



AVISO DE NOTIFICACION
CORREO CERTIFICADO


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Radicación : 4-110920-C -3-0 Fecha: 2010-06-28 08:11:14
Trámite : 11 PATENTEIYII
Evento : 379 FASENACIONALII
Actuación : 432 COMUNICACTOADM
Destinatario : DILIA MARIA RODRIGUEZ DALEMAN Folios 1

Señor (a) (es)
DILIA MARIA RODRIGUEZ DALEMAN
CARRERA 11 NO. 86-53 PISO 6
BOGOTA D.C.

Referencia RESOLUCION : 32680
Fecha : 25/06/2010
Expediente : 4-110920 C
Trámite : 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II
Evento : 379 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO II
Actuación : 432 COMUNICACION ACTO ADMINISTRATIVO

Comendidamente le solicito presentarse a este Despacho ubicado en la Carrera 13 No. 27 - 00 Piso Tercero (3), de la ciudad de Bogotá D.C., dentro del término de cinco (5) días hábiles contados a partir del envío de la presente citación, en horario de 8:00 a.m. a 4:30 p.m. jornada continua, con el fin de notificarle personalmente el contenido de la resolución de la referencia proferida dentro del expediente tramitado con el número de radicación citado en el asunto.

De no hacerse presente en el término indicado anteriormente, la providencia en mención se notificará por edicto, el cual se fijará por el término de diez (10) días en el Centro de Documentación e Información.

Para su comodidad el texto completo de la resolución se encontrará disponible en la página web de la Entidad desde el día hábil siguiente al de su notificación, la cual podrá ser consultada desde un computador con acceso a Internet, en la página www.sic.gov.co, con el número de resolución a través de la opción servicios en línea bases de datos - otros servicios - consulta actos administrativos.

En caso de que se haya notificado, haga caso omiso de este aviso.

Secretaría General

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Al contestar favor indique el número de radicación consignado en el sticker

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 pisos 3, 5, 7 y 10 PBX: 5870000
Sede CAN: Av. Carrera 50 No. 26- 55 int. 2 Tel 5880070
Call Center 6513240 . Línea 01800-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

RESOLUCION No. 56.999

Por la cual se deniega una patente de invención

Rad. PCT/04-110920C

EL SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

en ejercicio de sus facultades legales, en especial de las conferidas en el numeral 38 del artículo 3° del Decreto 1687 de 2010, y

CONSIDERANDO:

PRIMERO: Que mediante escrito radicado en esta Superintendencia el día 04 de noviembre del 2004 con el N° 04110920C, la doctora Dilia María Rodríguez D'Aleman, en su calidad de apoderada de Novartis Vaccines And Diagnostics, Inc, presentó la solicitud de patente de invención titulada "COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA DE IRINOTECAN Y UN DERIVADO DEL NÚCLEO 3-(IMIDAZO[4,5-b]PIRIDINIL, PIRIDAZINIL, TRIAZINIL O TETRAZINIL)-QUINOLIN-2-ONA", correspondiente a la solicitud internacional PCT/US 03/10483 de fecha 04 de abril del 2003, para que se iniciara la fase nacional en virtud del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT).

SEGUNDO: Que efectuado el examen de forma en cuanto a los requisitos que debe llenar la solicitud y cumplidas las exigencias legales, se ordenó publicar el extracto sin que se hubieran presentado oposiciones por parte de terceros.

TERCERO: Que el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que: *"Si la oficina nacional competente encontrara que la invención no es patentable o que no cumple con alguno de los requisitos establecidos en esta Decisión para la concesión de la patente, lo notificará al solicitante. Este deberá responder a la notificación dentro del plazo de sesenta días contados a partir de la fecha de la notificación. Este plazo podrá ser prorrogado por una sola vez por un período de treinta días adicionales. (...) Si el solicitante no respondiera a la notificación dentro del plazo señalado, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, la oficina nacional competente denegará la patente"*.

CUARTO: Que de conformidad con lo dispuesto en el artículo 45 antes mencionado, se realizó el examen de fondo y se requirió al solicitante para que presentara respuesta a las observaciones de carácter técnico visibles a folios 357 a 404, formuladas en relación con la patentabilidad o cumplimiento de los requisitos establecidos por la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, para la concesión de la patente, sin que frente a dicho requerimiento el solicitante se hubiera pronunciado y, en consecuencia, el Despacho procederá a denegar la patente.

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

RESOLUCION No. 321

Por la cual se deniega una patente de invención

Rad. PCT/04-110920C

RESUELVE:

ARTICULO PRIMERO: Denegar la patente de invención titulada "COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA DE IRINOTECAN Y UN DERIVADO DEL NÚCLEO 3-(IMIDAZO[4,5-b]PIRIDINIL, PIRIDAZINIL, TRIAZINIL O TETRAZINIL)-QUINOLIN-2-ONA", que entró en fase nacional en virtud del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT).

ARTICULO SEGUNDO: Notificar personalmente el contenido de la presente resolución a la doctora Dilia María Rodríguez D'Aleman, en su calidad de apoderada de Novartis Vaccines And Diagnostics, Inc, o a quien haga sus veces, entregándole copia de la misma y advirtiéndole que contra ella procede el recurso de reposición, ante el Superintendente de Industria y Comercio, el cual podrá ser interpuesto en el momento de la notificación o dentro de los cinco 5 días hábiles siguientes a ella.

NOTIFÍQUESE Y CUMPLASE

Dada en Bogotá, D.C., a los 25 JUN. 2010

EL SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO (E)


GIANCARLO MARCENARO JIMÉNEZ

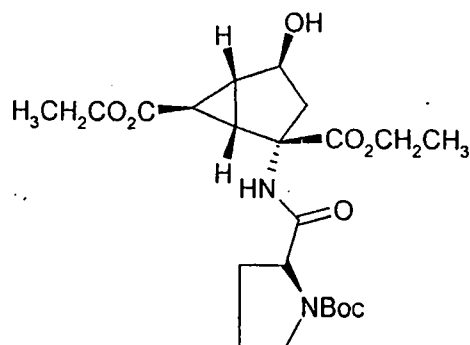
Doctora

DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

Carrera 11 N° 86 – 53, Piso 6.

Bogotá D.C.

202021



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-prolina y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 22). Se purifica el material bruto en 110 g de sílice en un sistema ISCO eluyendo con un gradiente de acetato de etilo al 80% /hexanos hasta acetato de etilo al 100% proporcionando 699 mg (84%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -52,53$ (c=0,99, MeOH).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,26 (6H, m), 1,44 (9H, s), 1,62 (1H, m), 1,73 (1H, dd, J = 5,4, 15,3 Hz), 1,84 (1H, m), 1,97 (1H, m), 2,07 (4H, m), 2,41 (1H, d, J = 15,3 Hz), 2,50 (1H, m), 2,59 (1H, m), 4,12 (2H, m), 4,20 (1H, c, J = 7,4 Hz), 4,27 (1H, d, J = 5,4 Hz).

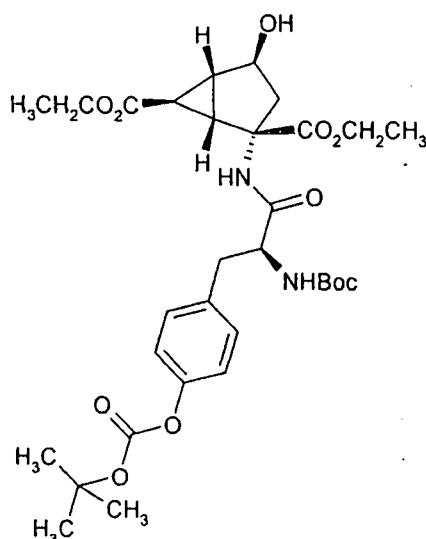
MS encontrado 454,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 476,8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calculado $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$, 477,2213. Encontrado, 477,2210

Preparación 35

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-(4-*terc*-butoxicarbonilo-fenil)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

845



Se prepara el compuesto del epígrafe según el Procedimiento general A usando ácido 2S-*terc*-butoxicarbonilamino-3-(4-*terc*-butoxicarboniloxi-fenil)-propiónico y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 22). Se purifica el material bruto en 110 g de sílice en un sistema Isco eluyendo con un gradiente de acetato de etilo al 60%/hexano hasta acetato de etilo al 90%/hexanos proporcionando 1,09 g (91%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -12$ (c=1,0, MeOH).

- 10 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,25 (6H, m), 1,37 (9H, s), 1,52 (9H, s), 1,68 (1H, dd, $J = 5,4, 15,3$ Hz), 2,06 (1H, m), 2,38 (1H, d, $J = 15,3$ Hz), 2,64 (1H, m), 2,79 (1H, dd, $J = 8,4, 13,9$ Hz), 3,05 (1H, dd, $J = 5,4, 13,9$ Hz), 4,20 (6H, m), 7,04 (2H, d, $J = 8,4\text{Hz}$), 7,26 (2H, d, $J = 8,4\text{Hz}$).

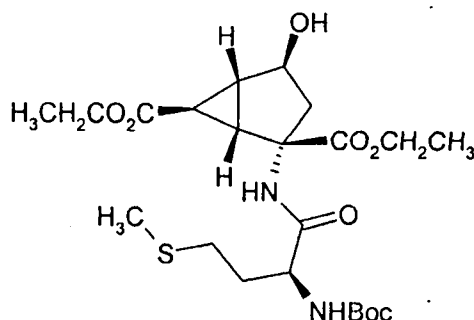
MS encontrado 621,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 643,8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

- 15 HRMS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{Na}$, 643,2843. Encontrado, 643,2845.

Preparación 36

gab

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metilsulfanil-butirilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- 5 El compuesto del epígrafe se preparó según el Procedimiento general A usando (Boc-L-metionina) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 22). El material bruto se purificó en 110 g de sílice en un sistema Isco eluyendo con un gradiente de acetato de etilo al 80%/hexanos hasta acetato de etilo al 100% proporcionando 1,0 g (92%) del compuesto del epígrafe.

$$[\alpha]_D^{23} = -30 \text{ (c=1,0, MeOH)}.$$

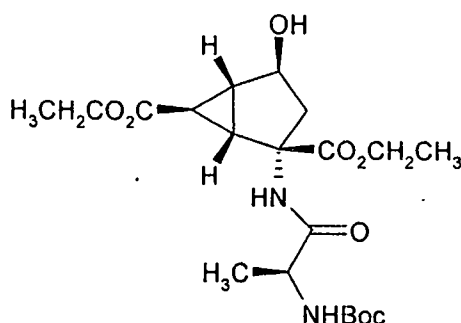
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,26 (6H, m), 1,43 (9H, s), 1,84 (6H, m), 2,06 (1H, m), 2,2 (1H, m), 2,48 (1H, m), 2,61 (1H, m), 3,37 (1H, m), 2,49 (1H, m), 4,2 (6H, m).

- 15 MS encontrado 488,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 510,8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_8\text{SNa}$, 511,2090. Encontrado, 511,2071.

Preparación 37

- 20 Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando N-BOC-(L)-alanina disponible de forma comercial y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 22). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo durante la noche.

Se purifica por HPLC prep, columna de 1 X 500 g de SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%). Rendimiento: 3,0 g (90 %, 7,00 mmol) de una espuma blanca.

10 $[\alpha]_D^{23} = -32,31^\circ$ (c = 0,37, CHCl₃).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,28 (6H, t, J = 7,3 Hz), 1,34 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,46 (9H, s), 1,51-1,58 (2H, m), 1,64 (1H, s), 2,19 (1H, dd, J = 3,3, 6,2 Hz), 2,40 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 2,80 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,10-4,36 (6H, m), 4,92 (1H, s ancho), 6,94 (1H, s ancho).

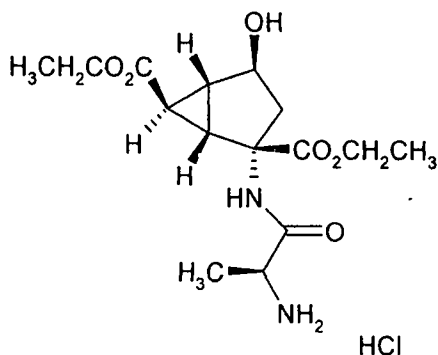
15 Análisis calculado para C₂₀H₃₂N₂O₈•0,1H₂O: C, 55,83; H, 7,54; N, 6,51. Encontrado: C, 55,57; H, 7,64; N, 6,44.

MS (ES) m/z 429,2 [M + H]⁺, 329,1 [M - Boc]⁺.

Preparación 38

20 Clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-

propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se purga una solución de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-
 5 *terc*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-
 dicarboxílico (2,95 g, 6,88 mmol, Preparación 37) en acetato de etilo (30 ml) a 0°C
 con HCl gas anhidro hasta que se satura la solución con HCl. Se agita la mezcla
 de reacción resultante a 0°C hasta que se considera que se ha completado la
 reacción por TLC. Se purga la mezcla de reacción durante 30 minutos con N₂ para
 10 eliminar el exceso de HCl gas. Se concentra la suspensión resultante hasta
 sequedad a vacío proporcionando 2,47 g (98%, 6,78 mmol) de la sal clorhidrato de
 amino deseada. No es necesaria purificación adicional.

$[\alpha]_D^{23} = -28,0^\circ$ (c = 0,50, MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl) δ 1,24 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,3 Hz),
 15 1,50 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,61 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,76 (1H, dd, J = 5,9, 15,8 Hz),
 2,10 (1H, dd, J = 3,3, 5,9 Hz), 2,43 (1H, d, J = 15,4 Hz), 2,60 (1H, dd, J = 2,9, 6,2
 Hz), 3,90 (1H, c, J = 7,0, 13,9 Hz), 4,15 (2H, c, J = 7,3 Hz), 4,14-4,31 (3H, m).

Análisis calculado para C₁₅H₂₄N₂O₆•HCl•0,7H₂O: C, 47,73; H, 7,05; N, 7,42.

Encontrado: C, 47,96; H, 6,91; N, 7,04.

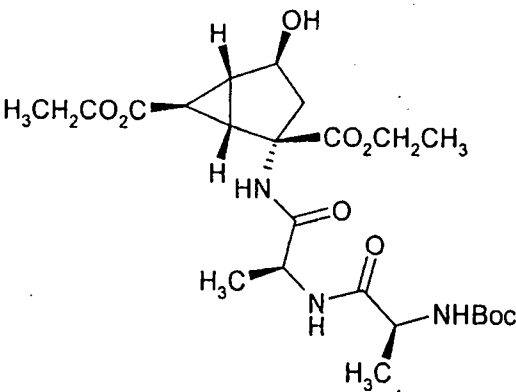
20 MS (ES) m/z 329,1 [M + H]⁺.

899

Preparación 39

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-[2'S-(2S-*terc*-butoxicarbonilamino-propionilamino) propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

5



Se prepara según el Procedimiento general A usando clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,55 mmol, Preparación 38) y Boc-
10 (L)-alanina (0,16 g, 0,82 mmol) con la excepción de que no se usa DMAP. Se purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,13 g (47,3%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -46,2$ (c=0,52, CHCl₃).

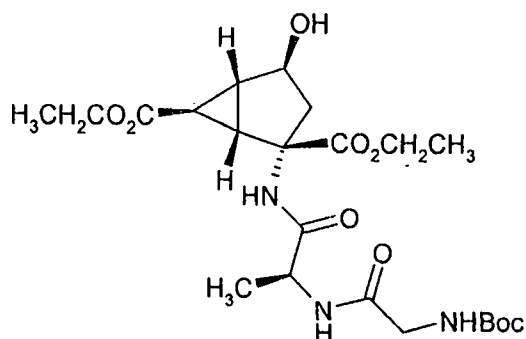
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,27 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,0 Hz),
15 1,36 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,37 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,44 (9H, s), 1,58-1,65 (2H, m),
2,19 (1H, dd, J = 3,0, 5,9 Hz), 2,46 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,70 (1H, d, J = 15,4 Hz), 4,09-4,33 (7H, m), 4,48 (1H, p aparente, J = 7,0 Hz), 5,05 (1H, d ancho, J = 6,6 Hz), 6,79 (1H, d ancho, J = 7,7 Hz), 7,26 (1H, s).

HRMS calculado para C₂₃H₃₈N₃O₉, 500,2608. Encontrado, 500,2598.

Preparación 40

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-[2'S-(2-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

5



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-glicina (0,29 g, 1,6 mmol) y clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,4 g, 1,1 mmol, 10 Preparación 38) con la excepción de que no se usa DMAP. Se purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,14 g (26,2%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -14$ (c=1,00, CDCl₃).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,29 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,38 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,45 (9H, s), 1,57-1,65 (2H, m), 2,19 (1H, dd, J = 3,3, 5,9 Hz), 2,44 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,74 (1H, d, J = 15,8 Hz) 3,70-3,86 (2H, m), 4,08-4,34 (6H, m), 4,56 (1H, p aparente, J = 7,0 Hz), 5,31 (1H, s ancho), 6,88 (1H, d ancho, J = 7,0 Hz), 7,50 (1H, s).

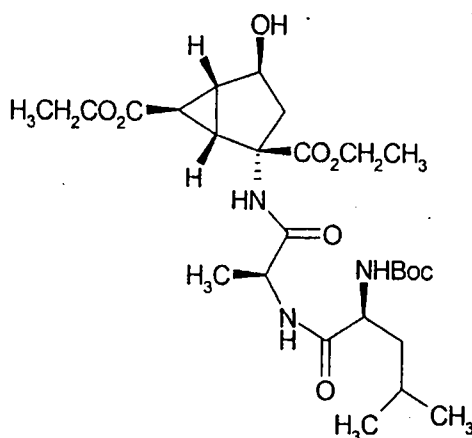
HRMS calculado para C₂₂H₃₆N₃O₉, 486,2452. Encontrado, 486,2444.

20

Preparación 41

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-butoxicarbonilamino-4-metil-pentanoilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

5



Se prepara según el Procedimiento general B usando N-BOC-(L)-leucina monohidrato disponible de forma comercial y clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,55 mmol, Preparación 38). Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%). Rendimiento 0,54 g (62%, 1,00 mmol) de una espuma blanca.

$[\alpha]_D^{23} = -61,2^\circ$ (c = 0,49, MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,93 (3H, d, J = 6,2 Hz), 0,94 (3H, d, J = 6,2 Hz), 1,25 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,36 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,43 (9H, s), 1,53 (1H, d, J = 9,5 Hz), 1,55-1,69 (5H, m), 2,18 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,44 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 2,70 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,06 (1H, s ancho), 4,13 (4H, c, J = 7,3 Hz), 4,18-4,28 (2H, m), 4,31 (1H, d, J = 5,9 Hz), 4,41-4,45 (1H, m), 4,85

AD

(1H, s ancho), 6,57 (1H, d, J = 7,3 Hz), 6,97 (1H, s ancho).

Análisis calculado para $C_{26}H_{43}N_3O_9 \cdot 0,1H_2O$: C, 57,46; H, 8,01; N, 7,73.

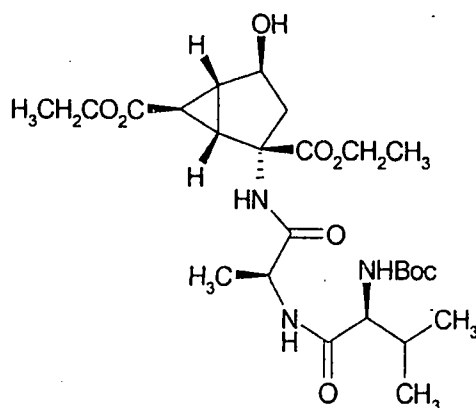
Encontrado: C, 57,18; H, 8,00; N, 7,64.

HRMS calculado para $C_{26}H_{43}N_3O_9 [M + Na]^+$, 564,2897. Encontrado, 564,2922.

5

Preparación 42

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-butoxicarbonilamino-3-metil-butirilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



10

Se prepara según el Procedimiento general B usando N-BOC-(L)-valina disponible de forma comercial y clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,55 mmol, Preparación 38). Se purifica por PC-TLC, rotor de 15 4 mm SiO_2 , (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta 67% acetato de etilo). Rendimiento 0,36 g (43%, 0,68 mmol) de una espuma blanca.

$[\alpha]_D^{23} = -65,5^\circ$ (c = 0,58, MeOH).

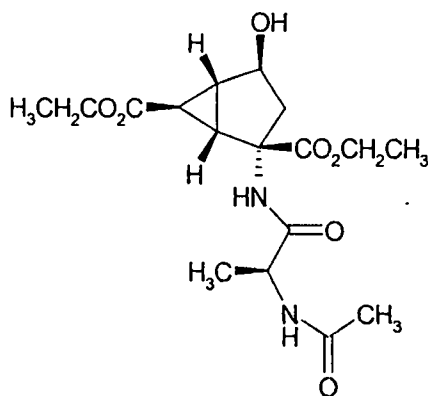
RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 0,91 (3H, d, J = 7,0 Hz), 0,97 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,37 (3H, d, J = 17,3 Hz), 1,44

(9H, s), 1,54-1,61 (3H, m), 2,12-2,20 (2H, m), 2,42 (1H, dd, $J = 2,6, 5,9$ Hz), 2,70 (1H, d, $J = 15,4$ Hz), 3,90 (1H, t, $J = 6,6$ Hz), 4,13 (2H, c, $J = 7,0$ Hz), 4,20-4,29 (2H, m), 4,31 (1H, d, $J = 5,9$ Hz), 4,40-4,48 (1H, m), 4,93 (1H, s ancho), 6,41 (1H, d, $J = 7,3$ Hz), 6,91 (1H, s ancho).

- 5 Análisis calculado para $C_{25}H_{41}N_3O_9 \cdot 0,2CH_2Cl_2$: C, 55,58; H, 7,66; N, 7,72. Encontrado: C, 55,76; H, 7,27; N, 7,49.
MS (ES) m/z 528,3 $[M + H]^+$.

Preparación 43

- 10 Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-acetilamino-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se agita una solución de clorhidrato de éster dietílico del ácido
15 (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,30 g, 0,82 mmol, Preparación 38) en CH_2Cl_2 (30 ml) a $0^\circ C$ y se añaden secuencialmente trietilamina (0,16 g, 1,6 mmol) y después cloruro de acetilo (0,10 g, 1,18 mmol). Se deja que la mezcla de reacción se caliente mientras se agita durante la noche. Se diluye la mezcla de reacción con acetato de
20 etilo (700 ml) y se lava con $NaHSO_4$ acuoso y salmuera. Se seca la fase orgánica

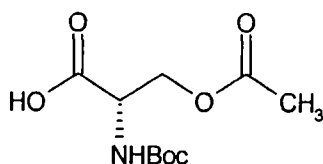
sobre sulfato de magnesio. Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%) proporcionando 0,24 g (79%, 0,65 mmol) de una espuma blanca.

$$[\alpha]_D^{23} = -48^\circ (c = 0,5, \text{MeOH}).$$

- 5 RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,37 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,55-1,62 (2H, m), 1,99 (3H, s), 2,19 (1H, dd, J = 3,3, 6,6 Hz), 2,40 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,77 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,07 (2H, c, J = 7,0 Hz), 4,21-4,31 (2H, m), 4,33 (1H, d, J = 6,2 Hz), 4,43-4,47 (1H, m), 6,13 (1H, s ancho), 7,06 (1H, s ancho).
- 10 Análisis calculado para C₁₇H₂₆N₂O₇: C, 55,13; H, 7,08; N, 7,56. Encontrado: C, 55,05; H, 7,12; N, 7,29.
- HRMS calculado para C₁₇H₂₆N₂O₇ [M + Na]⁺, 393,1638. Encontrado, 393,1644.

Preparación 44

- 15 Ácido 3-acetoxi-2S-(*terc*-butoxicarbonilamino)propiónico

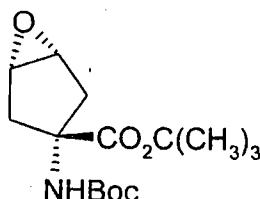


- Se añade N-metilmorfolina (2,8 g, 27,2 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (5,8g, 25,2 mmol) a una solución de O-acetil-L-serina (3,7 g, 25,2 mmol) en 1:1
- 20 dioxano:agua. Se agita la reacción durante 24 horas y luego se reparte entre acetato de etilo y agua. Se extrae la fase acuosa con acetato de etilo y se descarta la orgánica. Se ajusta el pH a 0-1 con NaHSO₄ acuoso. Se extrae la fase acuosa con acetato de etilo, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra a vacío. Se

purifica por cromatografía ultrarrápida dando 2,6 g (41,7%). El material se usó en la Preparación 15 sin caracterización.

Preparación 45

5 (1S,5R)-3-(*tert*-Butoxicarbonilamino)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano



Se añade una solución de metilmalonato de *t*-butilo (129 g, 0,75 mol) en THF (385 ml) a una suspensión de LiH (14,9 g, 1,875 mol) en THF (900 ml) y N,N-dimetilpropilenurea (DMPU, 155 g, 1,2 mol) durante 30 minutos mientras se mantiene la temperatura a 0-5 °C. Se calienta la mezcla de reacción hasta 65°C y se añade una solución de *cis*-1,4-dicloro-2-buteno (95%, 100 g, 0,8 mol, 1,08 equiv.) en THF (100 ml) durante 5,5 horas, manteniendo la temperatura a 63-67 °C. Se agita la reacción durante 4 horas a 65 °C. El tratamiento con agua/MTBE de la mezcla de reacción proporciona 1-(metoxycarbonil)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,57 (s, 2H, CH=CH), 3,71 (s, 3H, CH_3), 2,95 (s, 4H, 2 CH_2), 1,42 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

20 IR (película) 1734 (C=O), 1646, 1268, 1149 cm^{-1} .

Se enfría la solución de reacción que contiene 1-(metoxycarbonil)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno hasta 10-15 °C y se añade a una solución enfriada (10-15 °C) de NaOH 1 N (1,3 l, 1,3 mol) durante 30 minutos. Se agita la solución

aob

de reacción a 25 °C durante 24 horas y se controla por ensayo de GC (Cromatografía de Gases). Cuando se completa la reacción de hidrólisis, se añade a la mezcla de reacción MTBE (645 ml) y se agita la solución durante 5 minutos. Se dejan sedimentar las fases y se separan. Se desecha la fase orgánica. Se
5 añade una solución de NaHSO₄ 1,5M (1470 ml) para acidificar la fase acuosa (pH 2-3). Se añade MTBE (1,3 l) y se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con MTBE (385 ml) y se lavan las fases orgánicas reunidas con solución de LiCl al 5%. La fase orgánica se concentra a vacío y se diluye con heptano (780 ml). La solución se concentra hasta aproximadamente 500 ml y se agita la suspensión
10 resultante 1 hora a temperatura ambiente. Se filtra el sólido, se lava con heptano (250 ml) y se seca a vacío a 35 °C dando 103,29 g (rendimiento del 61%) de 1-(ácido carboxílico)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un sólido blanco.
p.f. = 119 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ 5,61 (s, 2H, CH=CH), 3,00 (s, 4H, 2CH₂), 1,46 (s,
15 9H, C(CH₃)₃).

IR: 3800-3000 (ancho, COOH), 1741 (CO₂R), 1705 (CO₂H), 1283), 1149 cm⁻¹.

Se disuelve 1-(ácido carboxílico)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno (50 g, 236 mmol) en 850 ml de tolueno:MTBE 70:30 en nitrógeno en un matraz de 1 l con agitación mecánica. Se añade cloruro de tionilo (33,6 g, 283 mmol, 1,2 equiv)
20 a la mezcla de reacción deseada, manteniendo la temperatura a 23 °C. Se enfría la solución de reacción hasta 0-5 °C y se añade trietilamina (32,2 g, 318 mmol, 1,35 equiv), gota a gota durante 30 minutos. Se calienta la mezcla de reacción hasta 23 °C y se agita durante 1 hora. Se añade la mezcla de reacción rápidamente gota a gota a agua desionizada (625 ml), manteniendo la temperatura
25 a 20-25 °C. Se separan las fases y se lava la fase orgánica con 500 ml de

a07

solución de NaHCO_3 1M. La concentración de la fase orgánica aísla el 1-(clorocarbonil)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un líquido amarillo claro.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,61 (s, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 3,04 (c aparente, $J = 15,1$ Hz, 4H, 2CH_2), 1,49 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

IR (película) 1796 (COCl), 1743 (CO_2R), 1274, 1233, 1158 cm^{-1} .

Se añade una solución de hidrógenosulfato de tetrabutilamonio (0,81 g, 2,4 mmol) en agua desionizada (700 ml) a azida de sodio (20,16 g, 310 mmol). Se añade la solución que contiene 1-(clorocarbonil)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno en MTBE/tolueno a la solución de azida durante 45 minutos. Se agita la mezcla de reacción durante 3 horas a 23 °C hasta que se consume el 1-(clorocarbonil)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno, como se confirma por análisis GC de la solución de reacción. Se separan las fases y se lava la fase orgánica con NaHCO_3 1M (540 ml) y agua desionizada (540 ml, luego 270 ml). Se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 y se filtra. Se concentra la solución a vacío proporcionando 1-(acil azida)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un aceite.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,58 (s, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 2,96 (t aparente, $J = 2,3$ Hz, 4H, 2CH_2), 1,46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

IR (película) 2137 (CON_3), 1720 (CO_2R), 1246 (s, 1185, 1136 cm^{-1}).

Se añade la solución de 1-(acil azida)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno durante 1 hora a 110 ml de tolueno a 95 °C. La generación de gas se controla en estas condiciones con la velocidad de adición. Se destila MTBE de la reacción durante la adición. Se agita la reacción durante 1 hora a 95 °C y se deja enfriar hasta 23 °C durante la noche. La concentración del disolvente a vacío proporciona

AB

1-(isocianato)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un aceite.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,67 (s, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 3,01 (d, $J = 15,6$ Hz, 2H), 2,61 (d, $J = 15,6$ Hz, 2H), 1,50 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

IR (película) 2258 ($-\text{NCO}$), 1732 ($-\text{CO}_2\text{R}$), 1157 cm^{-1} .

- 5 Se añade t-butanol (35 g, 471 mmol) a una solución de t-butoxido potásico (1M en THF, 471 ml, 471 mmol) en nitrógeno. Se enfría la solución de reacción hasta 0-5 °C y se añade la solución de tolueno que contiene 1-(isocianato)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno durante 60 minutos, manteniendo la temperatura a 0-10 °C. La reacción se calienta hasta 23 °C, se agita durante 2 horas y se ensaya
- 10 por GC para determinar la desaparición del isocianato material de partida. Se añade la mezcla de reacción a una mezcla de agua desionizada (1,2 l) y MTBE (1,2 l) a 15 °C. La solución se agita durante 20 minutos y se separan las fases. Se lava la fase orgánica con una solución de salmuera al 20% (250 ml) y se separan las fases. Se transfiere la fase orgánica por destilación, hasta aproximadamente
- 15 250 ml. Se añade heptano (500 ml) y se concentra la solución hasta un volumen total de 250 ml. Se enfría la solución de suspensión resultante hasta 0 °C, se agita durante 2 horas y se filtra. Se lava la torta del filtro con heptano frío (2 x 100 ml) y se seca a vacío dando 34,54 g (52% de rendimiento en 1-(ácido carboxílico)-1-(*tert*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno) de 1-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1-(*tert*-
- 20 butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un sólido blanco.

p.f. 87-89 °C.

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 5,63 (s, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 5,1 (s ancho, ^1H , NH), 2,99 (d, $J = 17,2$ Hz, 2H), 2,57 (d, $J = 16,0$ Hz, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,44 (s, 9H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 173,3, 154,9, 127,7, 81,1, 64,5, 44,8, 28,3, 27,8.

- 25 IR (KBr): 3451, 2981, 2932, 1712, 1489, 1369, 1154 cm^{-1} .

709

MS (FIA) m/e (intensidad relativa, %) 284,2 ($M^+ + 1$, 56), 228,2 (73), 172,1 (97), 128,0 (100).

- Se añade una solución de 1-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno (20,00 g, 71 mmol) en 100 ml de EtOAc a una
- 5 mezcla de hidrógenosulfato de tetrabutilamonio (4,08 g, 10 mmol, 0,17 equiv), monoperoxiftalato de magnesio hidratado (MMPA, 52,4 g, 4,76 % de oxígeno activo = 2,1 equiv) y agua desionizada (100 ml). Se agita la reacción con un agitador mecánico durante 19 horas. Se añade una solución de sulfito sódico (18 g) en agua desionizada (100 l) a la mezcla de reacción durante 30 minutos. Se
- 10 diluye la mezcla con 100 ml de EtOAc y se separan las fases. Se lava la fase orgánica con H₂O desionizada (100 ml), NaOH 2N (2 x 100 ml) y H₂O desionizada (2 x 100 ml). Se destila la fase orgánica a 75-90 °C a presión atmosférica hasta que el volumen alcanza 40 ml. La solución se enfría hasta 75 °C y se añade heptano caliente (120 ml). La solución se enfría hasta 65 °C y se siembra
- 15 opcionalmente con el producto deseado. Se deja que la suspensión resultante se enfríe hasta temperatura ambiente y luego se enfría en un baño de hielo durante 1 hora. El producto se filtra y se lava con 80 ml de heptano:EtOAc 4:1 frío, luego se seca a vacío a 40 °C obteniendo 15,45 g (rendimiento del 73%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. El compuesto se puede purificar adicionalmente
- 20 por recristalización en isopropanol:agua 2:1.

p.f. 130-133 °C.

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,0 (s ancho, 1H), 3,58 (s, 2H), 2,41 (d, *J* = 15,3 Hz, 2H), 2,20 (d, *J* = 15,2 Hz, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,40 (s, 9H).

RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 171,3, 154,3, 81,2, 79,5, 62,8, 57,0, 38,6, 28,3, 27,7.

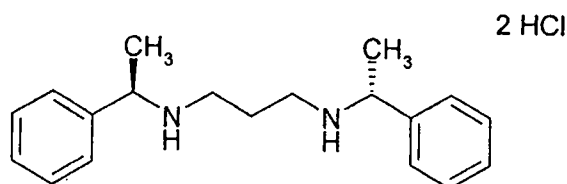
- 25 IR (KBr): 3453, 2982, 2932, 1726, 1708, 1489, 1369, 1293, 1156, 840 cm⁻¹.

MS (FIA) m/e (intensidad relativa, %) 300,3 ($M^+ + 1$, 65), 244,4 (68), 188,2 (100) 144,1 (99).

Preparación 46

Diclorhidrato de (1R,3R)-1,3-di(metilbencilamino)propano

5



Se calienta (*R*)- α -metilbencilamina (98% ee, 121 g, 1 mol) hasta 100 °C en nitrógeno. Se añade dibromopropano (25,4 ml, 50,5 g, 250 mmol) gota a gota durante 70 min. Se calienta la mezcla durante otras 3 horas y luego se enfría hasta 80 °C. Se añade solución concentrada de NaOH (50%) (30 ml) gota a gota durante 10 minutos. Se añade agua (30 ml) para disolver los sólidos y se deja enfriar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añade MTBE (100 ml). Se disuelve el precipitado añadiendo 100 ml de agua y se separan las fases. Se lava la fase orgánica con 50 ml de salmuera, se seca (Na₂SO₄) y se concentra a vacío dando 126,0 g de aceite amarillo claro. Se destila el aceite a vacío a 70 °C (temperatura en cabeza), usando una columna de 12 pulgadas (30,48 cm) para eliminar el exceso de (*R*)- α -metilbencilamina. Se disuelve el residuo del recipiente (68 g de diamina bruta) en 1 l de *i*-PrOH en un matraz de 2 l con un agitador mecánico. Se añade HCl concentrado (12 M, 45 ml, 540 mmol), gota a gota durante 10 minutos. Se añaden otros 100 ml de *i*-PrOH para garantizar la mezcla homogénea de la suspensión espesa. Se agita la mezcla durante 90 minutos y se filtra. Se lava la torta con *i*-PrOH y se seca a vacío a 40 °C obteniendo 64,32 g (72% rendimiento, basado en dibromopropano) del

all
26/7
260

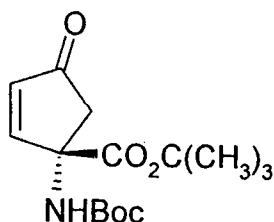
compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,93 (s ancho, 2H), 9,47 (s ancho, 2H), 7,56 (d, $J = 7,0$ Hz, 4H), 7,37 (m, 6H), 4,27 (m, 2H), 2,84 (m, 2H) 2,48 (m, 2H), 2,1 (m, 2H), 1,56 (d, $J = 6,7$ Hz, 6H).

5

Preparación 47

(1S)-1-(*tert*-Butoxicarbonilamino)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-ciclopent-4-en-3-ona



10 Se disuelve diclorhidrato de (1R,3R)-1,3-di(metilbencilamino)propano (24,65 g, 69,3 mmol, Preparación 46) en 150 ml de agua con agitación. Se añaden a la solución 35 ml (175 mmol) de solución de NaOH 5 N, seguido por 150 ml de MTBE. Después de agitar 15 minutos, se separan las fases y se extrae la fase acuosa con 100 ml de MTBE. Se lavan las fases orgánicas reunidas con 100 ml de salmuera, se seca con Na_2SO_4 y se concentra a vacío dando 18,06 g (92% rendimiento) de 1R,3R-di(metilbencilamino)propano como un aceite incoloro.

20 Se disuelven 20,59 g (73,5 mmol) de 1R, 3R-di(metilbencilamino)propano en 30 ml de cada uno de MTBE seco y THF, en corrientes de N_2 en un matraz de cuatro bocas de 500 ml con agitador superior. Se enfría la solución hasta -45°C y se añaden 59 ml (147 mmol) de solución de n-BuLi (2,5 M en hexanos) gota a gota durante 17 minutos. Se agita la solución amarillo claro durante 2 horas a -45°C . Se añade una solución de (1S,3S,5R)-3-(*tert*-

ANZ

butoxicarbonilamino)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano (10,00 g, 33,4 mmol) en 55 ml de THF seco, gota a gota durante 28 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de -40 °C. Se aclara el embudo de adición con otros 5 ml de THF. Se agita la mezcla de reacción durante 18 horas a -45 °C y luego se inactiva mediante la adición gota a gota de ácido sulfúrico acuoso 4 N (75 ml). Se retira el baño de enfriamiento después de completarse la adición. Se separan las fases y se extrae la fase acuosa con 50 ml de MTBE. Se lavan las fases orgánicas reunidas con 50 ml de cada uno de agua y salmuera, se secan con Na₂SO₄ y se concentran a vacío dando 9,78 g de 578242 bruto como un sólido blanco. Se disuelve el sólido en 33 ml de MTBE caliente y se añade heptano (66 ml) en varias porciones. Se deja que la solución agitada se enfríe hasta temperatura ambiente, luego se agita la mezcla durante 1 hora a 0 °C. Se filtra el sólido, se lava con 2 x 10 ml de heptano:MTBE 2:1 frío y se seca a vacío durante 4 horas a 35 °C proporcionando 8,52 g (rendimiento del 85%) de (1S,3R)-1-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-hidrox ciclopent-4-eno como un sólido blanco.

p.f. 111-112 C.

Ensayo de HPLC quiral: 99,7% de ee.

[α]_D = +114 (c 1, MeOH)

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 6,1 (s ancho, 1H), 5,9 (s ancho, 1H), 5,55 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 4,8 (m, 1H), 4,44 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,87 (dd, J = 14,5, 7,5 Hz, 1H), 2,00 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,42 (s, 9H).

IR (KBr): 3413, 2983, 1703, 1491, 1370, 1309, 1255, 1155, 1055 cm⁻¹.

MS (FIA) m/e (intensidad relativa, %) 300,3 (M⁺ + 1, 15), 226,2 (29), 170,1 (100), 126,1 (89), 108,3 (20).

Se añade 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (radical libre) (TEMPO) (0,84 g, 5,3 mmol) y KBr (0,63 g, 5,3 mmol, en 2 ml de agua) a una solución de (1S,3R)-1-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-3-hidroxiciclopent-4-eno (20 g, 66,8 mmol) en MTBE (200 ml). Se enfría la mezcla de reacción hasta 0 °C y se
5 añade una solución de NaOCl (3,14%, 240 g, 100 mmol) que contenía NaHCO₃ (8,4 g), gota a gota, manteniendo la temperatura por debajo de 5°C. Se agita la reacción 1 hora a 0°C y se deja calentar hasta temperatura ambiente. Se separan las fases y se extrae la fase acuosa con MTBE (2 x 200 ml). Se lavan las fases orgánicas reunidas con 200 ml de solución de HCl 1N que contiene 2,21 g de KI
10 seguido por solución al 10% de Na₂SO₃ (200 ml). Se lava la fase orgánica con agua (2 x 200 ml) y se concentra hasta sequedad a vacío. Se disuelve el producto bruto en MTBE (60 ml) a 50 °C y se cristaliza mediante adición de heptano (200 ml) durante 1 hora. Se enfría la mezcla hasta 0°C durante 2 horas y luego se filtra. Se lava la torta del filtro con 100 ml de heptano: MTBE frío (65:35) y se seca a
15 vacío dando 16,99 g (rendimiento del 89%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

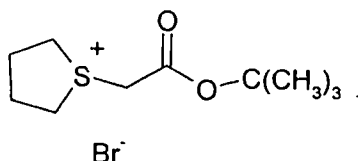
p.f. 116-18 °C.

$[\alpha]_D = +123$ (c 1, MeOH).

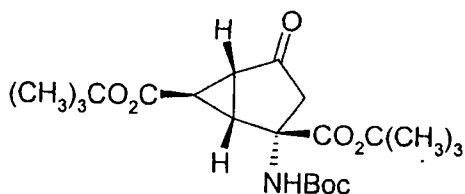
RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,4 (s ancho, 1H), 6,32 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 5,6 (s
20 ancho, 1H), 2,87 (d, *J* = 18,2 Hz, 1H), 2,9 (d, *J* = 18,2 Hz, 1H), 1,43 (s, 18H). RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 206,1, 170,2, 160,8, 154,9, 136,1, 84,5, 66,1, 46,6, 28,9, 28,4.

IR (KBr): 3419, 2983, 1722, 1487, 1730, 1300, 1259, 1151, 1012 cm⁻¹.

MS (FIA) m/e (intensidad relativa, %) 254,2 (M⁺ + 1, 11), 242,3 (18), 228,2 (13), 186,1 (76), 143,2 (11), 242,3 (100).

Preparación 48Bromuro de 1-(2-*tert*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio

- 5 Se añade bromoacetato de *t*-butilo (2,44 l, 16,52 mol, 1 equiv) a una solución de tetrahidrotiofeno (2,19 l, 24,8 mol, 1,5 eq) en acetona (11,38 l), en un matraz de 22 l durante 30-60 minutos mientras se mantiene la temperatura de 15-25 °C usando un baño de agua. Se agita la reacción durante 22 horas y se ensaya una muestra por RMN de ^1H para confirmar la finalización de la reacción.
- 10 Se filtra el precipitado, se lava con acetona (2 l) y se seca a vacío durante 3 días a 28-33 °C dando 4,328 Kg (rendimiento del 92,5 %) del compuesto del epígrafe.
- RMN de ^1H (500 MHz, DMSO *d*-6) δ 4,40 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 3,48 (m, 2H), 2,23 (m, 2H), 2,13 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

15 Preparación 49Éster di-*tert*-butilico del ácido (1S,2S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

- 20 Se añade KO^tBu (42 ml, 42 mmol, solución 1 M en THF, 2,5 equiv) a una

015

- solución a 0 °C de bromuro de 1-(2-*tert*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio (11,9 g, 42 mmol, 2,5 equiv., Preparación 48) en acetonitrilo (30 ml) en N₂ durante 10 minutos manteniendo la temperatura por debajo de 5° C. Se agita la solución lechosa fría durante 1,5 horas. Se añade trifluoroetanol (6,9 g; 69 mmol, 4,1 equiv)
- 5 gota a gota. Se añade una solución de (1S)-1-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-ciclopent-4-en-3-ona (5 g, 16,8 mmol, Preparación 47) y trifluoroetanol (13,3 g, 132 mmol, 7,9 equiv) en acetonitrilo (20 ml) durante 5 minutos, manteniendo la temperatura a 3-5° C. Se agita la solución durante 4,5 horas a 0-5 °C. Se añade MTBE (155 ml) y H₂O (80 ml) a la mezcla de reacción
- 10 fría. Se separan las fases y la fase orgánica se lava con H₂O (50 ml), luego con salmuera al 20% (50 ml). Se concentra la fase orgánica mediante destilación a presión atmosférica hasta aproximadamente 30 ml. Se añade heptano (100 ml) y se concentra la solución. Se añade más heptano según se necesita hasta que la temperatura del vapor del destilado alcanza 93 °C. Se añade THF (65 ml)
- 15 proporcionando una solución del compuesto del epígrafe.

Preparación 50

Éster di-*tert*-butílico del ácido (1S,2S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

- 20 Se añaden 1,7 l de solución acuosa saturada de K₂CO₃ a una solución a 0 °C de bromuro de 1-(2-*tert*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio (757 g, 2,67 mol, Preparación 48) en 2,2 l de CH₂Cl₂, manteniendo la temperatura por debajo de 10 °C. Después de agitar la mezcla bifásica 1,5 horas, se añaden 223 ml de solución de NaOH al 50% en varias porciones, manteniendo la temperatura por debajo de
- 25 5°C. Se agita la mezcla 3 horas y se filtra. Se aclaran las sales con CH₂Cl₂. Se

separan las fases y se extrae la fase acuosa con 600 ml de CH_2Cl_2 . Se secan las fases orgánicas reunidas sobre K_2CO_3 sólido y se concentran a vacío dando 533,3 g (rendimiento del 98%) de (2-*terc*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio como un aceite amarillo pálido. Tras almacenar en el refrigerador, el aceite cristaliza dando

5 un sólido blanquecino.

p.f. 48-50 °C.

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 3,12 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,85 (s, 1H), 2,41 (m, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,38 (s, 9H).

Se añaden 474 ml (6,5 mol, 10 equiv) de trifluoroetanol a una solución a 0

10 °C de (1S)-1-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-ciclopent-4-en-3-ona (194 g, 653 mmol) en 650 ml de CH_2Cl_2 . Se añade una solución de (2-*terc*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio (396 g, 1,96 mol) en 325 ml de CH_2Cl_2 gota a gota durante 40 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de 10°C. Se retira el baño de hielo después de 1 hora. Se añade agua desionizada (680 ml) y

15 se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con 400 ml de CH_2Cl_2 . Se lavan las fases orgánicas reunidas con 500 ml de salmuera, se secan con Na_2SO_4 y se concentran a vacío obteniendo 587 g de un sólido oleoso de color ámbar. Se disuelve el sólido en 400 ml de CH_2Cl_2 y se eluye a través de un tapón de gel de sílice de 1,6 kg usando hexanos: éter metil *t*-butilico: CH_2Cl_2 5:1:1 como eluyente

20 proporcionando a total de 13,2 l de eluyente. Se concentra el eluyente dando 398,7 g de un sólido blanco. Se disuelve el sólido en 3 l de hexanos:MTBE 70:30 a reflujo. Se deja que la solución se enfríe hasta temperatura ambiente durante la noche, luego se enfría en un baño de hielo durante 1 hora. Se filtra el sólido, se aclara con disolvente frío (aproximadamente 700 ml) y se seca a vacío a 35 °C

25 obteniendo 173 g (rendimiento del 64%) de éster di-*terc*-butilico del ácido

AP

(1S,2S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonilamino)-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico como un sólido blanco.

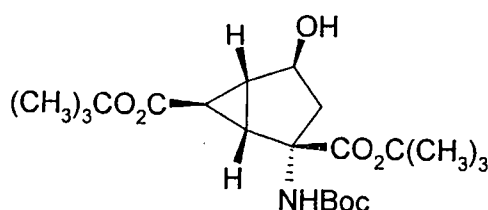
p.f. 144-46 °C.

$[\alpha]_D = +30,5$ (c 1, CHCl₃).

- 5 RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,36 (d, 1H), 2,88 (m, 1H), 2,64 (dd, J = 5,2, 3,2 Hz, 1H), 2,37 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 2,23 (s ancho, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,43 (s, 18H).
 RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 206,2, 171,2, 168,5, 155,3, 83,4, 82,7, 80,7, 61,2, 43,2, 36,0, 34,3 28,4, 28,2, 28,0, 25,3.
 IR (CHCl₃): 2982, 1744, 1719, 1485, 1394, 1309 cm⁻¹.
 10 MS (ES+) m/e (intensidad relativa, %) 412,2 (M⁺ + 1, 79), 356,2 (50), 300,1 (97), 276,1 (68), 244,1 (100). Análisis calculado para C₂₁H₃₃NO₇ (411,29): C, 61,30; H, 8,08; N, 3,40. Encontrado: C, 61,32; H, 8,04; N, 3,51.

Preparación 51

- 15 Éster di-*tert*-butílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se enfría la solución de la Preparación 49 hasta 0 °C en nitrógeno y se
 20 añade tri-*sec*-butilborohidruro de litio (L-Selectride™, 1 M en THF, 21 ml, 21 mmol) gota a gota. Se agita la mezcla de reacción durante 45 minutos a 0 °C. Se añade una solución de carbonato sódico 2M (31 ml) gota a gota, manteniendo la

aB

temperatura por debajo de 8 °C. Se añade una solución de H₂O₂ al 30% (7,15 g, 63 mmol) en 20 ml de agua, manteniendo la temperatura por debajo de 15 °C. Después de agitar 10 min, se añaden MTBE (210 ml) y agua desionizada (100 ml). Se separan las fases y la fase orgánica se lava con solución saturada de Na₂SO₃ (40 ml) y solución de NaHSO₄ 1M (40 ml). Se concentra la fase orgánica por destilación a presión atmosférica hasta un volumen de aproximadamente 90 ml. La destilación continúa y se añade heptano para mantener un volumen constante. Cuando la temperatura de vapor del destilado alcanza 93°C, se enfría la solución hasta 70°C y se añaden 7 ml de THF. Se enfría la solución hasta 0°C y se agita durante 1 hora. Se filtra el sólido, se lava con heptano frío (10 ml) y se seca a vacío a 50 °C obteniendo 4,68 g (rendimiento del 67%) de éster di-*terc*-butilico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico como un sólido blanco. p.f. 187-88 °C.

15 RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 5,31(s ancho, 1H), 4,38 (d, J_{AB} = 10,5 Hz, 1H), 4,30 (dd, J = 11,0, 6,0 Hz, 1H), 2,68 (d, J = 15,3 Hz, 1H), 2,17 (m, 1H), 2,07 (m, 1H), 1,58 (m, J = 15,2 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,44 (s, 9H), 1,43 (s, 9H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 175,2, 170,5, 155, 83,2, 81,3, 80,1, 73,7, 66,9, 43,1, 36,0, 34,4, 29,3, 28,3, 28,1, 27,4, 22,1.

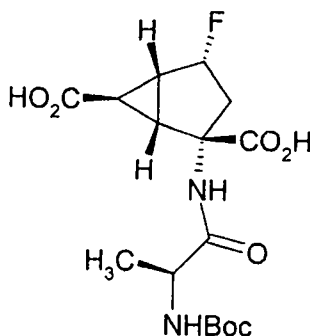
20 IR (CHCl₃): 3445, 2982, 1714, 1485, 1361 cm⁻¹.

MS (ES+) m/e (intensidad relativa, %) 414,2 (M⁺ + 1, 58), 358,1 (75), 302,1 (78), 246,0 (100).

[α]_D = -28,6 (c 1, MeOH).

25 Preparación 52

Ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- 5 Se añade una solución de éster di-*tert*-butílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (25,00 g, 60,5 mmol, Preparación 51) en CH₂Cl₂ (230 ml) a una solución a -78 °C de Deoxofluor™ (16,05 g, 72,6 mmol, 1,2 equiv) en CH₂Cl₂ (105 ml) durante 2 h. Se agita la mezcla de reacción durante 1,5 horas y se añaden 1,66 g adicionales de
- 10 Deoxofluor™. Se agita la solución 30 minutos y se deja calentar hasta -10°C. Se añade una solución de NaHCO₃ saturado (105 ml) gota a gota durante 20 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de 5 °C. Se ajusta el pH de la fase acuosa hasta 7 añadiendo 160 ml de solución saturada de NaHCO₃. Se deja calentar la mezcla hasta temperatura ambiente y se separan las fases. Se extrae la fase
- 15 acuosa con 100 ml de CH₂Cl₂. Las fases orgánicas reunidas se lavan con 250 ml de salmuera, luego se secan con Na₂SO₄. Se elimina el disolvente a vacío y se añade heptano (75 ml) al producto bruto. Se calienta la mezcla resultante hasta 50°C hasta que se disuelven todos los sólidos y se agita a temperatura ambiente durante 24 horas. Se enfría la mezcla hasta 0°C en un baño de hielo y se filtra.
- 20 Se aclara el producto con heptano frío y se seca a vacío dando 20,23 g

20

(rendimiento del 80%) de éster di-*terc*-butílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico como un sólido blanco.

p.f. 140-143 °C.

5 $[\alpha]_D = +20,6$ (c 1, CHCl₃).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 5,45 (dd, $J_{H-F} = 56$, $J_{H-H} = 4,8$ Hz, 1H), 5,28 (s ancho, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,23 (s ancho, 1H), 2,11 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,45 (s, 9H), 1,43 (s, 9H), 1,37 (m, 1H).

10 RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 177,7, 170,5, 155,0, 94,4, 92,0, 82,2, 81,5, 80,2, 64,7, 37,7, 33,2, 29,7, 29,3, 28,3, 28,1, 27,8, 20,4.

MS (ES+) m/e (intensidad relativa, %) 416,2 (M⁺ + 1, 66), 360,1 (67), 304,1 (100), 248,0 (60).

IR (CHCl₃): 3444, 2981, 1715, 1485, 1369 cm⁻¹.

Se añade SOCl₂ (21,29 g, 13,05 ml, 0,179 mol, 5 eq) a una solución de
15 éster di-*terc*-butílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (14,87 g, 0,036 mol) en EtOH (abs, 149 ml) gota a gota durante 10 minutos sin enfriar para producir una solución a reflujo suave. Se mantiene la solución a reflujo. Se elimina el disolvente de la reacción a vacío. Se disuelve el residuo en EtOAc (150 ml) y se añade una
20 solución de Na₂CO₃ al 10% (75 ml) gota a gota durante 5-10 minutos con agitación. Se separan las fases y se extrae la fase acuosa con EtOAc (50 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con salmuera (1 x 50 ml), se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentra el producto, éster dietílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, a vacío
25 hasta un líquido espeso que solidifica en reposo (11,02 g).

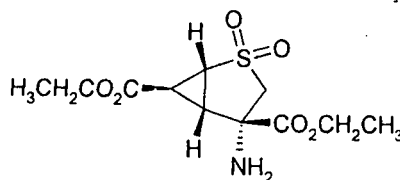
Se añade N-metilmorfolina (22,44 ml, 204 mmol) a una solución de N-Boc-L-alanina (38,62 g, 204 mmol) en 396 ml de cloruro de metileno a -22 °C en nitrógeno, seguido por la adición de cloroformiato de *iso*-butilo (26,48 ml, 204 mmol) gota a gota durante 15 minutos de tal modo que la temperatura de reacción no supera -18 °C. Se agita la suspensión clara resultante a -20 °C durante 30 minutos, luego se añade una solución del éster dietílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (49,46 g, 191 mmol) en 247 ml de cloruro de metileno durante 40 minutos de tal modo que la temperatura de reacción no supera -16 °C. Se retira la reacción del baño de enfriamiento y se agita a temperatura ambiente durante 70 minutos. Se añaden 408 ml de ácido clorhídrico 1 N, se agita durante 5 minutos y se separan las fases. Se lava la fase orgánica con bicarbonato sódico acuoso saturado (1 x 408 ml), se seca (Na₂SO₄), se filtra y se concentra el producto, éster dietílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*terc*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, a vacío hasta una espuma blanca (88,16 g).

Se añaden 46,7 ml (93,4 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*terc*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico bruto (17,5 g, 37,3 mmol teórico) en 46,6 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Se agita la mezcla bifásica vigorosamente a temperatura ambiente hasta homogeneidad, luego se agita durante otra hora (tres horas en total). Se diluye la mezcla con 46 ml de *t*-butil metil éter, luego se mezcla durante 10 minutos y se separan las fases. En un matraz separado, se añaden 93 ml de agua, luego 8,4 ml (101 mmol) de HCl concentrado. Opcionalmente, se añaden cristales iniciadores de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*terc*-

butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico a la solución ácida, seguido por la fase acuosa de antes. Se añade la fase acuosa lentamente al principio, de modo que se forma una suspensión moderadamente espesa. En este punto, aumenta la velocidad de adición (40 minutos de tiempo total de adición). Se aclara el embudo de adición con agua (16 ml). Se agita la suspensión resultante durante 2 horas, se filtra, se lava con agua (2 x 32 ml) y se seca a vacío a 45 °C hasta peso constante proporcionando 13,9 g (99%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

10 Preparación 53

Éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



15 Se añade cloruro de tionilo a una suspensión de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (10 g, 42,5 mmol, patente de Estados Unidos N° 5.688.826) en 100 ml de etanol 2B a temperatura ambiente (15,5 ml, 212,6 mmol) gota a gota durante 20 minutos, seguido por aclarado con 40 ml de etanol. Se calienta la suspensión a reflujo y se agita durante

20 la noche. Se enfría la solución resultante hasta temperatura ambiente y se concentra hasta un residuo gelatinoso. Se añade acetato de etilo (50 ml) al residuo, seguido por dilución con otros 94 ml de acetato de etilo. Se añade lentamente carbonato sódico acuoso al 15% (70 ml) a la mezcla con agitación a

mano proporcionando gradualmente la disolución, dando un pH final de 7,95. Se filtra y se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con salmuera (1 x 100 ml), se secan (MgSO₄), se filtran y concentran a vacío proporcionando el compuesto del
 5 epígrafe como un aceite amarillo apagado que solidifica hasta un sólido blanquecino (11,71 g, rendimiento del 95%).

p.f. 80-83 °C.

[α]_D²⁵ -57,7 (c 1,04, CH₃OH).

500 MHz RMN de ¹H (CDCl₃) δ 4,31 (c, 2H, J = 7,0 Hz), 4,20 (m, 2H), 3,78 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 3,36 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,93 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,81 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,46 (t, 1H, J = 4,0), 1,34 (t, 3H, J = 7,0), 1,30 (t, 3H, J = 7,0).

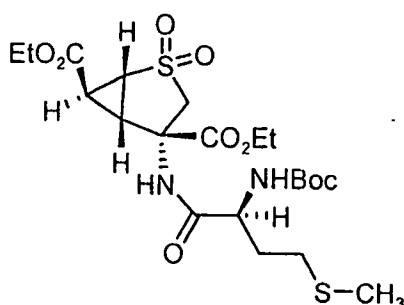
RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 171,68, 168,57, 63,26, 62,42, 59,96, 56,06, 43,78, 32,25, 22,49, 14,31, 14,25.

FTIR (ATR) 3364,15 (s), 1725,95 (s), 1304,91 (s), 1259,24 (s), 1200,84 (s),
 15 1104,91 (s), 1022,99 (s), 896,45 (s), 851,21 (s) cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₁H₁₇NO₆S: C, 45,35; H, 5,88; N, 4,81. Encontrado: C, 45,02; H, 5,75; N, 4,82.

Preparación 54

20 Éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(terc-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

274
276

Se añade N-metilmorfolina (14,4 ml, 130,9 mmol) a una solución transparente de N-Boc-L-metionina (32,64g, 130,9 mmol) en 110 ml de cloruro de metileno a -22 °C en nitrógeno, seguido por la adición de cloroformiato de isobutilo (17 ml, 130,9 mmol) gota a gota durante 7 minutos para mantener la temperatura de reacción a -22 °C. Una vez completada la adición, se formó una suspensión clara resultante. Se agita a de -22 a -26 °C durante 30 minutos. Se añade una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (35,65 g, 122,4 mmol, Preparación 53) en 107 ml de cloruro de metileno durante 15 minutos, seguido por un aclarado de 36 ml de cloruro de metileno. Se retira la reacción del baño de enfriamiento y se agita a temperatura ambiente durante 70 minutos. Se añaden 51 ml de ácido clorhídrico 5 N a la solución, luego se separan las fases. Se vuelve a extraer la fase acuosa con cloruro de metileno (2 x 107 ml). Se lavan las fases orgánicas reunidas con bicarbonato sódico acuoso saturado (1 x 107 ml), se secan (MgSO₄), se filtran y se concentran a vacío proporcionando 65,82 g (rendimiento del 103% en peso) del compuesto del epígrafe como una espuma blanca.

[α]_D²⁵ -12,7 (c 1,2, CH₃OH).

500 MHz RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,53 (s, 1H), 5,06 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 4,34 - 4,20 (m, 6H), 3,41 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0), 2,97 - 2,89 (m, 2H), 2,64 - 2,59 (m, 2H, J = 4,0), 2,12 - 1,89 (m, 5H), 1,47 (s, 9H), 1,32 (t, 6H, J = 7,0).

015

RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) δ 172,53, 169,03, 167,88, 156,00, 80,62, 63,45, 62,56, 60,20, 55,33, 52,78, 42,81, 31,52, 31,38, 30,12, 28,49, 22,69, 15,44, 14,23, 14,143.

FTIR (ATR) 3341,88 (w), 2979,38 (s), 1733,03 (s), 1674,92 (s), 1514,58 (s),
5 1315,80 (s), 1255,15 (s), 1161,47 (s), 1142,63 (s), 1025,68 (s), 854,85 (s), 763,53 (s) cm^{-1} .

Preparación 55

Sal monosódica del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-
10 butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-
dicarboxílico

Se añaden 141 ml (282 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-
15 butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-
dicarboxílico (58,95 g, 112,8 mmol teóricos, Preparación 54) en 141 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Se agita la mezcla vigorosamente a temperatura ambiente durante dos minutos. Se diluye la solución con 141 ml de éter *terc*-butil metílico y luego se separan las fases. Se diluye adicionalmente la
20 fase acuosa con 141 ml de agua y se añade ácido clorhídrico concentrado, gota a gota para reducir el pH hasta 4,46. Se agita durante 10 minutos para obtener una suspensión clara. Se añade más ácido clorhídrico concentrado a la suspensión para reducir el pH hasta 1,4 (se usan un total de 17 ml de HCl conc., 204 mmol). Después de agitar durante 2 horas, se filtra la suspensión. Se lava la torta con
25 agua (2 x 118 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 1 hora antes de transferir a

226

una bandeja de pesada. Se seca de nuevo la torta a vacío a 45 °C durante 16 horas y a 58 °C durante 5 horas proporcionando 52,96 g (rendimiento del 96% en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (descomposición) 258 °C.

5 $[\alpha]_{25}^D$ - 25,2 (c 1,03, H₂O).

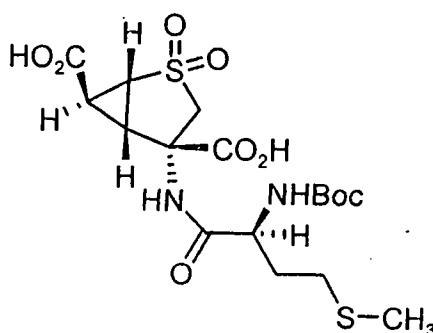
500 MHz RMN de ¹H (D₂O) δ 4,07 - 4,01 (m, 2H), 3,45 - 3,43 (m, 1H), 3,11 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,85 (m, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,47 - 2,35 (m, 3H), 1,96 - 1,90 (m, 4H), 1,78 - 1,72 (m, 1H), 1,28 (s, 9H).

10 RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 174,45, 173,58, 172,80, 157,46, 81,71, 61,41, 55,04, 53,24, 42,29, 31,71, 30,85, 29,41, 27,79, 23,65, 14,41.

FTIR (ATR) 3287,62 (s), 1698,00 (s), 1528,91 (s), 1327,36 (s), 1283,74 (s), 1245,90 (s), 1174,81 (s), 1109,06 (s), 1053,05 (s), 874,27 (s), 808,95 (s) cm⁻¹.

Preparación 56

15 Ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



20 Se añaden 397 ml (795 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-

butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (166,15 g, 318 mmol, Preparación 54) en 480 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Se agita vigorosamente la mezcla a temperatura ambiente durante dos minutos, momento en el que la reacción se hace

5 homogénea formando una solución amarillo/verde apagado transparente. Se agita durante otras dos horas a temperatura ambiente. Se diluye la solución con 480 ml de éter *tert*-butil metílico y luego se separan las fases. Se añade la fase acuosa gota a gota a una solución de ácido clorhídrico concentrado (71,5 ml, 858 mmol) en agua (960 ml). Se añade acetato de etilo (500 ml) seguido por el resto de la

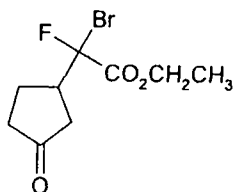
10 fase acuosa, dando una emulsión y diluyendo seguidamente con acetato de etilo (460 ml). Se agita la emulsión durante 40 minutos, se filtra y se lava con agua (2 x 250 ml). Se separan las fases del filtrado y se vuelve a extraer la fase acuosa con acetato de etilo (500 ml). Las fases orgánicas se lavan con salmuera (75 ml), se secan (MgSO₄), se filtran y concentran a vacío proporcionando 125,26 g

15 (rendimiento del 84% corregido) del compuesto del epígrafe como una espuma blanca.

Preparación 57

2-Brorno-2-fluoro-2-(3-oxociclopentil)acetato de etilo

20



Se añaden 8,45 ml (50,4 mmol) de cloruro de trietilsililo a una suspensión de 2,99 g de Zn activado (45,8 mmol) en acetonitrilo anhidro (100 ml) a -20 °C y

278
280

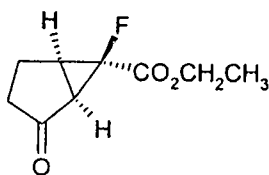
se agita la mezcla durante 5 minutos. Se añaden 8,0 ml (57,3 mmol) de 2,2-dibromo-2-fluoracetato de etilo y se agita la mezcla durante 90 minutos a -20°C . Se añaden 1,86 ml (22,9 mmol) de 2-ciclopenten-1-ona y se agita la mezcla de reacción durante la noche, dejando que la temperatura se eleve lentamente hasta 5 temperatura ambiente. Se añade HCl 1N (125 ml) y EtOAc (100 ml). Se lava la fase orgánica con NaHCO_3 saturado (2 x 150 ml), agua (2x150 ml) y salmuera (2x150 ml), se seca sobre MgSO_4 anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo por cromatografía en columna usando EtOAc/hexano (1:8) como eluyente dando el compuesto del epígrafe (5,36 g, 10 rendimiento total 88%) como un aceite incoloro como una mezcla de diastereoisómeros.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,34-1,41 (m, 6H), 1,91-1,95 (m, 1H), 2,04-2,68 (m, 11H), 3,12-3,31 (m, 2H), 4,33-4,43 (m, 4H).

Activación con Zn: Se añaden 10 ml de HCl concentrado a una suspensión 15 de 100 g de polvo de Zn en agua (900 ml). Se agita la mezcla durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se decanta el agua y se lava el residuo con agua (3 x 250 ml), acetona (3 x 150 ml) y éter (2 x 100 ml). Se seca el residuo a presión reducida a 35°C durante la noche.

20 Preparación 58

(1RS, 5RS, 6RS)-6-Fluoro-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



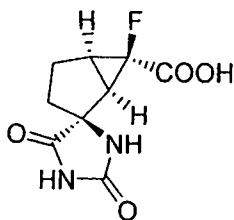
929

Se añaden 13,0 ml (75,0 mmol) de etildiisopropilamina a una solución de 2,0 g (7,5 mmol) de 2-bromo-2-fluoro-2-(3-oxociclopentil)acetato de etilo (Preparación 57) en DMF (8 ml), a 0°C y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Se añade una solución de HCl 1N (20 ml), agua (15 ml) y EtOAc (75 ml). Se extrae la fase orgánica, se lava con NaHCO₃ saturado (2 x 100 ml), agua (2 x 100 ml) y salmuera (2 x 100 ml), se seca sobre MgSO₄ anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo por cromatografía en columna usando EtOAc/hexano (1:4) como eluyente dando el compuesto del epígrafe (1,17 g, rendimiento del 84%) como una mezcla *trans:cis* 5:1 de isómeros como un aceite incoloro.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,33 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 2,19-2,34 (m, 3H), 2,41-2,49 (m, 1H), 2,59 (d, 1H, J = 6,6 Hz), 2,71-2,76 (m, 1H), 4,29 (c, 2H, J = 7,1 Hz).

Preparación 59

15 Ácido (1RS,2SR,5RS,6RS)-2-espiro-5'-hidantoin-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico

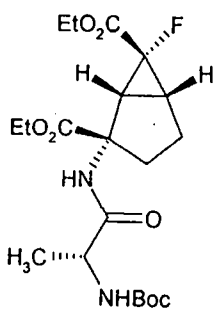


Se agita una mezcla de (1RS,5RS,6RS)-6-fluoro-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (0,1 g, 0,54 mmol, Preparación 58) y NaOH 1N (0,55 ml, 0,55 mmol) en EtOH (1 ml) durante 10 min con enfriamiento en hielo. Se añade HCl 1 N a la mezcla gota a gota hasta que el pH es 1 y se reparte la mezcla resultante

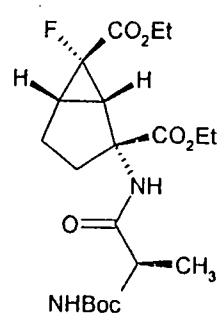
entre EtOAc y salmuera. La fase acuosa se extrae con EtOAc dos veces y se secan las fases orgánicas reunidas sobre MgSO_4 y luego se concentran a presión reducida. Se agita una mezcla del residuo, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (0,31 g, 3,2 mmol) y KCN (0,11 g, 1,62 mmol) en EtOH y agua (1:1) (2 ml) a 60°C durante la noche. Se enfría en un baño de hielo y se acidifica la mezcla por tratamiento con KHSO_4 1N. Se retira el disolvente a presión reducida y se vuelve a disolver el residuo en MeOH, se filtra y se concentra a vacío. El producto bruto se puede usar sin purificación adicional.

10 Preparación 60

(1R, 2S, 5R, 6R)-Dietil-2-(2'R-terc-butoxicarbonilamino-propionilamino)-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxilato y (1S, 2R, 5S, 6S)-Dietil-2-(2'R-terc-butoxicarbonilamino-propionilamino)-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxilato



Isómero A



Isómero B

Se añaden 1,59 g (5,0 mmol) de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a una solución de 0,32 g (1,5 mmol) de ácido (1R*, 2S*, 5R*, 6R*)-2-espiro-5'-hidantoin-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico (Preparación 59) en agua (10 ml) y se agita la mezcla a 105°C durante la noche. Se acidifica la solución hasta pH 1 con HCl 1N

a 0 °C, luego se concentra a presión reducida. Se vuelve a disolver el residuo y se concentra a presión reducida con EtOH absoluto varias veces hasta que el sólido está perfectamente seco. Se añaden 0,37 ml (5,0 mmol) de SOCl₂ al residuo disuelto en EtOH absoluto (20 ml) a 0°C, luego se agita la mezcla a reflujo durante 5 horas. Se basifica la solución con NaHCO₃ saturado y se añade EtOAc (25 ml). Se separa la fase orgánica y se extrae la fase acuosa con más EtOAc (2x25 ml). Se secan las fases orgánicas reunidas sobre MgSO₄ anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se disuelve el residuo en 20 ml de una mezcla de DCM-DMF (4:1), 0,73 g (1,9 mmol) de HATU, 0,26 g (1,9 mmol) de HoAt, 0,35 g (1,8 mmol) de L-Ala. Se añaden 2,7 ml (15,3 mmol) de diisopropiletilamina y se agita la mezcla en Ar durante la noche. Se añade DCM (15 ml), se separa y se lava con NaHCO₃ saturado (2 x 25 ml), agua (2 x 25 ml) y salmuera (2 x 25 ml). Se lava la fase acuosa con MgSO₄ anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo por cromatografía en columna usando EtOAc/hexano (1:2) como eluyente dando el compuesto del epígrafe (0,33 g, rendimiento global del 51%) como una mezcla 1:1 de diastereoisómeros como un aceite incoloro.

La mezcla de diastereoisómeros se separó por HPLC quiral usando el siguiente procedimiento analítico: Chiralpak AD 10m, 4,6 x 250mm; Eluyente: IPA al 10% en Hexano; Caudal: 1,0 ml/min; UV: 215 nm. Tiempo de retención del Isómero A = 5,9 min. Tiempo de retención del Isómero B = 9,2 min.

Isómero A: (1*R*, 2*S*, 5*R*, 6*R*, 2'*R*)-Dietil-2-(2'-*terc*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxilato

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,18 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,23 (t, 1H, J = 7,1 Hz), 1,36 (s, 9H), 1,56-1,68 (m, 1H), 2,03-2,11 (m, 2H), 2,21-2,31 (m, 1H), 2,37-

2,45 (m, 1H), 2,61-2,63 (m, 1H), 4,09-4,16 (m, 5H), 5,10 (d ancho, 1H, $J = 6,6$ Hz), 7,11 (s ancho, 1H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 13,9, 14,0, 17,7, 24,9 (d, $J = 1,0$ Hz), 28,1, 31,5 (d, $J = 10,9$ Hz), 34,9 (d, $J = 9,4$ Hz), 36,4 (d, $J = 8,8$ Hz), 49,1, 61,5, 61,8, 5 67,4, 77,2, 81,5 (d, $J = 242,6$ Hz), 155,4, 168,6 (d, $J = 25,1$ Hz), 171,8 y 172,7 ppm.

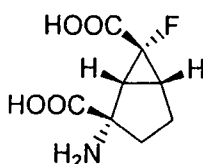
Isómero B: (1S, 2R, 5S, 6S, 2'R)-Dietil-2-(2'-*terc*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxilato

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,13 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,18 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz), 10 1,31 (s, 9H), 1,51-1,60 (m, 1H), 1,98-2,07 (m, 2H), 2,15-2,22 (m, 1H), 2,26-2,39 (m, 1H), 2,55-2,60 (m, 1H), 4,07-4,12 (m, 5H), 5,20 (s ancho, 1H), 7,22 (s ancho, 1H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 13,7, 13,8, 18,0, 24,7, 28,0, 31,4 (d, $J = 10,9$ Hz), 34,5 (d, $J = 8,9$ Hz), 36,3 (d, $J = 9,4$ Hz), 49,1, 61,4, 61,7, 67,3, 77,2, 81,4 (d, 15 $J = 242,6$ Hz), 155,2, 168,5 (d, $J = 25,1$ Hz), 171,7 y 172,8 ppm.

Preparación 61

Ácido (1R, 2S, 5R, 6R)-2-amino-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



20

Se mantiene a reflujo una solución de 30 mg (0,07 mmol) de Isómero A de la Preparación 60 en HCl 6N (2 ml) durante la noche. Se elimina el disolvente a presión reducida, se lava el residuo con éter, se disuelve en MeOH (1 ml) y se

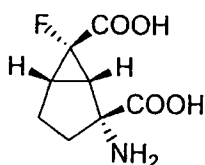
23

añade óxido de propileno (2 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. Se decanta el disolvente, se lava el residuo con éter y se seca con una corriente de Ar dando el compuesto del epígrafe (12 mg, 85%) como un sólido blanco.

5 $[\alpha]_D = -25,0$ ($c=0,80$ mg/ml, H_2O).

Preparación 62

Ácido (1S, 2R, 5S, 6S)-2-Amino-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



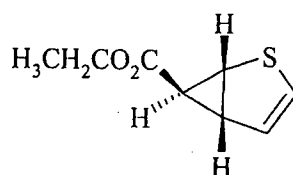
10

Comenzando con una solución del Isómero B de la Preparación 60, se prepara el compuesto del epígrafe esencialmente como en la Preparación 61.

$[\alpha]_D = 21,7$ ($c=0,46$ mg/ml, H_2O).

15 Preparación 63

(6S)-4-Tiabiciclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo



20 Se acopla un matraz de tres bocas y cinco litros con un agitador, un termopar y un tubo de adición de teflón y se carga una entrada de N_2 con 2000 ml de tiofeno ($d = 1,05g / ml$, 25,0 mol al comienzo y aumentando hasta 45 mol con

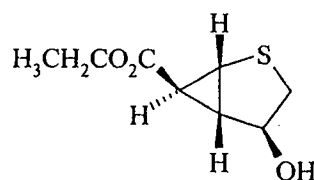
ant

adición de solución de diazoacetato de etilo en tiofeno, 17,1 equiv basados en la adición total de diazoacetato de etilo y sin corregir para la potencia de EDA, 19,0 equiv basados en la potencia corregida de diazoacetato de etilo. Se añade a esto, atmósfera de N_2 , 0,968 g de $Rh_2(octanoato)_4$ (1,24 mmol, 0,0472 % mol en base a los g de diazoacetato de etilo sin corregir para la potencia, 0,052 % mol en base a los moles de diazoacetato de etilo puro, Johnson Mathey: Lote N°. 059255001). Se calienta la suspensión a 46°C y se agita a 46°C durante 10 minutos para hacer que la disolución sea una solución verde. Se añade a la solución, por una bomba de desplazamiento positivo, una solución de 300 g de diazoacetato de etilo (90% puro, 2,63 mol, 2,37 mol *pura*, 1,00 equiv, Aldrich: Lote N° 17603PI) disuelto en 1600 ml de tiofeno. La velocidad de adición es tal que el tiempo de adición total es de 8 horas; la velocidad lenta de adición suprime la formación de ésteres etílicos de maleato y fumarato. Cuando no queda diazoacetato de etilo (aproximadamente treinta minutos), se enfría la reacción color ámbar oscuro (3,985 g) hasta 23°C. Se divide la mezcla de reacción en porciones y la porción mayor (3,240 g de 3,985 g total = 81,3%) se concentra directamente a un aceite. El producto bruto se hace pasar a través de un aparato de destilación por medio de láminas de limpieza a 1,5 torr (200 Pa) y 23°C para desgasificar el producto y eliminar la cantidad residual de tiofeno. El producto se destila entonces a 120°C y 1,3 torr. El compuesto del epígrafe (amarillo apagado) se recoge en dos fracciones, 155,0 g y 32,2 g. El análisis por HPLC determina una potencia de 78% y 76% para los dos lotes, respectivamente. La cristalización del destilado anterior se lleva a cabo por disolución en metanol (2 ml por 1 g de destilado) y enfriamiento hasta -10°C, momento en el que la solución se siembra opcionalmente si no se observa crecimiento de cristales. Una vez ha comenzado

la cristalización, la mezcla se enfría adicionalmente hasta -45°C y se agita durante 2 a 3 horas, se filtra y se lava con metanol frío (-45°C) (1 x 1 ml por 1 g de destilado). El material se seca a vacío a 24°C proporcionando el compuesto del epígrafe como un sólido de blanco a blanquecino con una recuperación del 80-85% y una potencia >98%.

Preparación 64

(4S,6S)-4-hidroxi-2-tiabiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



10

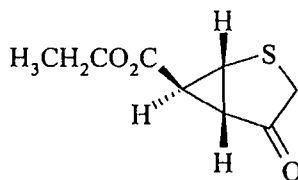
Se añade complejo borano-THF (98 ml, 98 mmol) durante 15-20 minutos a una solución de (6S)-4-tiabiciclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo (22,2 g, 131 mmol) en 136 ml de tetrahidrofurano en nitrógeno a 0°C. Después de agitar a 0°C durante 30 minutos, se deja que la reacción se caliente hasta 15°C hasta finalización por HPLC (1,5-2 horas). La reacción se enfría hasta 0°C y se transfiere durante 10-15 minutos a 111 ml de una solución tampón pH 7 1N previamente enfriada (0°C) mientras se mantiene la temperatura a 0°C. Se añade a la mezcla perborato potásico monohidrato (15,6 g, 157 mmol) en forma de sólido en cinco porciones de tal forma que la temperatura se mantiene por debajo de 20°C. Se deja que la solución se caliente hasta temperatura ambiente y se agita durante 1 hora seguido por la adición de 222 ml de agua. Después de agitar durante 2 horas, se inactivan los peróxidos añadiendo tiosulfato sódico pentahidratado (9,7 g) disuelto en 24 ml de agua, seguido por agitación durante 10

20

minutos. La mezcla se extrae con acetato de etilo (2 x 222 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con bicarbonato sódico acuoso saturado (1 x 222 ml) seguido por salmuera (1 x 222 ml) y concentración a vacío hasta sequedad. El producto bruto se disuelve en 1,2-dicloroetano (1 ml por 1 g de aceite bruto) y se carga en una columna de gel de sílice (4 g de gel de sílice por 1 g de aceite bruto suspendido y compactado en acetato de etilo al 15% -heptano). La columna se eluye con acetato de etilo al 15% -heptano hasta que el producto es visible por TLC, momento en el que el disolvente se cambia a acetato de etilo al 50% -heptano. Se reúnen todas las fracciones que contienen el producto del epígrafe y se concentran a vacío hasta un aceite. El rendimiento global varía en el intervalo de 55-65%.

Preparación 65

(6S)-4-oxo-2-Tiabicciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



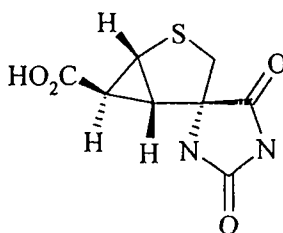
Se añade lentamente una solución de anhídrido trifluoroacético (33,2 ml, 235 mmol) en 73 ml de cloruro de metileno durante 30 minutos (temperatura mantenida por debajo de -66°C) a una solución de dimetil sulfóxido (33,4 ml, 471 mmol) en 194 ml de cloruro de metileno a -70°C . Después de agitar durante 20 minutos, se añade durante 60 minutos una solución de (4S,6S)-4-hidroxi-2-tiabicciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (34,1 g, 181 mmol) en 194 ml de cloruro de metileno, de modo que la temperatura se mantenga por debajo de $-$

C37

60°C. Después de agitar durante 1 hora, se trata la reacción con trietilamina (75,7 ml, 543 mmol) durante 35 minutos tal que la temperatura permanece por debajo de -50°C. Se deja agitando la reacción durante una hora más, momento en el que se retira el baño de enfriamiento y se añaden 400 ml de ácido clorhídrico 2 N. Tras
5 calentar hasta 0°C, se separan las fases y se lava la fase orgánica con ácido clorhídrico 2N (1x 300 ml), bicarbonato sódico acuoso 1N (1 x 670 ml) y agua (1 x 300 ml) seguido por secado sobre sulfato sódico, filtrado y concentrado a vacío hasta un aceite rojo que solidifica en reposo. El producto bruto se carga en un lecho de gel de sílice (2 g por 1 g de alcohol de partida compactado con cloruro de metileno) y se eluye con cloruro de metileno (200-300 ml). Se recogen todas las
10 fracciones que contienen producto y se concentran proporcionando el compuesto como un sólido naranja/marrón. Los rendimientos típicos corregidos están en el intervalo de 85-90%.

15 Preparación 66

Ácido (6S,11S)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[biciclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico



20 Se combinan carbonato amónico (2,46 g, 25,6 mmol) y cianuro potásico (0,817 mg, 12,5 mmol) en 19,9 ml de metanol y se dejan agitando durante 30 minutos. La mezcla se trata con una solución de (6S)-4-oxo-2-

tiabicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (2,39 g, 12,8 mmol) en 19,9 ml de metanol y la reacción se calienta hasta 30°C y se agita 23 horas. Se evaporan los volátiles y se disuelve el residuo en hidróxido sódico 2,75N (13,1 ml) y se agita durante 1 hora. Después de diluir con 13,1 ml de agua, se reduce el pH hasta 3,1
5 con ácido clorhídrico concentrado y se siembra opcionalmente con ácido (6S,11R)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[bicyclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico. Se reduce el pH hasta 1,0 y se enfría la suspensión hasta 0°C y se agita durante 1,25 horas. Se recoge el sólido color castaño, se lava con agua fría (2,3 ml y 0,8 ml) y se seca durante la noche a vacío a 40°C dando 2,00 g (55%
10 corregido en la pureza) de ácido (6S,11R)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[bicyclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico. Se diluye el filtrado con 50 ml de acetato de etilo y se trata con 18 g de cloruro sódico. Después de agitar durante 15 minutos, se separan las fases y se lava adicionalmente la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secan
15 con sulfato sódico, se filtran y se concentran a vacío hasta una suspensión (aproximadamente 5 ml) a la que se añade éter *terc*-butil metílico (25 ml) seguido por agitación durante la noche. El sólido se recoge, se lava con éter *terc*-butil metílico y se seca a vacío a 40°C durante 2 horas proporcionando 0,64 g (10% corregido en la pureza) del compuesto del epígrafe como una mezcla 1:1 de
20 hidantoínas diastereoisoméricas. Esta segunda tanda de hidantoínas se combina con la primera tanda y se somete a la etapa siguiente.

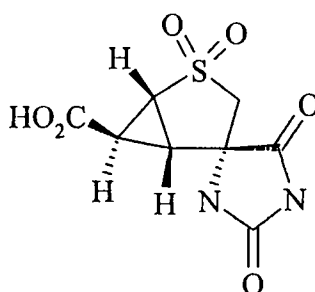
Resolución

Se añade (*R*)-fenilglicinol (9,0 g, 65,7 mmol) a una suspensión de ácido
25 racémico (15 g, 65,7 mmol, aproximadamente relación 6:1 de hidantoínas

diastereoisoméricas) en 300 ml de etanol y 75 ml de agua. La mezcla se calienta hasta aproximadamente 80°C para efectuar la disolución. Se deja que la solución oscura se enfríe lentamente y se observa precipitación a 40-45°C. Se enfría adicionalmente la suspensión a 0°C y se mantiene durante 1-1,5 horas. Se recoge el sólido, se lava (con agitación) con etanol:agua 4:1 (1 x 60 ml, previamente enfriado hasta 0 °C) y se seca a vacío a 65°C durante 12-24 horas. Los rendimientos típicos de la sal resuelta están en el intervalo de 37-45% con >98% de y >98% ee observados. La sal resuelta se disuelve en 6 volúmenes (ml por g) de agua, seguido por tratamiento con 1,1 equivalentes de HCl concentrado. La suspensión se enfría hasta 0°C y se deja agitando durante 1 hora, seguido por filtración, aclarado con 1 volumen de agua fría y secado a vacío a 60°C. Los rendimientos típicos del compuesto del epígrafe son >90 % con % de y % ee >99%.

15 Preparación 67

Ácido (6S,11S)-2,2,8,10-tetraoxo-2-tiaespiro[biciclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico



20 Se añade ácido (6S,11S)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[biciclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico (3,4 g, 14,9 mmol) a una mezcla de 6,8 ml de agua, 0,7

ml de hidróxido sódico acuoso al 50% y 186 mg (0,74 mmol) de ácido wolfrámico. La solución resultante se calienta hasta 50°C y se trata con peróxido de hidrógeno al 35% (7,7 ml, 74,5 mmol) lentamente durante 66 minutos. Se deja agitando la reacción a continuación a 47-48°C durante 5 horas, seguido por enfriamiento hasta 0°C, filtrado sobre un lecho delgado de Celite y aclarado con agua fría (1 x 2 ml). El filtrado se calienta hasta 50°C y se trata con ácido clorhídrico concentrado hasta pH = 1,5. La suspensión se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se agita durante la noche. Tras enfriar hasta 0°C, la suspensión se filtra, se lava con agua fría (2 x 2 ml) y se seca a vacío a 55°C hasta peso constante, proporcionando 3,19 g (82%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco:

$[\alpha]^{25}_D -48,6$ (c, 1,19, 1 N NaOH).

p.f. 275 °C (gris), 295 °C (marrón).

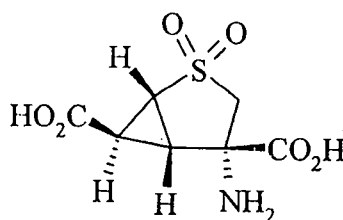
RMN de ^1H 500 MHz (DMSO- d_6) δ 13,15 (s ancho, 1H), 10,99 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 3,85 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 3,74 (dd, 1H, J = 7,0, 4,0 Hz), 3,03 (d, 1H, J = 15,5 Hz), 2,80 (dd, 1H, 7,0, 4,0 Hz), 2,39 (t, 1H, J = 4,0 Hz).

RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) δ 174,39, 169,87, 156,35, 62,67, 52,59, 44,16, 31,69, 21,92; FTIR (KBr) 3317 (s), 3250 (s), 3211 (s), 3086 (w), 1791 (s), 1742 (s), 1713 (s), 1327 (s), 1192 (s), 1140 (s) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 36,93; H, 3,10; N, 10,77. Encontrado: C, 36,76; H, 3,07; N, 10,60.

Preparación 68

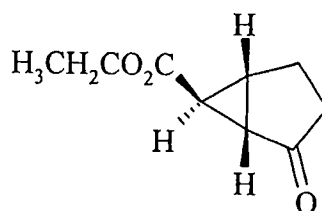
Ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-(2-sulfonilbiciclo[3.1.0]hexano)-4,6-dicarboxílico.



- Se añade a un reactor de Parr de acero inoxidable ácido (6S,11S)-2,2,8,10-tetraoxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico (2,50 g, 9,60 mmol) e hidróxido sódico 2N (24,0 ml, 48,0 mmol). A continuación se
- 5 calienta la mezcla hasta 95°C y se agita durante 21 horas, se enfría la mezcla hasta temperatura ambiente y se trata con carbón activado (1,25 g). La mezcla se filtra a través de Celite y el filtrado se concentra hasta 17 g con agua proporcionando un peso de 24 g. Se reduce el pH hasta 6,5 usando HCl concentrado y se calienta la mezcla hasta 62°C. Después de reducir el pH hasta
- 10 2,5 usando HCl concentrado se produce la cristalización. La suspensión se deja enfriar hasta 30°C antes de ajustar el pH a 1,7 y se reduce su temperatura hasta 5°C. Después se mantiene la suspensión a esta temperatura durante 18 horas, se recoge el sólido y se lava con H₂O frío (2 x 2,9 ml). Se seca el sólido blanco a vacío a 45°C proporcionando el compuesto del epígrafe (1,81 g, 80%). El
- 15 compuesto del epígrafe se suspende en 10 volúmenes de agua y se calienta hasta 85°C durante 3-4 horas, se enfría hasta temperatura ambiente, se agita durante 2-3 horas, se filtra y se lava con agua (1 x 1 volúmenes). La recuperación es >95%.

Preparación 69

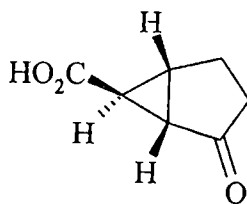
- 20 (6S)-2-Oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



Se añaden 87,4 ml (585 mmol) de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno gota a gota durante 15 minutos a una suspensión de bromuro de (etoxycarbonilmetil)dimetilsulfonio (134 g, 585 mmol) en 486 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente. Después de agitar durante 1 hora, se trata la mezcla amarilla con 40 g (487 mmol) de 2-ciclopenten-1-ona durante 10 minutos. Se deja la mezcla agitando durante la noche, momento en el que se añaden 480 ml de éter *terc*-butil metílico, seguido por lavado con ácido clorhídrico 1N (1 x 240 ml). Se lava la fase acuosa con éter *terc*-butil metílico (1 x 240 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera (1 x 400 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío proporcionando el (6*S*)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo bruto como un sólido naranja (84,8 g). El material bruto se puede purificar por destilación (~138°C, 10 mm Hg 1333 Pa), seguido por suspensión del destilado solidificado en heptano, filtración y secado.

Preparación 70

Ácido (±) (6*S*)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico



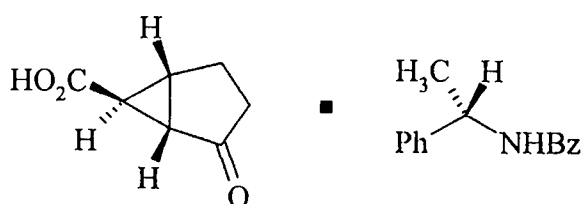
943

Se añaden 89 ml (178 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo bruto (30,2 g, 180 mmol, no corregido) en 30 ml de etanol a temperatura ambiente. Tras agitar durante 80 minutos, se lava la mezcla de reacción con éter *terc*-butil metílico (1 x 90 ml) y se trata la fase acuosa con ácido clorhídrico concentrado (18 ml) hasta alcanzar pH = 1,0. Se trata la mezcla con 15 g de cloruro sódico seguido por lavado con acetato de etilo (3 x 90 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secan (Na_2SO_4), se filtran y se concentran a vacío dando 23,8 g (94%, sin corregir) del compuesto del epígrafe como un sólido blanquecino.

10

Preparación 71

Sal N-bencil- α -metilbencilamina del ácido (+) (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico



15

Se añaden 18 g (85,1 mmol) de (S)-N-bencil- α -metilbencil-amina a una solución de ácido ($\pm$) (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico bruto (11,9 g, 84,9 mmol, se supone potencia del 100%) en 119 ml de acetato de etilo:etanol 6:1 a reflujo. Después de la disolución, se deja la mezcla enfriar, opcionalmente seguido por siembra a 52°C. Tras enfriar a temperatura ambiente y agitar otras 13,5 h, se recogen los cristales y se lavan con acetato de etilo:etanol 6:1 (2 x 48 ml). El secado a vacío proporcionó 10,8 g (36%, 77% de) de la sal resuelta como

un sólido.

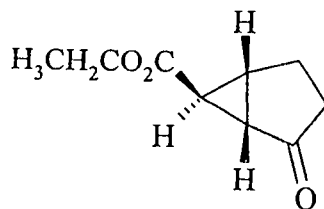
El de la sal se determina por análisis de GC quiral del derivado éster metílico preparado como sigue: se disuelven 150 mg de la sal resuelta en 5 ml de cloruro de metileno y se lava con ácido sulfúrico 1N (2 x 1 ml). La fase orgánica se
5 seca, se filtra, se diluye con 2 ml de metanol y se trata con 1 ml de trimetilsilil diazometano 2M en hexanos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, se concentra la mezcla a vacío proporcionando el éster metílico adecuado para el análisis GC quiral.

Condiciones de la GC: columna 30 m X 0,25 mm X 0,25 μ β -DEX 325,
10 temperatura del horno 140°C, gas portador helio @ 1 ml/min, detección FID a 250 °C, divisiones de 1 μ l 1:100, muestra @ 1mg/ml en cloruro de metileno.

Preparación 72

(6S)-2-Oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

15



Se añaden 198 ml (198 mmol) de hidróxido sódico 2N a una suspensión de 46,3 g (132 mmol) de sal N-bencil- α -metilbencilamina del ácido (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico en 200 ml de acetato de etilo. Después de
20 mezclar bien, se separan las fases y se lava la fase acuosa con acetato de etilo (1 x 200 ml). Se trata la fase acuosa con 18 ml (211 mmol) de ácido clorhídrico concentrado y 100 g de cloruro sódico. La mezcla se deja agitando durante 30

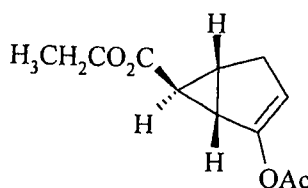
minutos seguido por lavado con acetato de etilo (2 x 200 ml). Los orgánicos reunidos se secan (MgSO_4), se filtran y se concentran a vacío proporcionando 18,3 g (99%) del ácido resuelto [ácido (+) (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico] como un sólido blanco.

- 5 A continuación, se disuelven 10 g (71 mmol) del ácido resuelto bruto producto anterior en 42 ml de etanol y se trata con 4 ml (71 mmol) de ácido sulfúrico concentrado, gota a gota. Se calienta la mezcla hasta 45°C y se deja agitando durante 75 minutos. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se añaden 42 ml de agua con 20 ml de acetato de etilo y 12 g de bicarbonato sódico. Tras
- 10 agitar durante varios minutos, se lava la mezcla con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secan (MgSO_4), se filtran y se concentran a vacío proporcionando 11 g (92%) del (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo bruto como un sólido blanco. La cristalización en heptano:éter *tert*-butil metílico 6:1 (3,5 ml por g de sustrato) proporcionó este compuesto del epígrafe
- 15 con un rendimiento aproximado del 80% y un ee >98% como se determina por análisis de GC quiral.

Preparación 73

Acetato de (6S)-6-(etoxicarbonil)biciclo[3.1.0]hex-2-en-2-ilo

20



Se calienta a reflujo usando un aparato de Dean-Stark durante 2,5 horas, una mezcla de (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (380,1 g, 2,26

945

mol) y ácido sulfúrico (18 M, 6,3 ml, 0,11 mol) en acetato de isopropenilo (2,26 L.) momento en el que el análisis GC revela una mezcla 9:1 del compuesto del epígrafe frente a (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo. Después de eliminar 950 ml de disolvente por destilación durante 1 hora, la GC muestra que la

5 relación producto:material de partida es 17:1. Se añade acetato de isopropenilo adicional (900 ml) y H₂SO₄ concentrado (3,15 ml) y la mezcla se agita a reflujo durante otras 15 horas, momento en el que la GC muestra una relación 27:1 de producto/material de partida. Después de eliminar por destilación otros 1,35 l de disolvente, se enfría la mezcla hasta temperatura ambiente antes de que se diluya

10 con MTBE (2 l), H₂O (250 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (600 ml). Se separan las fases y se lava la fase orgánica con salmuera (400 ml). Las fases acuosas reunidas se extraen con MTBE (400 ml) y se secan las fases orgánicas reunidas (Na₂SO₄), se filtran y se concentran hasta un aceite rojo oscuro/marrón (540 g). El aceite bruto se divide en dos porciones iguales y se filtra a través de un lecho de

15 SiO₂ ultrarrápida (713 para cada lote), eluyendo con heptano:acetato de etilo 10:1. Las fracciones que contienen producto de ambos tapones se reúnen y se concentran proporcionando el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo (460 g, 97%; 90% corregido para el disolvente por RMN). La cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexanos (1:5)

20 proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un aceite incoloro .

$[\alpha]_D^{25} +185$ (c 1,48, CHCl₃).

RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 5,19-5,18 (m, 1H), 4,12 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 4,11 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 2,74-2,69 (m, 1H), 2,48-2,43 (m, 2H), 2,22-2,19 (m, 1H), 2,16 (s,

25 3H), 1,39 (dd, 1H, J = 2,5, 2,5 Hz), 1,25 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 173,37, 169,01, 152,26, 111,56, 61,28, 32,47, 32,40, 29,72, 24,97, 21,67, 14,95.

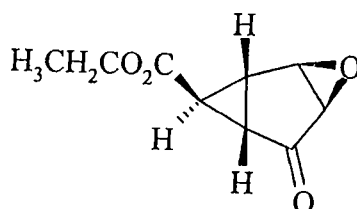
FTIR (CHCl_3) 3026 (m), 2985 (m), 1724 (s), 1272 (s), 1187 (s) cm^{-1} .

ES HRMS calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 228,1236, encontrado 228,1252.

5

Preparación 74

(3S,1R,6R)-7-Oxa-5-oxotriciclo[4,1,0,0<2,4>]heptano-3-carboxilato de etilo



- 10 Se calienta a reflujo y se agita durante 17 horas, momento en el que el análisis de GC muestra conversión completa a (6S)-4-oxobiciclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo una mezcla de acetato de (6S)-6-(etoxicarbonil)biciclo[3.1.0]hex-2-en-2-ilo (212,2 g, 1,01 mol) y 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (252,0 g, 1,11 mol) en 2,02 l de 1,4-dioxano. La mezcla
- 15 se enfría hasta temperatura ambiente y se diluye con THF (564 ml). Después, se enfría la mezcla hasta 8°C, se añade 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (377 ml, 2,52 mol) durante 30 minutos de modo que la temperatura de reacción se mantenga por debajo de 10°C. La mezcla se enfría entonces hasta 5°C y se añade hidróperóxido de *terc*-butilo (70 % en peso en agua, 210 ml, 1,51 mol) durante 50
- 20 minutos, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de 9°C. Después se agita la mezcla durante otros 50 minutos, se filtra la reacción y se lava la torta marrón con MTBE (2 x 800 ml). Se añaden al filtrado 1,20 l de HCl 1N y, después

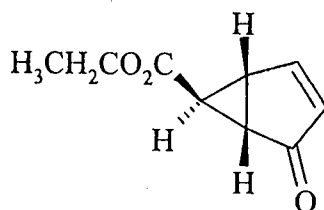
648
300

- de mezclar bien, se separan las fases. La fase orgánica se lava secuencialmente con NaHCO_3 acuoso saturado (1,20 l), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ acuoso saturado (1,20 l) y salmuera (600 ml). A continuación, se seca la solución (Na_2SO_4), se concentra hasta un lodo naranja que se diluye con 200 ml de heptano. Los volátiles se
- 5 evaporan produciendo un sólido naranja que se tritura en 350 ml de heptano y se filtra, lavando la torta con más heptano (2 x 175 ml). El sólido recogido se seca a vacío a temperatura ambiente durante 17 horas proporcionando 138,7 g (75%) del compuesto del epígrafe como un sólido amarillo/marrón. La cristalización en MTBE proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un
- 10 sólido blanco.
- $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +2,3$ (c 1,20, CHCl_3), $+8,4^\circ$ (c 1,28, acetona); p.f. 129-130 °C.
- RMN de ^1H 500 MHz (CDCl_3) δ 4,16 (c, 2H, $J = 7,0$ Hz), 3,99 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz), 3,24-3,23 (m, 1H), 2,96-2,94 (m, 1H), 2,21- 2,19, (m, 1H), 2,08 (t, 1H, $J = 3,0$ Hz), 1,26 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz).
- 15 RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 201,19, 168,84, 62,42, 57,04, 51,25, 31,16, 30,54, 29,60, 14,79.
- FTIR (KBr) 3087 (w), 3059 (w), 3051 (w), 3007 (w), 2993 (w), 2963 (w), 1753 (s), 1719 (s), 1273 9s), 1191 (s), 1009 (m), 848 (m) cm^{-1} .
- Análisis calculado para $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$: C, 59,34; H, 5,53. Encontrado: C, 59,32; H,
- 20 5,43.

Preparación 75

(6S)-4-oxobiciclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo

649



- Aunque el compuesto del epígrafe se usa de forma típica *in situ* en la preparación de (3*S*,1*R*,6*R*)-7-oxa-5-oxotriciclo[4,1,0,0<2,4>]heptano-3-carboxilato de etilo, se obtiene una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe
- 5 filtrando la mezcla de reacción que contiene este compuesto y evaporando el filtrado dando un sólido marrón. El sólido se resuspende en acetato de etilo, la suspensión se filtra y se concentra el filtrado. La cromatografía del residuo sobre gel de sílice con acetato de etilo /hexanos (1:5 a 1:2) da el compuesto del epígrafe, que se recristaliza en acetato de etilo caliente y se somete a
- 10 cromatografía de nuevo usando las condiciones anteriores dando el compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} -268$ (c 1,17, CHCl_3).

p.f. 97-98 °C.

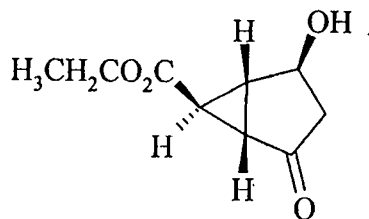
- RMN de ^1H 500 MHz (CDCl_3) δ 7,60 (ddd, 1H, $J = 5,5, 2,5, 0,75$ Hz), 5,73 (dd, 1H, $J = 5,0, 0,5$ Hz), 4,15 (c, 2H, $J = 7,0$ Hz), 2,96-2,94 (m, 1H), 2,63-2,61 (m, 1H), 2,60 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz), 1,26 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz).
- 15

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 203,96, 168,61, 160,33, 130,29, 62,03, 46,53, 30,72, 29,62, 14,82.

- FTIR (KBr) 3080 (m), 2996 (m), 1717 (s), 1695 (s), 1266 (s), 1291 (m), 1191 (s), 1179 (s) cm^{-1} .
- 20

Análisis calculado para $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$: C, 65,05; H, 6,07. Encontrado: C, 64,97; H, 6,01.

550

Preparación 76(4S,6S)-4-Hidroxi-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

5

Se trata una solución agitada de (3S,1R,6R)-7-oxa-5-oxotriciclo[4,1,0,0<2,4>]heptano-3-carboxilato de etilo (36,3 g, 0,20 mol) en 667 ml de acetona secuencialmente con acetato sódico (36,1 g, 0,44 mol), yoduro sódico (65,8 g, 0,44 mol) y ácido acético (27,5 ml, 0,48 mol). La mezcla se deja agitando a 30°C durante 15 horas antes de eliminar la acetona a vacío dejando un sólido marrón que se reparte entre acetato de etilo (323 ml) y H₂O (323 ml). Las fases se separan y se lava la fase acuosa con acetato de etilo (3 x 323 ml). Los orgánicos reunidos se lavan secuencialmente con Na₂S₂O₃ acuoso saturado (364 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (364 ml). Cada lavado acuoso se vuelve a extraer con acetato de etilo (323 ml). Los orgánicos reunidos se secan (Na₂SO₄), se filtran y se concentran hasta un aceite rojo-marrón que se disuelve en 300 ml de etanol. La evaporación de volátiles proporciona el producto del epígrafe como un aceite rojo-marrón (41,8 g, 114 %). La cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexanos (1:2 a 2:1) seguida por cristalización en MTBE caliente proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

15

[α]_D²⁵ +3,9 (c 1,39, CHCl₃), +6,0° (c 1,69, MeOH).

p.f. 81-82 °C.

500 MHz RMN de ^1H (CDCl_3) δ 4,60 (s ancho, 1H), 4,16 (c, 2H, $J = 7,0$ Hz), 2,66 (dd, 1H, $J = 5,0, 4,0$ Hz), 2,42-2,40 (m, 1H), 2,34 (dd, 1H, $J = 19,0, 5,5$ Hz), 2,24, (d ancho, 1H, $J = 3,0$ Hz), 2,07 (d, 1H, $J = 19,0$ Hz), 1,91 (t, 1H, $J = 3,0$ Hz), 1,27 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 209,74, 170,07, 69,04, 62,32, 43,47, 36,89, 34,95, 26,14, 14,83.

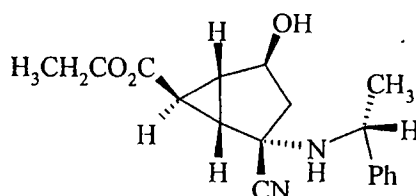
FTIR (CHCl_3) 3607 (w), 3447 (w), 3025 (m), 2985 (w), 1739 (s), 1728 (s), 1270 (s), 1187 (s) cm^{-1} .

10 Análisis calculado para $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4$: C, 58,69; H, 6,57. Encontrado: C, 58,48; H, 6,63.

Preparación 77

2-(((1*R*)-1-Feniletil)amino)(2*S*,4*S*,6*R*)-2-ciano-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-

15 carboxilato de etilo



Se añaden (*R*)-metilbencilamina (46,3 ml, 0,359 mol) y NaCN (20,8 g, 0,424 mol), manteniendo la temperatura entre 20 y 25 °C a una solución de (4*S*,6*S*)-4-hidroxi-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (68,2 g corregido hasta 60,0 g debido a la contaminación con etanol, 0,326 mol) en etanol (332 ml) y se añade H_2O (332 ml). Se añade entonces HCl concentrado (35,3 ml, 0,424 mol) durante 10 minutos mientras se mantiene la temperatura de reacción anterior. La

mezcla marrón oscuro se agita durante una hora antes de que se siembre opcionalmente con compuesto del epígrafe para iniciar la cristalización. La suspensión se agita durante una hora antes de añadir H₂O (664 ml). Después se agita la suspensión otras 1,75 horas, se recoge el compuesto del epígrafe en
 5 forma de sólido color castaño que se lava con H₂O (332 ml). Se inyecta aire a través de la torta húmeda del filtro durante 25 minutos antes de que el material se use directamente en la hidrólisis del nitrilo (peso de la torta húmeda 145 g). Aunque el compuesto del epígrafe se descompone rápidamente durante un secado a vacío a temperaturas mayores que 25°C, es posible secar pequeñas
 10 muestras a vacío a temperatura ambiente sin descomposición.

$[\alpha]^{25}_D +81,6$ (c 1,18, CHCl₃).

p.f. 70-72 °C (descomposición).

RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 7,39 (d, 2H, J = 7,0 Hz), 7,26-7,16 (m, 3H), 4,31 (d, 1H, J = 5,0 Hz), 4,22 (c, 1 H, J = 6,5 Hz), 3,93-3,85 (m, 2H), 2,33 (d, 1H, J =
 15 15,0 Hz), 2,01 (t ancho, 1H, J = 4,5 Hz), 1,64 (dd, 1H, J = 15,0, 5,0 Hz), 1,55-1,54 (m, 1H), 1,40-1,39 (m, 4H), 1,17 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

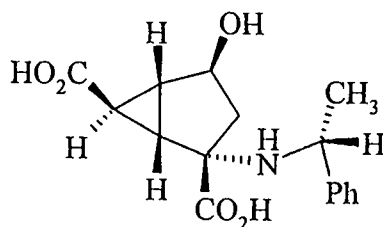
RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 170,54, 144,85, 128,61, 127,45, 127,38, 121,88, 72,17, 61,02, 60,66, 56,57, 45,82, 36,70, 34,45, 25,83, 21,75, 14,22.

FTIR (KBr) 3568 (m), 3489 (m), 3285 (m), 2923 (m), 2228 (w), 1712 (s), 1298
 20 (m), 1197 (m) cm⁻¹.

FAB HRMS calculado para C₁₈H₂₃N₂O₃ [M+H]⁺ 315,1709, encontrado 315,1704.

Preparación 78

Ácido 2-(((1*R*)-1-feniletil)amino)(2*S*,4*S*,6*R*)-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-2,6-
 25 dicarboxílico

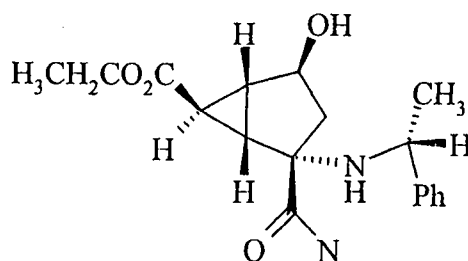


- Se añade lentamente H_2O_2 al 30% (44,5 ml, 0,426 mol), manteniendo la temperatura por debajo de 27°C a una solución de la torta húmeda de 2-(((1R)-1-feniletil)amino](2S,4S,6R)-2-ciano-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (0,326 mmol teóricos) en DMSO (220 ml). La temperatura se reduce hasta 19°C y se añade de forma lenta y cuidadosa NaOH 5N (52,3 ml, 0,262 mol) durante 15 minutos, manteniendo la temperatura entre 22 y 27°C . Para controlar la exotermia de esta reacción se requiere un baño de hielo de capacidad apropiada.
- 10 A continuación, se agita la mezcla marrón heterogénea durante 20 minutos al intervalo de temperatura ambiente, la HPLC mostró que el material de partida se había consumido dando un intermedio amida. Después de agitar la reacción otras 1,5 horas, se añade Na_2SO_3 (13,7 g, 0,109 mol) y se agita la mezcla durante 15 minutos, momento en el que la mezcla da ensayo negativo de peróxidos por papel de almidón-yodo. Después de la adición de NaOH 3N (291 ml, 0,873 mol), se calienta la mezcla hasta 85°C y se agita durante 18 horas. La mezcla marrón homogénea se enfría hasta 30°C y se añade HCl concentrado para reducir el pH a 3,6 manteniendo la temperatura entre 30 y 35°C . Después de comenzar la cristalización a pH 3,6, se agita la suspensión durante 15 minutos antes de reducir
- 20 el pH hasta 2,5. Después de agitar la mezcla durante 10 minutos más, ésta se enfría hasta 2°C durante 2 horas antes de recoger el sólido gris y lavarlo con H_2O fría (400 ml) y EtOH (300 ml). El sólido recogido se seca a vacío a 45°C durante

- 17 horas proporcionando 42,9 g (43% del inicio de la Preparación 18) del compuesto del epígrafe. Con el fin de adelantar el proceso, todo el compuesto del epígrafe producido en la reacción se recupera de las aguas madres de la siguiente forma. Se evapora la porción etanólica de las aguas madres y se combina el
- 5 residuo con la porción acuosa de las aguas madres. Después de destilar el H₂O (485 ml) a presión reducida, se ajusta el pH de las aguas madres a 12,9 con 70 ml de NaOH 5N y 5 ml de NaOH al 50%. A continuación se lava la solución con *n*-BuOH (3 x 800 ml), se ajusta su pH a 2,5 con HCl concentrado y se concentra la solución. El residuo se diluye con EtOH (100 ml) y se evaporan los volátiles (2x).
- 10 El residuo se diluye con EtOH (150 ml) y el sólido color castaño que contiene compuesto del título adicional se lava con EtOH (75 ml) y se seca a 50°C a vacío hasta un peso de 102 g. Ambos lotes del compuesto del epígrafe se usaron en la siguiente esterificación.
- $[\alpha]^{25}_D +4,5$ (c 1,41, 1 N NaOH).
- 15 p.f. 220 °C (gris desde blanquecino), 280 °C (marrón).
- RMN de ¹H 500 MHz (D₂O, KOD) δ 7,39 (d, 2H, J = 7,0 Hz), 7,19-7,04 (m, 5H), 3,92 (d, 1H, J = 5,0 Hz), 3,67 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 1,76 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 1,54-1,52 (m, 1H), 1,37 (dd, 1H, J = 15,0, 5,0 Hz), 1,15 (d, 3H, J = 6,5 Hz), 1,12 (dd, 1H, J = 6,0, 3,0 Hz), 0,92 (t, 1H, J = 3,3 Hz).
- 20 RMN de ¹³C (125 MHz, D₂O, KOD) δ 185,82, 182,96, 148,01, 131,31, 129,97, 129,78, 74,99, 73,84, 58,78, 46,91, 38,05, 35,02, 27,34, 27,15.
- FTIR (KBr) 3366 (m), 3072 (s), 2886 (s), 1696 (m), 1611 (m), 1560 (m), 1455 (m), 1377 (m), 1278 (m), 1202 (m), 1188 (m) cm⁻¹.
- Análisis calculado para C₁₆H₁₉NO₅: C, 62,94; H, 6,27; N, 4,59. Encontrado: C,
- 25 62,70; H, 6,21; N, 4,67.

Preparación 792-[[((1R)-1-Feniletil)amino](2S,4S,6R)-2-carbamoil-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

5



Aunque el compuesto del epígrafe se usa típicamente *in situ* en la preparación de ácido 2-[[((1R)-1-feniletil)amino](2S,4S,6R)-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, se puede aislar el compuesto aunque
 10 con alguna pérdida de rendimiento debido a la hidrólisis del éster concomitante durante la hidrólisis del nitrilo. En el aislamiento, se reparte la mezcla de reacción de hidrólisis del nitrilo entre CH₂Cl₂ y H₂O en el momento en que se consume 2-[[((1R)-1-feniletil)amino](2S,4S,6R)-2-ciano-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo. A continuación la fase orgánica se seca (MgSO₄) y se
 15 concentra, el residuo se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc/hexanos (2:1) hasta EtOAc proporcionando el compuesto del epígrafe como una espuma blanca.

$[\alpha]^{25}_D +61,3$ (c 1,20, CHCl₃).

RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 7,32-7,20 (m, 5H), 7,19 (d ancho, 1H, J = 4,0 Hz),
 20 5,49 (d ancho, 1H, J = 4,0 Hz), 4,88 (d, 1 H, J = 11,5 Hz), 4,24 (dd, 1H, J = 11,5, 6,0 Hz), 4,06-4,00 (m, 2H), 3,77 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 2,21 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,18-2,15 (m, 2H), 1,71 (s ancho, 1H), 1,54 (dd, 1H, J = 14,5, 6,0 Hz), 1,38, (d, 3H, J =

6,5 Hz), 1,32 (t, 1H, J = 3,3 Hz), 1,24 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 180,42, 171,47, 146,05, 128,97, 127,43, 126,48, 73,16, 70,76, 61,08, 56,00, 42,82, 35,97, 35,67, 26,13, 21,53, 14,34.

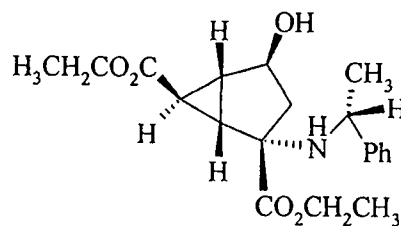
FTIR (CHCl_3) 3441 (m), 3345 (m), 2975 (w), 1725 (s), 1665 (s), 1288, 1186 (m) cm^{-1} .

5 1.

Análisis calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 65,04; H, 7,28; N, 8,43. Encontrado: C, 65,41; H, 7,58; N, 8,32.

Preparación 80

10 2-[[((1R)-1-Feniletil)amino](2S,4S,6R)-2-(etoxicarbonil)-4-hidroxi]bicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



Se añade cloruro de acetilo (11,2 ml, 157 mmol) mediante un embudo de
 15 adición, de forma que se mantiene el reflujo, a una suspensión de ácido 2-[[((1R)-1-feniletil)amino](2S,4S,6R)-4-hidroxi]bicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (4 g, 13 mmol) en 48 ml de etanol a temperatura ambiente. La mezcla resultante se deja agitando otras 16 horas a reflujo y tras enfriar hasta temperatura ambiente se concentra a vacío hasta un residuo sólido. El sólido se trata lentamente con una
 20 solución de bicarbonato sódico (6,6 g) en 100 ml de agua seguido por lavado con acetato de etilo (2 x 100 ml). Los orgánicos reunidos se secan (MgSO_4), se filtran y se concentran a vacío dando 4,7 g (99%) del compuesto del epígrafe como un

257

sólido. La cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:5) seguida por cristalización en Et_2O proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} +52,5$ (c 1,30, CHCl_3).

5 p.f. 73-74 °C.

RMN de ^1H 500 MHz (CDCl_3) δ 7,29-7,14 (m, 5H), 4,25 (dc, 1H, 11,0, 7,0 Hz), 4,18 (dd, 1H, J = 9,5, 5,5 Hz), 4,10 (dc, 1H, J = 11,0, 7,0 Hz), 3,92 (dc, 1H, J = 11,0, 7,0 Hz) 3,82 (dc, 1H, J = 11,0 Hz, 7,0 Hz), 3,67 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 2,73 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 2,15-2,12 (m, 2H), 2,01-1,99 (m, 1H), 1,89 (dd, 1H, J = 6,0, 3,0 Hz), 1,61 (dd, 10 1H, J = 15,0, 6,0 Hz), 1,36 (t, 1H, J = 3,5 Hz), 1,33-1,30 (m, 6H), 1,18 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

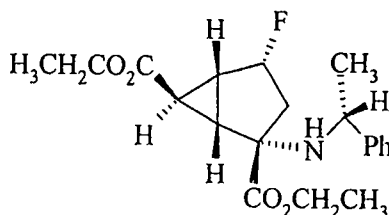
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 178,11, 171,59, 146,32, 128,41, 127,07, 126,85, 73,33, 70,15, 62,07, 60,75, 56,66, 44,72, 36,78, 33,61, 26,24, 20,07, 14,37, 14,23.

FTIR (KBr) 3492 (s), 3303 (m), 3055 (w), 2981 (w), 2896 (w), 1722 (s), 1705 (s), 15 1289 (m), 1251 (m), 1177 (m) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_5$: C, 66,46; H, 7,52; N, 3,88. Encontrado: C, 66,42; H, 7,44; N, 3,92.

Preparación 81

20 2-(((1R)-1-Feniletil)amino)(2S,4R,6R)-2-(etoxicarbonil)-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



- Se añade Deoxo-Fluor® (45,1 ml, 0,245 mol) durante 15 minutos, manteniendo la temperatura entre -15 y -20°C a una solución de 2-(((1R)-1-feniletíl)amino)[(2S,4S,6R)-2-(etoxicarbonil)-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-
- 5 carboxilato de etilo (59,0 g bruto, 0,163 mol) en CH_2Cl_2 (690 ml) a -20°C . La mezcla se agita durante 20 minutos a esta temperatura y a 0°C durante 15 minutos antes de que se añada lentamente Na_2CO_3 acuoso al 15% (650 ml), manteniendo la temperatura por debajo de 10°C . Se separan las fases y la fase acuosa se vuelve a extraer con CH_2Cl_2 (150 ml). Las fases orgánicas reunidas se
- 10 secan (Na_2SO_4) y se concentran hasta un aceite marrón (73 g). El aceite se purifica en un lecho de gel de sílice (400 g) eluyendo con EtOAc/heptano (1:6) proporcionando el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo (49,7 g, 84%).

$[\alpha]_D^{25} +36,2$ (c 1,30, CHCl_3).

- RMN de ^1H 500 MHz (CDCl_3) δ 7,29-7,14 (m, 5H), 5,22 (ddt, 1H, $J = 8,0, 4,5$ Hz, $J_{\text{HF}} = 56,0$ Hz), 4,16 (dc, 1H, $J = 11,0, 7,0$ Hz), 4,05 (dc, 1H, 11,0, 7,0 Hz), 3,96 (dc, 1H, 10,5, 7,0 Hz), 3,85 (dc, 10,5, 7,0 Hz), 3,66 (c, 1H, 6,5 Hz), 2,45 (dd, 1H, $J = 14,0, 8,0$ Hz), 2,16-2,12 (m, 1H), 1,95 (t, 1H, $J = 3,5$ Hz), 1,81 (dt, 1H, $J = 3,5$ Hz, $J_{\text{HF}} = 3,5$ Hz), 1,51 (ddd, 1H, $J = 14,0, 8,0$ Hz, $J_{\text{HF}} = 22,0$ Hz), 1,32 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz), 1,27 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz), 1,21 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz).

- 20 RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 175,29, 171,66, 146,21, 128,45, 127,03, 126,90, 92,65 (d, $J_{\text{CF}} = 182$ Hz), 68,68 (d, $J_{\text{CF}} = 4,9$ Hz), 61,70, 60,92, 56,13, 38,60 (d, $J_{\text{CF}} = 23,0$ Hz), 33,07 (d, $J_{\text{CF}} = 7,6$ Hz), 32,23 (d, $J_{\text{CF}} = 22,0$ Hz), 26,26, 20,22 (d, $J_{\text{CF}} =$

3,9 Hz), 14,41, 14,24.

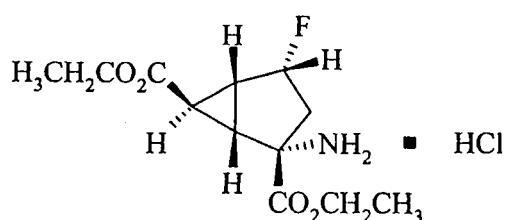
FTIR (CHCl_3) 3028 (w), 2983 (w), 1724 (s), 1705 (s), 1293 (m), 1242 (m), 1190 (m), 1037 (m), 1013 (m) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{FNO}_4$: C, 66,10; H, 7,21; N, 3,85. Encontrado: C, 66,02; H, 7,00; N, 3,95.

Preparación 82

Clorhidrato del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

10



Se coloca en hidrógeno ($3,44 \times 10^5$ Pa) durante 18 horas una mezcla de 2-[[*(1R*)-1-feniletil]amino](2*S*,4*R*,6*R*)-2-(etoxicarbonil)-4-fluorobiciclo[3.1.0]-hexano-6-carboxilato de etilo (68,4 g, 0,188 mol), HCl concentrado (15,7 ml, 0,188 mol) y Pd al 10%/C (seco, 13,7 g) en EtOH (400 ml). El catalizador se separa por filtración y el filtrado se evapora dando el compuesto del epígrafe como una espuma blanquecina (59,2 g, 106% corregido hasta 97% debido a contaminación con EtOH). La cristalización en EtOAc/MTBE proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

20 $[\alpha]_D^{25} +55,6$ (c 1,17, CHCl_3).

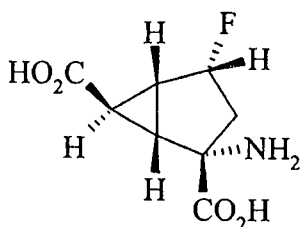
p.f. 86-88 °C.

RMN de ^1H 500 MHz (CDCl_3) δ 9,20 (s ancho, 2H), 5,50 (ddt, 1H, $J = 8,0, 4,5$ Hz,

$J_{\text{HF}} = 56,0 \text{ Hz}$), 4,31 (c, 1H, $J = 7,0 \text{ Hz}$), 4,20-4,07 (m, 3H), 2,88 (t, 1H, $J = 3,0 \text{ Hz}$),
 2,71 (dd, 1H, $J = 14,5, 8,0 \text{ Hz}$), 2,48-2,43 (m, 2H), 2,16 (ddd, 1H, $J = 14,5, 7,5 \text{ Hz}$,
 $J_{\text{HF}} = 22,0 \text{ Hz}$), 1,34 (t, 3H, $J = 7,0 \text{ Hz}$), 1,25 (t, 3H, $J = 7,0 \text{ Hz}$)
 RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 171,12, 169,41, 91,94 (d, $J_{\text{CF}} = 189 \text{ Hz}$), 63,85,
 5 63,66 (d, $J_{\text{CF}} = 3,8 \text{ Hz}$), 61,73, 34,55 (d, $J_{\text{CF}} = 26,4 \text{ Hz}$), 31,58 (d, $J_{\text{CF}} = 7,8 \text{ Hz}$),
 30,80 (d, $J_{\text{CF}} = 24,1 \text{ Hz}$), 20,22, 14,31, 14,21.
 FTIR (KBr) 3353 (m), 3173 (w), 2745 (m), 1729 (s), 1547 (m), 1294 (m), 1269 (m),
 1195 (m), 1011 (m) cm^{-1} .
 Análisis calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{FNO}_4$: C, 48,74; H, 6,48; N, 4,74. Encontrado: C,
 10 48,80; H, 6,41; N, 4,76.

Preparación 83

Ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



15

Se añade lentamente una solución de NaOH 3N (251 ml, 0,753 mol) a
 clorhidrato del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-
 dicarboxílico (59,2 g bruto, 0,188 mol teórico), manteniendo la temperatura por
 debajo de 26°C . Después de agitar la mezcla durante 10 minutos, ésta se vuelve
 20 homogénea. La mezcla se agita durante 1,25 horas a temperatura ambiente antes
 de que el pH se reduzca lentamente hasta pH 2,8 usando HCl concentrado
 mientras se mantiene la temperatura entre 20 y 26°C . A pH 2,8, la mezcla

comienza a cristalizar y la suspensión se agita a este pH durante 10 minutos antes de que el pH se reduzca hasta 2,1 con HCl concentrado. Después de otros 15 minutos de agitación, se añade *i*-PrOH (67 ml) y se enfría la suspensión hasta 0°C y se agita durante 2 horas. El sólido se recoge y se lava con 37 ml de H₂O/ *i*-PrOH 5 frío (4:1). El sólido recogido se seca a vacío a 40 °C durante 18 horas, proporcionando el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (33,1 g, 87% desde el inicio de la Preparación 23).

Preparación 84

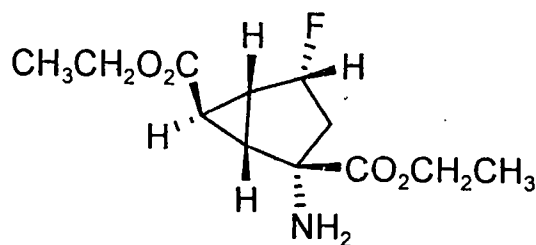
10 Resuspensión de ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

Se calienta hasta 89°C durante una hora una suspensión agitada de ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (33,0 g, 0,162 mmol) en H₂O (165 ml) y se añade *i*-PrOH (41 ml). La mezcla se agita 15 entonces durante 5 minutos a reflujo (83°C) antes de que ésta se enfríe hasta temperatura ambiente y se agita durante 4 horas. El producto se recoge, se lava con *i*-PrOH/H₂O (1:4, 40 ml) e *i*-PrOH (25 ml) y se seca a vacío a 40 °C durante 18 horas proporcionando el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (30,6 g, 93%).

20

Preparación 85

Éster etílico del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se añade cloruro de tionilo (26 ml, 356 mmol) gota a gota durante 20 minutos a una suspensión de ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (14,45 g, 71,12 mmol) en 202 ml de etanol absoluto a temperatura ambiente. La suspensión se calienta hasta reflujo y se deja agitando durante 3 horas, seguido por enfriamiento hasta temperatura ambiente durante la noche. La solución resultante se concentra a vacío hasta un residuo que se diluye con 136 ml de acetato de etilo y se trata con 306 ml de carbonato sódico acuoso al 10% durante 15 minutos con agitación a mano de tal modo que el pH final es 10. Se separan las fases y la fase acuosa se lava con acetato de etilo (1 x 136 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavan con salmuera (1 x 136 ml), se secan (MgSO₄), se filtran y se concentran a vacío proporcionando 17,07 g (93%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. FDMS: M⁺+1 = 260.

Análisis calculado para C₁₂H₁₈FNO₄·0,1 H₂O: C, 55,21; H, 7,03; N, 5,37. Encontrado: C, 55,10; H, 6,96; N, 5,22.

p.f. = 64-66 °C.

[α]_D²⁵ = +20 (c = 0,96, MeOH), [α]_D²⁵ = +15 (c = 1,21, DMSO)

20 Preparación 86

Éster etílico del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(terc-butoxicarbonilamino)propionil]amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

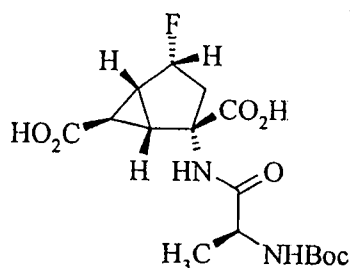
p.f. = 64-66 °C.

$[\alpha]_D^{25} = +20$ (c = 0,96, MeOH), $[\alpha]_D^{25} = +15$ (c = 1,21, DMSO).

963

Preparación 87

- 5 Ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(terc-butoxicarbonilamino)propionil]amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



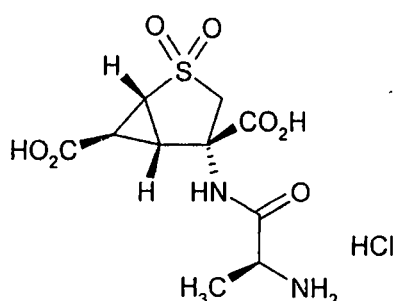
- Se añaden 238 ml (477 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de
- 10 éster etílico del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(terc-butoxicarbonilamino)propionil]amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (88,16 g, 191 mmol) en 238 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. La mezcla bifásica se deja agitando vigorosamente a temperatura ambiente durante 2,5 horas, momento en el que la reacción es homogénea. La mezcla se diluye con
- 15 238 ml de t-butil metil éter, seguido por mezcla y separación de las fases. La fase acuosa se diluye adicionalmente con 238 ml de agua y se filtra para separar el material en partículas. La solución se trata con HCl concentrado (42,9 ml, 515 mmol) durante 30 minutos, seguido opcionalmente por siembra con el compuesto del epígrafe y agitación durante 1 hora. La suspensión resultante se filtra, se lava
- 20 con agua (2 x 100 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 40 horas proporcionando 72,2 g del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. Se deja agitando una

porción del sólido (69,5 g) con 490 ml de acetona durante 1 hora produciendo una solución turbia que se filtra lavando con acetona (2 x 100 ml). El filtrado se concentra a vacío hasta una espuma blanca que se seca adicionalmente a vacío a 45°C durante 16 horas proporcionando 61,8 g (corregido para el 12% peso/peso de acetona) del compuesto del epígrafe.

Ejemplo 1

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-aminopropionil)amino-]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico

10



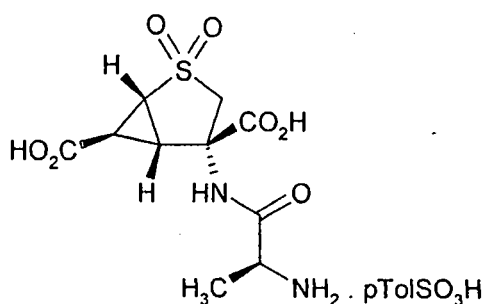
Se añade una solución de cloruro de hidrógeno en acetato de etilo (3,7 M, 514 ml) durante 20 minutos a una suspensión de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-terc-butoxicarbonilamino-propionilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico (110,0 g, 271 mmol, Preparación 3) en 563 ml de acetato de etilo. A continuación se agita la suspensión durante 2,5 horas, se filtra y se lava la torta con acetato de etilo (1 x 200 ml, 1 x 115 ml). Después de secar a vacío a 46 °C durante 18 horas, el compuesto del epígrafe se recoge como un sólido blanco (85,77 g, 92%).

RMN de ¹H (300 MHz, Metanol-d₄) δ: 4,12 (d ancho, 1H, J = 14,6 Hz), 3,94 (c, 1H, J = 7,1 Hz), 3,52 (ddd, 1H, J = 7,0, 3,9, 0,9 Hz), 3,16 (d, 1H, J = 14,6 Hz), 3,02 (dd,

1H, J = 7,0, 4,4 Hz), 2,49 (t, 1H, J = 4,1 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,1 Hz).

Ejemplo 2

Tosilato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-2'-aminopropionil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-
5 biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



- Se calienta hasta 75 °C una suspensión de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-
10 *tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-
4,6-dicarboxílico (300 mg, 0,738 mmol, Preparación 3) y ácido toluenosulfónico
monohidrato (140 mg, 0,738 mmol) en tolueno (3 ml) y se agita durante 45 minutos
antes de dejar enfriar hasta temperatura ambiente y se agita durante 16 horas. Se
filtra la suspensión y se lava la torta con tolueno (2 x 1 ml). Después de secar a
vacío a 45 °C durante 1 hora, se recogen 307 mg (87%) del compuesto del
15 epígrafe como un sólido blanco.
p.f. (DSC) 233 °C.

- RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 7,70 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,24 (d, 2H, J = 8,0 Hz),
4,11 (d, 1H, J = 15 Hz), 3,94 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 3,53 (dd, 1H, J = 7,0, 4,0 Hz), 3,13
(dd, 1H, J = 14, 1,0 Hz), 3,02 (dd, 1H, J = 7,0, 4,5 Hz), 2,48 (t, 1H, J = 4,5 Hz),
20 2,37 (s, 3H), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz).

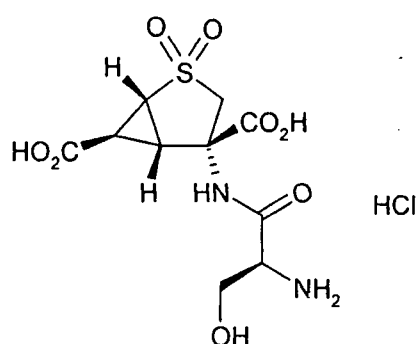
RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 170,70, 170,32, 169,80, 142,04, 140,78,

128,79, 125,79, 60,20, 54,73, 48,77, 42,44, 30,84, 22,22, 20,20, 16,09.

Ejemplo 3

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-3'-hidroxi-propionil)-amino-2,2-

5 dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetílico del
ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(3'-acetoxi-2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-propionil)-amino-
10 2,2-dioxo-2λ⁶-tiabicyclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (380 mg, 0,77 mmol,
Preparación 15).

$[\alpha]_D^{23} = -19,23$ (c=0,52, MeOH).

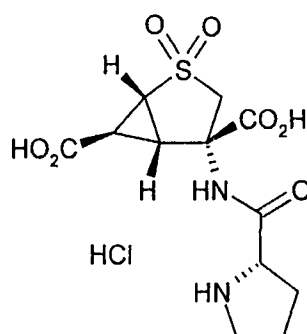
RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 2,48 (1H, t, J = 4,0 Hz), 3,04 (1H, dd, J = 4,4, 7,3
Hz), 3,17 (1H, d, J = 14,7 Hz), 3,51 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,77 (1H, dd, J = 7,0,
15 10,6 Hz), 3,94-4,12 (3H, m).

Análisis calculado para C₁₀H₁₄N₂O₈·HCl·H₂O: C, 31,88; H, 4,55; N, 7,44; Cl,
9,41. Encontrado: C, 31,53; H, 4,40; N, 7,32; Cl, 9,24.

HRMS calculado para C₁₀H₁₅N₂O₈S, 323,0549. Encontrado, 323,0533.

20 Ejemplo 4

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[(pirrolidin-2'S-carbonil)-amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico



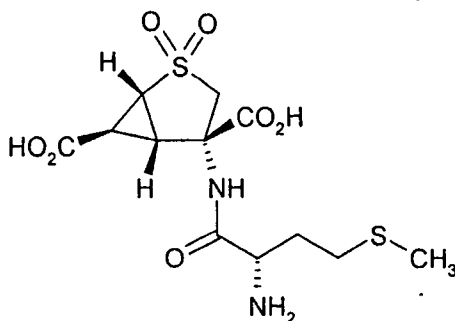
- 5 Se prepara según el Procedimiento general C empleando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[(1'-*terc*-butoxicarbonil-pirrolidina-2'S-carbonil)-amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico (0,8 g, 1,7 mmol, Preparación 11) proporcionando 0,42 g (67,0%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -32$ (c=1,00, CH₃OH).

- 10 RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,98-2,12 (3H, m), 2,40-2,50 (1H, m), 2,52 (1H, t, J = 4,4 Hz), 2,99 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,2 (1H, d, J = 14,7 Hz), 3,29-3,42 (3H, m), 3,54 (1H, m), 4,13 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,30 (1H, dd, J = 6,2, 9,2 Hz).
HRMS calculado para C₁₂H₁₇N₂O₇S, 333. 0756. Encontrado, 333,0740.

15 Ejemplo 5

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-4'-metilsulfanil-butilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C empleando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metilsulfanil-butirilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico (0,77 g, 1,6 mmol, Preparación 12) proporcionando 0,41 g (54,9%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=1,00, MeOH).

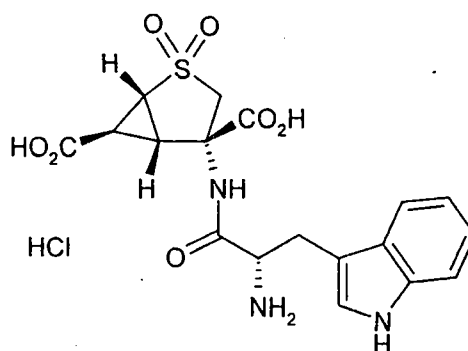
RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 2,1-2,2 (2H, m), 2,13 (3H, s), 2,47 (1H, t, J = 4,4 Hz), 2,58-2,63 (2H, m), 3,02 (1H, dd, J = 4,0, 7,0 Hz), 3,12 (1H, d, J = 14,7 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 3,3, 6,6 Hz), 3,98 (1H, t, J = 6,2 Hz), 4,14 (1H, d, J = 14,7 Hz).

10 HRMS calculado para C₁₂H₁₉N₂O₇S₂, 367,0634. Encontrado, 367,0634.

Ejemplo 6

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-amino-3'-(1H-indol-3-il)-propionilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

15



Se prepara según el Procedimiento general C empleando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-3'-(1-*tert*-butoxycarbonyl-1H-indol-3-yl)-propionilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-

- 5 dicarboxílico (0,54 g, 0,83 mmol, Preparación 13) proporcionando 0,28 g (73,6%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = +7,8$ (c=1,02, CH₃OH).

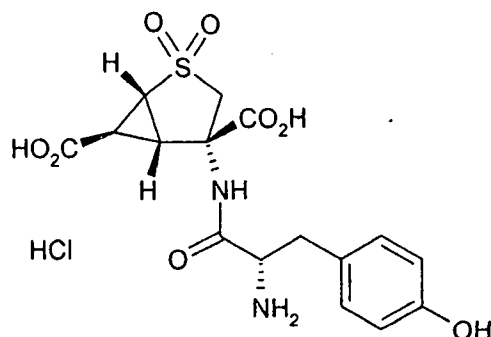
- RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 2,47-2,53 (1H, m), 3,05-3,18 (3H, m), 3,44-3,57 (2H, m), 4,13-4,23 (2H, m), 7,07-7,41 (3H, m), 7,71-7,78 (2H, m), 8,22 (1H, d
10 aparente, J = 7,7 Hz).

Análisis calculado para C₁₈H₁₉N₃O₇·HCl: C, 47,22; H, 4,40; N, 9,18. Encontrado: C, 46,51; H, 3,96; N, 8,54.

MS (ES) m/z 420,1 [M-1].

15 Ejemplo 7

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-amino-3'-(4-hidroxi-fenil)-propionilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C, empleando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-(4-*tert*-butoxicarboniloxi-fenil)-propionilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico (0,33 g, 0,53 mmol, Preparación 14) proporcionando 0,13 g (56,4%) del compuesto del epígrafe.

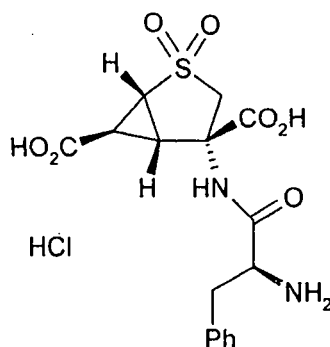
$$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -6 \text{ (c=1,00, H}_2\text{O)}.$$

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 2,47 (1H, t, J = 4,0 Hz), 2,87 (1H, dd, J = 9,2, 14,7 Hz), 3,05-3,12 (2H, m), 3,23 (1H, dd, J = 5,1, 14,7 Hz), 3,55 (1H, dd, J = 4,0, 7,0 Hz), 4,00 (1H, dd, J = 4,8, 9,2 Hz), 4,13 (1H, d, J = 14,7 Hz), 6,80 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,13 (2H, d, 8,8 Hz).

HRMS calculado para C₁₆H₁₉N₂O₈S, 399,0862. Encontrado, 399,0844.

Ejemplo 8

15 Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-3'-fenil-propionilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-fenil-propionilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 5). Rendimiento

5 0,55 g (85 %, 1,31 mmol) de un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23} = +4,17$ (c = 0,48, MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 2,45 (1H, t, J = 4,0 Hz), 2,98 (1H, dd, J = 9,2, 14,7 Hz), 3,06 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,10 (1H, d, J = 14,6 Hz), 3,33 (1H, dd, J = 4,8, 13,6 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 3,3, 7,3 Hz), 4,08 (1H, dd, J = 5,1, 8,8 Hz), 4,10
10 (1H, d, J = 15,4 Hz), 7,31-7,42 (5H, m).

RMN de ¹³C (300 MHz, D₂O w/ 1,4-dioxano): δ 172,55, 171,94, 170,01, 134,31, 130,39, 130,27, 130,01, 129,00, 61,38, 54,76, 54,37, 43,07, 37,36, 31,57, 23,18.

Análisis calculado para C₁₆H₁₈N₂O₇S•1,5 HCl: C, 43,97; H, 4,50; N, 6,41.

Encontrado: C, 43,59; H, 4,17; N, 6,46.

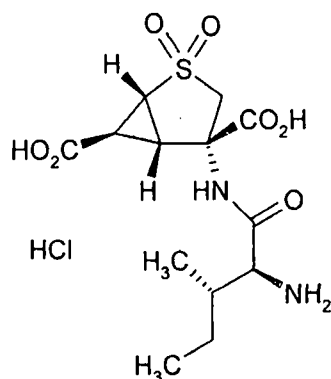
15 MS (ES) m/z encontrado 383,1 [M+H]⁺.

HRMS calculado para C₁₆H₁₉N₂O₇S [M + H]⁺: 383,0913. Encontrado: 383,0923.

Ejemplo 9

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-3'S-metil-pentanonilamino)-2,2-
20 dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

972



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'S-metil-pentanoilamino)-
 5 2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 6).
 Rendimiento 0,43 g (80 %, 1,12 mmol) de un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23} = +4,08$ (c = 0,49, MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 0,98 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,07 (3H, d, J = 7,0 Hz),
 1,15-1,24 (1H, m), 1,53-1,62 (1H, m), 1,95-2,04 (1H, m), 2,44 (1H, t, J = 4,0 Hz),
 10 3,06 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,14 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 3,7, 7,0 Hz), 3,73 (1H, d, J = 5,1 Hz), 4,10 (1H, d, J = 14,7 Hz).

Análisis calculado para C₁₃H₂₀N₂O₇S·HCl·0,5 H₂O: C, 39,64; H, 5,63; N, 7,11.

Encontrado: C, 39,38; H, 5,39; N, 7,04.

MS (ES) m/z encontrado 349,1 [M+H]⁺.

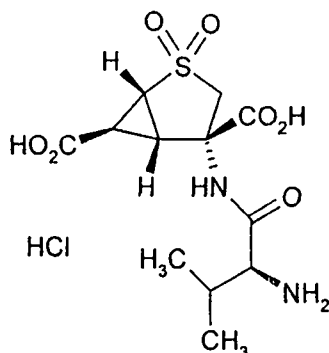
15 HRMS (ES) calculado para C₁₃H₂₁N₂O₇S [M + H]⁺, 349,1069. Encontrado, 349,1086.

Ejemplo 10

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-3'-metil-butirilamino)-2,2-dioxo-

2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

273



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetilico del
 5 ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-metil-butirilamino)-2,2-
 dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 7). Rendimiento
 0,18 g (88 %, 0,49 mmol) de un sólido blanco como la sal HCl.

$[\alpha]_D^{23} = +7,84$ (c = 0,51, MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,04 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,09 (3H, d, J = 7,0 Hz),
 10 2,22-2,29 (1H, m), 2,44 (1H, t, J = 4,0 Hz), 3,05 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,10 (1H,
 d, J = 14,7 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 4,0, 7,3 Hz), 3,67 (1H, d, J = 5,5 Hz), 4,10 (1H, d,
 J = 14,7 Hz).

Análisis calculado para C₁₂H₁₈N₂O₇S·HCl·0,4H₂O: C, 38,12; H, 5,20; N, 7,41.

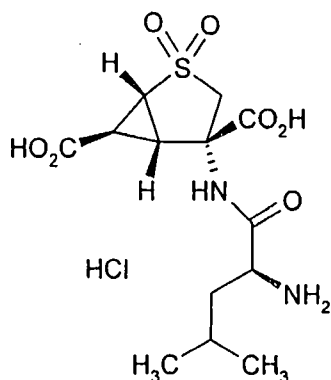
Encontrado: C, 37,78; H, 4,90; N, 7,15.

15 MS (ES) m/z encontrado 335,1 [M+H]⁺.

Ejemplo 11

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-4'-metil-pentanoilamino)-2,2-
dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

20



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metil-pentanoilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 8). Rendimiento 0,50 g (76 %, 1,30 nmol) de un sólido blanco como la sal HCl.

$[\alpha]_D^{23} = -4,0$ (c = 0,50, MeOH).

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 1,00 (3H, d, J = 5,5 Hz), 1,02 (3H, d, J = 5,9 Hz), 1,62-1,79 (3H, m), 2,42 (1H, t, J = 4,0 Hz), 3,04 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,13 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 3,3, 7,0 Hz), 3,84-3,89 (1H, m), 4,10 (1H, d, J = 15,0 Hz).

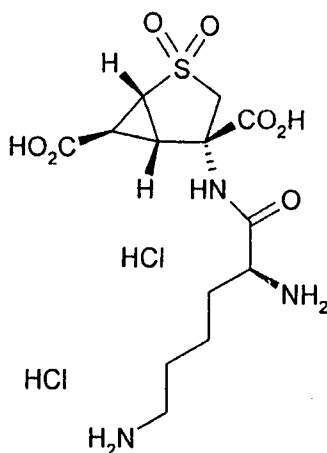
Análisis calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot 0,3\text{H}_2\text{O}$: C, 40,01; H, 5,58; N, 7,18.

Encontrado: C, 39,66; H, 5,57; N, 6,99.

MS (ES) m/z encontrado 349,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15 Ejemplo 12

Bisclorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-diamino-hexanoilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-bis-*tert*-butoxicarbonilamino-hexanoilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 9). Rendimiento 5 0,56 g (86 %, 1,28 mmol) de un sólido blanco como la sal bisclorhidrato.

$[\alpha]_D^{23} = -4,0$ (c = 0,50, MeOH).

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,48-1,55 (2H, m), 1,67-1,74 (2H, m), 1,89-1,97 (2H, m), 2,47 (1H, t, J = 4,0 Hz), 2,97 (2H, t aparente, J = 4,0), 3,08 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,20 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,53 (1H, dd, J = 3,7, 7,0 Hz), 3,93 (1H, t 10 aparente, J = 6,2 Hz), 4,08 (1H, d, J = 14,7 Hz).

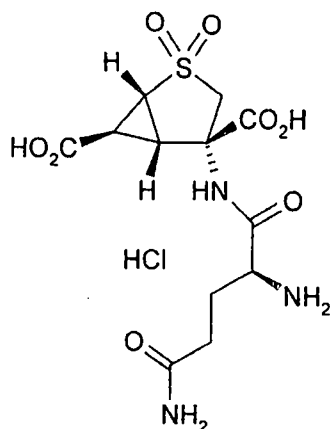
Análisis calculado para C₁₃H₂₁N₃O₇S·2HCl·0,2H₂O: C, 35,49; H, 5,36; N, 9,55.

Encontrado: C, 35,30; H, 5,48; N, 9,42.

MS (ES) m/z encontrado 364,1 [M+H]⁺.

15 Ejemplo 13

Clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-amino-4'-carbamoyl-butirilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se agita el éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*terc*-butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butirilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (0,48 g, 0,65 mmol, Preparación 10) en una
 5 mezcla 1:1 de LiOH 2,5 N y THF (6 ml de volumen total) a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se ajusta a pH = 2 con HCl 1N y se extrae el producto con acetato de etilo. Se reúnen todos los orgánicos, se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO₄ y se concentran proporcionando 0,46 g de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*terc*-butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butirilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico como una espuma blanca. Se
 10 disuelve el diácido en DCM y se agita a temperatura ambiente como anisol (0,28 g, 2,6 mmol) y luego se añade consecutivamente TFA (3,70 g, 32,5 mmol). Se agita la mezcla de reacción resultante a temperatura ambiente durante 2 horas y se concentra a vacío. Se tritura el aceite amarillo resultante en Et₂O hasta que se forma un precipitado que fluye libremente. Se recoge la sal TFA por filtración a
 15 vacío en atmósfera de N₂. Se disuelve el producto en 1 ml de HCl 1N y se somete a liofilización proporcionando el producto como la sal HCl. Rendimiento: 0,16 g (62 %, 0,40 mmol) de un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23} = +8,0$ (c = 1,0, H₂O).

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 2,00-2,08 (2H, m), 2,37-2,41 (3H, m), 2,93 (1H, dd, $J = 4,4, 7,3$ Hz), 3,04 (1H, d, $J = 14,7$ Hz), 3,45 (1H, dd, $J = 3,7, 7,0$ Hz), 3,86 (1H, t aparente, $J = 5,9$ Hz), 4,05 (1H, d, $J = 14,7$ Hz).

Análisis calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_8\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot 2,0\text{H}_2\text{O}$: C, 33,07; H, 5,09; N, 9,64.

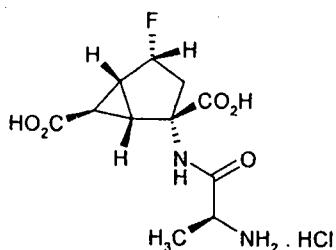
5 Encontrado: C, 33,37; H, 4,69; N, 9,39.

MS (ES) m/z encontrado 363,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS (ES) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 364,0815. Encontrado: 364,0825.

10 Ejemplo 14

Clorhidrato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se agita una suspensión de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*terc*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (53,0 g corregido para acetona, 142 mmol) en 447 ml de acetona a 50 °C durante 35 minutos. Se filtra la solución turbia para aclararla, seguido por enjuagado con 100 ml de acetona. Se añaden 22,1 ml (265 mmol) de ácido clorhídrico concentrado, gota a gota al filtrado blanquecino transparente durante 5 minutos.
- 20 Se lava la mezcla hasta 45-50 °C y se agita durante 90 minutos. Opcionalmente se siembra la mezcla con clorhidrato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, seguido por

desconexión del calor y dejar que se enfríe gradualmente hasta temperatura ambiente. Después de 2 horas, la temperatura alcanza 25°C y se añade acetona (942 ml) a la suspensión durante 90 minutos. Se agita la suspensión otras 16 horas más, seguido por filtración, lavado con acetona (2 x 200 ml) y secado a vacío a 45 °C durante 9 horas y a temperatura ambiente durante otras 64 horas produciendo 40,2 g (91%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

Recristalización

Se disuelven 1,06 g en 0,5 ml de agua y 2,12 ml de acetona con calentamiento a 50 °C, seguido por dilución con otros 5,3 ml de acetona y opcionalmente siembra. Se añaden otros 4,2 ml de acetona a la mezcla turbia apagada seguido de nuevo opcionalmente por siembra, desconexión del calor y se deja enfriar gradualmente hasta temperatura ambiente durante 1 hora. Se diluye la suspensión resultante con otros 9,5 ml de acetona durante 30 minutos seguido por agitación durante 15 horas. Después de filtrar, se lava con acetona (2 x 5 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 10 horas y a temperatura ambiente durante 60 horas, se obtienen 0,905 g (85% de recuperación) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 183 °C.

$[\alpha]_D^{25} +33^\circ$ (c 1,06, CH₃OH).

RMN de ¹H 500 MHz (CD₃OD) δ 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, J = 7,0Hz), 2,96 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,41-2,39 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 1H), 2,10 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,51-1,42 (m, 1H).

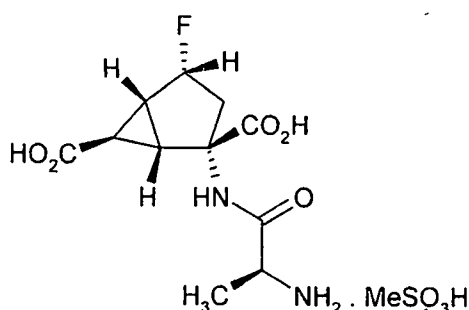
RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 173,74, 173,62, 170,00, 93,48 y 92,04 (Desdoblamiento C-F), 63,95 y 63,92 (Desdoblamiento C-F), 48,80, 36,89 y 36,70 (Desdoblamiento C-F), 32,97 y 32,91 (Desdoblamiento C-F), 30,05 y 29,87

(Desdoblamiento C-F), 19,37, 16,28.

FTIR (DRIFT) 3430 (w), 3016 (s), 1721 (s), 1662 (s), 1496 (s), 1190 (m), 1024 (m), 637 (w) cm^{-1} .

5 Ejemplo 15

Mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- 10 Se deja agitando a 50°C durante 15 minutos una suspensión de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,87 g corregidos, 4,98 mmol, Preparación 18) en 16,8 ml de acetona. La solución turbia se filtra para clarificar la solución, seguido por aclarado con acetona (3 x 1,25 ml). El filtro transparente se
- 15 diluye con 0,935 ml de agua, se coloca en un baño de calentamiento a 50°C y se trata con 0,647 ml (9,97 mmol) de ácido metanosulfónico, gota a gota, (se observa generación de gas). Se produce una suspensión blanca después de 25 minutos. Después de agitar un total de 2 horas, se añaden durante 5-10 minutos otros 35,5 ml de acetona. Se desconecta la calefacción y se deja que la suspensión se enfría
- 20 gradualmente hasta temperatura ambiente durante 2 horas, seguido por filtración, lavado con acetona (2 x 8 ml) y secado a vacío a 45°C durante 14 horas, dando

1,77 g (95%) del compuesto del epígrafe como un sólido rosa apagado. Se
cristaliza una muestra de este material como sigue: se disuelven 1,65 g en 1,16 ml
de agua y 4,95 ml de acetona con calentamiento a 50 °C, seguido por dilución con
otros 1,65 l de acetona y opcionalmente siembra. Se desconecta el calentamiento
5 y se deja que la mezcla se enfríe gradualmente hasta temperatura ambiente. Se
añade acetona (26,4 ml) simultáneamente durante 40 minutos. Se deja agitando la
suspensión resultante otras 3 horas más. Tras filtrar, se lava con acetona (2 x 6
ml) y se seca a vacío a 45°C durante 6 horas y a temperatura ambiente durante 60
horas, se obtienen 1,59 g (96% de recuperación) del compuesto del epígrafe como
10 un sólido blanco:

p.f. (DSC) 206 °C.

$[\alpha]^{25}_D +30$ (c 1,05, CH₃OH).

RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, J = 7,0Hz), 2,96
(dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,70 (s, 3H), 2,41-2,39 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 1H), 2,10 (t,
15 1H, J = 3,0 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,51-1,42 (m, 1H).

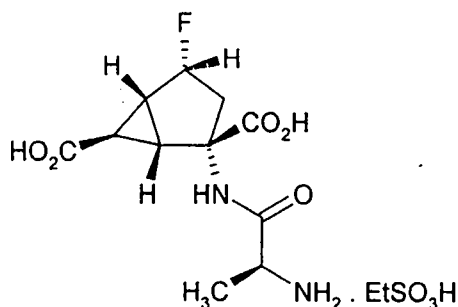
RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 173,73, 173,61, 170,02, 93,50 y 92,05
(Desdoblamiento C-F), 63,91, 48,79, 38,30, 36,89 y 36,70 (Desdoblamiento C-F),
32,97 y 32,91 (Desdoblamiento C-F), 30,02 y 29,84 (Desdoblamiento C-F), 19,37,
16,26.

20 FTIR (DRIFT) 3472 (w), 3077 (s), 1717 (s), 1691 (s), 1557 (m), 1220 (s), 1019 (m),
781 (m), 563 (m) cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₂H₁₉FN₂O₈S: C, 38,92; H, 5,17; N, 7,56. Encontrado:
C, 38,96; H, 4,97; N, 7,51.

25 Ejemplo 16

Esilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- 5 Se deja agitando durante 5 minutos a 50°C una suspensión de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,534 mmol, Preparación 18) en 1,8 ml de acetona. Se filtra la solución turbia para aclararla seguido por enjuagado con acetona (1 x 0,4 ml). El filtrado transparente se diluye con 0,1 ml de agua, se
- 10 coloca en un baño de calentamiento a 50°C y se trata con 0,124 ml (1,07 mmol) de ácido etanosulfónico, gota a gota (se observa generación de gas). Se produce una suspensión blanca después de 90 minutos. Después de agitar un total de 2 horas, se añaden otros 1,8 ml de acetona durante 5 minutos. El calor se desconecta y se deja que la suspensión se enfríe gradualmente hasta temperatura ambiente
- 15 durante 1 hora, seguido por agitación otras 2 horas. La filtración, lavado con acetona (2 x 1 ml) y secado a vacío a 45°C durante 4 horas y a temperatura ambiente durante 60 horas proporcionó 0,173 g (84%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 210 °C (descomposición).

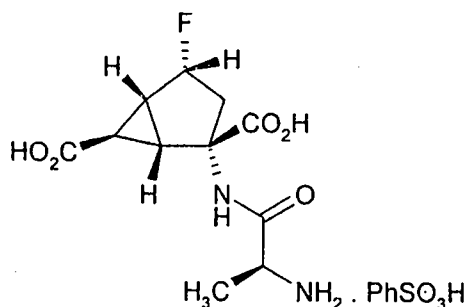
- 20 RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, $J = 7,0\text{Hz}$), 2,96 (dd, 1H, $J = 14, 8,0\text{ Hz}$), 2,80 (c, 2H, 7,3 Hz), 2,42-2,37 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 1H),

2,09 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,51-1,40 (m, 1H), 1,30 (t, 3H, J = 7,5 Hz).

982

Ejemplo 17

- 5 Besilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se deja agitando durante 10 minutos a 50°C una suspensión de ácido
- 10 (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,402 g 1,07 mmol, Preparación 18) en 3,6 ml de acetona. La solución turbia se trata con a cucharita de Celite y se filtra para aclarar la solución, seguido por enjuagado con acetona (2 x 0,4 ml). El filtrado transparente se coloca en un baño de calentamiento a 50°C y se trata con
- 15 226 mg (90%, 1,29 mmol) de ácido bencenosulfónico como una solución en 0,113 ml de agua, seguido por aclarado con 0,4 ml de acetona (se observa generación de gas). Después de agitar a reflujo suave durante 4 horas, se desconecta el calor y se trata la reacción con 8 ml de acetona durante 10 minutos, seguido opcionalmente de siembra. Se ha formado una suspensión durante 1 hora que se
- 20 diluye con 3,2 ml de acetona seguido por agitación a temperatura ambiente otras 15,5 horas. La filtración, lavado con acetona (2 x 10 ml) y secado a vacío a 45 °C

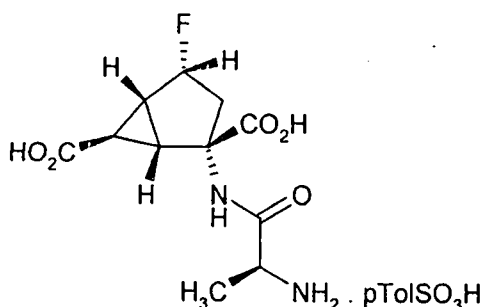
durante 24 h proporcionó 313 mg (62% corregidos para acetona al 10% peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 132 °C.

RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ 7,86-7,80 (m, 2H), 7,46-7,37 (m, 3H), 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, $J = 7,0\text{Hz}$), 2,96 (dd, 1H, $J = 14, 8,0\text{ Hz}$), 2,42-2,37 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 2H), 2,09 (t, 1H, $J = 3,0\text{ Hz}$), 1,52 (d, 3H, $J = 7,5\text{ Hz}$), 1,51-1,40 (m, 1H).

Ejemplo 18

10 Tosilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se deja agitando a 50°C durante 15 minutos una suspensión de ácido

15 (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,04 g corregidos, 2,78 mmol, Preparación 18) en 9,36 ml de acetona. La solución turbia se trata con una cucharita de Celite y se filtra para clarificar la solución, seguido por aclarado con acetona (1 x 2,08 ml y luego 1 x 1,04 ml). El filtrado transparente se coloca en un

20 baño de calentamiento a 50°C y se trata con 634 mg (3,33 mmol) de ácido *p*-toluenosulfónico monohidrato como solución en 0,317 ml de agua, seguido por un

aclarado con 0,317 ml de acetona (se observa generación de gas). Después de agitar a reflujo suave durante 4 horas, se retira la reacción del baño de calentamiento y se trata con 10,4 ml de acetona durante 10 minutos. La solución transparente incolora se siembra opcionalmente y se observa que se forma un precipitado durante 30 minutos, momento en el que se introducen otros 10,4 ml de acetona durante 20 minutos. La suspensión se deja agitando durante otras 4 horas, seguido por filtración, lavado con acetona (2 x 10 ml) y secado a vacío a 45 °C durante 14 horas proporcionando 995 mg (78% corregidos para acetona al 3 % en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

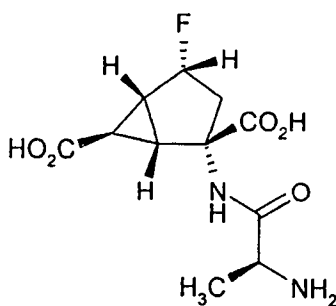
10 p.f. (DSC) 155 °C.

RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ 7,70 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,34 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, $J = 7,0$ Hz), 2,96 (dd, 1H, $J = 14, 8,0$ Hz), 2,42-2,30 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,09 (t, 1H, $J = 3,0$ Hz), 1,52 (d, 3H, $J = 7,5$ Hz), 1,51-1,40 (m, 1H).

15

Ejemplo 19

Ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



20

Se añaden 5 ml de etanol 3A seguido después de unos pocos minutos por

0,27 ml (1,35 mmol) de hidróxido sódico acuoso 5N a una solución de mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,5 g, 1,35 mmol, Ejemplo 15) en 1 ml de agua a 50 °C. Se desconecta el calor y la solución transparente incolora se diluye con 2,5 ml de etanol, se siembra opcionalmente y se diluye adicionalmente con 7,5 ml de etanol durante 30 min. La suspensión resultante se deja agitando seguidamente con enfriamiento hasta temperatura ambiente durante 1 hora y, a continuación, a temperatura ambiente durante 2 horas. Se recoge el sólido y se lava con etanol (1 x 10 ml) seguido por secado a vacío a 45 °C durante 18,5 horas, proporcionando 0,301 g (78% de rendimiento corregido para metanosulfonato sódico al 1,6% en peso y etanol al 3% en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

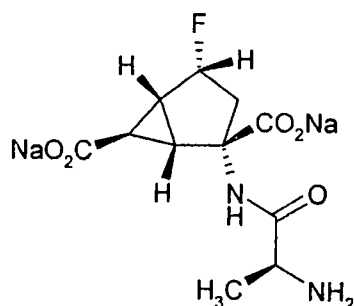
RMN de ^1H (500 MHz, D_2O) δ 5,45-5,30 (m, 1H), 3,88 (c, 1H, $J = 7,0$ Hz), 2,58 (dd, 1H, $J = 14, 8,0$ Hz), 2,33-2,30 (m, 1H), 2,27-2,26 (m, 1H), 1,92 (t, 1H, $J = 3,0$ Hz), 1,36 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,41-1,32 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, D_2O) δ 177,46, 176,92, 170,42, 94,56 y 93,19 (Desdoblamiento C-F), 65,36, 49,01, 36,75 y 36,57 (Desdoblamiento C-F), 33,61 y 33,55 (Desdoblamiento C-F), 30,54 y 30,36 (Desdoblamiento C-F), 20,27, 16,67.

20 Ejemplo 20

Sal disódica del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

996



Se añade una solución caliente de acetato sódico (46,5 mg, 0,57 mmol) en 470 μ l de metanol con un aclarado de 230 μ l de metanol a una solución de mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (70 mg, 0,19 mmol, Ejemplo 15) en 420 μ l de metanol a 60 °C. Se desconecta el calor. La solución turbia agitada se diluye con 280 μ l de metanol, seguido opcionalmente por siembra para ayudar a la cristalización. La suspensión resultante se enfría lentamente hasta temperatura ambiente durante 1 hora y se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. El producto se aísla por filtración, se lava con metanol (2 x 280 μ l) y se seca a vacío a 45 °C durante 15 horas proporcionando 52,5 mg (85% de rendimiento corregido para metanosulfonato sódico al 2,3% en peso y metanol al 0,2% en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

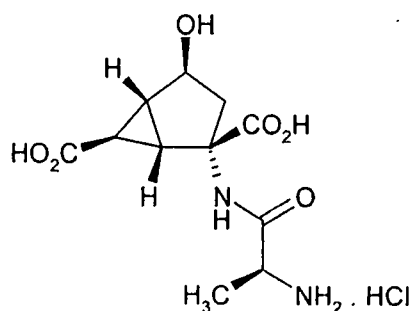
RMN de ^1H (500 MHz, D_2O) δ 5,44-5,29 (m, 1H), 3,89 (c, 1H, $J = 7,0$ Hz), 2,65 (s, 3H), 2,56 (dd, 1H, $J = 14,8,0$ Hz), 2,16-2,13 (m, 1H), 2,10-2,09 (m, 1H), 1,74 (t, 1H, $J = 3,1$ Hz), 1,38 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,36-1,28 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, D_2O) δ 180,00, 178,72, 170,13, 95,40 y 93,99 (Desdoblamiento C-F), 65,97, 49,06, 37,25 y 37,07 (Desdoblamiento C-F), 33,01 y 32,94 (Desdoblamiento C-F), 29,64 y 29,46 (Desdoblamiento C-F), 22,48, 16,68.

Ejemplo 21

Clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionil)amino-4-hidroxi-
biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

987



- 5 Se añade hidróxido de litio monohidrato (0,535 g, 12,8 mmol) a una solución de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetiloxi-2-[2'S-(*terc*-butoxi)carbonilaminopropionil]-aminobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,600 g, 1,28 mmol, Preparación 21) en THF (30 ml) y agua (30 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, la reacción se diluye con agua y se lava
- 10 con acetato de etilo (2 x 25 ml). La fase acuosa se acidifica hasta pH 1 con solución acuosa 1N de HCl y se extrae con acetato de etilo (3 x 30 ml). Los extractos orgánicos reunidos se concentran, se redisuelven en HCl 1N en acetato de etilo (60 ml), luego se agitan en nitrógeno a temperatura ambiente durante 16 horas. Se elimina el disolvente a vacío proporcionando 400 mg (99%) del producto
- 15 como un sólido blanco.

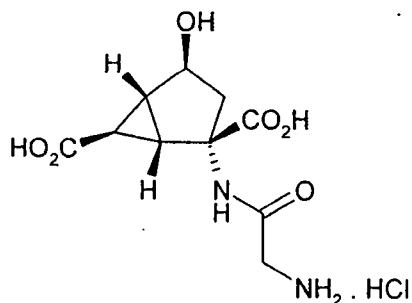
LCMS: m/z 273 $[M + H]^+$ @ R_T 0,20 min.

- RMN de ^1H (CD_3OD)*: 4,13 (1H, d, 5,9 Hz), 3,80 (1H, c, 6,7 Hz), 2,41-2,31 (2H, m), 1,93 (1H, dd, 6,0 Hz, 2,7 Hz), 1,62 (1H, dd, 5,9 Hz, 15,5 Hz), 1,44 (1H, t, 3,0 Hz), 1,38 (3H, d, 6,8 Hz); *Nota. Protones intercambiables no observados por
- 20 RMN = 6.

Ejemplo 22

Clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-Amino-acetilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

288



5

Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (300 mg, 0,84 mmol, Preparación 23), con la excepción de que el grupo protector *terc*-butoxicarbonilo se retira tratando con HCl 4M en dioxano. Rendimiento: 156 mg (63%).

$[\alpha]_D^{23} = -36$ (c=0,5, MeOH).

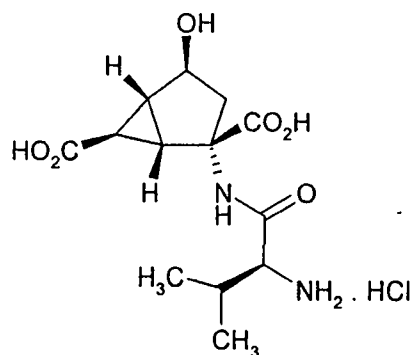
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,56 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,74 (1H, dd, J = 5,8, 15,4 Hz), 2,12 (1H, m), 2,48 (1H, d, J = 15,4 Hz), 2,61 (1H, m), 3,62 (2H, s), 4,32 (1H, d, J = 5,49 Hz).

15 Análisis calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 1,3\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 37,11; H, 5,39; N, 8,66. Encontrado: C, 37,36; H, 4,99; N, 8,30.

MS (ES) m/z 258,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 23

20 Sal clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-3'-metil-butirilamino)-4-

hidroxibiciclo[3.1.0]-hexano-2,6-dicarboxílico

Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del
 5 ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-metil-butirilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (480 mg, 1,19 mmol, Preparación 24), con la excepción de que el grupo protector *terc*-butoxicarbonilo se retira tratando con HCl 4M en dioxano. Rendimiento: 307 mg (76%).

$[\alpha]_D^{23} = +8,33$ (c=0,48, MeOH).

10 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,07 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,11 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,55 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,76 (1H, dd, J = 5,8, 15,6 Hz), 2,14 (1H, dd, J = 3,4, 5,8 Hz), 2,24 (1H, m), 2,50 (1H, d, J = 15,6 Hz), 2,64 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 3,66 (1H, d, J = 5,4 Hz), 4,32 (1H, d, J = 5,8 Hz).

Análisis calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 1,1\text{H}_2\text{O}$: C, 43,79; H, 6,56; N, 7,86.

15 Encontrado: C, 43,77; H, 6,20; N, 7,47.

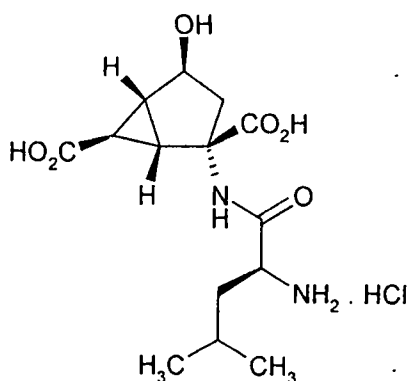
HRMS calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$, 301,1400. Encontrado, 301,1400.

Ejemplo 24

Sal clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-4'-metil-pentanoilamino)-

20 4-hidroxi-biciclo[3.1.0]-hexano-2,6-dicarboxílico

990



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metil-pentanoilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (460 mg, 1,11 mmol, Preparación 25), con la excepción de que el grupo protector *tert*-butoxicarbonilo se retira tratando con HCl 4M en dioxano. Rendimiento: 371 mg (95%).

$[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=0,5, MeOH).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,01 (3H, d, J = 5,8 Hz), 1,03 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,54 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,63-1,82 (4H, m), 2,14 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 2,49 (1H, d, J = 15,6 Hz), 2,62 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 3,83-3,86 (1H, m), 4,32 (1H, d, J = 5,8 Hz).

Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 1,4\text{H}_2\text{O}$: C, 44,72; H, 6,92; N, 7,45.

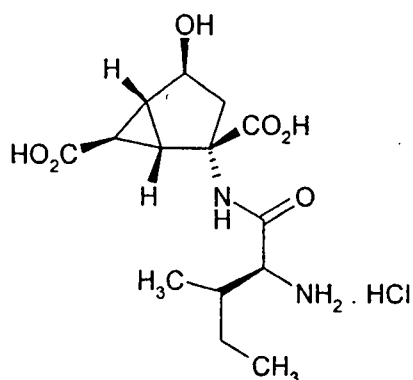
Encontrado: C, 44,52; H, 6,57; N, 7,13.

HRMS calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6$, 315,1556. Encontrado, 315,1569.

Ejemplo 25

Sal clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-3'S-metil-pentanoilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]-hexano-2,6-dicarboxílico

991



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*terc*-butoxycarbonilamino-3'S-metil-pentanoilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (410 mg, 0,99 mmol, Preparación 26), con la excepción de que el grupo protector *terc*-butoxycarbonilo se retira tratando con HCl 4M en dioxano. Rendimiento: 330 mg (95%).

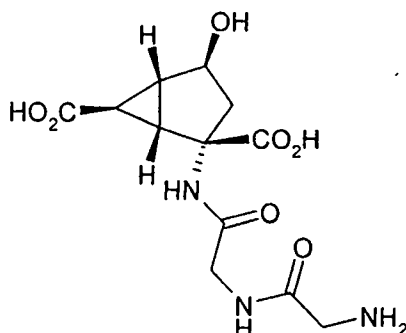
$$[\alpha]_D^{23} = +8 \text{ (c=0,5, MeOH)}.$$

- 10 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 0,99 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 1,08 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 1,17-1,27 (1H, m), 1,53 (1H, t, $J = 2,9$ Hz), 1,59-1,65 (1H, m), 1,76 (1H, dd, $J = 5,8, 15,6$ Hz), 1,96-2,00 (1H, m), 2,14 (1H, dd, $J = 2,9, 5,8$ Hz), 2,46 (1H, d, $J = 15,6$ Hz), 2,66 (1H, dd, $J = 2,9, 5,8$ Hz), 3,70 (1H, d, $J = 5,4$ Hz), 4,31 (1H, d, $J = 5,8$ Hz).
- 15 Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 1,1\text{HCl} \cdot 1,2\text{H}_2\text{O}$: C, 44,71; H, 6,83; N, 7,45. Encontrado: C, 44,38; H, 6,51; N, 7,08.
- HRMS calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6$, 315,1556. Encontrado, 315,1566.

Ejemplo 26

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-amino-acetilamino)-acetilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

26



- 5 Se trata éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-acetilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (360 mg, 0,77 mmol, Preparación 27) con un exceso de HCl 4M en dioxano y se agita durante 40 minutos; se concentra a vacío. Se añade acetato de etilo y se concentra. Se trata el sólido con THF (3M) y LiOH 1N (3,0 equiv.). Se
- 10 agita durante 1 hora y luego se añade HCl 1N hasta pH=3. Se concentra la reacción a vacío. Se purifica por resina de intercambio iónico DOWEX® 50WX8-100. Rendimiento: 188 mg (78%).

$[\alpha]_D^{23} = +3,92$ (c=0,51, H₂O).

- RMN de ¹H 300 MHz, D₂O) δ 1,43 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,53 (1H, dd, J = 5,9, 15,4
- 15 Hz), 1,98 (1H, m), 2,23-2,31 (2H, m), 3,70 (2H, s), 3,82 (2H, d aparente, J = 1,1 Hz), 4,16 (1H, d, J = 5,9 Hz).

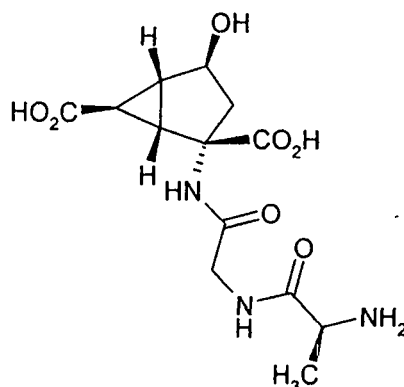
HRMS calculado para C₁₂H₁₈N₃O₇, 316,1145. Encontrado, 316,1123.

Ejemplo 27

- 20 Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-amino-propionilamino)-acetilamino]-4-hidroxi-

biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

293



Se prepara según el procedimiento general descrito en el Ejemplo 26
 5 usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*terc*-
 butoxycarbonilamino-propionilamino)-acetilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-
 2,6-dicarboxílico (410 mg, 0,84 mmol, Preparación 28). Rendimiento: 200 mg
 (72%).

$[\alpha]_D^{23} = +23,53$ (c=0,51, H₂O).

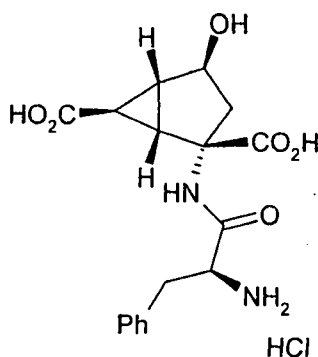
10 RMN de ¹H 300 MHz, D₂O) δ 1,36 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,37 (1H, t, J = 3,3 Hz), 1,49
 (1H, dd, J = 5,9, 15,4 Hz), 1,91 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,15 (1H, dd, J = 2,9, 5,9
 Hz), 2,27 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,79 (2H, s), 3,95 (1H, c, J = 7,0 Hz), 4,13 (1H, d, J
 = 5,5 Hz).

HRMS calculado para C₁₃H₁₉N₃O₇, 330,1301. Encontrado, 330,1290.

15

Ejemplo 28

Clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-3'-fenil-propionilamino)-4-
hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-fenil-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (400 mg, 0,89 mmol, Preparación 5 29). Rendimiento: 290 mg (85%).

$[\alpha]_D^{23} = +3,64$ (c=0,55, MeOH).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,45 (1H, t, J = 3,3 Hz), 1,60 (1H, dd, J = 5,5, 15,4 Hz), 2,03 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,37 (1H, d, J = 15,4 Hz), 2,55 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,90 (1H, dd, J = 8,4, 14,3 Hz), 3,22 (1H, dd, J = 5,1, 14,7 Hz), 3,97 10 (1H, dd, J = 5,5, 8,8 Hz), 4,21 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,19 – 7,31 (5H, m).

HRMS calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$, 349,1400. Encontrado, 349,1388.

Anal. Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 50,69; H, 5,76; N, 6,95; Cl, 8,80.

Encontrado: C, 50,66; H, 5,65; N, 6,85; Cl, 8,20.

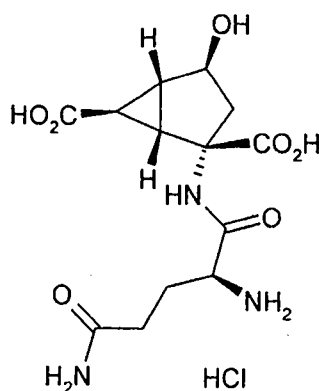
MS encontrado 349,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

Ejemplo 29

Clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-4'-carbamoil-butirilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

34
295



- El compuesto del epígrafe se prepara disolviendo éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*terc*-butoxicarbonilamino-4'-(tritol-carbamoil)-butirilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,18 mmol, Preparación 30) en THF
- 5 (10 ml) y tratando la solución con LiOH 2,5N(12 ml). Se deja agitando la solución 3 horas y luego se ajusta hasta pH = 2 con HCl 2,5 N. El producto se extrae cuatro veces con acetato de etilo, se seca sobre sulfato sódico anhidro y se concentra a vacío dando un polvo blanco. El diácido producto (0,74 mmol) se disuelve en 1,2-dicloroetano (3,7 ml) y se trata con anisol (0,3 ml) y ácido trifluoroacético (3,72 ml).
- 10 La mezcla de reacción se agita a 23°C durante 2,5 horas y luego se concentra a vacío dando un aceite marrón. El aceite marrón se disuelve en agua, se extrae cinco veces con diclorometano, se concentra la suspensión acuosa a vacío, se trata con HCl 1 N (0,74 ml) y se liofiliza. El sólido se trata con otra porción de HCl 1 N (2 ml) y se liofiliza de nuevo proporcionando 446 mg (cuantitativo) del
- 15 compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = +8,16$ (c=0,49, MeOH).

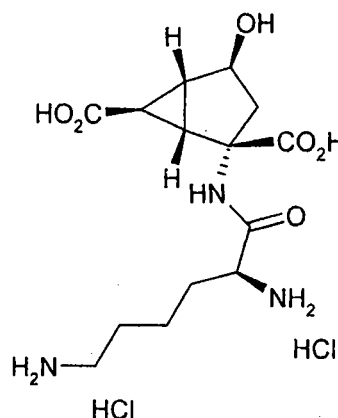
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,60 (1H, t, J = 3,3 Hz), 1,79 (1H, dd, J = 5,5, 15,4 Hz), 2,10 – 2,17 (3H, m), 2,46 – 2,55 (3H, m), 2,60 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 3,94 (1H, t, J = 6,2 Hz), 4,33 (1H, d, J = 5,5 Hz).

MS encontrado 330,0 $[M+H]^+$, 351,9 $[M+Na]^+$.

HRMS calculado para $C_{13}H_{19}N_3O_7$, 330,1301. Encontrado, 330,1295.

Ejemplo 30

- 5 Bisclorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S,6'-diamino-hexanoilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



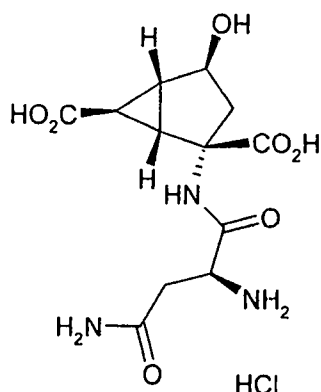
- Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del
10 ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S,6'-bis-*terc*-butoxicarbonilamino-hexanoilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 31).

- RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,47-1,59 (3H, m), 1,66-1,78 (2H, m), 1,84 (1H, dd, $J = 5,4, 15,2$ Hz), 1,91 (2H, m), 2,16 (1H, dd, $J = 3,4, 5,7$ Hz), 2,45 (1H, d, $J = 15,7$ Hz), 2,66 (1H, dd, $J = 2,9, 5,9$ Hz), 2,97 (2H, t, $J = 7,3$ Hz), 3,92 (1H, t, $J = 6,4$ Hz), 4,33 (1H, d, $J = 5,4$ Hz).

MS encontrado 330,0 $[M+H]^+$.

Ejemplo 31

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-3'-carbamoil-propionilamino)-4-hidroxi-

biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

- Se prepara el compuesto del epígrafe disolviendo éster dietílico del ácido
- 5 (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-(trityl-carbamoyl)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,07 mmol, Preparación 32) en THF (12 ml) y tratando la solución con LiOH 2,5 N (12 ml). Se deja agitando la solución 3 horas y se ajusta a pH = 2 con HCl 2,5 N. Se extrae el producto cuatro veces con acetato de etilo, se seca sobre sulfato sódico anhidro y
- 10 se concentra a vacío dando un polvo blanco. El diácido producto (1,22 mmol) se disuelve en 1,2-dicloroetano (6 ml) y se trata con anisol (1 ml) y ácido trifluoroacético (6 ml). Se deja la reacción agitando a 23°C durante 10 horas y luego se concentra a vacío dando un aceite marrón. Se diluye el aceite marrón con éter dietílico y el producto cristaliza como un sólido blanco. Se filtra y se lava con
- 15 porciones abundantes de éter. Se disuelve el sólido en una cantidad mínima de agua, se trata con HCl 0,5 N (5 ml) y se liofiliza 3 veces proporcionando 386 mg (90%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = 0$ (c=0,5, MeOH).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,59 (1H, t, 3,4 Hz), 1,76 (1H, dd, J = 5,9, 16,1

Hz), 2,11 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,53 (1H, d, J = 16,1 Hz), 2,55 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,74 (1H, dd, J = 9,8, 17,1 Hz), 2,95 (1H, dd, J = 3,9, 17,1 Hz), 4,19 (1H, dd, J = 3,9, 9,8 Hz), 4,32 (1H, d, J = 5,9 Hz).

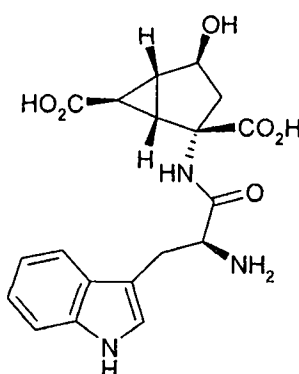
MS encontrado 316,0 [M+H]⁺, 337,9 [M+Na]⁺.

- 5 HRMS calculado para C₁₂H₁₆N₃O₇Na, 338,0964. Encontrado, 338,0953.

Ejemplo 32

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-amino-3'-(1H-indol-3-il)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

10



- Se prepara disolviendo éster dietílico del ácido 2-[2'-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-(1'-*terc*-butoxicarbonil-1H-indol-3'-il)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,93 mmol, Preparación 33) en THF
- 15 (11 ml) y tratando la solución con LiOH 2,5 N (11 ml). Se deja la solución agitando 3 horas y luego se ajusta hasta pH=2 con HCl 2,5 N. Se extrae el producto cuatro veces con acetato de etilo, se seca sobre sulfato sódico y se concentra a vacío dando un polvo blanco. Se disuelve el diácido producto (0,78 mmol) en una solución de HCl 4M en dioxano (20 ml) y se deja agitando la mezcla de reacción 3
- 20 horas a 23°C. La mezcla de reacción se concentra, se diluye con diclorometano y

se concentra de nuevo a vacío. Se disuelve el producto bruto en metanol, se aplica a una placa de cromatografía radial (gel de sílice), se deja secar por centrifugación y se eluye con MeOH (10%)/NH₄OH (1%)/CHCl₃ hasta MeOH (60%)/NH₄OH (2%)/CHCl₃. El producto se disuelve en agua y se liofiliza dos veces proporcionando 139 mg (46%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = +19,23$ (c=0,52, MeOH).

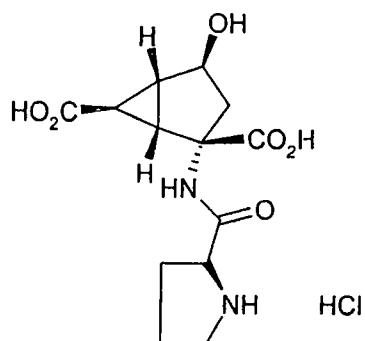
RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 1,43 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,57 (1H, dd, J = 5,9, 15,2 Hz), 2,05 (1H, dd, J = 3,4, 6,4 Hz), 2,41 (1H, d, J = 14,7 Hz), 2,46 (1H, dd, J = 2,4, 5,9 Hz), 3,15 (1H, dd, J = 5,4, 14,7 Hz), 3,49 (1H, dd, J = 5,4, 14,7 Hz), 4,05 (1H, dd, J = 5,4, 9,3 Hz), 4,17 (1H, d, J = 5,4 Hz), 7,09 (2H, m), 7,27 (1H, s), 7,37 (1H, d, J = 8,3 Hz), 7,75 (1H, d, J = 7,8 Hz).

MS encontrado 388,0 [M+H]⁺, 409,9 [M+Na]⁺.

HRMS calculado para C₁₉H₂₁N₃O₆, 388,1508. Encontrado, 388,1502.

15 Ejemplo 33

Sal clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-hidroxi-2-[(pirrolidina-2'S-carbonil)-amino]-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico.



20 Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del

ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(1'-*tert*-butoxicarbonil-pirrolidina-2'S-carbonil)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 34), con la excepción de que el grupo protector *tert*-butoxicarbonilo se retira tratando con HCl 4M en dioxano.

$[\alpha]_D^{23} = -40$ (c=0,5, MeOH).

- 5 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,59 (1H, t, $J = 3$ Hz), 1,78 (1H, dd, $J = 5,9, 15,3$ Hz), 2,06 (4H, m), 2,42 (1H, m), 2,59 (2H, m), 3,35 (m, 3H), 4,27 (1H, m), 4,32 (1H, d, $J = 5,9$ Hz).

HRMS calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_6$, 299,1243. Encontrado, 299,1242.

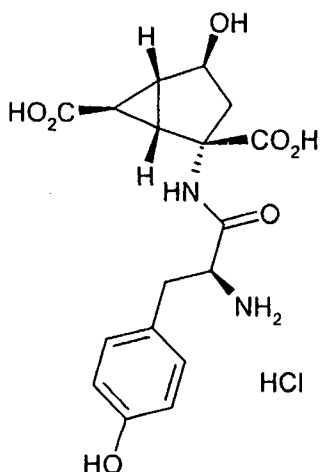
Anal. Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 44,26; H, 6,00; N, 7,94.

- 10 Encontrado: C, 44,13; H, 5,78; N, 7,62.

Ejemplo 34

Sal clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-amino-3'-(4-hidroxi-fenil)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico.

15



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-*tert*-Butoxicarbonilamino-3'-(4-*tert*-

1001

butoxicarbonilo-fenil)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 35), con la excepción de que el grupo protector *terc*-butoxicarbonilo se retiró tratando con HCl 4M en dioxano. Rendimiento: 199 mg (50%).

- 5 $[\alpha]_D^{23} = +8$ (c=0,5, MeOH).

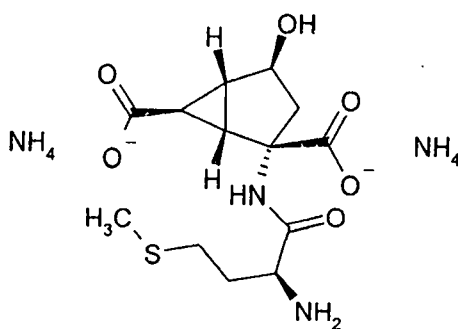
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,48 (1H, t, $J = 3$ Hz), 1,62 (1H, dd, $J = 5,9, 15,3$ Hz), 2,03 (1H, m), 2,38 (1H, d, $J = 15,3$ Hz), 2,55 (1H, m), 2,8 (1H, dd, $J = 8,9, 14,4$ Hz), 3,12 (1H, dd, $J = 5,4, 14,4$ Hz), 3,90 (1H, c, $J = 5,4$ Hz), 4,21 (1H, d, $J = 5,9$ Hz), 6,7 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,05 (2H, d, $J = 8,4$ Hz).

- 10 HRMS calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7$, 365,1349. Encontrado, 365,1374.

Anal. Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7 \cdot 1,1 \text{ HCl} \cdot 1,1 \text{ H}_2\text{O}$: C, 48,12; H, 5,54; N, 6,60. Encontrado: C, 47,89; H, 5,37; N, 6,50.

Ejemplo 35

- 15 Sal bisamónica del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-4'-metilsufanil-butirilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del
20 ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-4'-metilsulfanil-

1002

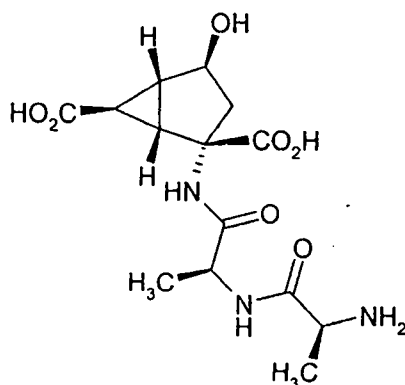
butirilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 36), con la excepción de que el grupo protector *terc*-butoxicarbonilo se retiró tratando con HCl 4M en dioxano. El compuesto final se cargó con MeOH en una placa Chromatotron de 2 mm y se eluyó con CHCl₃/MeOH/NH₄OH 50/49,5/0,5. Durante
 5 el transcurso de la elución la cantidad de NH₄OH se aumentó hasta el 1% dando el compuesto bipolar. Rendimiento: 136 mg (37%).

$$[\alpha]_D^{23} = +28 (c=1,0, \text{MeOH}).$$

RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 1,63 (1H, dd, J = 6,0, 15,6 Hz), 2,03 (2H, m), 2,12 (3H, s), 2,18 (1H, m), 2,35 (1H, m), 2,49 (1H, d, J = 15,6 Hz), 2,65 (2H, t, J =
 10 8,4 Hz), 3,84 (1H, t, J = 6,0 Hz), 4,19 (1H, d, J = 6,0 Hz). HRMS calculado para C₁₃H₂₁N₂O₆S, 333,1120. Encontrado, 333,1105.

Ejemplo 36

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2S-amino-propionilamino)-propionilamino]-4-
 15 hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano)-2,6-dicarboxílico



Se agita éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-[2'S-(2S-*terc*-butoxicarbonilamino-propionilamino)propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-

2,6-dicarboxílico (0,045 g, 0,1 mmol, Preparación 39) en 1 ml de HCl 4N en dioxano durante 40 min y luego se concentra la reacción a vacío. El material bruto se agita en THF (5 ml) y LiOH 0,5N (0,35 mmol) durante 1 hora. Se ajusta el pH =2 con HCl 0,5 N y se concentra la reacción. El producto se purifica usando

5 cromatografía de intercambio catiónico (Dowex® 50X8-100; se eluye con piridina al 10% /H₂O) proporcionando 19 mg (55,3%) del compuesto del epígrafe.

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 1,23 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,36 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,40-1,45 (1H, m), 1,50 (1H, dd, J = 5,5, 15,4 Hz), 1,90-1,96 (1H, m), 2,20 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,29 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,90 (1H, c, J = 7,3 Hz), 4,15-4,22 (2H, m).

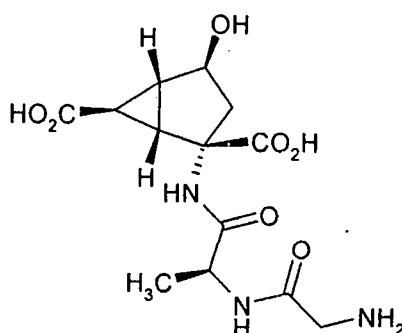
10 m).

MS (ES) m/z 342,1 [M-1]⁻.

HRMS calculado para C₁₄H₂₂N₃O₇, 344,1458. Encontrado, 344,1457.

Ejemplo 37

15 Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-amino-acetilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico



Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-

20

2,6-dicarboxílico (0,12 g, 0,25 mmol, Preparación 40) en THF (5 ml) y LiOH 1N (1,0 mmol) durante 1 hora. La mezcla se ajusta a pH=2 usando HC 1N y se concentra. El material bruto se agita en una solución saturada de HCl (g) acetato de etilo a 0°C. Se elimina el HCl (g) en exceso purgando con N₂ y se concentra la
 5 reacción. El producto bruto se purifica usando cromatografía de intercambio catiónico (Dowex® 50X8-100; se eluye con piridina al 10% /H₂O) proporcionando 0,06 g (72,9%) del compuesto del epígrafe.

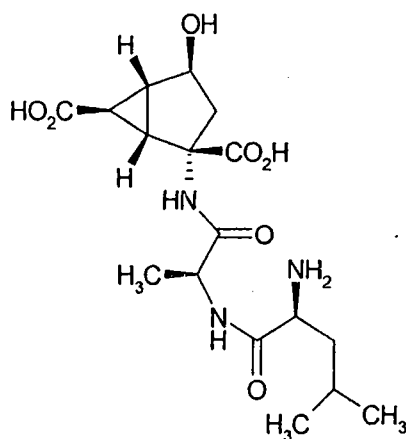
$$[\alpha]_D^{23} = -42,11 \text{ (c = 0,57, H}_2\text{O)}.$$

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 1,21 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,39 (1H, m), 1,50 (1H, dd, J = 5,7, 15,8 Hz), 1,91 (1H, m), 2,15 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,28 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,65 (2H, s), 4,14 (1H, d aparente, J = 5,9 Hz), 4,20 (1H, c aparente, J = 7,3 Hz).

HRMS calculado para C₁₃H₂₀N₃O₇, 330,1301. Encontrado, 330,1299.

15 Ejemplo 38

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2S-amino-4-metil-pentanoilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



1005

Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*terc*-butoxicarbonilamino-4-metil-pentanoilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 41). Rendimiento: 0,21 g (57 %, 0,50 mmol) de un sólido blanco.

5 $[\alpha]_D^{23} = -3,64^\circ$ (c = 0,55, MeOH).

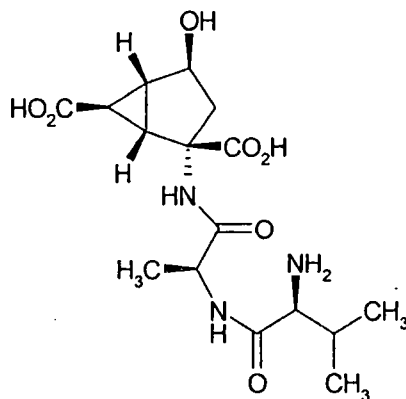
RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 0,89 (3H, d, J = 4,4 Hz), 0,91 (3H, d, J = 4,0 Hz), 1,29 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,52 (1H, t, J = 3,3 Hz), 1,55-1,67 (4H, m), 1,97 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,38 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,45 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,75-3,80 (1H, m), 4,18 (1H, d, J = 5,9 Hz), 4,33 (1H, c aparente, J = 7,0 Hz),

10 Análisis calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7 \cdot 1,0 \text{ HCl} \cdot 1,6 \text{ H}_2\text{O}$: C, 45,30; H, 6,98; N, 9,32; Cl, 7,87. Encontrado: C, 44,95; H, 6,54; N, 9,12; Cl, 7,53.

HRMS (ES) calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 386,1927. Encontrado, 386,1911.

15 Ejemplo 39

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-amino-3-metil-butirilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*terc*-butoxicarbonilamino-3-metil-butirilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 42). Rendimiento: 0,15 g (88 %, 0,37 mmol) de un sólido blanco.

5 $[\alpha]_D^{23} = -15,69^\circ$ (c = 0,51, MeOH).

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 0,92 (3H, d, J = 7,0 Hz), 0,95 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,28 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,52 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,60 (1H, dd, J = 5,9, 15,4 Hz), 1,98 (1H, dd, J = 3,3, 5,9 Hz), 2,03-2,15 (1H, m), 2,39 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 2,45 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,56 (1H, d, J = 5,5 Hz), 4,18 (1H, d, J = 5,9 Hz), 4,33
10 (1H, c aparente, J = 7,0 Hz), 8,82 (1H, s).

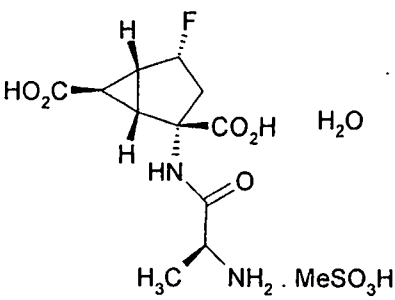
Análisis calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7 \cdot 1,0 \text{ HCl} \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$: C, 44,19; H, 6,72; N, 9,66; Cl, 8,15. Encontrado: C, 44,32; H, 6,48; N, 9,14; Cl, 7,66.

HRMS (ES) calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 372,1771. Encontrado, 372,1758.

15

Ejemplo 40

Mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico monohidrato



20 Se añaden 16 ml de agua seguido por 11,4 ml (175 mmol) de ácido metanosulfónico a una solución turbia de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*terc*-

X
10
15

butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (32,8 g, 87,5 mmol, Preparación 52) en 295 ml de acetona a reflujo suave, gota a gota, dando una solución amarillo apagado transparente que da una suspensión después de 5 minutos. Se agita durante 130 minutos, se retira la fuente de calor y se añaden otros 295 ml de acetona durante 30 minutos. Se enfría la suspensión hasta temperatura ambiente, luego se agita otras 2 horas. Se filtra la suspensión, se lava con acetona (2 x 82 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 16 horas dando 31,5 g (93%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

El material se puede cristalizar posteriormente. Se mezclan 30,5 g del producto bruto anterior con 152,5 ml de acetona y 35 ml de agua. Se calienta hasta 55 °C y se añade agua (3,66 ml) para efectuar la disolución completa. Se diluye la solución con 61 ml de acetona y se siembra opcionalmente. Se retira la fuente de calor y se deja que la mezcla se enfríe gradualmente hasta que haya comenzado una buena nucleación. Se añaden 396 ml de acetona a la suspensión durante 70 minutos, luego se agita a temperatura ambiente durante otras 3 horas más. Se filtra, se lava con acetona (3 x 91 ml) y se seca a vacío a 45 °C varias horas (de forma típica durante la noche) proporcionando 27,7 g (recuperación del 91%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 200 °C.

[α]_D²⁵ +34° (c 1,0, CH₃OH)

RMN de ¹H 400 MHz (DMSO-d₆) δ 12,76 (s ancho, 2H), 9,18 (s 1H), 8,07 (s ancho, 3H), 5,50-5,36 (m, 1H), 3,87 (d, 1H, J = 6,8 Hz), 2,82 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,38 (s, 3H), 2,25 (m, 2H), 1,96 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 1,39 (m, 1H), 1,37 (d, 3H, J = 6,8 Hz).

RMN de ¹³C 100 MHz (DMSO-d₆) δ 173,1, 172,3, 169,7, 92,8 (d, Desdoblamiento

1002

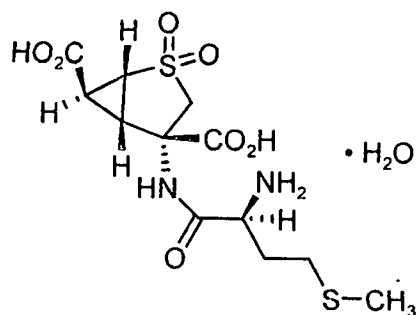
C-F), 63,2 (d, Desdoblamiento C-F), 48,0, 39,7, 36,4 (d, Desdoblamiento C-F), 32,5 (d, Desdoblamiento C-F), 29,3 (d, Desdoblamiento C-F), 19,3 (d, Desdoblamiento C-F), 16,9.

FTIR (KBr) 3461 (w), 3379 (w), 3269 (m), 2653 (s), 2591 (s), 2529 (s), 1724 (s),
5 1691 (s), 1353 (m), 1287 (s), 1271 (s), 1256 (s), 1212 (s), 1147 (s), 1052 (s), 1024 (s), 787 (m) cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₂H₂₁FN₂O₉S: C, 37,11; H, 5,45; N, 7,21. Encontrado: C, 37,12; H, 5,45; N, 7,16.

10 Ejemplo 41

Ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-
biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico monohidrato



- 15 Se calienta una suspensión de sal monosódica del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*tert*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (110,04 g, 225,3 mmol, Preparación 55) en acetona (110 ml) y agua (550 ml) hasta 55 °C. Se añade ácido clorhídrico concentrado (56 ml, 675,8 mmol) gota a gota a la suspensión agitada para
20 proporcionar gradualmente la disolución. Una vez completada la adición, se agita la solución a 55 °C durante 2 horas. Se retira la fuente de calor y se deja enfriar la

solución hasta temperatura ambiente. Se filtra la solución y se aclara con 20 ml de agua. Se añade lentamente hidróxido sódico 2N (165 ml, 330 mmol) a la solución para elevar el pH hasta 1,71, momento en el que se produce la precipitación. Se agita durante 10 minutos; se forma una suspensión clara y el pH baja hasta 0,98.

- 5 Se añade a la suspensión resultante más hidróxido sódico 2N (62 ml, 124 mmol) para elevar el pH hasta 3,06, seguido por agitación durante 3 horas dando un pH final de 3,24. La suspensión se filtra, se lava con agua (2 x 165 ml) y se seca a 45 °C durante 15 horas proporcionando 73,27 g (rendimiento en peso del 85%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

- 10 p.f. (DSC) 203 °C.

$[\alpha]_{25}^D +13,4$ (c 1,19, 1N HCl).

RMN de ^1H 500 MHz (D₂O) δ 3,99 (t, 1H, J = 6,0 Hz), 3,93 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 3,50 (dd, 1H, J = 1,0, 4,0 Hz), 3,12 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,95 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,48 (t, 2H, J = 8,0 Hz), 2,33 (t, 1H, J = 4,0), 2,09 - 1,98 (m, 5H).

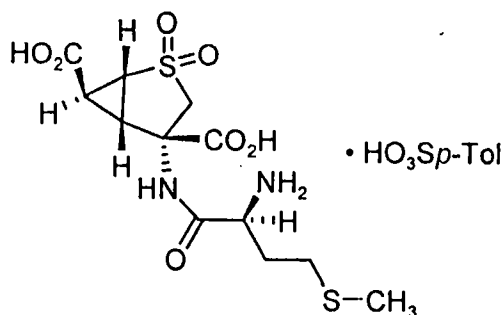
- 15 RMN de ^{13}C (125 MHz, D₂O) δ 173,50, 172,60, 169,18, 61,66, 54,76, 52,19, 42,55, 31,70, 30,10, 28,09, 23,53, 14,14.

FTIR (ATR) 3558,54 (s), 3024,05 (s), 2959,87 (s), 1748,83 (s), 1692,89 (s), 1681,99 (s), 1617,50 (s), 1567,63 (s), 1497,65 (s), 1314,11 (s), 1282,22 (s), 1263,26 (s), 1239,01 (s), 1101,46 (s), 884,62 (s), 809,95 (s), 773,46 (s) cm^{-1} .

- 20 Análisis calculado para C₁₂H₁₈N₂O₇S₂·H₂O: C, 37,49; H, 5,24; N, 7,29. Encontrado: C, 37,34; H, 5,04; N, 7,15.

Ejemplo 42

- 25 Tosilato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se calienta hasta 75°C una mezcla de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-

- 5 biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (118,09 g corregidos, 253 mmol, Preparación 56) y ácido *p*-toluenosulfónico monohidrato (54 g, 278 mmol) en tolueno (1180 ml), dando lugar a una suspensión espesa. Se agita la suspensión a reflujo durante 165 minutos. Se retira la fuente de calor y se deja enfriar la suspensión hasta temperatura ambiente, seguido por agitación durante la noche. Se filtra la
- 10 suspensión, se lava con tolueno (3 x 240 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 22 horas proporcionando 134,92 g (98% rendimiento) del compuesto del epígrafe.

p.f. (DSC) 255 °C.

[α]_D²⁵ +8,3 (c 1,2, CH₃OH).

- RMN de ¹H 500 MHz (CD₃OD) δ 7,71 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,24 (d, 2H, J = 8,0 Hz),
- 15 4,14 (d, 1H, J = 15 Hz), 4,00 (t, 1H, J = 6,0 Hz), 3,54 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 3,13 (d, 1H, J = 15 Hz), 3,01 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,60 (t, 2H, J = 8,0 Hz), 2,49 (t, 1H, J = 4,0 Hz), 2,37 (s, 3H), 2,19 – 2,12 (m, 5H).

RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 170,49, 169,69, 168,99, 142,18, 140,67, 182,73, 125,79, 60,26, 54,76, 52,21, 42,44, 30,90, 30,77, 27,20, 22,33, 20,17, 13,96.

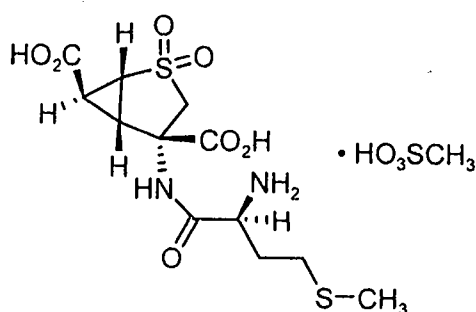
- 20 FTIR (ATR) 3091,19 (w), 1730,91 (s), 1668,22 (s), 1563,97 (s), 1518,49 (s), 1312,69 (m), 1247,46 (s), 1212,05 (s), 1156,33 (s), 1123,09 (s), 1035,95 (s),

10/11/2014

1011,36 (s), 892,41 (s), 814,02 (s), 683,69 (s) cm^{-1} .

Ejemplo 43

Mesilato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



- Se calienta hasta 85°C una suspensión del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*tert*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (1,08 g, 2,31 mmol, Preparación 56) en 13 ml de propionitrilo. Se añade agua (540 μl) a la suspensión, luego se añade ácido metanosulfónico, gota a gota (225 μl , 3,47 mmol). Se agita la suspensión durante 90 minutos. Se retira la fuente de calor y se añade propionitrilo (30 ml). La suspensión se enfría hasta temperatura ambiente y se agita durante 90 minutos.
- Se filtra, se lava con propionitrilo (3 x 2,7 ml) y se seca a 45 °C durante la noche dando 1,04 g (97%) del compuesto del epígrafe.
- p.f. (DSC) 244 °C.
- $[\alpha]_{25\text{D}} +10,2$ (c 1,16, CH_3OH).
- RMN de ^1H 500 MHz (CD_3OD) δ 4,16 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 4,00 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 3,54 (dd, 1H, $J = 4,0, 7,0$ Hz), 3,15 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 3,01 (dd, 1H, $J = 4,0, 7,0$ Hz), 2,71 (s, 3H), 2,61 (t, 2H, $J = 8,0$), 2,51 (t, 1H, $J = 4,0$), 2,20 - 2,14 (m, 5H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) δ 170,50, 169,71, 169,00, 60,27, 54,78, 52,18, 42,43, 38,35, 30,90, 30,78, 28,20, 22,35, 13,96.

FTIR (ATR) 3055,57 (m), 1725,90 (s), 1693,60 (s), 1527,33 (s), 1528,96 (s), 1320,89 (s), 1176,86 (s), 1152,70 (s), 1118,55 (s), 1051,42 (s), 816,49 (s), 786,63

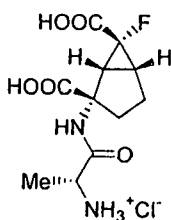
5 (s) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2 \cdot \text{CH}_4\text{O}_3\text{S}$: C, 33,76; H, 4,79; N, 6,06.

Encontrado: C, 33,98; H, 4,82; N, 5,98.

Ejemplo 44

10 Clorhidrato del ácido (1R,2S,5R,6R)-2-(2'R-aminopropionil)amino-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



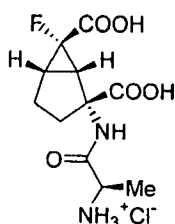
Se añaden 1,13 ml (2,8 mmol) de LiOH 2,5 N a una solución de 0,20 g (0,47
15 mmol) del Isómero A de la Preparación 60 en THF (1,2 ml) y se agita la mezcla
resultante durante la noche a temperatura ambiente. Se lava la solución con éter,
se neutraliza a 0°C con HCl 1N y se extrae con EtOAc (3 x 3 ml). Se secan las
fases orgánicas reunidas sobre MgSO_4 anhidro y se concentran a presión
reducida. Se disuelve el producto bruto en 3,76 ml de HCl 1N en EtOAc y se agita
20 durante la noche. Se decanta el disolvente, se lava con éter y se seca el producto
con una corriente de Ar, dando el compuesto del epígrafe (83. mg, 57% de
rendimiento) como un sólido blanco.

1013

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,28 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,64-1,69 (m, 1H), 1,86-2,02 (m, 1H), 2,11-2,21 (m, 3H), 2,54 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz), 3,84 (c, 1H, $J = 7,1$ Hz).

Ejemplo 45

- 5 Clorhidrato del ácido (1S,2R,5S,6S)-2-(2'R-aminopropionil)amino-6-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

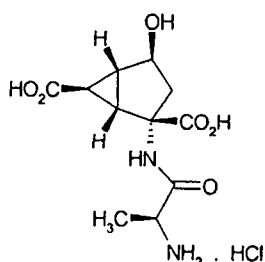


- Comenzando con una solución del Isómero B de la Preparación 60, se
10 prepara el compuesto del epígrafe esencialmente como en el Ejemplo 44.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,30 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,59-1,65 (m, 1H), 1,85-2,03 (m, 1H), 2,05-2,25 (m, 3H), 2,53 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz), 3,85 (c, 1H, $J = 7,1$ Hz).

Ejemplo 46

- 15 Clorhidrato del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionil)amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del

368
1044

ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,47 g, 1,1 mmol, Preparación 37) proporcionando 0,23 g (67,7%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -4,1$ (c=0,49, MeOH).

- 5 RMN de ^1H (CD_3OD) δ 1,51 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,56 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,77 (1H, dd, J = 5,8, 15,8 Hz), 2,1-2,13 (1H, m), 2,52 (1H, d, J = 16,1 Hz), 2,57 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 3,88 (1H, dd, J = 7,0, 14,3 Hz), 4,32 (1H, d, J = 5,5 Hz).

Anal. Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 1,1 \text{ HCl} \cdot 0,9 \text{ H}_2\text{O}$: C, 40,12; H, 5,80; N, 8,53. Encontrado: C, 39,85; H, 5,41; N, 8,36.

- 10 HRMS calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$, 295,0906. Encontrado, 295,0883.

- Los profármacos de la presente invención se pueden evaluar frente al compuesto principal correspondiente por diversos ensayos de recaptación celular. Estos ensayos pueden proporcionar datos comparativos que permitan a un experto en la técnica identificar compuestos que son absorbidos rápidamente en la célula proporcionando una exposición superior. Dos de tales ensayos incluyen el ensayo de recaptación de Gly-Sar y el ensayo Caco-2 descritos a continuación.
- 15

Ensayo de recaptación de Gly-Sar

- 20 Se ha observado que algunos fármacos peptidomiméticos administrados por vía oral se absorben a través del sistema transportador de péptidos intestinal, Yang, *et al.*, Pharm. Res. 16(9) (1999). En particular, el transportador de péptidos intestinal hPepT1 se ha estudiado para determinar su expresión de la inhibición de la recaptación de peptidilo y su correspondiente nivel de reconocimiento en una
- 25 célula. Meredith, *et al.*, Eur. J. Biochem., 267, 3723-3728 (2000). Además, la

10/5

caracterización del mecanismo de absorción intestinal de aminoácidos en el transportador hPepT1 se ha señalado como una estrategia eficaz para identificar absorciones de fármacos orales mejoradas. *Han, et al.*, Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem) 40(1): 259-260 (1999); *Sawada, et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther., 291(2): 705-709 (1999).

La patente de Estados Unidos N° 5.849.525 describe procedimientos que se podrían usar para medir el nivel de afinidad de los compuestos de la presente invención con el transportador hPepT1.

Por ejemplo, las células de Ovario de Hámster Chino (CHO) transfectadas de modo estable que sobreexpresan el transportador hPepT1 se podrían usar para ensayar compuestos de la presente invención. Las células CHO controlarían la recaptación de Gly-Sar que, cuando se produce la recaptación en presencia de compuestos profármacos de la presente invención lo hace en una cantidad mayor que cuando la célula esté exenta de compuestos profármacos de la presente invención será indicio de actividad agonista; y que cuando la recaptación de los compuestos profármacos de la presente invención sea menor que la recaptación en ausencia de compuestos profármacos de la presente invención será indicio de actividad inhibidora. Los compuestos de la presente invención presentan por lo general valores de CE_{50} menores que 5 mM.

Ensayo de Caco-2

Otro procedimiento particular para medir la recaptación de los compuestos de la presente invención en células es estudiar el vehículo transportador de péptidos de la línea celular Caco-2. Se realizan pases de células de adenocarcinoma humano (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Rye, NY, y/o

10/16

ATCC, Rockville, MD) en medio Eagle modificado por Dulbecco que contenía suero bovino fetal al 10% y solución de aminoácidos no esenciales en Medio Mínimo Esencial al 1% sin adición de piruvato sódico o antibióticos. Estas células estaban exentas de micoplasma y se usaron entre los pases número 28 y 40. Se desarrollan en discos multipocillo revestidos de colágeno para las medidas de flujo de 5 a 10×10^4 células durante 13 a 18 días y se reemplaza el medio cada dos a tres días.

La recaptación de fármaco se mide a 37°C usando un compuesto de ensayo empleando una técnica de aglomerado-bandeja (véase Gazzola, et al., Anal. Biochem. 115, 368-74 (1981)). El tampón de flujo es solución salina equilibrada con Earle exenta de bicarbonato que contiene 25 mM de Mes valorado hasta pH 6,0 con KOH y cloruro de colina en lugar de cloruro sódico. La osmolalidad del tampón de flujo se ajusta hasta 300 ± 5 mosmol/kg con cloruro de colina. Se usa [^3H]Inulina como marcador para el fluido extracelular que se adhiere a las células durante el procedimiento de lavado para estimar el tiempo cero para determinar la velocidad de recaptación. Se preparan a diario soluciones nuevas de compuestos de ensayo y dipéptidos. Al finalizar los experimentos, las células se lisan en agua, se pueden detectar los compuestos de ensayo en lisados celulares usando LC/MS/MS. La proteína se mide por el procedimiento descrito en Smith, et al., Anal. Biochem. 150, 76-85 (1985).

La recaptación se mide durante 40 minutos. Las velocidades de recaptación inicial se calculan en la región lineal de la regresión del transcurso de tiempo y un tiempo cero estimado como se ha descrito antes usando regresión lineal. La inhibición porcentual se calcula en base a la velocidad de recaptación control medida en ausencia de dipéptido. En Dantzig & Bergin, Biochim. Biophys. Acta

1017

1027, 211-17 (1990) pueden encontrarse ejemplos de este ensayo de Caco-2.

Exposición *in vivo* medida por Concentración de Plasma de Rata

Para estudiar la exposición *in vivo* de compuestos de Fórmula II después de la dosificación oral de compuestos de Fórmula I en comparación con compuestos de Fórmula II, se llevan a cabo estudios que miden las concentraciones plasmáticas del compuesto respectivo de Fórmula II en ratas. Se obtienen 344 ratas macho maduras Fischer (190-270 gramos) de Harlan Sprague-Dawley, Cumberland, IN, USA y se aclimatan en las instalaciones de estudio durante 3 días. El día 4 se disuelven los compuestos de ensayo en agua tamponada (1mg/ml = compuesto de ensayo /dihidrógenofosfato potásico 20 mM, pH=2) y se administran por vía oral en forma de dosis única de 5 mg/kg. Se obtienen muestras de sangre por punción cardiaca o en el seno orbital (último punto de tiempo) a 0,5 y 1 hora o, como alternativa, a 1 y 3 horas. Las muestras de plasma se almacenan a -20°C en presencia de fluoruro de fenilmetilsulfonilo, un inhibidor de proteasa, antes del análisis. Las muestras de plasma y los compuestos patrón interno se tratan previamente por extracción en fase sólida (soporte SAX, metanol/agua/ácido acético diluido).

Como se muestra en las Tablas 1A y 1B siguientes, las concentraciones plasmáticas (ng/ml del compuesto de Fórmula II respectivo para cada uno de los compuestos de ensayo se determinan por LC/MS/MS y se presentan como la suma de las concentraciones a los tiempos de muestra de 0,5 y 1 hora o, como alternativa, a 1 y 3 horas.

10/18

Tabla 1A	
Ensayo de exposición <i>in vivo</i>	
Compuesto	Exposición de la rata (ng/ml de clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-aminopropionil)amino-]-2,2-dioxo-2λ ⁶ -tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico)
Ejemplo 1	2251 ng/ml (después de 10 mg/kg oralmente)
Forma no profármaco del	1521 ng/ml (después de 5 mg/kg oralmente)
Ejemplo 1	3981 ng/ml (después de 10 mg/kg oralmente)

Tabla 1B	
Ensayo de exposición <i>in vivo</i>	
Compuesto	Exposición de la rata (ng/ml de clorhidrato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico)
Ejemplo 14	5271 ng/ml (después de 5 mg/kg oralmente)
Forma no profármaco del	1162 ng/ml (después de 5 mg/kg oralmente)
Ejemplo 14	1342 ng/ml (después de 10 mg/kg oralmente)

Como se muestra en las Tablas 1A y 1B, cuando se administran por vía oral a ratas, los compuestos de la presente invención presentan una concentración plasmática comparable a la del compuesto principal. Esto demuestra que los compuestos de la presente invención se convierten en los compuestos principales,

los compuestos de Fórmula II, *in vivo*.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente antes de la administración. Por tanto, otro aspecto de la presente invención es una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones farmacéuticas se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por un experto medio en la técnica. En la preparación de las composiciones de la presente invención, el ingrediente activo se mezclará normalmente con un vehículo, o estará diluido en un vehículo, o estará inmerso en un vehículo y puede estar en forma de cápsula, sobrecillo, papelillo u otro envase. Cuando el vehículo sirve como diluyente, éste puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúe como vehículo, excipiente o medio para el ingrediente activo. Las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, pastillas, polvos, tabletas, sobrecillos, grageas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles, pomadas que contienen, por ejemplo, hasta 10% en peso de compuesto activo, cápsulas de gelatina dura y blanda, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos enpaquetados estériles.

Algunos ejemplos de vehículos, excipientes y diluyentes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma, goma arábica, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, metilcelulosa, metil y propil hidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio y aceite mineral. Las formulaciones pueden incluir además agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes conservantes, agentes

edulcorantes o agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención se pueden formular de modo que proporcionen una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente empleando procedimientos bien conocidos en la técnica.

- 5 Las composiciones se formulan preferiblemente en una forma de dosis unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg de ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 300 mg de ingrediente activo. Tal y como se usa en la presente memoria, el término "ingrediente activo" se refiere a un compuesto incluido en el
- 10 alcance de la Fórmula I.

El término "forma de dosis unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como dosificación unitaria para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un

15 vehículo, diluyente o excipiente farmacéutico adecuado.

376
372
372
372

RESUMEN

- 5 Esta invención se refiere a profármacos de aminoácidos excitadores sintéticos y a procedimientos para su preparación. La invención se refiere además a procedimientos de uso y a composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos para el tratamiento de trastornos neurológicos y trastornos psiquiátricos.

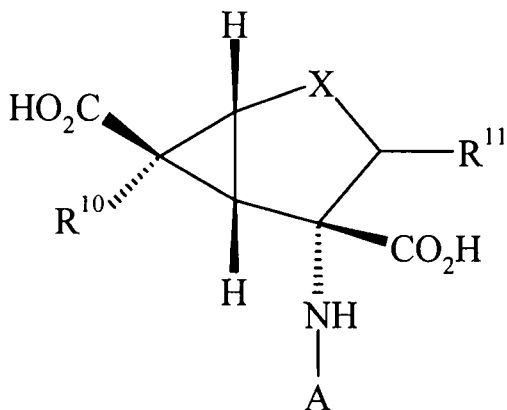
10

376
373
1822

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I

5



(I)

en la que:

A es H-(Q)_p⁻;

- 10 Q se selecciona independientemente, cada vez que aparece, del grupo aminoacilo derivado de un aminoácido seleccionado del grupo consistente en aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales seleccionados de isómeros tipo D de los aminoácidos naturales; Aib (ácido aminobutírico), Nva(norvalina), β-Ala, Aad (ácido aminoadípico), β Aad
15 (ácido 3-aminoadípico), Abu(ácido 2- aminobutírico), Gaba (ácido γ aminobutírico), Acp (ácido 6-aminocaproico), Dbu (ácido 2,4-

37
37A
1023

diaminobutírico), ácido α aminopimelico, TMSA (trimetilsilil-Ala), aIle(allo-
isoleucina), Nle (Norleucina), tert-Leu, Cit (Citrulina), orn, Dpm, (ácido 2,2'-
diaminopimelico), Dpr (ácido 2,3- diaminopropionico), Nal α ó β , Ch α
(ciclohexil Ala), hidroxiprolina, Sar (sarcosina), O-metil tirosina, fenilglicina;

5 aminoácidos cíclicos; aminoácidos N $^{\alpha}$ alquilados, donde los aminoácidos N $^{\alpha}$
alquilados son N $^{\alpha}$ (1-10C) alquil aminoácidos tales como MeGly (N $^{\alpha}$ -
metilglicina), EtGly (N $^{\alpha}$ etilglicina) y Et Asn (N $^{\alpha}$ etilasparagina) y
aminoácidos en los cuales el carbono α presenta sustituyentes de cadena
en dos lasdos.

10 p es un número entero de 1 a 10;

X es SO₂;

R¹⁰ es hidrógeno o fluoro; y

R¹¹ es hidrógeno, fluoro, o hidroxí;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

15

2. El compuesto o sal según la reivindicación 1, en el que p es
un número entero de 1 a 3.

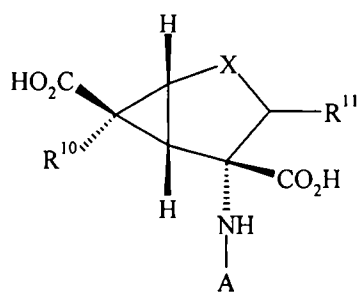
3. El compuesto o sal según la reivindicación 1, en el que p es 1.

20

378
1074
375

4. . El compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que Q es un aminoacilo derivado de un aminoácido natural

5 5. Un compuesto de Fórmula I



(I)

en el que:

10 A es H-(Q)_p⁻;

Q es glicil, alanil, valil, leucil, isoleucil, prolil, ,fenilalanil, tisosil, triptofil, metionil, lisil, metionil, lisil, o serinil, o serinil.

p es un entero de 1 a 10;

X es SO₂;

15 R¹⁰ es hidrógeno o flúor; y

R¹¹ es hidrógeno, flúor o hidroxil;

o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo

379
1025
BIO

6. El compuesto o sal según la reivindicación 5, en el que p es un número entero de 1 a 3

5 7. El compuesto o sal según la reivindicación 5, en el que p es 1.

8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde Q es metionil.

10 9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde R¹⁰ es hidrógeno.

(10. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde R¹¹ es hidrógeno.

15

11. Una sal farmacéuticamente aceptable según las reivindicaciones 1a 5, que es una sal de adición de ácidos preparada con un ácido que proporciona un anión farmacéuticamente aceptable; una sal de adición de bases preparada con una base que proporciona un anión
20 farmacéuticamente aceptable para un compuesto que contiene un dominio

380
1026
276

ácido; o un compuesto bipolar que contiene grupos con carga opuesta.

12. Un compuesto según las reivindicaciones 1a 5, en el que

A es H-(Q)_p-;

5 Q es L-alanil;

p es 1;

X es SO₂ ;

R¹⁰ es hidrógeno; y

R¹¹ es hidrógeno;

10 o la sal clorhidrato, sal tosilato, sal mesilato, sal esilato, sal besilato o
sal monosódica del mismo.

13. El compuesto según la reivindicación 12 que es clorhidrato del

ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-aminopropionil)amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-

15 biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico o tosilato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-

(2'S-2'-aminopropionil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-

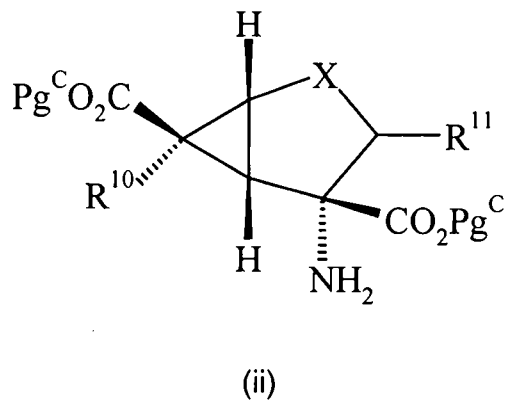
dicarboxílico.

14. Un procedimiento para preparar un compuesto de Fórmula I, o

20 una de sus sales farmacéuticamente aceptables, según las reivindicaciones

21
1027
230

1 a 13, que comprende acilar un compuesto de fórmula (ii)



5 con un aminoacilo de Fórmula III correspondiente



en el que Pg^{N} es un grupo protector de nitrógeno;

10 a continuación, para cualquiera de los procedimientos anteriores, cuando se protege un grupo funcional usando un grupo protector, retirar el grupo protector; a continuación, para cualquiera de los procedimientos anteriores: cuando se requiere una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmula I, hacer reaccionar la forma básica de dicho

15 compuesto de Fórmula I con un ácido proporcionando un contraión farmacéuticamente aceptable; o para un compuesto de Fórmula I que tiene un resto ácido, hacer reaccionar la forma ácida de dicho compuesto de

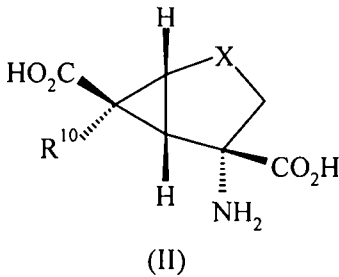
302
1077
379

Fórmula I con una base que proporcione un catión farmacéuticamente aceptable; o para un compuesto de Fórmula I bipolar, neutralizar la forma de sal de adición de ácidos o la forma de sal de adición de bases de dicho compuesto de Fórmula I; o por cualquier otro procedimiento convencional.

5

15. Un Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para uso en terapia.

16. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las
10 reivindicaciones 1 a 13 para la manufactura de un medicamento para la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula II,



en la que X y R^{10} son como se definen en la reivindicación 1.

15 17. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 13 para tratar un trastorno neurológico en un paciente.

383
102
300

18. El compuesto de la reivindicación 17, en el que dicho trastorno neurológico es deficiencias cerebrales después de derivación cardiaca e injerto; isquemia cerebral; traumatismo de la médula espinal; traumatismo craneal; enfermedad de Alzheimer; corea de Huntington; 5 esclerosis lateral amiotrófica; demencia inducida por SIDA; hipoxia perinatal; lesión neuronal hipoglucémica; lesión ocular y retinopatía; trastornos cognitivos; enfermedad de Parkinson idiopática e inducida por fármacos; espasmos musculares; cefaleas migrañosas; incontinencia urinaria; tolerancia, deshabitación, abandono y deseo irreprimible de 10 drogas; abandono del tabaco; emesis; edema cerebral; dolor crónico; trastornos del sueño; convulsiones; síndrome de Tourette; trastorno con déficit de atención; y discinesia tardía.

19. El compuesto de la reivindicación 18, en el que dicho 15 trastorno neurológico es tolerancia, deshabitación, abandono y deseo irreprimible de drogas; o abandono del tabaco.

20. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 13, para tratar un desorden psiquiátrico en un paciente.

20

304
10/10
20/1

21 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 20 en el que dicho trastorno psiquiátrico es esquizofrenia, ansiedad y trastornos relacionados, depresión, trastornos bipolares, psicosis y trastornos obsesivo-compulsivos.

5

22. El compuesto de la reivindicación 21, en el que dicho trastorno psiquiátrico es ansiedad y trastornos relacionados.

23. El compuesto de la reivindicación 21, en el que dicho
10 trastorno psiquiátrico es esquizofrenia.

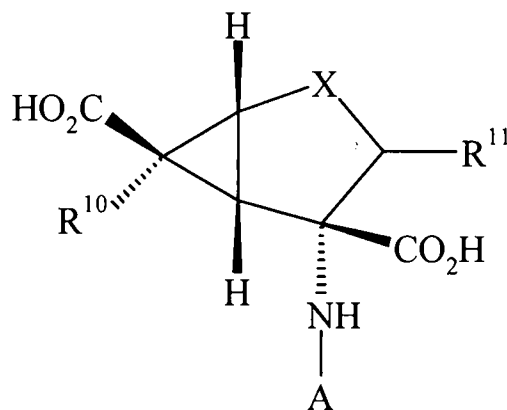
24. Una formulación farmacéutica que comprende, en asociación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 13.

15

1060
385
OK

CAPITULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

- 5 1. Un compuesto de Fórmula I



(I)

en la que:

- 10 A es $\text{H}-(\text{Q})_{\text{p}^-}$;

Q se selecciona independientemente, cada vez que aparece, del grupo aminoacilo derivado de un aminoácido seleccionado del grupo consistente en aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales seleccionados de isómeros tipo D de los aminoácidos naturales; Aib (ácido aminobutírico), Nva(norvalina), β -Ala, Aad (ácido aminoadípico), β Aad (ácido 3-aminoadípico), Abu(ácido 2- aminobutírico), Gaba (ácido γ

aminobutírico), Acp (ácido 6-aminocaproico), Dbu (ácido 2,4-
diaminobutírico), ácido α aminopimelico, TMSA (trimetilsilil-Ala), alle(allo-
isoleucina), Nle (Norleucina), tert-Leu, Cit (Citrulina), orn, Dpm, (ácido 2,2'-
diaminopimelico), Dpr (ácido 2,3- diaminopropionico), Nal α ó β , Cha
5 (ciclohexil Ala), hidroxiprolina, Sar (sarcosina), O-metil tirosina, fenilglicina;
aminoácidos cíclicos; aminoácidos N ^{α} alquilados, donde los aminoácidos N ^{α}
alquilados son N ^{α} (1-10C) alquil aminoácidos tales como MeGly (N ^{α} -
metilglicina), EtGly (N ^{α} etilglicina) y Et Asn (N ^{α} etilasparagina) y
aminoácidos en los cuales el carbono α presenta sustituyentes de cadena
10 en dos lados.

p es un número entero de 1 a 10;

X es SO₂;

R¹⁰ es hidrógeno o fluoro; y

R¹¹ es hidrógeno, fluoro, o hidroxil;

15 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. El compuesto o sal según la reivindicación 1, en el que p es
un número entero de 1 a 3.

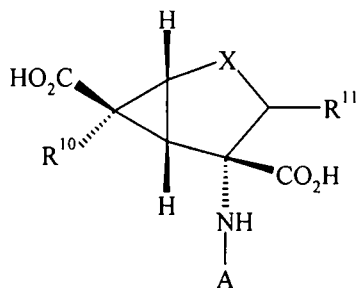
3. El compuesto o sal según la reivindicación 1, en el que p es 1.

4. El compuesto o sal según una cualquiera de las
20 reivindicaciones 1 a 3, en el que Q es un aminoácido derivado de un

4062
X-387

aminoácido natural

5. Un compuesto de Fórmula I



(I)

5

en el que:

A es H-(Q)_p⁻;

Q es glicil, alanil, valil, leucil, isoleucil, prolil, ,fenilalanil, tiosil, triptofil, metionil, lisil, metionil, lisil, o serinil, o serinil.

10

p es un entero de 1 a 10;

X es SO₂;

R¹⁰ es hidrógeno o flúor; y

R¹¹ es hidrógeno, flúor o hidroxil;

o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo

15

6. El compuesto o sal según la reivindicación 5, en el que p es un número entero de 1 a 3

7. El compuesto o sal según la reivindicación 5, en el que p es 1.

1063
2388

8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde Q es metionil.

9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde R¹⁰ es hidrógeno.

5 10. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde R¹¹ es hidrógeno.

11. Una sal farmacéuticamente aceptable según las reivindicaciones 1a 5, que es una sal de adición de ácidos preparada con un ácido que proporciona un anión farmacéuticamente aceptable; una sal
10 de adición de bases preparada con una base que proporciona un anión farmacéuticamente aceptable para un compuesto que contiene un dominio ácido; o un compuesto bipolar que contiene grupos con carga opuesta.

12. Un compuesto según las reivindicaciones 1a 5, en el que

A es H-(Q)_p⁻;

15 Q es L-alanil;

p es 1;

X es SO₂ ;

R¹⁰ es hidrógeno; y

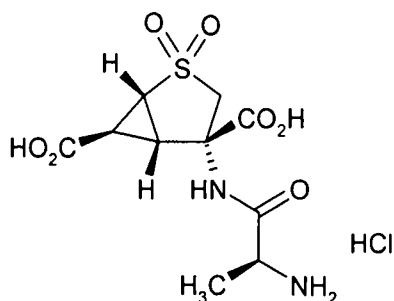
R¹¹ es hidrógeno;

20 o la sal clorhidrato, sal tosilato, sal mesilato, sal esilato, sal besilato o

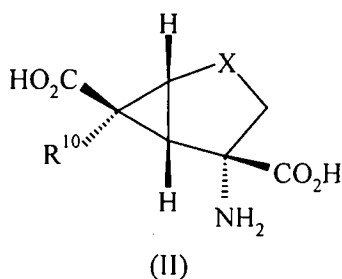
1064 389
X3

sal monosódica del mismo.

13. El compuesto según la reivindicación 12 que es clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-aminopropionil)amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico o tosilato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-2'-aminopropionil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico.



14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la manufactura de un medicamento para la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula II,



en la que X y R¹⁰ son como se definen en la reivindicación 1.

1065
390
X

15. Una formulación farmacéutica que comprende, en asociación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 13.

5



US005688826A

United States Patent [19][11] **Patent Number:** 5,688,826**Massey et al.**[45] **Date of Patent:** Nov. 18, 1997[54] **EXCITATORY AMINO ACID DERIVATIVES**

- [75] **Inventors:** Steven Marc Massey; James Allen Momm; Matthew John Valli, all of Indianapolis, Ind.
- [73] **Assignee:** Eli Lilly and Company, Indianapolis, Ind.
- [21] **Appl. No.:** 749,140
- [22] **Filed:** Nov. 14, 1996

Related U.S. Application Data

- [60] **Provisional application No.** 60/006,864, Nov. 10, 1995.
- [51] **Int. Cl.⁶** **A61K 31/38; C07D 307/77**
- [52] **U.S. Cl.** **514/443; 514/409; 514/412; 514/462; 514/469; 548/410; 548/452; 549/57; 549/344**
- [58] **Field of Search** **514/409, 412, 514/443, 462, 469; 548/410, 452; 549/57, 344**

[56] **References Cited****U.S. PATENT DOCUMENTS**

- 2,572,842 10/1951 MacDonald 514/409
- 4,536,330 8/1985 Doden et al. 514/409

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

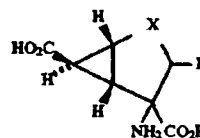
- 696577 2/1996 European Pat. Off. .
- WO 95/15940 6/1995 WIPO .
- WO 96/04900 2/1996 WIPO .
- WO 96/04901 2/1996 WIPO .
- WO 96/05175 2/1996 WIPO .
- WO 96/07405 3/1996 WIPO .

OTHER PUBLICATIONS

- D. Schoepp, et al., "Selective Inhibition of Forskolin-stimulated Cyclic AMP Formation in Rat Hippocampus by a Novel mGluR Agonist, 2R, 4R-1-aminopyrrolidine-2,4-dicarboxylate", *Neuropharmacology*, 34(8), 843-850 (1995).
- D. Schoepp, et al., "Pharmacological and functional characteristics of metabotropic excitatory amino acid receptors", *TIPS*, 11(12), 508-515 (1990).
- D. Schoepp, et al., "Metabotropic glutamate receptors in brain function and pathology", *TIPS*, 14, 13-20 (1993).
- Gillespie, et al., "The Reaction of Diazoalkanes with Thiophen", *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, No. 7, 2624-2628 (1979).

Primary Examiner—Joseph McKane**Assistant Examiner**—Richard S. Myers, Jr.**Attorney, Agent, or Firm**—Martin A. Hay; David E. Boone[57] **ABSTRACT**

Compounds for formula I



in which X represents O, NR^a, S, SO or SO₂ and R is as defined in the specification; and non-toxic metabolically labile esters or amides thereof; and pharmaceutically acceptable salts thereof are useful as modulators of metabotropic glutamate receptor function.

14 Claims, No Drawings

EXAMPLE 6

1SR,4RS,5RS,6RS-4-Amino-(2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane)-4,6-dicarboxylic Acid

(a) (1SR,4RS,5RS,6RS) Ethyl (4-spiro-5'-hydantoin)-[2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane]-6-carboxylate. m-CPBA (1.56 g, 5.0 mmol) was added in one portion to a room temperature solution of the product from Example 4(d) (0.51 g, 2.0 mmol) in EtOAc (50 mL) and stirred at room temperature until the reaction was judged complete by TLC. The reaction was diluted with 10% NaHCO₃ and the product extracted with EtOAc. All organics were combined, washed with brine, dried over Na₂SO₄, and purified by prep HPLC (10% EtOAc/hexanes to 50% EtOAc/hexanes) to afford 0.21 g (0.73 mmol, 36%) of the title compound. mp>275° C. FDMS: M⁺=288. Anal. calcd. for C₁₀H₁₂N₂O₆S.0.4 m-chlorobenzoic acid: C, 43.81; H, 4.02; N, 7.98; S, 9.14. Found: C, 43.87; H, 4.04; N, 7.96; S, 9.44.

(b) (1SR,4RS,5RS,6RS) 4-Amino-(2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane)-6-carboxylate. A solution of the product of (a) (0.14 g, 0.49 mmol) in 2N NaOH (10 mL) was warmed under reflux overnight. The reaction mixture was acidified to pH=1 with 5N HCl and concentrated to dryness. The product was reconstituted in H₂O at pH=12, applied to BioRad® AG1-X8 anion exchange resin, and eluted with 3N AcOH to afford 0.10 g (87%, 0.43 mmol) of the title compound. mp>250° C. FDMS: M⁺+1=236. Anal. calcd. for C₇H₉NO₆S.0.5 H₂O: C, 34.43; H, 4.13; N, 5.74. Found: C, 34.29; H, 3.98; N, 5.45.

EXAMPLE 7

1SR,3RS,4SR,5RS,6SR-3-((3-chloro-4-fluoro)benzyl)-4-amino-2-oxabicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic Acid

(a) 1SR,5SR,6SR-Ethyl-3-((3-chloro-4-fluoro)benzylidene)-2-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-one-6-carboxylate. A solution of the product of Example 1(f) (4.3 g, 25.2 mmole), 3-chloro-4-fluorobenzaldehyde (8.0 g, 50.4 mmol) and pyrrolidine (0.9 g, 12.6 mmol) in EtOH (100 mL) was stirred at room temperature for 18 h. The reaction mixture was concentrated to dryness and the residue was purified by HPLC (5% EtOAc/hexane to 50% EtOAc/hexane) yielding 4.2 g (53%) of the title compound. mp=110°-112° C. FDMS: M⁺=310. Anal. calcd. for C₁₅H₁₂ClFO₄: C, 57.99; H, 3.89. Found: C, 57.92; H, 3.75.

(b) 1SR,3RS,5SR,6SR-Ethyl-3-((3-chloro-4-fluoro)benzyl)-2-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-one-6-carboxylate and 1SR,3RS,5SR,6SR-Ethyl-3-((3-chloro-4-fluoro)benzyl)-2-oxabicyclo[3.1.0]hexan-4-one-6-carboxylate. The title mixture of compounds was prepared employing the product of step (a) (8.8 g, 28.3 mmol), Raney Ni (0.2 g), EtOAc and hydrogen at 40 psi for 15 minutes. Due to over reduction of the ketone the crude product was oxidized using pyridinium chlorochromate and powdered sieves yielding 6.8 g of crude ketone. The residue was purified by HPLC (5% EtOAc/hexane to 50% EtOAc/hexane) yielding 5.2 g (58%) of the title mixture of compounds. FDMS: M⁺=312. Anal. calcd. for C₁₅H₁₄ClFO₄: C, 57.61; H, 4.51. Found: C, 56.98; H, 4.70.

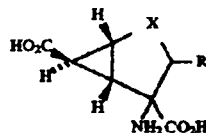
(c) 1SR,3RS,4SR,5RS,6SR-Ethyl-3-((3-chloro-4-fluoro)benzyl)-4-spiro-5'-hydantoin-2-oxabicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate. The title compound was prepared employing the product of step (b) (1.0 g, 3.2 mmol), ammonium carbonate (0.75 g, 9.6 mmol) and KCN (0.25 g, 3.8 mmol) in a 1:1 EtOH/water mixture. The reaction mixture was

heated at 35°-40° C. for 48 h. The reaction mixture was partitioned between water and EtOAc. After extraction with EtOAc, the organic layer was dried with MgSO₄, concentrated and purified using radial chromatography (EtOAc/Hexane) to yield 0.18 g (14%) of the product hydantoin. Crystallization of the product from chloroform yielded white solids. mp=224°-226° C. FDMS: M⁺=382. Anal. calcd. for C₁₇H₁₆ClFN₂O₅.0.5 CHCl₃: C, 47.51; H, 3.75; N, 6.33. Found: C, 47.87; H, 3.69; N, 6.22.

(d) 1SR,3RS,4SR,5RS,6SR-3-((3-chloro-4-fluoro)benzyl)-4-amino-2-oxabicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid. The title compound was prepared employing the product of step (c) (0.1 g, 0.26 mmol) and 1N NaOH (10 mL) at reflux for 48 h. The reaction mixture was adjusted to a pH=10 with 1N HCl and anion exchange performed on the crude product. The product was recrystallized from H₂O and dried in a vacuum oven at 70° C. to yield 8 mg (9%) of the title compound. mp=250°-251° C. FDMS: M⁺=330.

We claim:

1. A compound of the formula



in which X represents O, NR^a, S, SO or SO₂; R represents a hydrogen atom; a (1-6C) alkyl group; a (2-6C) alkenyl group; a (2-6C) alkynyl group; an optionally substituted aromatic group; an optionally substituted heteroaromatic group; a non-aromatic carbocyclic group; a non-aromatic heterocyclic group; a non-aromatic monocyclic carbocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups; a non-aromatic monocyclic heterocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups; or a (1-6C) alkyl, (2-6C) alkenyl or (2-6C) alkynyl group which is substituted by one, two or three groups selected independently from an optionally substituted aromatic group, an optionally substituted heteroaromatic group, a non-aromatic carbocyclic group, a non-aromatic heterocyclic group, a non-aromatic monocyclic carbocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups and a non-aromatic monocyclic heterocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups; R^a represents hydrogen or a group of formula (CO)_nR^b; n is 0 or 1; and R^b is as defined for R; or a non-toxic metabolically labile ester or amide thereof; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

2. A compound as claimed in claim 1, in which R^a represents hydrogen.

3. A compound as claimed in claim 1, in which X represents O or S.

4. A compound as claimed in claim 1, in which R represents a hydrogen atom or a phenyl (1-4C) alkyl or diphenyl(1-4C) alkyl group which is unsubstituted or substituted on phenyl by one or two substituents selected independently from halogen, (1-4C) alkyl, (1-4C) alkoxy and phenyl.

5. A compound as claimed in claim 1, which has the stereochemistry shown below.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado
CARLOS R. OLARTE
Apoderado

ASUNTO	Radicación	04122695
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio	Nº 1 5 5 5 8
	Folios	396

Patente de Invención	☐	Patente de Modelo de Utilidad	☐
Vía Nacional	☐		
Vía PCT (fase nacional)	☒	Cap. I	☐
		Cap. II	☒
No. Sol. Internacional	PCT/US03/15405		
Fecha de Presentación Internal.	6/06/2003		

Como resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

- 1.1. Descripción: Folios 178 a 375 solicitud de divisional no aceptada inicialmente
- 1.2. Reivindicaciones: Folios 376 a 384 solicitud de divisional no aceptada inicialmente por lo cual se encuentra en la divisional original
Folios 385 a 390 reivindicaciones de la solicitud de divisional modificadas como respuesta del solicitante al artículo 45 de la divisional original
- 1.3. Prioridad: Fecha: 11/06/2002 y 3/10/2002,
País: EP y US,
Número: 02380120.2
02380121.0
60/415.936
60/415.937

2. Objeto de la invención

- Título de la solicitud: **PROFÁRMACOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES.**
número de folio: 2.

El objeto de la presente solicitud de patente de invención consiste en:

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de compuestos útiles para trastornos neurológicos y psiquiátricos que mejoren la potencia in vivo del compuesto precursor respectivo y produzcan mayor exposición oral del precursor con mayor biodisponibilidad oral.

Para solucionar este problema técnico la solicitud en estudio proporciona profármacos de aminoácidos sintéticos para el tratamiento de trastornos neurológicos y trastornos psiquiátricos.

Clasificación Internacional de Patentes (IPC.): A61K38/05

3. De la solicitud de Patente

3.1. Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

Una vez revisado el capítulo reivindicatorio esta dependencia encuentra:

- Reivindicación 5, 7 -13: Se está reivindicando un derivado de aminoácido ya reivindicado en la solicitud original por lo cual esta reivindicación no se acepta en la presente solicitud de divisional y no será tomada en cuenta para examen.
- Reivindicación 14: Se está caracterizando un compuesto por su uso posterior para la manufactura de un medicamento y además con un sustituyente Q que ya se encontraba contenido en la solicitud de divisional original o madre por lo cual no será tomada en cuenta para este examen además un compuesto se caracteriza únicamente por su fórmula estructural o por su nomenclatura química IUPAC y no se debería repetir materia si se divide la solicitud.

En este sentido se requiere al interesado para que realice las modificaciones correspondientes a fin de subsanar las no conformidades encontradas por este Despacho.

4. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha que se ha tenido en cuenta para determinar el Estado de la Técnica es:

Fecha de presentación de la solicitud prioritaria 11/06/2002

Teniendo en cuenta la fecha indicada se realizó la búsqueda en el estado de la técnica de documentos relacionados con la solicitud encontrándose los siguientes documentos más relevantes:

Nº	Documento	Título	Fecha de publicación*
D ₁	US5688826	EXCITATORY AMINO ACID DERIVATIVES	18/11/1997

5. Análisis de patentabilidad (artículo 14 D486)

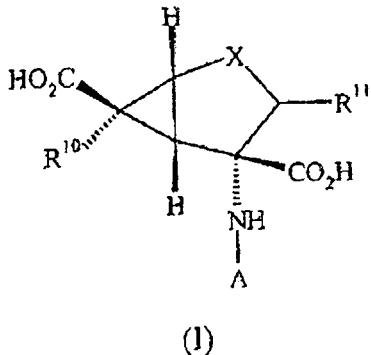
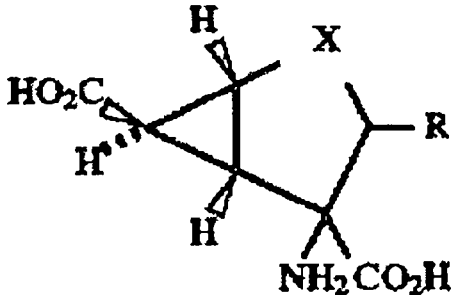
5.1. Nivel inventivo (artículo 18 D486)

La presente Solicitud de Patente reivindica (de 1 – 4 y 6) un compuesto de la siguiente fórmula general y (15) una formulación que comprende dicho compuesto más un vehículo, diluyente o excipiente:

Dicho compuesto se ve afectado por el siguiente documento más cercano del Estado de la Técnica:

D₁ que enseña según tabla 1-A (ver folio 391, abstract) compuestos útiles como moduladores del receptor de glutamato metabotrópico.

TABLA 1-A

SOLICITUD		ANTERIORIDAD (D ₁)		comparación
(I)		(I)		
R ₁₀	H		H	IGUAL
X	SO ₂	X	SO ₂	IGUAL
A	H-(Q) ₁₋₁₀ ⁻ Q se selecciona independientemente del grupo amino acilo derivado de un aminoácido natural o no natural		H	DIFERENTE grupo amino acilo o aminoácido adicional
R ₁₁	H	R	H	IGUAL

La única **diferencia con D₁** es que esta solicitud **no posee un aminoácido según el listado de aminoácidos de la reivindicación 1** como sustituyente adicional pero esta diferencia no parece conceder una ventaja que otorgue un salto tecnológico excepcional ya que es obvio para un experto en la materia que la administración de una forma profármaco de un compuesto se convierta en el principio activo deseado en el organismo y su biodisponibilidad se ve incrementada por esta causa.

De esta forma **no puede determinarse un efecto técnico** que logre la diferencia con la anterioridad encontrada ya que a pesar de realizarse ensayos de recaptación de Gly-Sar folios 368 - 369 (paginas 190-191) donde los compuestos presentan valores de CE₅₀ menores de 5mM lo cual verifica la actividad del compuesto en sus patologías específicas y ya que a pesar de presentar estudios de exposición in vivo medida por concentración de plasma de rata donde se observa que la forma no profármaco del ejemplo 1 y del ejemplo 14 de la solicitud cuando se administran por vía oral presentan una concentración plasmática comparable a la del principio activo lo cual demuestra que los compuestos de la solicitud se convierten en los compuestos activos in vivo (folios 636-637- paginas 193-194), solamente se podría concluir que **el Problema Técnico Objetivo fundamental** de la Invención Reivindicada se define

en: "Cómo conseguir profármacos de los compuestos aminoácidos excitadores que efectivamente se conviertan a la forma activa de agonistas mGluR2 más no conlleva a concluir que haya potencia in vivo aumentada y mayor biodisponibilidad.

Adicionalmente los ensayos se realizan solamente con los ejemplos 1 y 14 que tienen como sustituyente adicional solamente dos de los múltiples aminoácidos específicos reivindicados en esta divisional; por lo tanto los compuestos y composiciones reivindicados se consideran tan solo una alternativa, sin algún salto tecnológico que lo haga superior a **lo previamente conocido**.

De acuerdo a las consideraciones expuestas anteriormente, resultaría obvio el diseño de este tipo de compuestos y composiciones para un experto en la materia por lo cual no se considera que esta solicitud tenga actividad inventiva.

6. Conclusión:

Los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud se encuentran afectados así:

N°	Documento N°	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D ₁	US5688826	1-4	NIVEL INVENTIVO

7. Respuesta a los argumentos del solicitante:

- Este despacho no considera como un argumento válido el hecho de que haya sido otorgada la patente en otros países como lo sugiere el solicitante ya que cada país es responsable de sus propios exámenes de patentabilidad.
- El solicitante recalca su derecho a realizar divisionales en cualquier momento del trámite siempre y cuando no se amplíe el objeto inicial e insiste en presentar las divisionales las cuales procedemos a examinar.

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de 60 días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 05 DIC. 2008

CONCEPTO TÉCNICO No. 3189	EXAMINADOR TÉCNICO Código No. 202087
-------------------------------------	--

vol