico.

5. Preparación de Emodepsida (Método 1; ver esquemas de reacción en la FIG. 6, espectros NMR en la FIG. 7 y espectros LC-UV en la FIG. 8)

5-1. Procedimiento sintético

***N*-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-O-TAGa (11)**

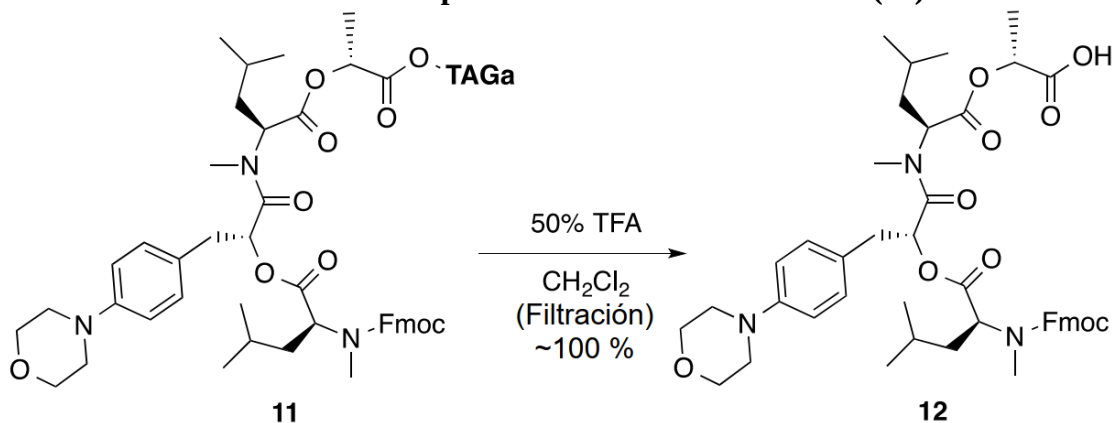


A una solución agitada de **1** (259 mg, 0,233 mmol) en CH_2Cl_2 (4,7 ml) se agregó 0,2 M de solución de tolueno de la **unidad 3** (0,122 ml, 0,244 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,12 ml, 0,698 mmol), y PyBroP (163 mg, 0,349 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse a 40 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-Lac-O-TAGa para proporcionar **11** (395 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

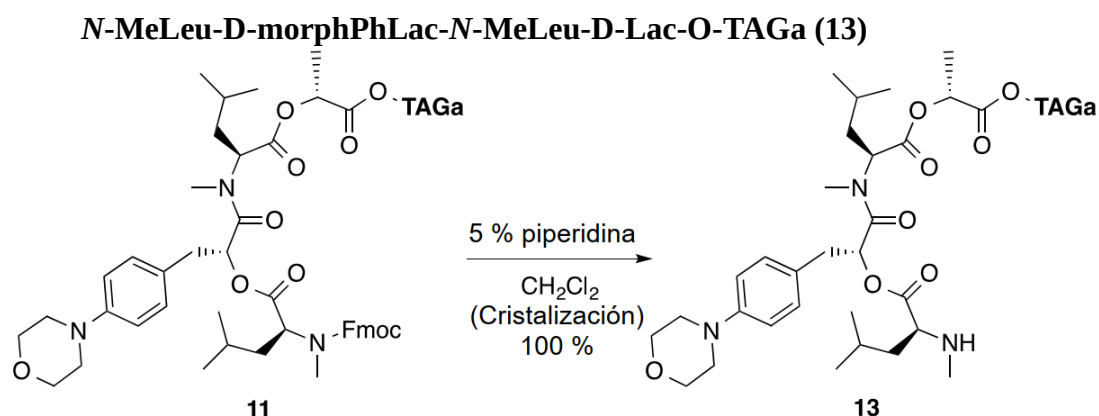
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,74 (m, 2H), 7,57 (m, 2H), 7,42–7,27 (complejo m, 4H), 7,05 (m, 2H), 6,70 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,48 (s, 2H), 5,40 (dd, $J = 6,9, 8,4$ Hz, 3/10H, rotámero), 5,35–5,27 (complejo m, 17/10H), 5,10–4,97 (complejo m, 4H), 4,72–4,12 (complejo m, 3H), 3,93 (m, 6H), 3,75 (m, 4H), 3,00–2,79 (complejo m, 12H), 1,80–1,60 (complejo m, 9H), 1,49–1,42 (complejo m, 9H), 1,27 (complejo m, 87H), 0,93–0,80 (complejo m, 21H).

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1717.2701 $[(M+\text{Na})^+]$, calculado para $\text{C}_{106}\text{H}_{171}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{Na}$: 1717.2710]

N-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-OH (**12**)



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, **11** (210 mg, 0,124 mmol) se convirtió en **12** (100 mg, ~0,124 mmol) como un aceite pardo. Este producto bruto se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

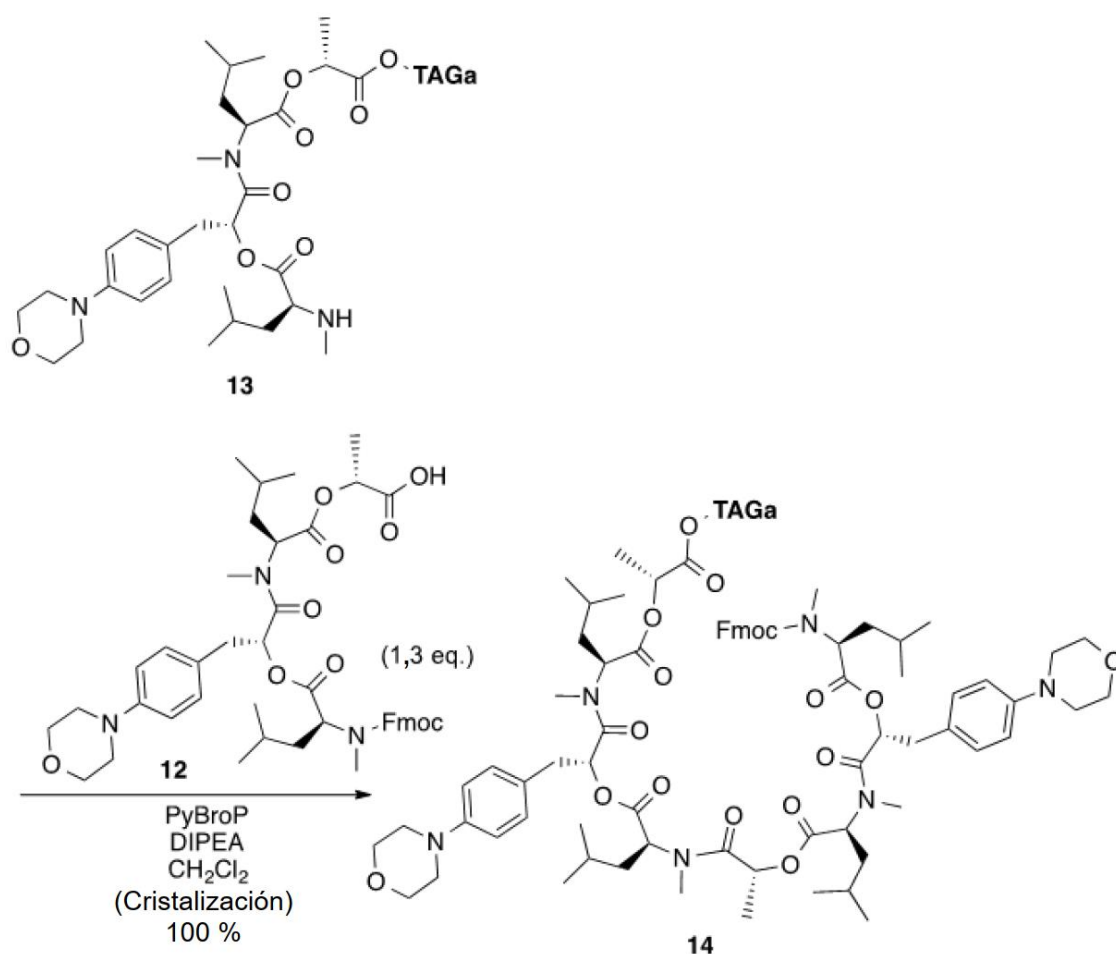


Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **11** (158 mg, 0,0934 mmol) se convirtió en **13** (138 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,15 (m, 2H), 6,83 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,49 (s, 2H), 5,47 (dd, J = 6,9, 8,0 Hz, 1H), 5,32 (dd, J = 4,9, 11,2 Hz, 1H), 5,09–5,00 (complejo m, 3H), 3,94 (m, 6H), 3,85 (m, 4H), 3,27 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 3,13–2,79 (complejo m, 9H), 2,29 (s, 3H), 1,81–1,25 (complejo m, 105H), 1,01–0,78 (complejo m, 21H).

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1473.2214 $[(M+H)^+]$, calculado para $\text{C}_{91}\text{H}_{162}\text{N}_3\text{O}_{11}$: 1473.2209]

***N*-Fmoc-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-O-TAGa (**14**)**

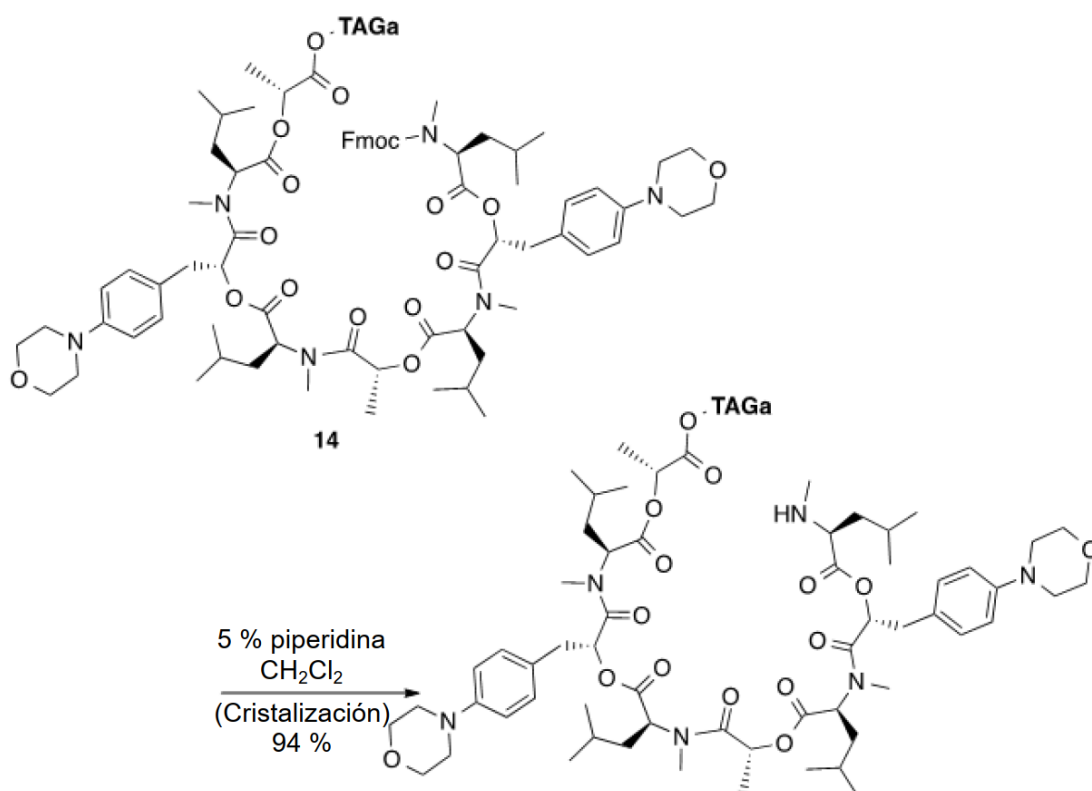


A una solución agitada de **13** (138 mg, 0,934 mmol) en CH₂Cl₂ (1,9 ml) se agregó **12** (100 mg, ~ 0,124 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (48 μ l, 0,280 mmol), y PyBroP (65 mg, 0,140 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 18 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-**Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** para proporcionar **14** (211 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,75 (m, 2H), 7,58 (m, 2H), 7,42–7,28 (complejo m, 4H), 7,09 (m, 4H), 6,77 (m, 4H), 6,48 (s, 2H), 5,45–5,15 (complejo m, 6H), 5,06–4,97 (complejo m, 4H), 4,73–4,12 (complejo m, 3H), 3,95–3,73 (complejo m, 14H), 3,15–2,73 (complejo m, 24H), 1,80–1,25 (complejo m, 114H), 0,96–0,77 (complejo m, 33H).

HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z*: 2276.5962 [(M+Na)⁺, calculado para C₁₃₆H₂₁₆N₆O₂₀Na: 2276.5967]

***N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-O-TAGa**

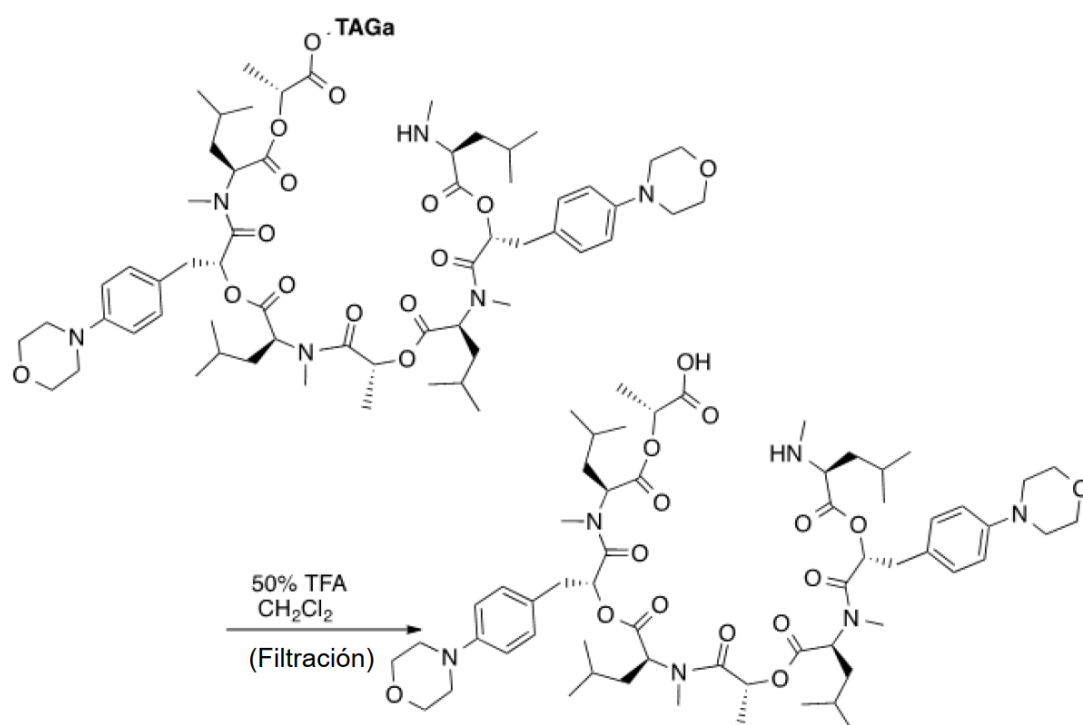


Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **14** (211 mg, 0,0934 mmol) se convirtió en la correspondiente amina (178 mg, 94 %) como un polvo incoloro.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,15 (m, 4H), 6,82 (m, 4H), 6,49 (s, 2H), 5,14 (t, $J = 7,45$ Hz, 1H), 5,44–5,09 (complejo m, 5H), 5,07–5,00 (complejo m, 3H), 3,93 (m, 6H), 3,85 (m, 8H), 3,32 (m, 1H), 3,17–2,74 (complejo m, 21H), 2,33 (s, 3H), 1,81–1,64 (complejo m, 12H), 1,55–1,25 (complejo m, 102H), 1,03–0,77 (complejo m, 33H).

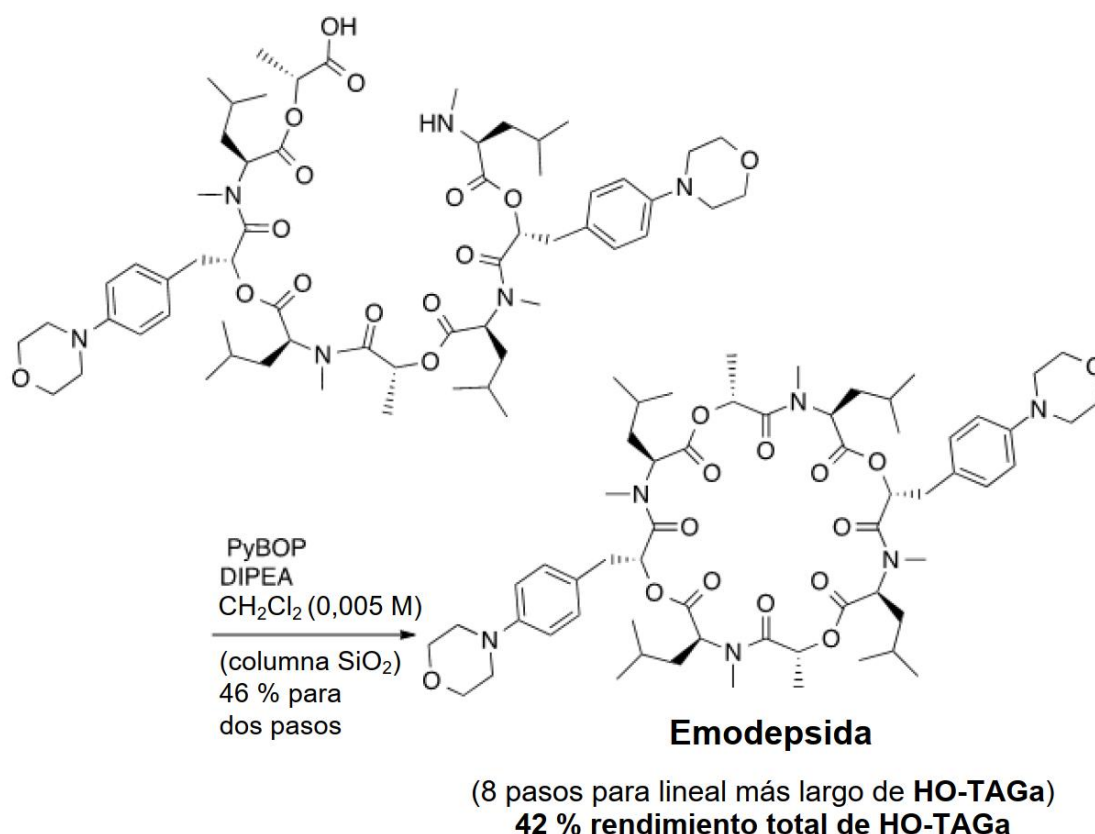
HR-MS (FAB, matriz NBA +NaI) m/z : 2032.5488 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, calculado para $\text{C}_{121}\text{H}_{207}\text{N}_6\text{O}_{18}$: 2032.5467]

***N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-OH**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, *N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*N*-MeLeu-*D*-LacO-TAGa (178 mg, 0,0876 mmol) se convirtió en el correspondiente ácido carboxílico (~ 0,0876 mmol) como un aceite bruto, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Emodepsida (condición altamente diluida usando PyBOP)



A un producto bruto de ácido carboxílico (~0,0876 mmol) en CH₂Cl₂ (18 ml, 0,005 M) se agregó *N,N*-diisopropiletilamina (0,10 ml, 0,613 mmol) y PyBOP (91 mg, 0,175 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 19 h, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (18 ml) a 0 °C y esta mezcla se extrajo con CHCl₃ (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 10 % NaHSO₄ acuoso (60 ml), y salmuera (60 ml), se secaron en Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (CHCl₃: MeOH = 400 : 1 a 100: 1) para proveer **Emodepsida** (45 mg, 46 % para 2 pasos) como un sólido amarillo claro.

mp: 98–103 °C

$[\alpha]_D^{24}$: -40,3 (*c* 0,67, CHCl₃)

IR (puro) $\tilde{\nu}_{\text{máx}}$: 2954, 2862, 1743, 1659, 1520, 1458, 1412, 1265, 1234, 1188, 1119, 1072, 1026, 926, 810.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,14-7,11 (complejo m, 4H), 6,83-6,79 (complejo m), 5,64-5,54 (complejo m), 5,52-5,43, 5,43-5,39, 5,33, 5,18, 5,06 y 4,46 (5 m, 6H), 3,85 (aparentemente t, 8H), 3,15-3,04 (complejo m, 8H), 3,04-2,92 (complejo m, 4H), 3,00, 2,82, 2,79, 2,72 y 2,71 (5 s, 12H), 1,82-1,24 (complejo m, 18H), 1,03-0,79 (complejo m, 30H).

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 171,6, 171,2, 171,0, 170,9, 170,3, 170,2, 170,1, 169,8, 169,7, 150,2, 130,4, 130,2, 115,7, 115,6, 71,2, 70,8, 68,5, 66,8, 66,7, 57,1, 54,0, 53,9, 49,3, 49,2, 38,0, 37,5, 37,1, 36,9, 36,8, 36,7, 36,6, 36,1, 31,1, 30,6, 30,4, 29,7, 29,6, 29,3, 25,0, 24,8, 24,6, 24,5, 24,5, 24,1, 23,6, 23,5, 23,4, 23,3, 23,3, 23,1, 22,6, 21,6, 21,5, 21,1, 21,1, 21,0, 20,8, 17,1, 15,7.

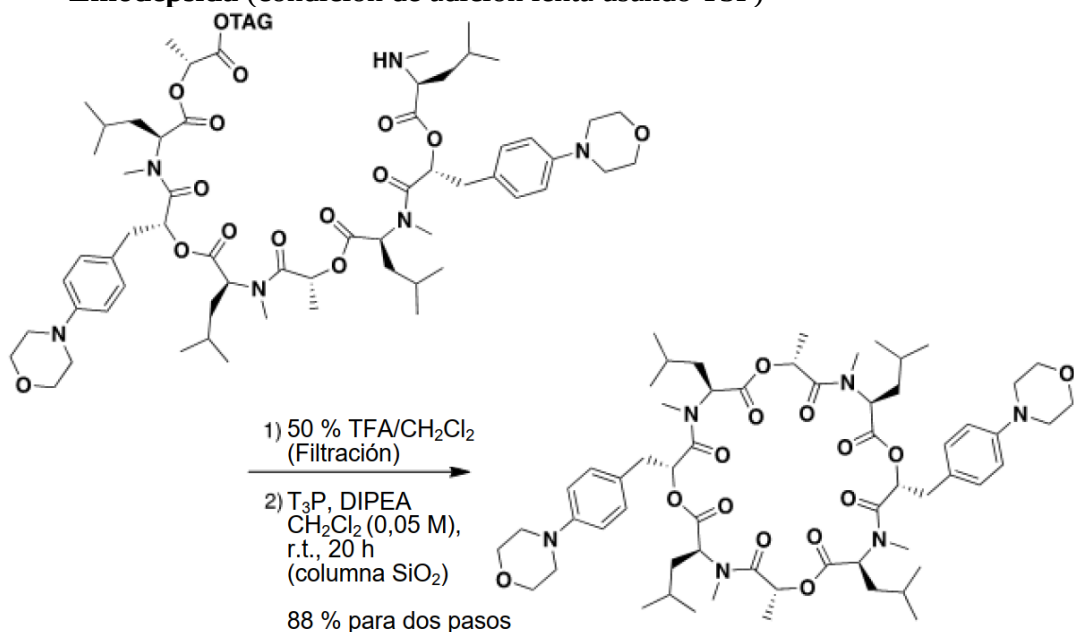
HRMS (ESI) m/z : 1141.6404 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$, calculado para $\text{C}_{60}\text{H}_{90}\text{N}_6\text{O}_{14}$ Na: 1141.6413]

*Literatura (*Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 1546-1553)

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7,17-7,09 (m, 4 H, Ar-H), 6,86-6,77 (m, 4 H, Ar-H), 5,67-5,54 (m, 2 H, $\text{C}\alpha\text{H}$ -Lac), 5,53-5,38, 5,34, 5,19, 5,08 y 4,47 (5 m, 6 H, $\text{C}\alpha\text{H}$ -Leu, $\text{C}\alpha\text{H}$ -morphPhLac), 3,88-3,81 (pseudo-t, 8 H, OCH_2 morfolina), 3,15–3,08 (m, 8 H, N-CH_2 -morfolina), 3,07-2,85 (m, 4 H, $\text{C}\beta\text{H}_2$ -morphPhLac), 3,00, 2,83, 2,80, 2,74 y 2,73 (5 s, 12 H, NCH_3), 1,83–1,20 (m, 18 H, $\text{C}\beta\text{H}_2$ -Leu, $\text{C}\gamma\text{H}$ -Leu, CH_3 -Lac), 1,05-0,77 (m, 30 H, $\text{C}\delta\text{H}_3$ -Leu, $\text{C}\beta\text{H}_3$ -Lac).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 171,7, 171,2, 171,0, 170,6, 170,4, 170,2, 169,8, 141,7, 130,6, 130,4, 116,9, 116,1, 71,3, 70,8, 68,6, 66,9, 66,6, 66,5, 57,1, 54,0, 49,9, 38,1, 37,5, 37,2, 36,7, 36,2, 31,2, 30,5, 29,4, 24,9, 24,7, 24,2, 23,6, 23,5, 23,5, 23,4, 21,2, 21,1, 20,9, 17,1, 15,8.

Emodepsida (condición de adición lenta usando T3P)



Emodepsida

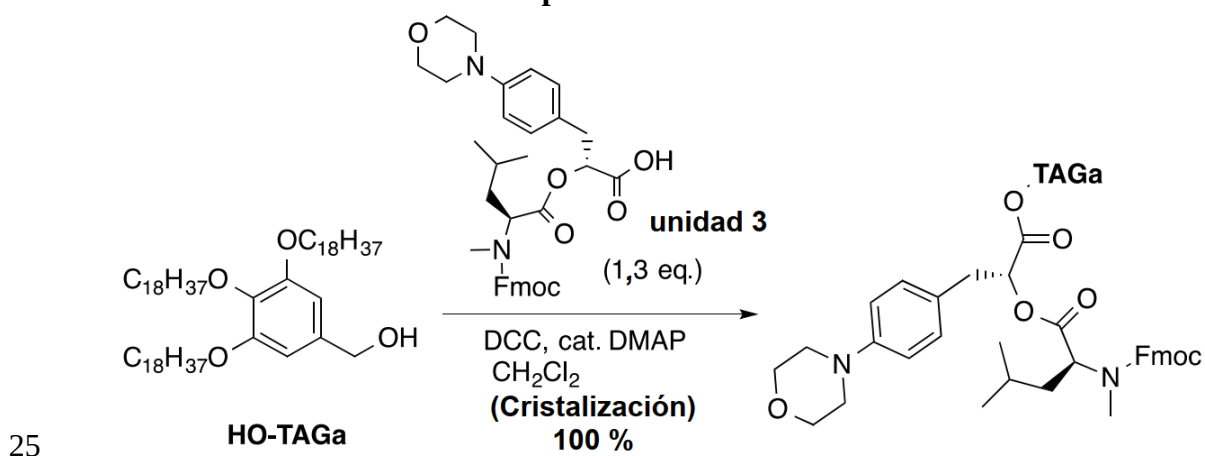
(8 pasos para lineal más largo de **HO-TAGa**)
85 % rendimiento total de HO-TAGa

Escisión de TAGa: A una solución en agitación del compuesto lineal en TAG (179,0 mg, 0,088 mmol) en DCM (1,8 ml) se agregó TFA (1,8 ml) a temperatura ambiente. Luego de agitar durante 6 h a temperatura ambiente, la solución se concentró al vacío. La mezcla resultante se disolvió en tolueno (10 ml) y se concentró a presión reducida 3 veces para retirar el exceso de TFA. El residuo bruto se disolvió en CH₂Cl₂ (1,0 ml), luego se recrystalizó para los materiales de TAGa escindidos por la adición de MeOH (8,0 ml) a temperatura ambiente. Los precipitados se filtraron a través de una almohadilla de Celite® y se lavaron con MeOH (20 ml). Los filtrados combinados se concentraron al vacío. Al producto resultante se agregó 4 M HCl/Dioxano (0,05 M por producto), seguido por dilución con tolueno (10 ml) y se concentró para proporcionar el producto libre de sal de TFA. Para retirar el exceso de HCl de un producto bruto, el producto se disolvió nuevamente en tolueno (10 ml) y se concentró a presión reducida 2 veces.

Ciclación: A una solución agitada de T3P® (50 % en EtOAc, 110 µl, 0,187 mmol) en DIPEA (110 µl, 0,187 mmol) se agregó gota a gota un compuesto lineal bruto (0,088 mmol) en DCM (1,8 ml, 0,05 M incluyendo lavado) durante 2,5 h a temperatura ambiente. Luego de agitar durante 20 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ ac. sat. (3,0 ml), se extrajo con CHCl₃ (2,0 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (CHCl₃/MeOH = 100/1) para proveer Emodepsida (86,4 mg, 88 %) como un amorfo. Los datos analíticos se identificaron por la muestra auténtica.

6. Preparación de Emodepsida (Método 2; ver esquema de reacción en la FIG. 9)

N-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*O*-TAGa



A una solución agitada de **HO-TAGa** (381 mg, 0,417 mmol) en CH₂Cl₂ (8,4 ml)

se agregó 0,2 M solución de tolueno de **unidad 3** (2,71 ml, 0,542 mmol), 4-dimetilaminopiridina (2,5 mg, 20,8 μ mol), y *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (129 mg, 0,626 mmol) a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 . Luego de agitarse durante 1 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-**Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** para proporcionar *N*-**Fmoc-N-MeLeu-D-morphPhLac-O-TAGa** (628 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

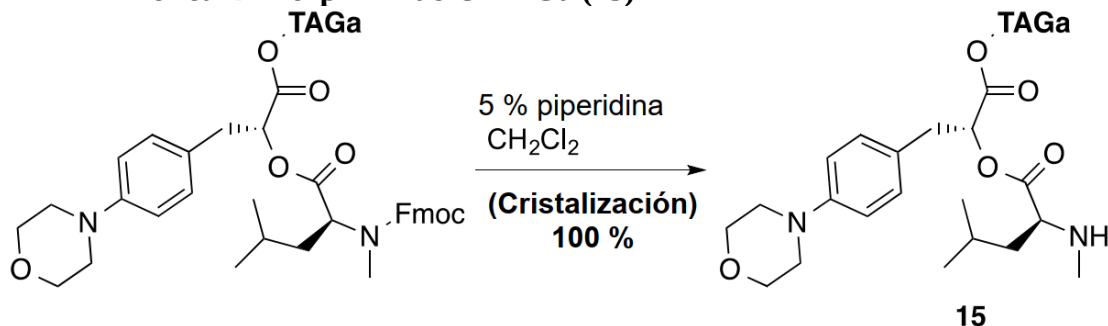
mp : 46-47 °C

$[\alpha]_D^{27} = -3,1$ (c 1,0, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,78 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,57 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,27 (m, 2H), 6,98 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,96 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,67 (m, 2H), 6,49 (2 s, rotámero 4:3, 2H), 5,17 (2 dd, rotámero, $J = 4,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H), 5,08–4,98 (complejo m, 3H), 4,67–4,13 (complejo m, 3H), 3,93 (m, 6H), 3,73 (m, 4H), 3,08 (dd, $J = 4,0$ Hz, 14,6 Hz, 1H), 3,07–2,95 (complejo m, 5H), 2,80 (rotámero 4:3, 3H), 1,76 (m, 6H), 1,64–1,53 (complejo m, 3H), 1,45 (m, 6H), 1,28 (complejo m, 84H), 0,93–0,86 (complejo m, 14H), 0,76 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H).

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1495.1583 (M^+ , calculado para $C_{96}H_{154}N_2O_{10}$: 1495.1604)

***N*-MeLeu-D-morphPhLac-O-TAGa (15)**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, *N*-**Fmoc-N-MeLeu-D-morphPhLac-O-TAGa** (628 mg, 0,417 mmol) se convirtió en **15** (530 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

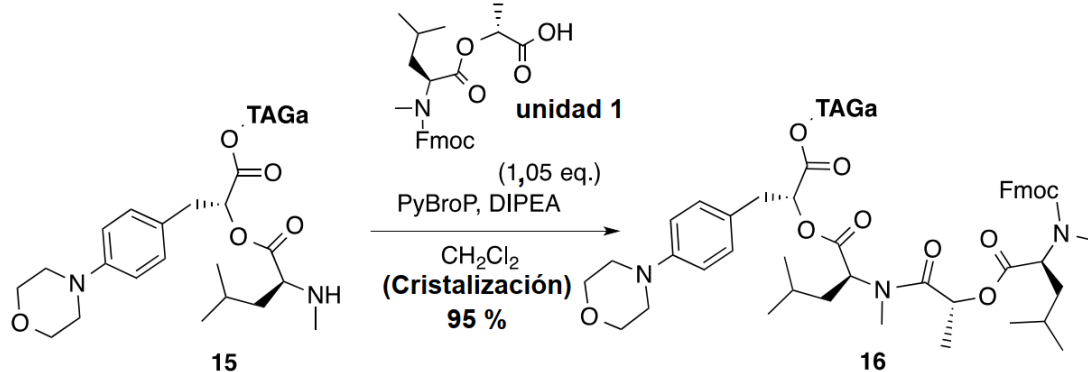
mp : 49-50 °C

$[\alpha]_D^{27} = +5,7$ (c 1,0, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,08 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,80 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,51 (s, 2H), 5,24 (dd, $J = 4,0, 9,7$ Hz, 1H), 5,07 (q, $J = 12,0$ Hz, 2H), 3,94 (m, 6H), 3,85 (m, 4H), 3,18 (m, 2H), 3,10 (m, 4H), 3,00 (d, $J = 10,3, 14,3$ Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 1,76 (m, 6H), 1,47 (m, 6H), 1,34–1,25 (complejo m, 87H), 0,88 (t, $J = 6,9$ Hz, 9H), 0,80 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,79 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1274.0986 $[(M+H)^+]$, calculado para $C_{81}H_{145}N_2O_8$: 1274. 1001]

***N*-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*O*-TAGa (16)**



5

A una solución agitada de **15** (530 mg, 0,417 mmol) en CH_2Cl_2 (8,4 ml) se agregó 0,2 M de solución de tolueno de la **unidad 1** (0,22 ml, 0,44 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,212 ml, 1,25 mmol), y PyBroP (291 mg, 0,62 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 16 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*O*-TAGa para proporcionar **16** (670 mg, 95 %) como un polvo incoloro.

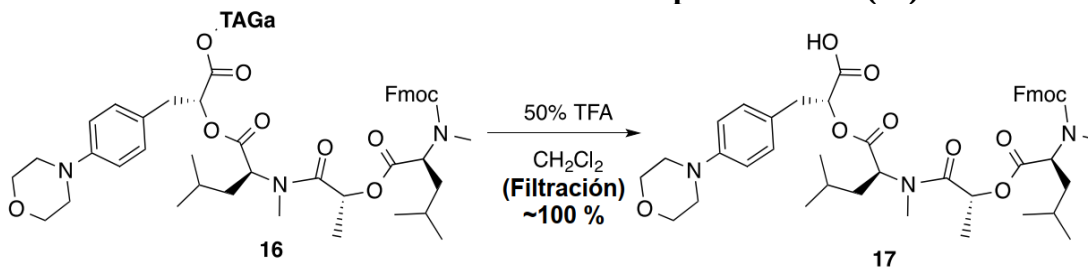
mp : 48-49 °C

$[\alpha]_D^{27} = -12,4$ (c 1,0, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,76 (m, 2H), 7,61 (m, 2H), 7,38 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 7,02 (m, 2H), 6,74 (m, 2H), 6,49 (2 s, rotámero, 2H), 5,38–5,22 (complejo m, 2H), 5,15–4,98 (complejo m, 4H), 4,47 (complejo m, 3H), 3,94 (m, 6H), 3,81 (m, 4H), 3,12–2,78 (complejo m, 12H), 1,82–1,56 (complejo m, 9H), 1,53–1,40 (complejo m, 8H), 1,34–1,26 (complejo m, 88H), 0,98–0,75 (complejo m, 21H).

HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 1694.2828 (M^+ , calculado para $C_{106}H_{171}N_3O_{13}$: 1694.2812)

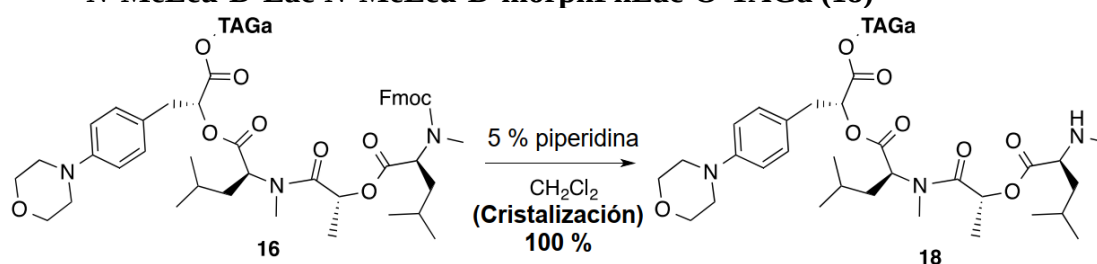
***N*-Fmoc-*N*-MeLeu-*D*-Lac-*N*-MeLeu-*D*-morphPhLac-*OH* (17)**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de

TAGa, **16** (376 mg, 0,222 mmol) se convirtió en **17**. En el caso de este sustrato, la reacción requirió más tiempo que el de la condición general de la escisión de TAGa (aprox. 1 h). La reacción de **16** en 50 % TFA/CH₂Cl₂ a temperatura ambiente fue necesario agitarla durante 8 h para consumir todo el material de partida, y proporcionó el producto **17** (178 mg, 0,222 mmol) como un aceite bruto, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-morphPhLac-O-TAGa (18)



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **16** (290 mg, 0,171 mmol) se convirtió en **18** (251 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

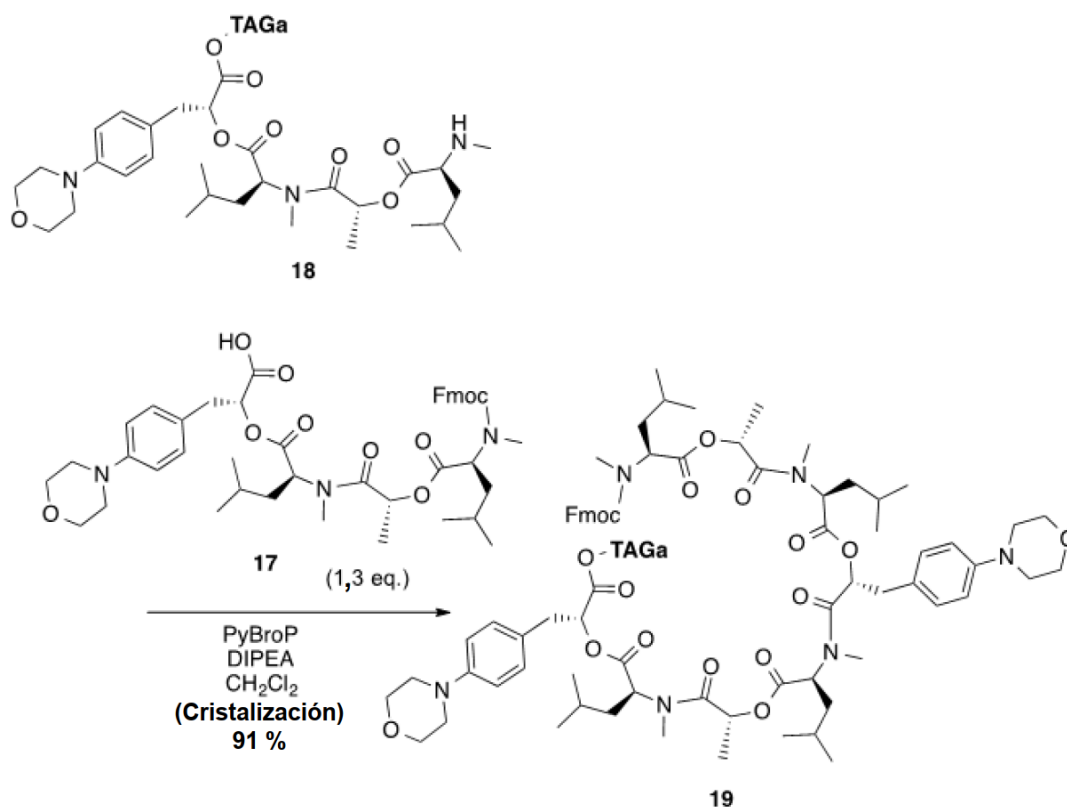
mp : 43-45 °C

$[\alpha]_D^{25} = -2,8$ (c 1,0, CHCl₃)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,07 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,49 (s, 2H), 5,46 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,33 (dd, *J* = 5,2, 10,9 Hz, 1H), 5,17 (dd, *J* = 5,2, 7,5 Hz, 1H), 5,06 (m, 2H), 3,95 (m, 6H), 3,84 (m, 4H), 3,33 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 3,11–3,06 (complejo m, 6H), 2,82 (2 s, rotámero 4:1, 3H), 2,40 (s, rotámero, 3H), 1,82–1,59 (complejo m, 10H), 1,52–1,43 (complejo m, 8H), 1,34–1,25 (complejo m, 87H), 0,97–0,86 (complejo m, 21H).

HRMS (FAB, matriz NBA +NaI) *m/z*: 1473.2222 [(M+H)⁺, calculado para C₉₁H₁₆₂N₃O₁₁ : 1473.2209]

N-Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-morphPhLac-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-morphPhLac-O-TAGa (19)



A una solución agitada de **18** (251 mg, 0,171 mmol) en CH₂Cl₂ (3,4 ml) se agregó **17** (178 mg, 0,222 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (87 μ l, 0,513 mmol), y PyBroP (120 mg, 0,257 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 46 h, la mezcla de reacción se cristalizó por el procedimiento descrito en la síntesis de *N*-**Fmoc-N-MeLeu-D-Lac-O-TAGa** para proporcionar **19** (350 mg, 91 %) como un polvo incoloro.

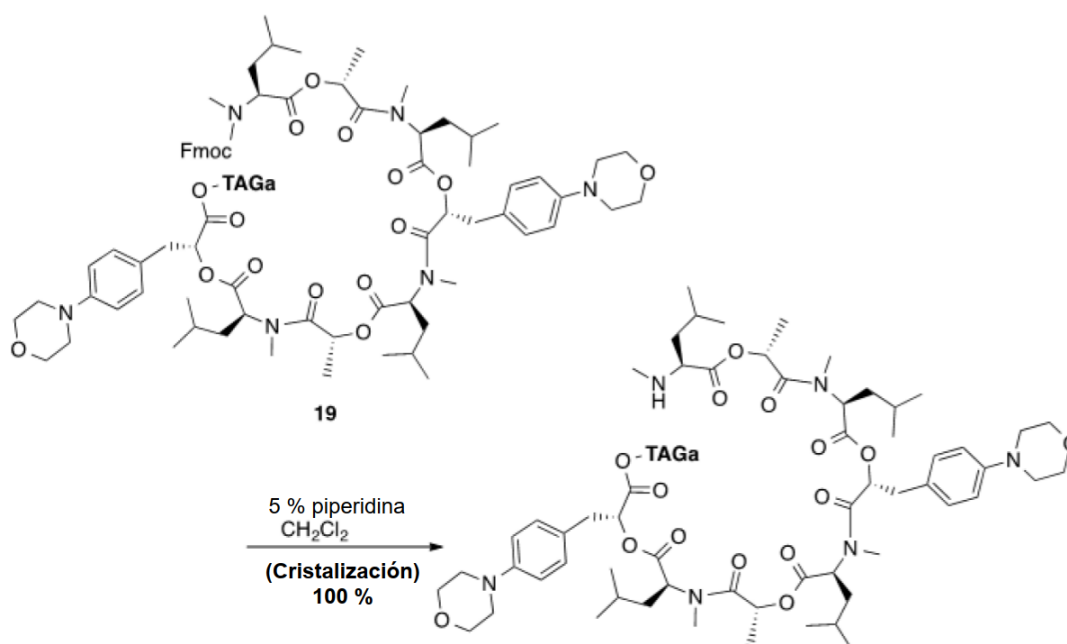
mp : 50-52 °C

$[\alpha]_D^{25} = -25,5$ (*c* 1,0, CHCl₃)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,75 (m, 2H), 7,62 (m, 2H), 7,38 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 7,06 (m, 4H), 6,77 (m, 4H), 6,49 (2 s, rotámero, 2H), 5,42–4,98 (complejo m, 10H), 4,73–4,20 (complejo m, 3H), 3,94 (m, 6H), 3,84 (m, 8H), 3,17–2,66 (complejo m, 24H), 1,80–1,64 (complejo m, 14H), 1,46-1,25 (complejo m, 100H), 1,00–0,77 (complejo m, 33H).

HRMS (FAB, matriz NBA) *m/z*: 2276.5940 [(M+Na)⁺, calculado para C₁₃₆H₂₁₆N₆O₂₀Na : 2276.5967]

***N*-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-morphPhLac-N-MeLeu-D-Lac-N-MeLeu-D-morphPhLac-O-TAGa**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de desprotección de Fmoc, **19** (114 mg, 0,0505 mmol) se convirtió en la correspondiente amina (103 mg, 100 %) como un polvo incoloro.

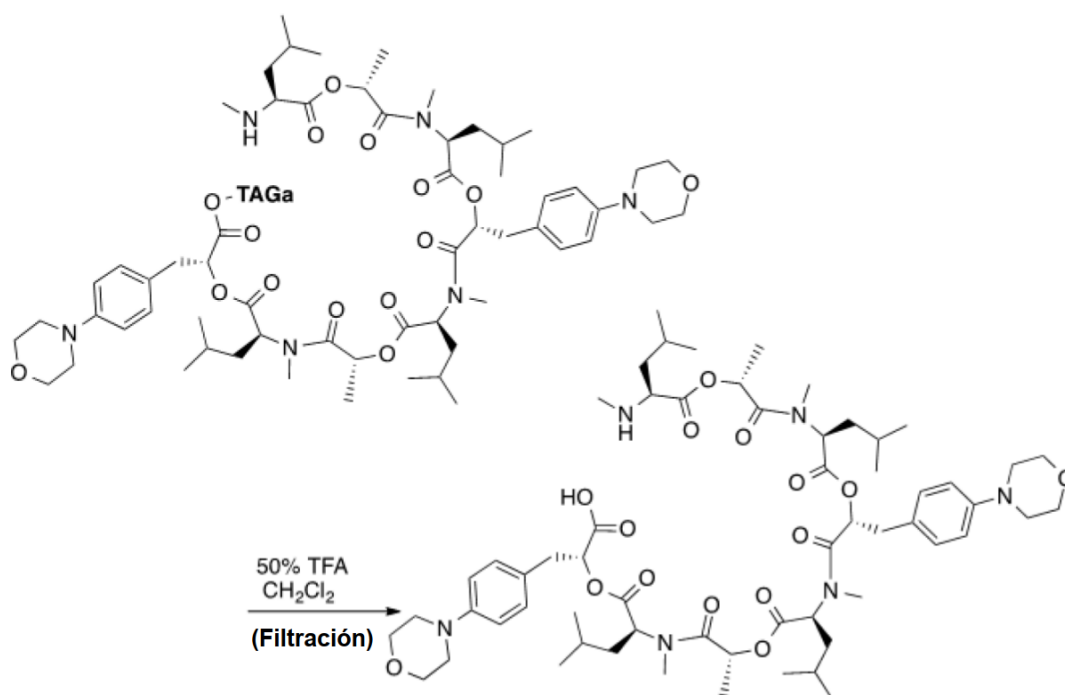
mp : 45-47 °C

$[\alpha]_D^{25} = -19,6$ (c 1,0, CHCl₃)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,76 (m, 4H), 6,79 (m, 4H), 6,48 (s, 2H), 5,50-4,96 (complejo m, 9H), 3,94 (m, 6H), 3,83 (m, 8H), 3,30 (m, 1H), 3,16-2,74 (complejo m, 21H), 2,38 (m, 3H), 1,80-1,55 (complejo m, 9H), 1,47-1,24 (complejo m, 105H), 1,00-0,81 (complejo m, 33H).

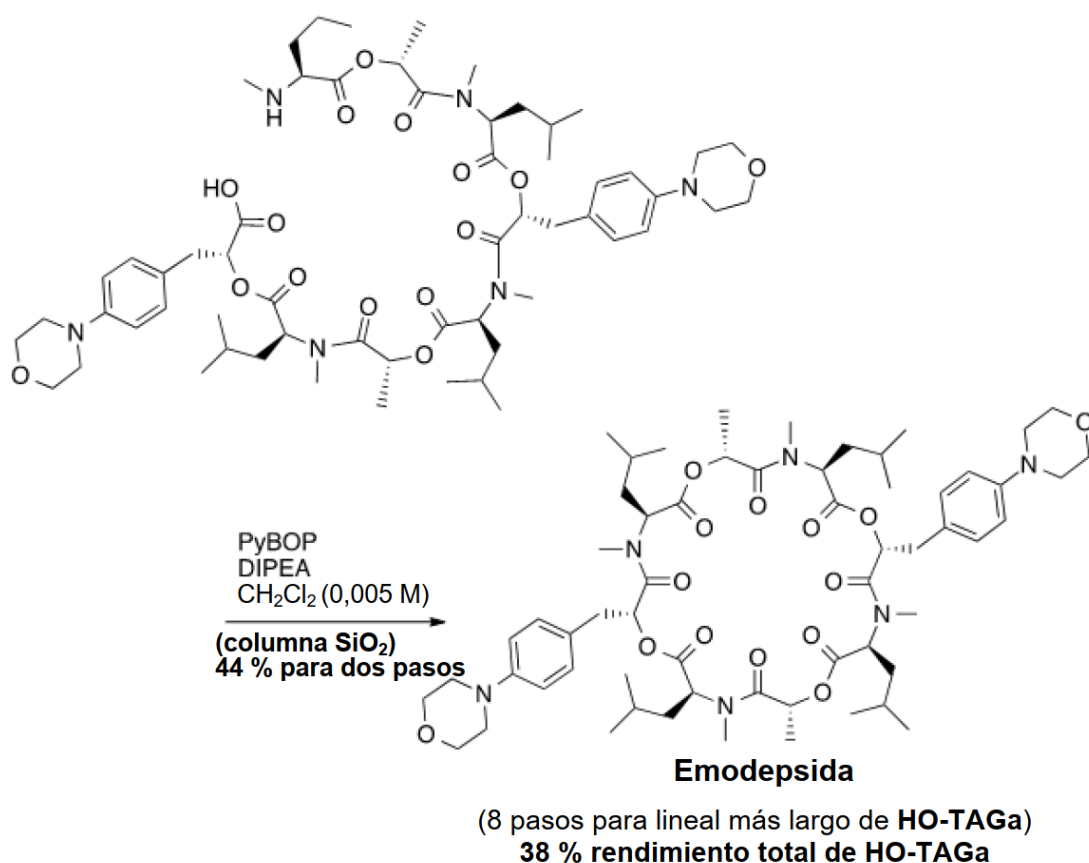
HRMS (FAB, matriz NBA) m/z : 2032.5468 [(M+H)⁺, calculado para C₁₂₁H₂₀₇N₆O₁₈ : 2032.5467]

***N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-OH**



Luego del procedimiento descrito para el procedimiento general de la escisión de TAGa, ***N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morphPhLac-*N*-MeLeu-D-Lac-*N*-MeLeu-D-morph- PhLac-O-TAGa** (102 mg, 0,0502 mmol) se convirtió en el correspondiente ácido carboxílico. En el caso de este sustrato, la reacción requirió más tiempo que el de la condición general de la escisión de TAGa (aprox. 1 h). La reacción en 50 % TFA/CH₂Cl₂ a temperatura ambiente fue necesario agitarla durante 5 h para consumir todo el material de partida, y proporcionó el producto deseado (~0,0502 mmol) como un aceite bruto, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Emodepsida

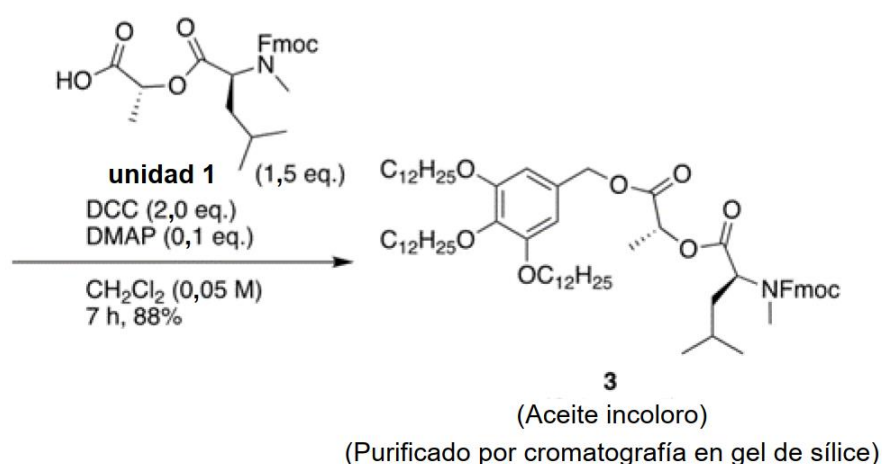
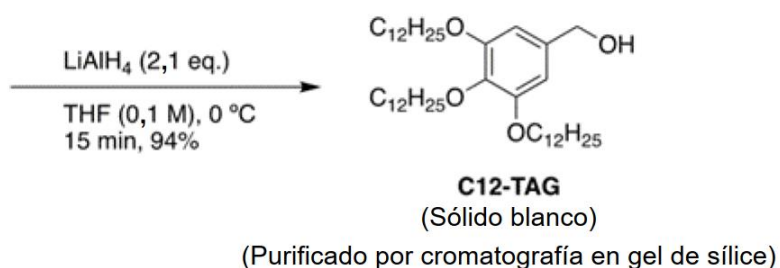
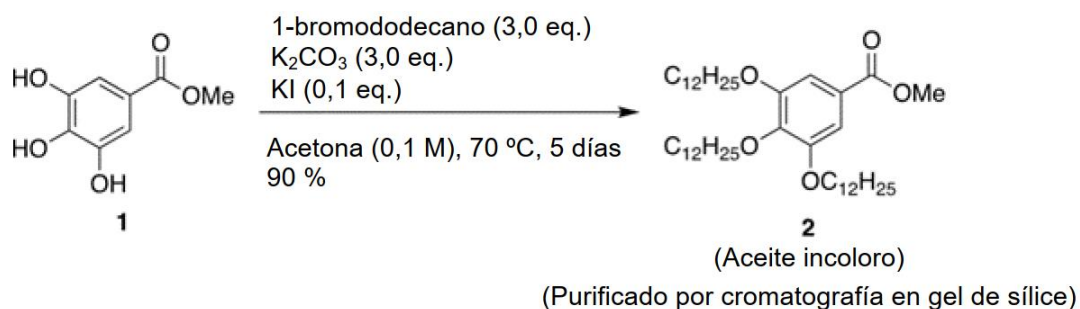


A un producto bruto de ácido carboxílico (~0,0502 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml, 0,005 M) se agregó *N,N*-diisopropiletilamina (60 µl, 0,351 mmol) y PyBOP (52 mg, 0,175 mmol) a temperatura ambiente. Luego de agitarse durante 44 h, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) a 0 °C y esta mezcla se extrajo con CHCl₃ (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 10 % NaHSO₄ acuoso (60 ml), y salmuera (60 ml), se secaron en Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (CHCl₃: MeOH = 400 : 1 a 100: 1) para proveer **Emodepsida** (25 mg, 44 % para 2 pasos) como un sólido pardo claro.

Todos los datos físicos para Emodepsida sintética coincidieron con los datos del compuesto auténtico.

Ejemplo comparativo 1

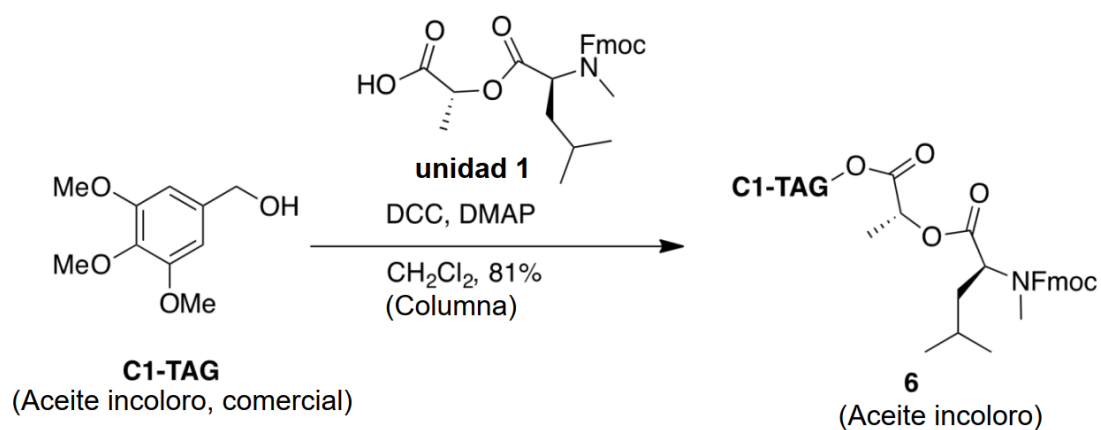
Una etiqueta análoga a TAGa, pero con C₁₂ en vez de cadenas alquilo C₁₈ (C12-TAG), se preparó y acopló con *N*-Fmoc-*N*-MeLeu-D-Lac-OH (unidad 1) de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



La purificación por cromatografía de gel de sílice fue necesaria luego de cada paso de reacción. Los compuestos 2, C12-TAG y 3 no cristalizaron en metanol. Esto es contrario a, por ejemplo, el procedimiento sintético para *N*-Fmoc-*N*-MeLeu-D-Lac-O-TAGa (sección 2.1 anterior). C12-TAG en este ejemplo comparativo no fue adecuado para la síntesis asistida por etiquetas pretendida y la funcionalización adicional del compuesto 3 no se investigó adicionalmente.

Ejemplo comparativo 2

C1-TAG comercialmente disponible se acopló con *N*-Fmoc-*N*-MeLeu-D-Lac-OH (unidad 1) de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



La purificación por cromatografía en columna fue necesaria luego del paso de reacción. Los compuestos C1-TAG y **6** no cristalizaron en metanol. C1-TAG en este ejemplo comparativo no fue adecuado para la síntesis asistida por etiquetas pretendida y la funcionalización adicional del compuesto **6** no se investigó adicionalmente.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2020/0005611
Recibo: 23-187143
Fecha: 26/06/2023

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 840536
CUS: 9149461

Patente PCT
MÉTODO PARA LA SÍNTESIS DE DEPSIPÉPTIDOS CÍCLICOS

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 196,000	\$ 196,000
TOTAL					\$ 196,000