Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** 03-45865

54. **TÍTULO** Nuevos derivados de Acido madelico y su uso como Inhibidores de trombina

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** AGIK 31/397 COTD 205/04

71. **SOLICITANTE** Astrazeneca AB

DOMICILIO Sodertalje - Suecia

74. **APODERADO** Ramiro Castro Duque

22. **BOGOTÁ, D. C.,** _____

(FORMA P-10)

PETITORIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

AS: 91.068

03 045865 00

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ Capítulo I. ☒ Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: **ASTRAZENECA AB** Dirección: S-151 85 Sodertalje, Suecia Nacionalidad o Domicilio: Suecia Lugar de Constitución: Suecia Teléfono: Fax: E-mail	**IDENTIFICACION** C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual____ Número
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: RAMIRO CASTRO DUQUE Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9 Teléfono: 380-2200 Fax: 380-2700 E-mail:	**IDENTIFICACION** C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual____ Número 170.322 TP 1003
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: Tord Inghardt, Anders Johansson, Arne Svensson Dirección:AstraZeneca, R & D, S-431 83 Mölndal, Suecia (Respectivamente) Nacionalidad o Domicilio: SUECIA (Respectivamente)	

5 PCT (86)
Solicitud Internacional No. PCT/SE01/02657 Fecha 30-11-2001
Publicación Internacional No. WO 02/44145 A1 Fecha 06-06-2002

8 Título (54): NUEVOS DERIVADOS DE ÁCIDO MANDÉLICO Y SU USO COMO INHIBIDORES DE TROMBINA

7 Clasificación Internacional (51) A 61 K 31/397, C 07 D 205/04

8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	SE	01-12-2000	0004458-6
	SE	19-03-2001	0100965-3
	SE	06-04-2001	0101239-2
	SE	30-08-2001	0102921-4

9 Comprobante de pago No. 03-28.719 **Fecha** 29-05-2003

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10 ANEXOS

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. $400.000
- [ ] Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- [ ] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso. Fotocopia Autenticada Anexa
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [ ] Declaraciones
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [x] Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- [ ] Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12x12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:

12 Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE: RAMIRO CASTRO DUQUE

FIRMA:

C.C. 170.322 de Bogotá T.P. 1003 del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

9

SUPERINTENDENCIA DE SOCIEDADES
Radicacion : 03045865 000000v0 Folios: 318
Fecha (mm/dd): 04/25/03 11:14:17
Tramite : 411 INSCRIPCION 379 Clase Vig.: 411 INSCRIPCION
Dependencia: 2000 DIVISION DE REGISTRO SOCIETARIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 28,719
FECHA : ABRIL 24 DE 2003

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	7392588	24/04/2003	17,550,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	400,000.00
		TOTAL : $	400,000.00

SON: CUATROCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

Folio 4 Correspondía
Ficha por Adbramarilla.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
6 June 2002 (06.06.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/44145 A1

(51) International Patent Classification[7]: C07D 205/04, 207/10, 401/12, 403/12, C07C 47/575, 59/52, 59/64, 69/734, A61K 31/397, 31/401, 31/4427, 31/506, A61P 7/02

(21) International Application Number: PCT/SE01/02657

(22) International Filing Date:
30 November 2001 (30.11.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

0004458-6	1 December 2000 (01.12.2000)	SE
0100965-3	19 March 2001 (19.03.2001)	SE
0101239-2	6 April 2001 (06.04.2001)	SE
0102921-4	30 August 2001 (30.08.2001)	SE

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: ASTRAZENECA AB [SE/SE]; S-151 85 Södertälje (SE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: INGHARDT, Tord [SE/SE]; AstraZeneca, R & D, S-431 83 Mölndal (SE). JOHANSSON, Anders [SE/SE]; AstraZeneca R & D, S-431 83 Mölndal (SE). SVENSSON, Arne [SE/SE]; AstraZeneca R & D, S-431 83 Mölndal (SE).

(74) Agent: ASTRAZENECA AB; Global Intellectual Property, S-151 85 Södertälje (SE).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)*

— *of inventorship (Rule 4.17(iv)) for US only*

Published:

— *with international search report*

— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/44145 A1

(54) Title: NEW MANDELIC ACID DERIVATIVES AND THEIR USE AS THROBIN INHIBITORS

(57) Abstract: There is provided a compound of formula (I) wherein R^a, R^1, R^2, Y and R^4 have meanings given in the description and pharmaceutically-acceptable derivatives (including prodrugs) thereof, which compounds and derivatives are useful as, or are useful as prodrugs of, competitive inhibitors of trypsin-like proteases, such as thrombin, and thus, in particular, in the treatment of conditions where inhibition of thrombin is required (e.g. thrombosis) or as anticoagulants.

NEW MANDELIC ACID DERIVATIVES AND THEIR USE AS THROMBIN INHIBITORS

Field of the Invention

This invention relates to novel pharmaceutically useful compounds, in particular compounds that are, and/or compounds that are metabolised to compounds which are, competitive inhibitors of trypsin-like serine proteases, especially thrombin, their use as medicaments, pharmaceutical compositions containing them and synthetic routes to their production.

Background

Blood coagulation is the key process involved in both haemostasis (i.e. the prevention of blood loss from a damaged vessel) and thrombosis (i.e. the formation of a blood clot in a blood vessel, sometimes leading to vessel obstruction).

Coagulation is the result of a complex series of enzymatic reactions. One of the ultimate steps in this series of reactions is the conversion of the proenzyme prothrombin to the active enzyme thrombin.

Thrombin is known to play a central role in coagulation. It activates platelets, leading to platelet aggregation, converts fibrinogen into fibrin monomers, which polymerise spontaneously into fibrin polymers, and activates factor XIII, which in turn crosslinks the polymers to form insoluble fibrin. Furthermore, thrombin activates factor V and factor VIII leading to a "positive feedback" generation of thrombin from prothrombin.

By inhibiting the aggregation of platelets and the formation and crosslinking of fibrin, effective inhibitors of thrombin would be expected to exhibit antithrombotic activity. In addition, antithrombotic activity would be expected to be enhanced by effective inhibition of the positive feedback mechanism.

Prior Art

The early development of low molecular weight inhibitors of thrombin has been described by Claesson in Blood Coagul. Fibrinol. (1994) 5, 411.

Blombäck *et al* (in J. Clin. Lab. Invest. 24, suppl. 107, 59, (1969)) reported thrombin inhibitors based on the amino acid sequence situated around the cleavage site for the fibrinogen Aα chain. Of the amino acid sequences discussed, these authors suggested the tripeptide sequence Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, hereinafter referred to as the P3-P2-P1 sequence) would be the most effective inhibitor.

Thrombin inhibitors based on dipeptidyl derivatives with an α,ω-aminoalkyl guanidine in the P1-position are known from US Patent N° 4,346,078 and International Patent Application WO 93/11152. Similar, structurally related, dipeptidyl derivatives have also been reported. For example International Patent Application WO 94/29336 discloses compounds with, for example, aminomethyl benzamidines, cyclic aminoalkyl amidines and cyclic aminoalkyl guanidines in the P1-position (International Patent Application WO 97/23499 discloses prodrugs of certain of these compounds); European Patent Application 0 648 780, discloses compounds with, for example, cyclic aminoalkyl guanidines in the P1-position.

Thrombin inhibitors based on peptidyl derivatives, also having cyclic aminoalkyl guanidines (e.g. either 3- or 4- aminomethyl-1-amidino-piperidine) in the P1-position are known from European Patent Applications 0 468 231, 0 559 046 and 0 641 779.

Thrombin inhibitors based on tripeptidyl derivatives with arginine aldehyde in the P1-position were first disclosed in European Patent Application 0 185 390.

More recently, arginine aldehyde-based peptidyl derivatives, modified in the P3-position, have been reported. For example, International Patent Application WO 93/18060 discloses hydroxy acids, European Patent Application 0 526 877 des-amino acids, and European Patent Application 0 542 525 O-methyl mandelic acids in the P3-position.

Inhibitors of serine proteases (e.g. thrombin) based on electrophilic ketones in the P1-position are also known. For example, European Patent Application 0 195 212 discloses peptidyl α-keto esters and amides, European Patent Application 0 362 002 fluoroalkylamide ketones, European Patent Application 0 364 344 α,β,δ-triketocompounds, and European Patent Application 0 530 167 α-alkoxy ketone derivatives of arginine in the P1-position.

Other, structurally different, inhibitors of trypsin-like serine proteases based on C-terminal boronic acid derivatives of arginine and isothiouronium analogues thereof are known from European Patent Application 0 293 881.

More recently, thrombin inhibitors based on peptidyl derivatives have been disclosed in European Patent Application 0 669 317 and International Patent Applications WO 95/35309, WO 95/23609, WO 96/25426, WO 97/02284,

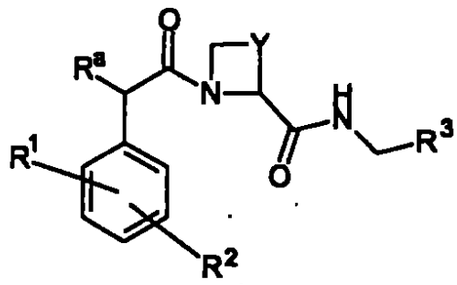
WO 97/46577, WO 96/32110, WO 96/31504, WO 96/03374, WO 98/06740, WO 97/49404, WO 98/57932, WO 99/29664, WO 00/35869 and WO 00/42059.

In particular, WO 97/02284 and WO 00/42059 disclose thrombin inhibitors with substituted mandelic acids in the P3 position.

However, there remains a need for effective inhibitors of trypsin-like serine proteases, such as thrombin. There is also a need for compounds which have a favourable pharmacokinetic profile and are selective in inhibiting thrombin over other serine proteases, in particular those involved in haemostasis. Compounds which exhibit competitive inhibitory activity towards thrombin would be expected to be especially useful as anticoagulants and therefore in the therapeutic treatment of thrombosis and related disorders.

Disclosure of the Invention

According to the invention there is provided a compound of formula I



I

wherein

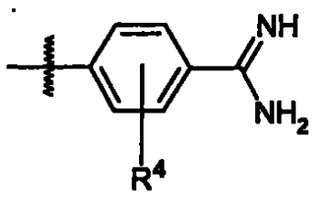
R^a represents -OH or $-CH_2OH$;

R^1 represents at least one optional halo substituent;

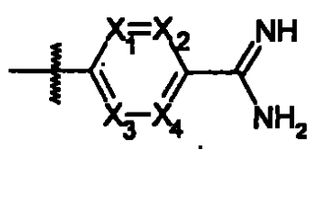
R^2 represents one or two C_{1-3} alkoxy substituents, the alkyl parts of which substituents are themselves substituted with one or more fluoro substituents (i.e. R^2 represents one or two fluoroalkoxy(C_{1-3}) groups);

Y represents $-CH_2-$ or $-(CH_2)_2-$; and

R^3 represents a structural fragment of formula I(i) or I(ii):



I(i)



I(ii)

wherein

R^4 represents H or one or more fluoro substituents; and

one or two of X_1, X_2, X_3 and X_4 represent -N- and the others represent -CH-,

or a pharmaceutically-acceptable derivative thereof.

The term "pharmaceutically-acceptable derivatives" includes pharmaceutically-acceptable salts (e.g. acid addition salts).

Abbreviations are listed at the end of this specification. The wavy lines on the bonds in the fragments of formulae I(i) and I(ii) signify the bond positions of the fragments.

Halo groups which R^1 may represent include, fluoro, chloro, bromo and iodo. For the avoidance of doubt, in representing at least one optional halo group, R^1 may either not be present (and thus be replaced by H, so that the rules of valency are adhered to) or it may represent one or more halo atoms.

When R^3 represents a structural fragment of formula I(i) in which R^4 represents one or more fluoro substituents, preferred compounds of formula I include those in which R^4 represents a single fluoro substituent in the 2- or the 3-position, or two fluoro substituents in either the 2- and 5- positions or, more preferably, the 2- and 6-positions (wherein the substituent positions are determined in relation to the point of attachment of the structural fragment of formula I(i) to the rest of the molecule (i.e. to the $-NHCH_2-$ group)).

When R^3 represents a structural fragment of formula I(ii), preferred compounds of formula I include those in which either:

(a) one of X_1, X_2, X_3 and X_4 represents -N- and the others represent -CH-; or

(b) either X_1 and X_3, or X_2 and X_4, both represent -N- and the other two (as appropriate) represent -CH-.

Preferred compounds of formula I include those in which:

R^1 represents a single fluoro, chloro or bromo substituent;

R^2 represents C_{1-2} alkoxy substituted by one or more fluoro substituents, such as $-OCHF_2$, $-OCF_3$, $-OCH_2CF_3$, $-OCH_2CHF_2$, $-OCH_2CH_2F$ or $-OCH(CH_2F)_2$;

R^3 represents a structural fragment of formula I(i);

R^4 represents H.

More preferred compounds of formula I include those in which:

R^2 represents OH;

R^1 represents a single chloro substituent;

R^2 represents $-OCF_3$, preferably $-OCH_2CHF_2$, or more preferably $-OCHF_2$, or $-OCH_2CH_2F$.

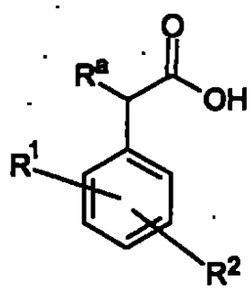
Preferred points of substitution of R^1 and R^2 on the relevant phenyl group of compounds of formula I include the two *meta*-positions relative to the point of attachment of that phenyl group to the rest of the molecule (i.e. at the 3- and/or the 5-position (preferably 3,5-substitution) relative to the carbon atom bearing the α- or β-hydroxy acid group).

Compounds of formula I that may be mentioned include those in which:
R^2 represents one or two C_{1-2} alkoxy substituents, the alkyl parts of which substituents are themselves substituted by one or more fluoro substituents; or
R^2 represents one or two C_3 alkoxy substituents, the alkyl parts of which substituents are themselves substituted by one or more fluoro substituents.

Compounds of formula I may be made in accordance with techniques well known to those skilled in the art, for example as described hereinafter.

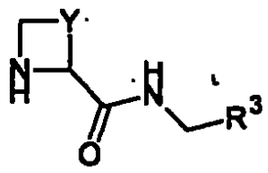
According to a further aspect of the invention there is provided a process for the preparation of a compound of formula I, which comprises:

(i) the coupling of a compound of formula II,



II

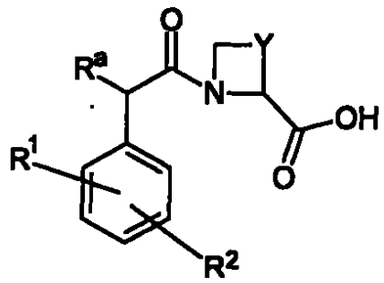
wherein R^a, R^1 and R^2 are as hereinbefore defined with a compound of formula III,



III

wherein Y and R^3 are as hereinbefore defined, for example in the presence of a coupling agent (e.g. oxalyl chloride in DMF, EDC, DCC, HBTU, HATU, PyBOP or TBTU), an appropriate base (e.g. pyridine, DMAP, TEA, 2,4,6-collidine or DIPEA) and a suitable organic solvent (e.g. dichloromethane, acetonitrile, EtOAc or DMF);

(ii) the coupling of a compound of formula IV,



IV

wherein R^a, R^1, R^2 and Y are as hereinbefore defined with a compound of formula V,

$$R^3CH_2NH_2 \qquad V$$

wherein R^3 is as hereinbefore defined, for example under conditions as described in process (i) above;

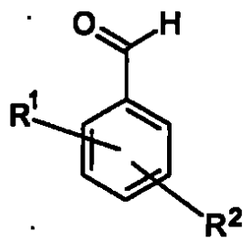
(iii) for compounds of formula I in which R^1 is not present, reduction of a corresponding compound of formula Ia, as defined hereinafter, in which R^5 represents OR^6, wherein R^5 and R^6 are as defined hereinafter, for example by

hydrogenation in the presence of a suitable catalyst (e.g. a supported metal catalyst such as Pd/C (e.g. 10% (w/w) Pd/C)) and an appropriate solvent (e.g. a lower (e.g. C_{1-6}) alkyl alcohol such as ethanol), and optionally in the presence of a suitable acid (e.g. acetic acid) and/or as described in *Synth. Comm.* (1998) 4351; or

(iv) reaction of a corresponding compound of formula XVIA or XVIB, as defined hereinafter, with a suitable source of ammonia (e.g. ammonium acetate or ammonia gas) under conditions known to those skilled in the art, such as by reaction of an ethylimidoate intermediate (formed by reaction of a compound of formula XVIA or XVIB with HCl(g) in ethanol) with ammonia gas in ethanol, or under those conditions described in *Tetrahedron Lett.* 40, 7067 (1999), the disclosures of which document are hereby incorporated by reference (for example, for preparation of compounds of formula I in which R^3 represents a structural fragment of formula I(ii) in which X_2 or X_4 represents N, reaction of a corresponding compound of formula XVIB with ammonium acetate (e.g. 1 to 30 equivalents of ammonium acetate) in the presence of *N*-acetyl cysteine (e.g. 1 to 30 equivalents of *N*-acetyl cysteine) and an appropriate solvent (e.g. a lower alkyl (e.g. C_{1-6}) alcohol such as methanol)).

Compounds of formula II are available using known and/or standard techniques.

For example, compounds of formula II in which R^a represents OH may be prepared by reaction of an aldehyde of formula VI,



VI

wherein R^1 and R^2 are as hereinbefore defined with:

(a) a compound of formula VII,

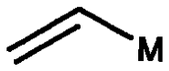
R"CN VII

wherein R" represents H or $(CH_3)_3Si$, for example at room, or elevated, temperature (e.g. below 100°C) in the presence of a suitable organic solvent (e.g. chloroform or methylene chloride) and, if necessary, in the presence of a suitable base (e.g. TEA) and/or a suitable catalyst system (e.g. benzylammonium chloride or zinc iodide, or using a chiral catalyst, for example as described in *Chem. Rev.*, (1999) 99, 3649), followed by hydrolysis under conditions that are well known to those skilled in the art (e.g. as described hereinafter);

(b) NaCN or KCN, for example in the presence of $NaHSO_3$ and water, followed by hydrolysis;

(c) chloroform, for example at elevated temperature (e.g. above room temperature but below 100°C) in the presence of a suitable organic solvent (e.g. chloroform) and, if necessary, in the presence of a suitable catalyst system (e.g. benzylammonium chloride), followed by hydrolysis;

(d) a compound of formula VIII,

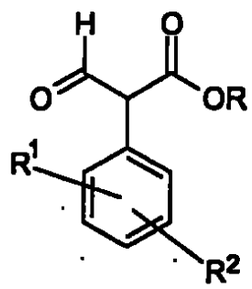


VIII

wherein M represents Mg or Li, followed by oxidative cleavage (e.g. ozonolysis or osmium or ruthenium catalysed) under conditions which are well known to those skilled in the art; or

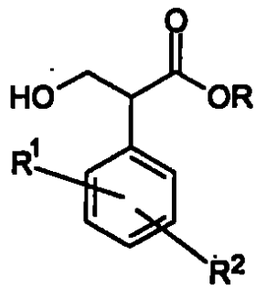
(e) tris(methylthio)methane under conditions which are well known to those skilled in the art, followed by hydrolysis in the presence of e.g. HgO and HBF_4.

Compounds of formula II in which R^a represents $-CH_2OH$ may be prepared by reduction of a compound of formula IX,



IX

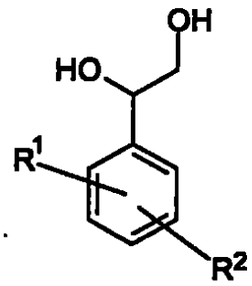
wherein R represents C_{1-6} alkyl or C_{1-3} alkylphenyl and R^1 and R^2 are as hereinbefore defined, for example at room temperature or below in the presence of a suitable reducing agent (e.g. sodium borohydride) and an appropriate organic solvent (e.g. methanol, ethanol, THF or mixtures thereof), followed by hydrolysis of the resultant tropic acid ester intermediate of formula IXA,



IXA

wherein R, R^1 and R^2 are as hereinbefore defined, under conditions that are well known to those skilled in the art, for example as described hereinafter. The skilled person will appreciate that the reduction and hydrolysis steps may be carried out as a one-pot procedure, for example as described hereinafter.

Compounds of formula II in which R^8 represents –OH may alternatively be prepared by oxidation of a compound of formula IXB,



IXB

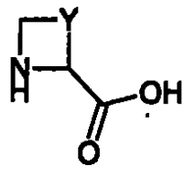
or a derivative thereof that is optionally protected at the secondary hydroxyl group, wherein R^1 and R^2 are as hereinbefore defined, in the presence of a suitable oxidising agent (e.g. a combination of a suitable free radical oxidant (such as TEMPO) and an appropriate hypochlorite salt (such as sodium hypochlorite)) under conditions known to those skilled in the art, for example at between -10°C and room temperature, in the presence of a suitable solvent (e.g. water, acetone or a mixture thereof), an appropriate salt (e.g. an alkali metal halide such as potassium bromide) and a suitable base (e.g. an alkali metal carbonate or hydrogen carbonate such as sodium hydrogen carbonate).

The enantiomeric forms of the compound of formula II in which R^a represents -OH (i.e. those compounds having different configurations of substituents about the C-atom α- to the CO_2H group) may be separated by an enantiospecific derivatisation step. This may be achieved, for example by an enzymatic process. Such enzymatic processes include, for example, transesterification of the α-OH group at between room and reflux temperature (e.g. at between 45 and 65°C) in the presence of a suitable enzyme (e.g. Lipase PS Amano), an appropriate ester (e.g. vinyl acetate) and a suitable solvent (e.g. methyl *tert*-butyl ether). The derivatised isomer may then be separated from the unreacted isomer by conventional separation techniques (e.g. chromatography).

Groups added to compounds of formula II in such a derivatisation step may be removed either before any further reactions or at any later stage in the synthesis of compounds of formula I. The additional groups may be removed using conventional techniques (e.g. for esters of the α-OH group, hydrolysis under conditions known to those skilled in the art (e.g. at between room and reflux temperature in the presence of a suitable base (e.g. NaOH) and an appropriate solvent (e.g. MeOH, water or mixtures thereof))).

The enantiomeric forms of the compound of formula II in which R^a represents $-CH_2OH$ may be separated by chiral chromatographic techniques (e.g. chiral HPLC).

Compounds of formula III may be prepared by coupling a compound of formula X,



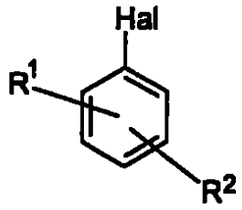
X

wherein Y is as hereinbefore defined to a compound of formula V, as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described herein for preparation of compounds of formula I.

Compounds of formula IV may be prepared by coupling a compound of formula II as hereinbefore defined to a compound of formula X as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described herein for preparation of compounds of formula I.

Compounds of formula VI are available using known and/or standard techniques. For example, they may be prepared by:

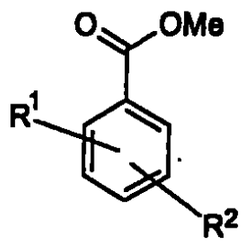
(i) metallation (wherein the metal may be, for example, an alkali metal such as Li or, preferably, a divalent metal such as Mg) of a compound of formula XI,



XI

wherein Hal represents a halogen atom selected from Cl, Br and I and R^1 and R^2 are as hereinbefore defined, followed by reaction with a suitable source of the formyl group (such as *N,N*-dimethylformamide), for example under conditions described hereinafter;

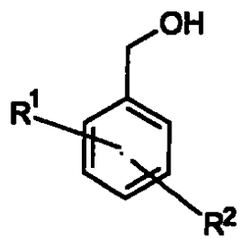
(ii) reduction of a compound of formula XII,



XII

wherein R^1 and R^2 are as hereinbefore defined in the presence of a suitable reducing agent (e.g. DIBAL-H); or

(iii) oxidation of a compound of formula XIII,

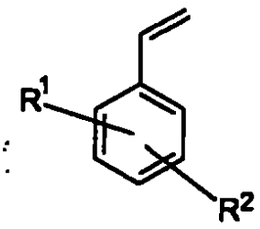


XIII

wherein R^1 and R^2 are as hereinbefore defined in the presence of a suitable oxidising agent (e.g. MnO_2, pyridinium chlorochromate, a combination of DMSO and oxalyl chloride, or SO_3 pyridine complex in DMSO).

Compounds of formula IX may be prepared from the corresponding phenylacetate (which may, for example, be obtained from the corresponding acetophenone, as described in *J. Am. Chem. Soc.* 98, 6750 (1976) or from the corresponding benzyl cyanide by standard hydrolytic procedures) by conventional techniques, for example analogously to those techniques described in *J. Org. Chem.* 54, 3831 (1989) and/or as described hereinafter.

Compounds of formula IXB may be prepared by dihydroxylation of a corresponding compound of formula XIIIA



XIIIA

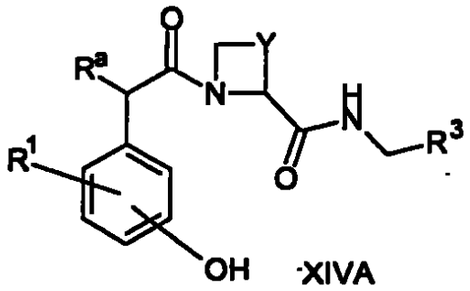
wherein R^1 and R^2 are as hereinbefore defined, in the presence of a suitable dihydroxylating agent (e.g. a reagent or reagent mixture that provides OsO_4, such as AD-mix-α or, particularly, AD-mix-β), for example under conditions known to those skilled in the art, such as at between -10°C and room temperature in the presence of an appropriate solvent (e.g. water, *tert*-butanol or a mixture thereof). When asymmetric oxidants such as AD-mix-α or AD-mix-β are employed, this method may be used to prepare compounds of formula IXB that have specific configurations of groups (i.e. *R* or *S*) about both of the C-atoms to which the primary and secondary hydroxyl groups are attached.

Compounds of formula XIIIA may be prepared by reaction of a corresponding compound of formula XI, as hereinbefore defined, with a suitable source of the vinyl anion (e.g. tributyl(vinyl)tin) under conditions known to those skilled in the art, for example at between room and reflux temperature (e.g. 50°C) in the presence of an appropriate solvent (e.g. toluene), a suitable coupling agent (e.g. a palladium(0) co-ordination complex such as tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)) and optionally in the presence of an appropriate catalyst (e.g. 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol).

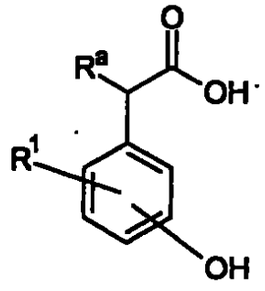
Compounds of formulae V, VII, VIII, X, XI, XII and XIII are either commercially available, are known in the literature, or may be obtained either by analogy with the processes described herein, or by conventional synthetic procedures, in accordance with standard techniques, from readily available starting materials using appropriate reagents and reaction conditions. Compounds of formulae Ia, XVIA and XVIB may be obtained by processes described hereinafter.

Substituents on the phenyl ring in compounds of formulae I, II, III, IV, V, VI, IX, IXA, IXB, XI, XII, XIII and XIIIA may be introduced and/or interconverted using techniques well known to those skilled in the art by way of standard functional groups interconversions, in accordance with standard techniques, from readily available starting materials using appropriate reagents and reaction conditions.

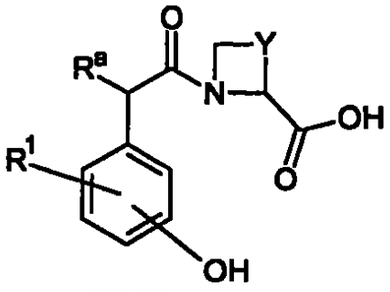
For example, compounds of formulae I, II, IV, VI, IXA, XI, XII and XIII may be prepared from corresponding compounds of formulae XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG and XIVH, respectively,



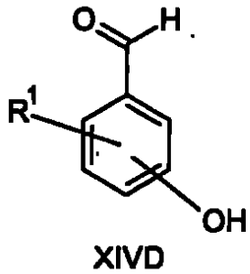
XIVA



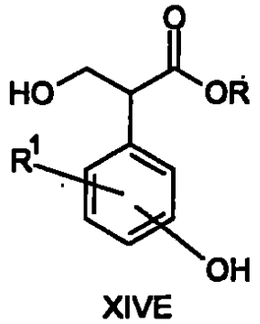
XIVB



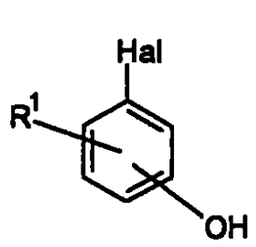
XIVC



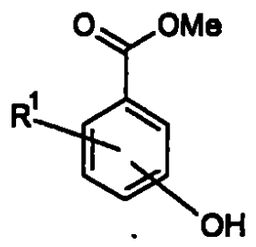
XIVD



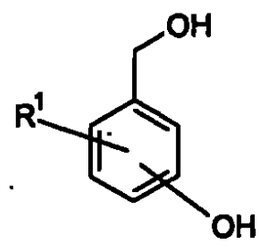
XIVE



XIVF



XIVG



XIVH

wherein R^a, R, R^1, R^3, Y and Hal (as appropriate) are as hereinbefore defined, for example:

(a) by reaction with a corresponding fluorinated haloalkane (e.g. a fluorinated chloroalkane), e.g. at room temperature or above (e.g. at reflux) in the presence of a suitable base (e.g. potassium *tert*-butoxide, KOH or NaOH, for example in aqueous solution) and an appropriate organic solvent (e.g. THF, chloroform or *i*-propanol); or

(b) by reaction with a compound of formula XIVJ,

$$R^xS(O)_2OR^y \qquad \text{XIVJ}$$

wherein R^x represents C_{1-4} alkyl, C_{1-4} perfluoroalkyl or phenyl (optionally substituted by methyl, nitro or halo) and R^y is CH_2CF_3, CH_2CHF_2, CH_2CH_2F or $CH(CH_2F)_2$, for example in the presence of a suitable base (e.g. K_2CO_3) and an appropriate solvent (e.g. DMF),

for example, in both cases, as described hereinafter.

The skilled person will appreciate that these functional group transformations may also be carried out at an earlier stage in the overall synthesis of compounds of formulae II, IV, VI, IXA, XI, XII and XIII (i.e. on appropriate precursors of compounds of formulae XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG and XIVH, respectively).

Compounds of formulae XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG, XIVH and XIVJ are either commercially available, are known in the literature, or may be obtained either by analogy with the processes

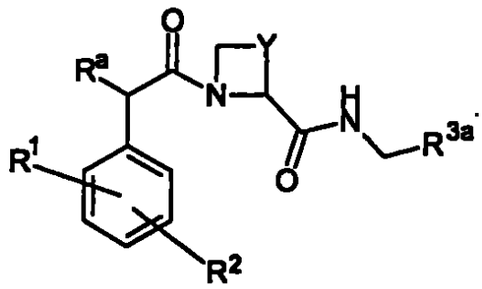
described herein, or by conventional synthetic procedures, in accordance with standard techniques, from readily available starting materials using appropriate reagents and reaction conditions. For example, compounds of formulae XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG and XIVH may be obtained by deprotection of the corresponding protected phenols (where the protecting group may be, for example, methyl, allyl, benzyl or *tert*-butyl) under standard conditions. Further, compounds of formula XIVD in which R^1 is a single chloro substituent may be obtained from a di- or trihalo substituted benzene (e.g. 1-Br, 3-Cl, 5-F-benzene, by substitution of the fluorine atom with a methoxy group (e.g. by reaction with NaOMe in 1-methyl-2-pyrrolidinone/methanol at elevated temperature), replacement of the bromo group with a formyl group (e.g. as described hereinbefore for preparation of compounds of formula VI), and then demethylation (e.g. by using PhSH in 1-methyl-2-pyrollidinone in the presence of K_2CO_3)).

Also, compounds of formula I in which R^1 is absent may be prepared from corresponding compounds of formula I (or *via* appropriate precursors thereof) in which R^1 represents halo (such as chloro), for example by hydrogenation under conditions known to those skilled in the art.

Compounds of formula I may be isolated from their reaction mixtures using conventional techniques.

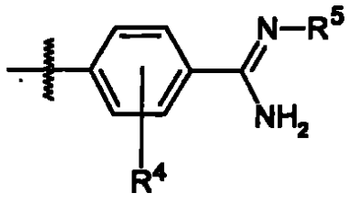
In accordance with the present invention, pharmaceutically acceptable derivatives of compounds of formula I also include "protected" derivatives, and/or compounds that act as prodrugs, of compounds of formula I.

Compounds that may act as prodrugs of compounds of formula I that may be mentioned include compounds of formula Ia,

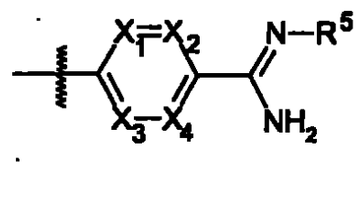


Ia

wherein R^{3a} represents a structural fragment of formula I(iii) or I(iv):



I(iii)



I(iv)

wherein R^5 represents OR^6 or $C(O)OR^7$;

R^6 represents H, C_{1-10} alkyl, C_{1-3} alkylaryl or C_{1-3} alkyloxyaryl (the alkyl parts of which latter two groups are optionally interrupted by one or more oxygen atoms, and the aryl parts of which latter two groups are optionally substituted by one or more substituents selected from halo, phenyl, methyl or methoxy, which latter three groups are also optionally substituted by one or more halo substituents);

R^7 represents C_{1-10} alkyl (which latter group is optionally interrupted by one or more oxygen atoms), or C_{1-3} alkylaryl or C_{1-3} alkyloxyaryl (the alkyl parts of which latter two groups are optionally interrupted by one or more oxygen atoms, and the aryl parts of which latter two groups are optionally substituted by one or more substituents selected from halo, phenyl, methyl or methoxy, which latter three groups are also optionally substituted by one or more halo substituents); and

R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as hereinbefore defined,

and pharmaceutically-acceptable derivatives thereof.

The term "pharmaceutically-acceptable derivatives" of compounds of formula Ia includes pharmaceutically-acceptable salts (e.g. acid addition salts).

The wavy lines on the bonds in the fragments of formulae I(iii) and I(iv) signify the bond positions of the fragments.

Alkyloxyaryl groups that R^6 and R^7 may represent comprise an alkyl and an aryl group linked by way of an oxygen atom. Alkylaryl and alkyloxyaryl groups are linked to the rest of the molecule *via* the alkyl part of those groups, which alkyl parts may (if there is a sufficient number (i.e. three) of carbon atoms) be branched-chain. The aryl parts of alkylaryl and alkyloxyaryl groups which R^6 and R^7 may represent, or be substituted by, include carbocyclic and heterocyclic aromatic groups, such as phenyl, naphthyl, pyridinyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiadiazolyl, indolyl and benzofuranyl and the like.

Alkyl groups which R^6 and R^7 may represent may be straight-chain or, when there is a sufficient number (i.e. a minimum of three) of carbon atoms, be branched-chain and/or cyclic. Further, when there is a sufficient number (i.e. a minimum of four) of carbon atoms, such alkyl groups may also be part cyclic/acyclic. Such alkyl groups may also be saturated or, when there is a sufficient number (i.e. a minimum of two) of carbon atoms, be unsaturated.

Halo groups with which R^6 and R^7 may be substituted include fluoro, chloro, bromo and iodo.

When R^5 represents $C(O)OR^7$, preferred R^7 groups include:

(a) linear, branched or cyclic C_{3-6} alkyl, for example C_{4-6} cycloalkyl;

(b) C_{1-2} alkylaryl groups, such as benzyl, optionally substituted as indicated hereinbefore.

Preferred compounds of formula Ia include those in which R^5 represents OR^6.

When R^5 represents OR^6, preferred R^6 groups include:

(a) H;

(b) unsubstituted, linear, branched or cyclic C_{1-8} (e.g. C_{1-6}) alkyl, such as linear C_{1-3} alkyl (e.g. ethyl or, particularly, methyl), branched C_{3-8} alkyl (e.g. *i*-propyl, *i*-butyl or 4-heptyl) or cyclic C_{4-7} alkyl (i.e. C_{4-7} cycloalkyl, e.g. cyclobutyl or cyclohexyl);

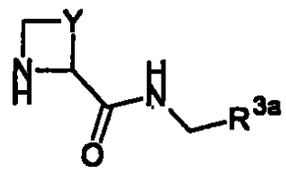
(c) C_{1-3} alkyloxyphenyl (e.g. C_2 alkyloxyphenyl), which phenyl group is optionally substituted by one or more substituents as indicated hereinbefore (e.g. trifluoromethyl);

(d) C_{1-2} alkylaryl (e.g. methylaryl), wherein the aryl group is phenyl, pyridinyl, oxazolyl or isoxazolyl, which latter three groups are optionally substituted by one or more substituents as indicated hereinbefore (e.g. methoxy, methyl, bromo and/or chloro).

Preferred compounds of formula Ia include those in which R^5 represents OR^6 and R^6 represents linear, branched (as appropriate), or cyclic (as appropriate), C_{1-6} (e.g. C_{1-4}) alkyl, such as methyl, ethyl, *n*-propyl, *i*-propyl or cyclobutyl.

Compounds of formula Ia may be prepared by one or more of the following methods:

(a) reaction of a corresponding compound of formula II as hereinbefore defined with a compound of formula XV,



XV

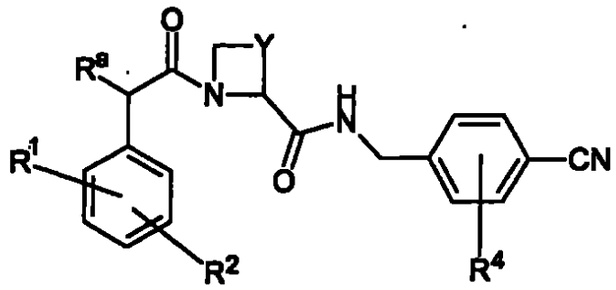
wherein Y and R^{3a} are as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described hereinbefore for synthesis of compounds of formula I;

(b) reaction of a corresponding compound of formula IV as hereinbefore defined with a compound of formula XVI,

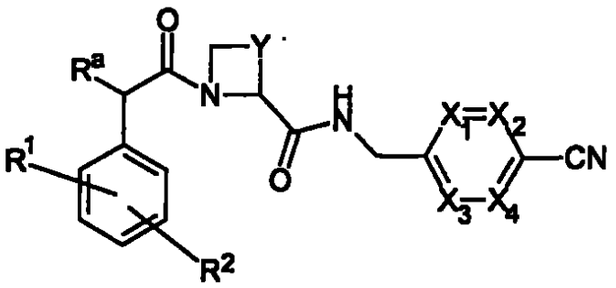
$$R^{3a}CH_2NH_2 \qquad \text{XVI}$$

wherein R^{3a} is as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described hereinbefore for synthesis of compounds of formula I;

(c) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OH, reaction of a corresponding compound of formula XVIA or XVIB,



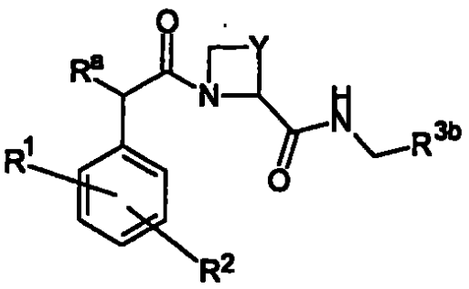
XVIA



XVIB

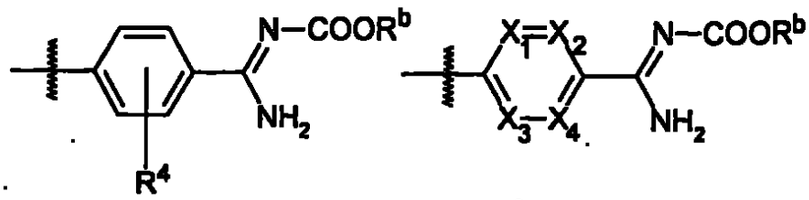
wherein R^a, R^1, R^2, R^4, Y, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as hereinbefore defined, with hydroxylamine, for example under conditions known to those skilled in the art;

(d) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OR^6, reaction of a protected derivative of a corresponding compound of formula I which is, for example, a compound of formula XVII,



XVII

wherein R^{3b} represents a structural fragment of formula I(v) or I(vi):



I(v) I(vi)

wherein R^b represents, for example, $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ or benzyl, or a tautomer thereof, and R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as hereinbefore defined with a compound of formula XVIII,

$$R^6ONH_2 \qquad \text{XVIII}$$

wherein R^6 is as hereinbefore defined, or an acid addition salt thereof, for example at between room and reflux temperature in the presence of an appropriate organic solvent (e.g. THF, CH_3CN, DMF or DMSO), followed by removal of the $-C(O)OR^b$ group under conditions known to those skilled in the art (e.g. by reacting with QF or TFA (e.g. as described hereinafter));

(e) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OH, reaction of a compound of formula XVII, as hereinbefore defined, in which R^b represents benzyl with hydroxylamine, or an acid addition salt thereof, for example under conditions that will be well known to those skilled in the art;

(f) for compounds of formula Ia in which R^5 represents $COOR^7$, reaction of a corresponding compound of formula I as hereinbefore defined with a compound of formula XIX,

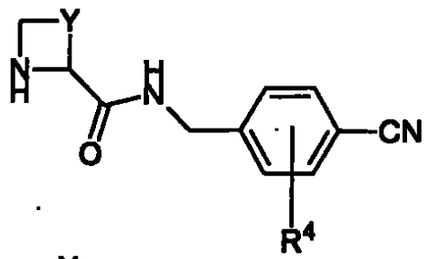
$$L^1COOR^7 \qquad \text{XIX}$$

wherein L^1 represents a suitable leaving group, such as halo or nitrophenyl (e.g. 4-nitrophenyl), and R^7 is as hereinbefore defined, for example at or around room temperature in the presence of suitable base (e.g. NaOH, for example in aqueous solution) and an appropriate organic solvent (e.g. methylene chloride); or

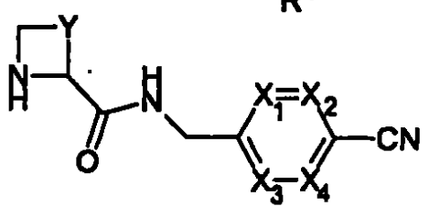
(g) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OCH_3 or OCH_2CH_3, reaction of a corresponding compound of formula Ia in which R^5 represents OH with dimethylsulfate or diethylsulfate, respectively, for example in the presence of a suitable base (e.g. an alkali metal hydroxide such as KOH (for example in aqueous solution at e.g. 50 wt.%)) and an appropriate catalyst (e.g. a quaternary ammonium halide such as benzyltrimethylammonium chloride (for example in CH_2Cl_2 or THF solution at e.g. 10 wt.%)).

The wavy lines on the bonds in the fragments of formulae I(v) and I(vi) signify the bond positions of the fragments.

Compounds of formulae XVIA and XVIB may be prepared by reaction of a corresponding compound of formula II, as hereinbefore defined, with a compound of formula XIXA or XIXB,



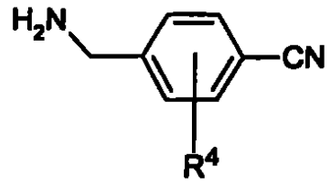
XIXA



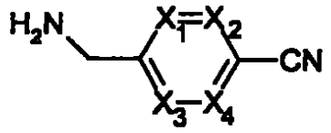
XIXB

wherein R^4, Y, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described hereinbefore for synthesis of compounds of formula I.

Compounds of formulae XVIA and XVIB may alternatively be prepared by reaction of a corresponding compound of formula IV, as hereinbefore defined, with a compound of formula XIXC or XIXD,



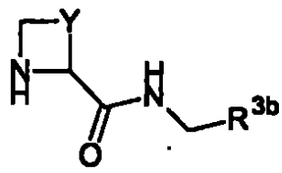
XIXC



XIXD

wherein R^4, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described hereinbefore for synthesis of compounds of formula I.

Compounds of formula XVII may be prepared by reaction of a corresponding compound of formula II, as hereinbefore defined, with a compound of formula XX,



XX

wherein Y and R^{3b} are as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described hereinbefore for synthesis of compounds of formula I.

Alternatively, compounds of formula XVII may be prepared by reaction of a corresponding compound of formula I with a compound corresponding to a compound of formula XIX in which, in place of R^7, the group R^b is present, in which R^b is as hereinbefore defined, for example under conditions described above in respect of the preparation of compounds of formula Ia.

Compounds of formulae XV and XX may be prepared by reaction of a corresponding compound of formula X as hereinbefore defined with, respectively, a compound of formula XVI as hereinbefore defined, or a compound of formula XXI,

$$R^{3b}CH_2NH_2 \qquad XXI$$

wherein R^{3b} is as hereinbefore defined, for example under similar conditions to those described hereinbefore for synthesis of compounds of formula I.

Compounds of formula XVI, XVIII, XIX, XIXA, XIXB, XIXC, XIXD and XXI are either commercially available, are known in the literature, or may be obtained either by analogy with the processes described herein, or by conventional synthetic procedures, in accordance with standard techniques, from readily available starting materials using appropriate reagents and reaction conditions. For example, compounds of formulae XIXA and XIXB may be prepared by reaction of a corresponding compound of formula XIXC or XIXD (as appropriate) with a compound of formula X, for example under similar conditions to those described hereinbefore.

Compounds of formulae I and Ia, as defined above, and derivatives of either, are referred to hereinafter as "the compounds of the invention".

Preferred compounds of the invention thus include the compounds of the examples described hereinafter. In this respect, compounds of the invention that may be mentioned include:

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentyl);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-(5-Me-isoxazole));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-pyridine);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Hexyl);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab($OCH_2CH_2OPh(3\text{-}CF_3)$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Cl));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(3-MeO));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(2-Br));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Me));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-4-heptyl);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)$CH(CH_2OH)$C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)$CH(CH_2OH)$C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl, 5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl, 5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab;

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(OMe);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-pyridinyl);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-methoxyamidino)-5-pyridinyl);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pyrimidinyl);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-methoxyamidino)-2-pyrimidinyl);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe);

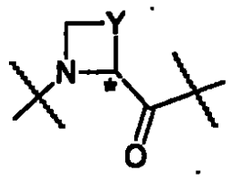
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF); and

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe).

The compounds of the invention may exhibit tautomerism. All tautomeric forms and mixtures thereof are included within the scope of the invention. Particular tautomeric forms that may be mentioned include those connected with the position of the double bond in the amidine functionality in a compound of formula Ia, and the position of the substituent R^5.

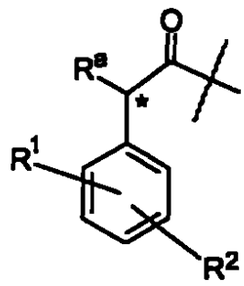
Compounds of the invention also contain two or more asymmetric carbon atoms and may therefore exhibit optical and/or diastereoisomerism. Diastereoisomers may be separated using conventional techniques, e.g. chromatography. The various stereoisomers may be isolated by separation of a racemic or other mixture of the compounds using conventional, e.g. HPLC techniques. Alternatively the desired optical isomers may be made by reaction of the appropriate optically active starting materials under conditions which will not cause racemisation or epimerisation, or by derivatisation, for example with a homochiral acid followed by separation of the diastereomeric derivatives by conventional means (e.g. HPLC, chromatography over silica). All stereoisomers are included within the scope of the invention.

Compounds of the invention in which the



fragment is in the *S*-configuration are preferred.

Preferred compounds of the invention include those in which the structural fragment



is in the *R*-configuration when R^a represents -OH or is in the *S*-configuration when R^a represents $-CH_2OH$.

The wavy lines on the bonds in the above two fragments signify the bond positions of the fragments.

Compounds of the invention that may be mentioned include Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab (wherein, on this occasion, Aze symbolises azetidine-2-carboxylate (i.e. in (*R*)- and/or (*S*)-conformations), as well as equivalent compounds in which, in place of a hydrogen atom in the amidino unit in Pab, the group $-OR^6$ (as hereinbefore defined) is present in which R^6 represents C_{1-3} alkyl (i.e. Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr) or Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr)). Compounds of the invention that may

further be mentioned include those that are not the specific compounds identified in the previous sentence.

It will be appreciated by those skilled in the art that in the processes described above and hereinafter the functional groups of intermediate compounds may need to be protected by protecting groups.

Functional groups that it is desirable to protect include hydroxy, amino and carboxylic acid. Suitable protecting groups for hydroxy include optionally substituted and/or unsaturated alkyl groups (e.g. methyl, allyl, benzyl or *tert*-butyl), trialkylsilyl or diarylalkylsilyl groups (e.g. *t*-butyldimethylsilyl, *t*-butyldiphenylsilyl or trimethylsilyl) and tetrahydropyranyl. Suitable protecting groups for carboxylic acid include C_{1-6} alkyl or benzyl esters. Suitable protecting groups for amino and amidino include *t*-butyloxycarbonyl, benzyloxycarbonyl or 2-trimethylsilylethoxycarbonyl (Teoc). Amidino nitrogens may also be protected by hydroxy or alkoxy groups, and may be either mono- or diprotected.

The protection and deprotection of functional groups may take place before or after coupling, or before or after any other reaction in the above-mentioned schemes.

Protecting groups may be removed in accordance with techniques that are well known to those skilled in the art and as described hereinafter.

Persons skilled in the art will appreciate that, in order to obtain compounds of the invention in an alternative, and, on some occasions, more convenient, manner, the individual process steps mentioned hereinbefore may be performed in a different order, and/or the individual reactions may be performed at a different stage in the overall route (i.e. substituents may be

added to and/or chemical transformations performed upon, different intermediates to those mentioned hereinbefore in conjunction with a particular reaction). This may negate, or render necessary, the need for protecting groups.

The type of chemistry involved will dictate the need, and type, of protecting groups as well as the sequence for accomplishing the synthesis.

The use of protecting groups is fully described in "Protective Groups in Organic Chemistry", edited by J W F McOmie, Plenum Press (1973), and "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd edition, T.W. Greene & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1999).

Protected derivatives of compounds of the invention may be converted chemically to compounds of the invention using standard deprotection techniques (e.g. hydrogenation). The skilled person will also appreciate that certain compounds of formula Ia may also be referred to as being "protected derivatives" of compounds of formula I.

Medical and pharmaceutical use

Compounds of the invention may possess pharmacological activity as such. Compounds of the invention that may possess such activity include, but are not limited to, compounds of formula I.

However, other compounds of the invention (including compounds of formula Ia) may not possess such activity, but may be administered parenterally or orally, and may thereafter be metabolised in the body to form compounds that are pharmacologically active (including, but not limited to, corresponding compounds of formula I). Such compounds

(which also includes compounds that may possess some pharmacological activity, but that activity is appreciably lower than that of the "active" compounds to which they are metabolised), may therefore be described as "prodrugs" of the active compounds.

Thus, the compounds of the invention are useful because they possess pharmacological activity, and/or are metabolised in the body following oral or parenteral administration to form compounds which possess pharmacological activity. The compounds of the invention are therefore indicated as pharmaceuticals.

According to a further aspect of the invention there is thus provided the compounds of the invention for use as pharmaceuticals.

In particular, compounds of the invention are potent inhibitors of thrombin either as such and/or (e.g. in the case of prodrugs), are metabolised following administration to form potent inhibitors of thrombin, for example as may be demonstrated in the tests described below.

By "prodrug of a thrombin inhibitor", we include compounds that form a thrombin inhibitor, in an experimentally-detectable amount, and within a predetermined time (e.g. about 1 hour), following oral or parenteral administration (see, for example, Test E below) or, alternatively, following incubation in the presence of liver microsomes (see, for example, Test G below).

The compounds of the invention are thus expected to be useful in those conditions where inhibition of thrombin is required, and/or conditions where anticoagulant therapy is indicated, including the following:

The treatment and/or prophylaxis of thrombosis and hypercoagulability in blood and/or tissues of animals including man. It is known that hypercoagulability may lead to thrombo-embolic diseases. Conditions associated with hypercoagulability and thrombo-embolic diseases which may be mentioned include inherited or acquired activated protein C resistance, such as the factor V-mutation (factor V Leiden), and inherited or acquired deficiencies in antithrombin III, protein C, protein S, heparin cofactor II. Other conditions known to be associated with hypercoagulability and thrombo-embolic disease include circulating antiphospholipid antibodies (Lupus anticoagulant), homocysteinemi, heparin induced thrombocytopenia and defects in fibrinolysis, as well as coagulation syndromes (e.g. disseminated intravascular coagulation (DIC)) and vascular injury in general (e.g. due to surgery).

The treatment of conditions where there is an undesirable excess of thrombin without signs of hypercoagulability, for example in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease.

Particular disease states which may be mentioned include the therapeutic and/or prophylactic treatment of venous thrombosis (e.g. DVT) and pulmonary embolism, arterial thrombosis (e.g. in myocardial infarction, unstable angina, thrombosis-based stroke and peripheral arterial thrombosis), and systemic embolism usually from the atrium during atrial fibrillation (e.g. non-valvular atrial fibrillation) or from the left ventricle after transmural myocardial infarction, or caused by congestive heart failure; prophylaxis of re-occlusion (i.e. thrombosis) after thrombolysis, percutaneous trans-luminal angioplasty (PTA) and coronary bypass operations; the prevention of re-thrombosis after microsurgery and vascular surgery in general.

Further indications include the therapeutic and/or prophylactic treatment of disseminated intravascular coagulation caused by bacteria, multiple trauma, intoxication or any other mechanism; anticoagulant treatment when blood is in contact with foreign surfaces in the body such as vascular grafts, vascular stents, vascular catheters, mechanical and biological prosthetic valves or any other medical device; and anticoagulant treatment when blood is in contact with medical devices outside the body such as during cardiovascular surgery using a heart-lung machine or in haemodialysis; the therapeutic and/or prophylactic treatment of idiopathic and adult respiratory distress syndrome, pulmonary fibrosis following treatment with radiation or chemotherapy, septic shock, septicemia, inflammatory responses, which include, but are not limited to, edema, acute or chronic atherosclerosis such as coronary arterial disease and the formation of atherosclerotic plaques, cerebral arterial disease, cerebral infarction, cerebral thrombosis, cerebral embolism, peripheral arterial disease, ischaemia, angina (including unstable angina), reperfusion damage, restenosis after percutaneous trans-luminal angioplasty (PTA) and coronary artery bypass surgery.

Compounds of the invention that inhibit trypsin and/or thrombin may also be useful in the treatment of pancreatitis.

The compounds of the invention are thus indicated both in the therapeutic and/or prophylactic treatment of these conditions.

According to a further aspect of the present invention, there is provided a method of treatment of a condition where inhibition of thrombin is required which method comprises administration of a therapeutically effective amount of a compound of the invention to a person suffering from, or susceptible to, such a condition.

The compounds of the invention will normally be administered orally, intravenously, subcutaneously, buccally, rectally, dermally, nasally, tracheally, bronchially, by any other parenteral route or *via* inhalation, in the form of pharmaceutical preparations comprising compound of the invention either as a free base, or a pharmaceutically acceptable non-toxic organic or inorganic acid addition salt, in a pharmaceutically acceptable dosage form.

Preferred routes of administration of compounds of the invention are oral. Preferred pharmaceutical preparations include modified release pharmaceutical compositions comprising compounds of the invention. The term "modified release" pharmaceutical composition will be well understood by the skilled person to include any composition in which the onset and/or rate of release of drug (i.e. compound of the invention) is altered by galenic manipulations, and thus includes the definition provided in the *United States Pharmacopeia* (USP XXII) at pages xliii and xliv of the preface/preamble part, the relevant disclosure in which document is hereby incorporated by reference.

Suitable modified release formulations may thus be prepared by the skilled person in accordance with standard techniques in pharmacy (see, for example, *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, 6, 57 (1984); *Medical Applications of Controlled Release*, Vol II, eds. Langer and Wise (1984) Bocaraton, Florida, at pages 1 to 34; *Industrial Aspects of Pharmaceuticals*, ed. Sandel, Swedish Pharmaceutical Press (1993) at pages 93 to 104; and pages 191 to 211 of "*Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*", ed. M. E. Aulton (1988) (Churchill Livingstone)).

Preferred modified release formulations thus include those in which an appropriate compound of the invention is embedded in a polymer matrix. In

this respect, we prefer that formulations including compounds of the invention are provided for oral administration in the form of a so-called "swelling" modified–release system, or a "gelling matrix" modified–release system, in which compound of the invention is provided together with a polymer that swells in an aqueous medium (i.e. a "hydrophilic gelling component").

In particular we prefer that the compounds of the invention are formulated together in a gelling matrix composition comprising iota-carrageenan and one or more neutral gelling polymers.

Iota-carrageenan is preferably present in such a preferred preparation at a level of more that 15% by weight. Preferred grades of iota-carrageenan include pharmaceutical grade iota-carrageenan (available from FMC Biopolymer), which has a viscosity of not less than 5 centipoise (cps), preferably in the range 5-10 cps (for a 1.5% solution warmed to 82°C, after which the viscosity is measured at 75°C with a Brookfield LV viscometer fitted with a #1 spindle running at a speed of 30rpm), and technical grade iota-carrageenan (available from Fluka Biochemica), which preferably has a viscosity of not less than 14 mPa.s, for a 0.3 % aqueous solution warmed to 20°C, after which the viscosity is measured using a fallingball viscometer, of type Haake, used together with a Lauda thermostat C3 and Hakke Mess-System III, and using gold-coated stainless steel balls of density 7.8 g/cm^3.

The neutral gelling polymer may be a single, or a mixture of more than one, neutral erodable polymer(s) having gelling properties and having substantially pH-independent solubility. The neutral gelling polymer is, preferably, present in the formulation at a level of more that 10% but preferably more than 20% by weight.

Suitable neutral gelling polymers include polyethylene oxide (PEO), derivatives and members of the PEO family (for example, polyethylene glycol (PEG), preferably existing naturally in the solid state, of suitable molecular weight or viscosity). If used as a single neutral gelling polymer, a PEO preferably has a MW of ≥ 4 million (4M), corresponding to an aqueous solution viscosity range of 1650-5500 mPa.s (or 1650-5500 cps; measured for a 1% aqueous solution at 25°C, using a Brookfield RVF viscometer, with No. 2 spindle, at 2 rpm). Other examples of suitable PEOs include a PEO of MW around 5 million (5M), corresponding to an aqueous solution viscosity range of 5500 - 7500 mPa.s, or a PEO MW around 8 million (8M), corresponding to an aqueous solution viscosity range of 10000-15000 mPa.s. This range covers the value for typical solution viscosity (in cps) measured at 25°C, quoted for this polymer, in the USP 24/NF 19, 2000 edition, pp. 2285-2286. If PEG is used as a single neutral gelling polymer it preferably has a high molecular weight, for example, a MW of around 20000, corresponding to a viscosity range of 2700-3500 mPa.s (or 2700-3500 cps), measured using a 50% aqueous solution (w/w) at 20°C, using a capillary viscometer (Ubbelohde or equivalent). [Ref: European Pharmacopoeia 3rd Ed., 2000, Supplement, pp. 908-909.]

Other suitable gelling polymers include cellulose derivatives such as hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC) or hydroxyethylcellulose (HEC) with suitably high viscosities (for example "HPMC 10000 cps", "HPMC 15000 cps", "HEC type HH" or "HEC type H"). When used as a single neutral polymer, hydroxypropylmethyl cellulose polymers like "HPMC 10000 cps" and "HPMC 15000 cps" have, respectively, apparent viscosities of 7500-14000 mPa.s (or 7500 - 14000 cps), and 11250-21000 mPa.s (or 11250-21000 cps), when measured at 20°C with a 2% (w/w) aqueous solution, calculated with reference to the dried substance, using a capillary

viscometer (Ubbelohde or equivalent). One type of hydroxyethylcellulose polymer, for example, "Natrosol 250 Pharma, type HH", from Hercules Incorporated (Aqualon), shows typically a Brookfield viscosity of about 20,000 mPa.s using a Brookfield Synchro-Lectric Model LVF instrument, at the conditions 1% solution concentration, spindle no. 4, spindle speed 30 rpm, factor 200, 25°C (See Natrosol Physical and Chemical Properties booklet, 33.007-E6 (1993), p. 21).

Particular formulations that may be mentioned include those in which compound of the invention is formulated together with iota-carageenan and HPMC (10,000 cps) in a 50:50 (wt %) ratio, or together with iota-carageenan and PEO 4M in a 50:50 (wt %) ratio.

Preferred additional excipients in such formulations include lubricants, such as sodium stearyl fumarate.

Depending upon the disorder and patient to be treated and the route of administration, the compositions may be administered at varying doses.

The compounds of the invention may also be combined and/or co-administered with any antithrombotic agent(s) with a different mechanism of action, such as one or more of the following: the antiplatelet agents acetylsalicylic acid, ticlopidine and clopidogrel; thromboxane receptor and/or synthetase inhibitors; fibrinogen receptor antagonists; prostacyclin mimetics; phosphodiesterase inhibitors; ADP-receptor (P_2T) antagonists; and inhibitors of carboxypeptidase U (CPU).

The compounds of the invention may further be combined and/or co-administered with thrombolytics such as one or more of tissue plasminogen activator (natural, recombinant or modified), streptokinase, urokinase,

prourokinase, anisoylated plasminogen-streptokinase activator complex (APSAC), animal salivary gland plasminogen activators, and the like, in the treatment of thrombotic diseases, in particular myocardial infarction.

According to a further aspect of the invention there is thus provided a pharmaceutical formulation including a compound of the invention, in admixture with a pharmaceutically acceptable adjuvant, diluent or carrier.

Suitable daily doses of the compounds of the invention in therapeutic treatment of humans are about 0.001-100 mg/kg body weight at peroral administration and 0.001-50 mg/kg body weight at parenteral administration.

For the avoidance of doubt, as used herein, the term "treatment" includes therapeutic and/or prophylactic treatment.

Compounds of the invention have the advantage that they may be more efficacious, be less toxic, be longer acting, have a broader range of activity, be more potent, produce fewer side effects, be more easily absorbed, and/or have a better pharmacokinetic profile (e.g. higher oral bioavailability and/or lower clearance), than, and/or have other useful pharmacological, physical, or chemical, properties over, compounds known in the prior art. Compounds of the invention may have the further advantage that they may be administered less frequently than compounds known in the prior art.

Biological Tests

The following test procedures may be employed.

Test A

Determination of Thrombin Clotting Time (TT)

The inhibitor solution (25 µL) is incubated with plasma (25 µL) for three minutes. Human thrombin (T 6769; Sigma Chem. Co or Hematologic Technologies) in buffer solution, pH 7.4 (25 µL, 4.0 NIH units/mL), is then added and the clotting time measured in an automatic device (KC 10; Amelung).

The thrombin clotting time (TT) is expressed as absolute values (seconds) as well as the ratio of TT without inhibitor (TT_0) to TT with inhibitor (TT_i). The latter ratios (range 1-0) are plotted against the concentration of inhibitor (log transformed) and fitted to sigmoidal dose-response curves according to the equation

$$y = a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

where: a = maximum range, i.e. 1; s = slope of the dose-response curve; and IC_{50} = the concentration of inhibitor that doubles the clotting time. The calculations are processed on a PC using the software program GraFit, Version 3, setting equation equal to: Start at 0, define end = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK).

Test B

Determination of Thrombin Inhibition with a Chromogenic, Robotic Assay

The thrombin inhibitor potency is measured with a chromogenic substrate method, in a Plato 3300 robotic microplate processor (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Switzerland), using 96-well, half volume microtitre plates (Costar, Cambridge, MA, USA; Cat No 3690). Stock solutions of test substance in DMSO (72 µL), 0.1 - 1 mmol/L, are diluted serially 1:3 (24 + 48 µL) with DMSO to obtain ten different concentrations, which are analysed as samples in the assay. 2 µL of test sample is diluted with 124 µL assay buffer, 12 µL of chromogenic substrate solution (S-2366,

Chromogenix, Mölndal, Sweden) in assay buffer and finally 12 µL of α-thrombin solution (Human α-thrombin, Sigma Chemical Co. or Hematologic Technologies) in assay buffer, are added, and the samples mixed. The final assay concentrations are: test substance 0.00068 - 13.3 µmol/L, S-2366 0.30 mmol/L, α-thrombin 0.020 NIHU/mL. The linear absorbance increment during 40 minutes incubation at 37°C is used for calculation of percentage inhibition for the test samples, as compared to blanks without inhibitor. The IC_{50}-robotic value, corresponding to the inhibitor concentration which causes 50% inhibition of the thrombin activity, is calculated from a log concentration vs. % inhibition curve.

Test C

Determination of the Inhibition Constant K_i for Human Thrombin

K_i-determinations are made using a chromogenic substrate method, performed at 37°C on a Cobas Bio centrifugal analyser (Roche, Basel, Switzerland). Residual enzyme activity after incubation of human α-thrombin with various concentrations of test compound is determined at three different substrate concentrations, and is measured as the change in optical absorbance at 405 nm.

Test compound solutions (100 µL; normally in buffer or saline containing BSA 10 g/L) are mixed with 200 µL of human α-thrombin (Sigma Chemical Co) in assay buffer (0.05 mol/L Tris-HCl pH 7.4, ionic strength 0.15 adjusted with NaCl) containing BSA (10 g/L), and analysed as samples in the Cobas Bio. A 60 µL sample, together with 20 µL of water, is added to 320 µL of the substrate S-2238 (Chromogenix AB, Mölndal, Sweden) in assay buffer, and the absorbance change (ΔA/min) is monitored. The final

concentrations of S-2238 are 16, 24 and 50 μmol/L and of thrombin 0.125 NIH U/mL.

The steady state reaction rate is used to construct Dixon plots, i.e. diagrams of inhibitor concentration vs. 1/(ΔA/min). For reversible, competitive inhibitors, the data points for the different substrate concentrations typically form straight lines which intercept at $x = -K_i$.

Test D

Determination of Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)

APTT is determined in pooled normal human citrated plasma with the reagent PTT Automated 5 manufactured by Stago. The inhibitors are added to the plasma (10 μL inhibitor solution to 90 μL plasma) and incubated with the APTT reagent for 3 minutes followed by the addition of 100 μL of calcium chloride solution (0.025 M) and APTT is determined by use of the coagulation analyser KC10 (Amelung) according to the instructions of the reagent producer.

The clotting time is expressed as absolute values (seconds) as well as the ratio of APTT without inhibitor ($APTT_0$) to APTT with inhibitor ($APTT_i$). The latter ratios (range 1-0) are plotted against the concentration of inhibitor (log transformed) and fitted to sigmoidal dose-response curves according to the equation

$$y = a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

where: a = maximum range, i.e. 1; s = slope of the dose-response curve; and IC_{50} = the concentration of inhibitor that doubles the clotting time. The calculations are processed on a PC using the software program GraFit Version 3, setting equation equal to: Start at 0, define end = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK).

IC_{50}APTT is defined as the concentration of inhibitor in human plasma that doubled the Activated Partial Thromboplastin Time.

Test E

Determination of Thrombin Time *ex vivo*

The inhibition of thrombin after oral or parenteral administration of the compounds of the invention, dissolved in ethanol:SolutolK:water (5:5:90), is examined in conscious rats which, one or two days prior to the experiment, are equipped with a catheter for blood sampling from the carotid artery. On the experimental day blood samples are withdrawn at fixed times after the administration of the compound into plastic tubes containing 1 part sodium citrate solution (0.13 mol per L) and 9 parts of blood. The tubes are centrifuged to obtain platelet poor plasma.

50 µL of plasma samples are precipitated with 100 µL of cold acetonitrile. The samples are centrifuged for 10 minutes at 4000 rpm. 75 µL of the supernatant is diluted with 75 µL of 0.2% formic acid. 10 µL volumes of the resulting solutions are analysed by LC-MS/MS and the concentrations of thrombin inhibitor are determined using standard curves.

Test F

Determination of Plasma Clearance in Rat

Plasma clearance is estimated in male Sprague Dawley rats. The compound is dissolved in water and administered as a subcutaneous bolus injection at a dose of 4 µmol/kg. Blood samples are collected at frequent intervals up to 5 hours after drug administration. Blood samples are centrifuged and plasma is separated from the blood cells and transferred to vials containing citrate (10% final concentration). 50 µL of plasma samples are precipitated with 100 µL of cold acetonitrile. The samples are centrifuged for 10 minutes at 4000 rpm. 75 µL of the supernatant is diluted with 75 µL of 0.2% formic

followed by continuous infusion (12 mg/kg/h) throughout the experiment. Rat body temperature is maintained at 38°C throughout the experiment by external heating. The experiment starts with a 5 minutes control period. Five minutes later, human ^{125}I-fibrinogen (80 kBq; IM53; Amersham International, Buckinghamshire, UK) is given intravenously and is used as a marker for the subsequent incorporation of fibrin(ogen) into the thrombus. The proximal end of the carotid artery segment is placed in a plastic tube (6 mm; Silastic®; Dow Corning, MI, USA) opened lengthways, containing $FeCl_3$-soaked (2 µL; 55% w/w; Merck, Darmstadt, Germany) filter paper (diameter 3 mm; 1F; Munktell, Grycksbo, Sweden). The left carotid artery is exposed to $FeCl_3$ for 10 minutes and is then removed from the plastic tube and soaked in saline. Fifty minutes later, the carotid artery is removed and rinsed in saline. Reference blood samples are also taken for determination of blood ^{125}I–activity, 10 minutes after the injection of ^{125}I–fibrinogen, and at the end of the experiment. The ^{125}I-activity in the reference blood samples and the vessel segment are measured in a gamma counter (1282 Compugamma; LKB Wallac Oy, Turku, Finland) on the same day as the experiment is performed. The thrombus size is determined as the amount of ^{125}I-activity incorporated in the vessel segment in relation to the ^{125}I-activity in the blood (cpm/mg).

General Experimental Details

TLC was performed on silica gel. Chiral HPLC analysis was performed using a 46 mm X 250 mm Chiralcel OD column with a 5 cm guard column. The column temperature was maintained at 35°C. A flow rate of 1.0 mL/min was used. A Gilson 115 UV detector at 228 nm was used. The mobile phase consisted of hexanes, ethanol and trifluroacetic acid and the appropriate ratios are listed for each compound. Typically, the product was

acid. 10 µL volumes of the resulting solutions are analysed by LC-MS/MS and the concentrations of thrombin inhibitor are determined using standard curves. The area under the plasma concentration-time profile is estimated using the log/linear trapezoidal rule and extrapolated to infinite time. Plasma clearance (CL) of the compound is then determined as

$$CL=Dose/AUC$$

The values are reported in mL/min/kg.

Test G

Determination of *in vitro* Stability

Liver microsomes are prepared from Sprague-Dawley rats and human liver samples according to internal SOPs. The compounds are incubated at 37°C at a total microsome protein concentration of 3 mg/mL in a 0.05 mol/L TRIS buffer at pH 7.4, in the presence of the cofactors NADH (2.5 mmol/L) and NADPH (0.8 mmol/L). The initial concentration of compound is 5 or 10 µmol/L. Samples are taken for analysis up to 60 minutes after the start of the incubation. The enzymatic activity in the collected sample is immediately stopped by adding 20% myristic acid at a volume corresponding to 3.3% of the total sample volume. The concentration of compound remaining (FINAL CONC) in the 60 min. sample is determined by means of LCMS using a sample collected at zero time as reference (START CONC). The % of degraded thrombin inhibitor is calculated as:

$$100\% \times \frac{[\text{START CONC}]-[\text{FINAL CONC}]}{[\text{START CONC}]}$$

Test H

Arterial Thrombosis Model

Vessel damage is induced by applying ferric chloride ($FeCl_3$) topically to the carotid artery. Rats are anaesthetised with an intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (80 mg/kg; Apoteksbolaget; Umeå, Sweden),

dissolved in a minimal amount of ethanol and this was diluted with the mobile phase.

LC-MS/MS was performed using a HP-1100 instrument equipped with a CTC-PAL injector and a 5 µm, 4x100 mm ThermoQuest, Hypersil BDS-C18 column. An API-3000 (Sciex) MS detector was used. The flow rate was 1.2 mL/min and the mobile phase (gradient) consisted of 10-90% acetonitrile with 90-10% of 4 mM aq. ammonium acetate, both containing 0.2% formic acid.

^{1}H NMR spectra were recorded using tetramethylsilane as the internal standard. ^{13}C NMR spectra were recorded using the listed deuterated solvents as the internal standard.

Example 1

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu)

(i) 3-Chloro-5-methoxybenzaldehyde

3,5-Dichloroanisole (74.0 g, 419 mmol) in THF (200 mL) was added dropwise to magnesium metal (14.2 g, 585 mmol, pre-washed with 0.5 N HCl) in THF (100 mL) at 25°C. After the addition, 1,2-dibromoethane (3.9 g, 20.8 mmol) was added dropwise. The resultant dark brown mixture was heated at reflux for 3 h. The mixture was cooled to 0°C, and *N,N*-dimethylformamide (60 mL) was added in one portion. The mixture was partitioned with diethyl ether (3 x 400 mL) and 6N HCl (500 mL). The combined organic extracts were washed with brine (300 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give an oil. Flash chromatography (2x) on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (38.9 g, 54%) as a yellow oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.90 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 3.87 (s, 3H).

(ii) 3-Chloro-5-hydroxybenzaldehyde

A solution of 3-chloro-5-methoxybenzaldehyde (22.8 g, 134 mmol; see step (i) above) in CH_2Cl_2 (250 mL) was cooled to 0°C. Boron tribromide (15.8 mL, 167 mmol) was added dropwise over 15 min. After stirring, the reaction mixture for 2 h, H_2O (50 mL) was added slowly. The solution was then extracted with Et_2O (2 x 100 mL). The organic layers were combined, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (5.2 g, 25%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.85 (s, 1H), 7.35 (s,1H), 7.20 (s,1H), 7.10 (s,1H), 3.68 (s,1H)

(iii) 3-Chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde

A solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (7.5g, 48 mmol; see step (ii) above) in 2-propanol (250 mL) and 30% KOH (100 mL) was heated to reflux. While stirring, $CHClF_2$ was bubbled into the reaction mixture for 2 h. The reaction mixture was cooled, acidified with 1N HCl and extracted with EtOAc (2 x 100 mL). The organics were washed with brine (100 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (4.6 g, 46%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.95 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.60 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

A solution of 3-chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde (4.6 g, 22.3 mmol; see step (iii) above) in CH_2Cl_2 (200 mL) was cooled to 0°C. ZnI_2 (1.8 g, 5.6 mmol) and trimethylsilyl cyanide (2.8 g, 27.9 mmol) were added and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 15 h. The mixture was partially concentrated *in vacuo* yielding the sub-title compound as a liquid, which was used directly in step (v) below without further purification or characterization.

(v) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(NH)OEt

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (6.82 g, assume 22.3 mmol; see step (iv) above) was added dropwise to HCl/EtOH (500 mL). The reaction mixture was stirred 15 h, then partially concentrated *in vacuo* yielding the sub-title compound as a liquid, which was used in step (vi) without further purification or characterization.

(vi) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(NH)OEt (6.24 g, assume 22.3 mmol; see step (v) above) was dissolved in THF (250 mL), 0.5M H_2SO_4 (400 mL) was added and the reaction was stirred at 40°C for 65 h, cooled and then partially concentrated *in vacuo* to remove most of the THF. The reaction mixture was then extracted with Et_2O (3 x 100 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound as a solid, which was used in step (vii) without further purification or characterization.

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

A solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt (6.25 g, assume 22.3 mmol; see step (vi) above) in 2-propanol (175 mL) and 20% KOH

(350 mL) was stirred at room temperature 15 h. The reaction was then partially concentrated *in vacuo* to remove most of the 2-propanol. The remaining mixture was acidified with 1M H_2SO_4, extracted with Et_2O (3 x 100 mL), dried (Na_2SO_4) and concentrated *in vacuo* to give a solid. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH (6:3:1) afforded the ammonium salt of the sub-title compound. The ammonium salt was then dissolved in a mixture of EtOAc (75 mL) and H_2O (75 mL) and acidified with 2N HCl. The organic layer was separated and washed with brine (50 mL), dried (Na_2SO_4) and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (3.2 g, 57% from steps (iv) to (vii)).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.16 (s, 1H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

A mixture of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (3.2 g, 12.7 mmol; see step (vii) above) and Lipase PS "Amano" (~2.0 g) in vinyl acetate (125 mL) and MTBE (125 mL) was heated at reflux for 48 h. The reaction mixture was cooled, filtered through Celite® and the filter cake washed with EtOAc. The filtrate was concentrated *in vacuo* and subjected to flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH (6:3:1) yielding the ammonium salts of the sub-title compounds (a) and (b). Compound (a) as a salt was dissolved in H_2O, acidified with 2N HCl and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (a) (1.2 g, 37%).

For sub-title compound (a)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (1.1 g, 4.4 mmol; see step (viii) above) and H-Aze-Pab(Teoc) (see international patent application WO 00/42059, 2.6 g, 5.7 mmol) in DMF (50 mL) at 0°C was added PyBOP (2.8 g, 5.3 mmol) and collidine (1.3 g, 10.6 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for an additional 15 h. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and flash chromatographed on silica gel (3 x), eluting first with $CHCl_3$:EtOH (9:1), then with EtOAc:EtOH (20:1) and finally eluting with CH_2Cl_2:CH_3OH (95:5) to afford the sub-title compound (1.0 g, 37%) as a white solid.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.79-7.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.15-7.48 (m, 5H), 6.89 and 6.91 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.12 and 5.20 (s, 1H), 4.75-4.85 (m, 1H), 3.97-4.55 (m, 6H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.15 (m, 2H), 0.09 (s, 9H)

MS (m/z) 611 $(M + 1)^+$

(x) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.051 g, 0.08 mmol; see step (ix) above), was dissolved in 3 mL of acetonitrile and 0.062 g (0.5 mmol) of *O*-cyclobutylhydroxylamine hydrochloride was added. The mixture was heated at 70°C for 4.5 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and ethyl acetate. The aqueous phase was extracted two more times with ethyl acetate and the combined organic phase was washed with water, brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated. Yield: 0.054 g (95%).

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 8.66-8.50 (m, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.29 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.88 (t, 1H major rotamer), 6.85 (t, 1H minor rotamer), 5.18 (s,1H major rotamer), 5.12 (s, 1H minor rotamer), 5.16 (m, 1H minor rotamer), 4.78 (m, 1H major rotamer), 4.70 (m, 1H), 4.50-4.30 (m, 3H), 4.19-3.93 (m, 3H), 2.71-2.44 (m, 1H), 2.34-2.11 (m, 5H), 1.78 (m, 1H), 1.62 (m, 1H), 0.96 (m, 2H), 0.01 (s, 9H)

(xi) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu, Teoc) (0.054 g, 0.08 mmol; see step (x) above), was dissolved in 0.5 mL of CH_2Cl_2 and 3 mL of TFA. The reaction was allowed to proceed for 60 minutes. TFA was evaporated and the residue was purified using preparative HPLC. The fractions of interest were pooled and freeze-dried (2x), yielding 23 mg (54%) of the title compound.

MS (m/z) 536 $(M - 1)^-$; 538 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7.56 (d, 2H), 7.33 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.89 (t, 1H major rotamer), 6.86 (t, 1H minor rotamer), 5.18 (s, 1H major rotamer; and m, 1H minor rotamer), 5.11 (s, 1H minor rotamer), 4.77 (m, 1H major rotamer), 4.58 (m, 1H), 4.42 (m, 2H), 4.34 (m, 1H major rotamer), 4.15 (m, 1H major rotamer), 4.06 (m, 1H minor rotamer), 3.97 (m, 1H minor rotamer), 2.66 (m, 1H minor rotamer), 2.52 (m, 1H major rotamer), 2.33-2.25 (m, 3H), 2.01-2.20 (m, 2H), 1.75 (m, 1H), 1.59 (m, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD) (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.4, 172.3, 171.9, 171.4, 152.3

Example 2

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.148 g, 0.24 mmol; see Example 1(ix) above), was dissolved in 9 mL of acetonitrile and 0.101 g (1.45 mmol) of hydroxylamine hydrochloride was added. The mixture was heated at 70°C for 2.5 h, filtered through Celite® and evaporated. The crude product (0.145 g; 75% pure) was used directly in the next step without further purification.

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc) (0.145 g, 0.23 mmol; see step (i) above), was dissolved in 0.5 mL of CH_2Cl_2 and 9 mL of TFA. The reaction was allowed to proceed for 60 minutes. TFA was evaporated and the residue was purified using preparative HPLC. The fractions of interest were pooled and freeze-dried (2x), yielding 72 mg (yield over two steps 62%) of the title compound.

MS (m/z) 482 $(M - 1)^-$; 484 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7.58 (d, 2H), 7.33 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.89 (t, 1H major rotamer), 6.86 (t, 1H minor rotamer), 5.18 (s, 1H major rotamer; and m, 1H minor rotamer), 5.12 (s, 1H minor rotamer), 4.77 (m, 1H major rotamer),4.42 (m, 2H), 4.34 (m, 1H major rotamer), 4.14 (m, 1H major rotamer), 4.06 (m, 1H minor rotamer), 3.95 (m, 1H minor rotamer), 2.66 (m, 1H minor rotamer), 2.50 (m, 1H major rotamer), 2.27 (m, 1H major rotamer), 2.14 (m, 1H minor rotamer)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.4, 172.3, 172.0, 171.4 152.3, 152.1

Example 3

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.045 g, 0.074 mmol; see Example 1(ix) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 1 h. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.043 g (100%) of the sub-title compound as its TFA salt.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.75 (m, 2H), 7.55-7.5 (m, 2H), 7.35 (m, 1H, major rotamer), 7.31 (m, 1H, minor rotamer), 7.19 (m, 1H, major rotamer), 7.15 (m, 1H), 7.12 (m, 1H, minor rotamer), 6.89 (t, 1H, major rotamer), 6.87 (t, 1H, minor rotamer), 5.22 (m, 1H, minor rotamer), 5.20 (s, 1H, major rotamer), 5.13 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.37 (m, 1H, major rotamer), 4.19 (m, 1H, major rotamer), 4.07 (m, 1H, minor rotamer), 3.98 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.55 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.6, 172.5, 172.0, 171.7, 167.0

MS (m/z) 465 $(M-1)^-$, 467 $(M+1)^+$

Example 4

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentyl)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (74 mg, 0.13 mmol; see Example 3 above) and cyclopentylchloroformate (44 mg, 0.30 mmol) in methylene chloride (5 mL) was added aq. NaOH (0.5 mL, 2M, 1 mmol). The mixture was stirred at room temperature and the reaction was monitored with HPLC. After 2.5 hours, water was added

and the liquid phases were separated. The aqueous phase was extracted twice with methylene chloride. The combined organic phases were dried ($MgSO_4$) and purified on silica gel (first methylene chloride, then EtOAc). After removal of the solvents *in vacuo*, the solid residue was dissolved in water/acetonitrile and freeze-dried to afford the title compound as a white solid. Yield: 33mg (44%)

MS (m/z) 579 $(M + 1)^+$

^1H NMR (400MHz; CD_3OD): δ 7.79(d, 2H), 7.43-7.30(m, 5H), 7.20-7.11(m, 2H), 6.90(t, 1H, major rotamer), 6.87(t, 1H, minor rotamer), 5.19(dd, 1H, minor rotamer), 5.18(s, 1H, major rotamer), 5.13(m, 1H), 5.11(s, 1H, minor rotamer), 4.78(dd, 1H, major rotamer), 4.45(m, 2H), 4.35(m, 1H, major rotamer), 4.16(s, 1H, major rotamer), 4.06(s, 1H, minor rotamer), 3.97(s, 1H, minor rotamer), 2.68(m, 1H, minor rotamer), 2.52(s, 1H, major rotamer), 2.28(s, 1H, major rotamer), 2.16(s, 1H, minor rotamer), 1.90(m, 2H), 1.77(m, 4H), 1.61(m, 2H)

^{13}C NMR (carbonyl and/or amidine protons; 100 MHz): δ 173.6, 173.1, 172.6, 170.3, 165.6

Example 5

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

The title compound was prepared according to the procedure described in Example 4 above starting from Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (73 mg, 0.13 mmol; see Example 3 above) and benzylchloroformate (35 mg, 0.21 mmol). Additional purification by reverse-phase HPLC (0.1M ammonium acetate/MeCN 40/60) was necessary. The appropriate fractions were concentrated *in vacuo* and extracted with EtOAc. Yield: 24mg (32%).

MS (m/z) 602 $(M + 1)^+$

^{1}H NMR (400MHz; CD_3OD): δ 7.80(d, 2H), 7.43-7.25(m, 8H), 7.20-7.10(m, 2H), 6.90(t, 1H, major rotamer), 6.88(t, 1H, minor rotamer), 5.18(dd, 1H, minor rotamer), 5.18(s, 2H), 5.17(s, 1H, rotamer), 5.11(s, 1H, rotamer), 4.78(dd, 1H, major rotamer), 4.45(m, 2H), 4.34(m, 1H, major rotamer), 4.15(s, 1H, major rotamer), 4.06(s, 1H, minor rotamer), 3.97(s, 1H, minor rotamer), 2.66(m, 1H, minor rotamer), 2.51(s, 1H, major rotamer), 2.27(s, 1H, major rotamer), 2.15(s, 1H, minor rotamer)

^{13}C NMR (carbonyl and/or amidine protons; 100MHz): δ 173.6, 173.1, 172.6, 170.5, 164.9

Example 6

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 2-Nitro-5-trifluoromethoxybenzoic acid

To a solution of 3-trifluoromethoxybenzoic acid (49.0 g, 0.24 mol) in sulfuric acid (500 mL) at less than 0°C (ice-MeOH bath) was added a solution of potassium nitrate (31.3 g, 0.31 mol) in sulfuric acid (200 mL) over 20 minutes. The resulting solution was stirred at 0°C for 2 hours, then warmed to room temperature and stirred for 18 hours. The reaction was poured into ice and the resulting acidic solution was extracted with EtOAc (5x). The combined organics were washed with H_2O (1x), brine (2x), H_2O (1x) and brine (1x), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (65.7 g) as a solid contaminated with HOAc. The crude sub-title compound was dissolved in EtOAc and toluene and concentrated *in vacuo* to give a HOAc free solid (58.4 g, 97%) that was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 10.10 (br s, 1H), 8.02 (d, 1H, J = 8 Hz), 7.69 (d, 1H, J = 2 Hz), 7.54 (dd, 1H, J = 2 Hz, J = 8 Hz)

(ii) 2-Amino-5-trifluoromethoxybenzoic acid

To a solution of 2-nitro-5-trifluoromethoxybenzoic acid (56.8 g, 0.23 mol; see step (i) above) in EtOH (1000 mL) was added 10% Pd/C (5.7 g). The resulting solution was flushed with H_2 for 5 h, filtered through Celite® and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (49.7 g, 98%) as a solid that was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.66 (m, 1H), 7.17 (d, 1H, J = 8 Hz), 6.77 (d, 1H, J = 8 Hz)

(iii) 2-Amino-3-chloro-5-trifluoromethoxybenzoic acid

To a solution of 2-amino-5-trifluoromethoxybenzoic acid (49.0 g, 0.22 mol; see step (ii) above) in HOAc (1200 mL) was slowly added sulfuryl chloride (41.8 g, 0.31 mol). Gas evolution was observed. The resulting heterogeneous mixture was stirred at room temperature for 1 h. Additional HOAc (300 mL) was added to aid stirring, followed by sulfuryl chloride in 5 mL portions until the starting material was consumed based on TLC analysis. The reaction was concentrated *in vacuo* to give solids that were flushed on a rotary evaporator with EtOAc (2x) followed by Et_2O (1x) to remove the HOAc. The resulting solids were further dried to give the HCl salt of the crude sub-title compound (60.5 g, 94%), which was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.72 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.22 (s, exchangeables)

(iv) 3-Chloro-5-trifluoromethoxybenzoic acid

To a solution of 2-amino-3-chloro-5-trifluoromethoxybenzoic acid (60.5 g, assume 0.22 mol; see step (iii) above) in 1,4-dioxane (1000 mL) was added 6N HCl (750 mL). Some organics oiled out of solution. The dioxane

solution was cooled to less than 0°C (ice-MeOH bath). A solution of sodium nitrite (18.2 g, 0.26 mol) in H_2O (250 mL) was added over 15 minutes *via* an addition funnel. The resulting solution was stirred for 45 min. Hypophosphorous acid (221.5 mL of 50 wt% in H_2O, 291.2 g, 2.20 mol) was added slowly *via* an addition funnel. The solution was stirred at 0°C for 1.5 hours, then warmed to room temperature (gas evolution observed) and stirred for 18 hours. The crude solution was transferred to a separating funnel and extracted with Et_2O (4x). The combined organics were extracted with aqueous $NaHCO_3$ (3x). The basic aqueous layer was cautiously acidified with 6N HCl and extracted with CH_2Cl_2 (3x). The CH_2Cl_2 extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (26.5 g, 46% from 3-trifluoromethoxybenzoic acid) as a solid that was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.98 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.58 (s, 1H)

(v) 3-Chloro-5-trifluoromethoxybenzyl alcohol

To a solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxybenzoic acid (22.5 g, 93.5 mmol; see step (iv) above) in anhydrous THF (1200 mL) under a N_2 atmosphere at room temperature was added a solution of BH_3•THF complex (140 mL of 1M in THF; 140.3 mmol). The solution was refluxed for 2 h, cooled to room temperature and stirred for 18 hours, quenched cautiously with H_2O and concentrated *in vacuo* to remove most of the THF. The residue was diluted with EtOAc and the organics were washed with brine (3x), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (21.2 g, 100%) as an oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.33 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 2.05 (br s, 1H)

(vi) 3-Chloro-5-trifluoromethoxybenzaldehyde

A solution of DMSO (16.1 g, 205.9 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (300 mL) was cooled to –78°C. Oxalyl chloride (13.1 g, 103.0 mmol) was added slowly *via* a syringe (gas evolution was observed). The resulting solution was stirred at –78°C for 15 minutes. A solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxybenzyl alcohol (21.2 g, 93.6 mmol; see step (v) above) in CH_2Cl_2 (200 mL) was added *via* an addition funnel over a period of 15 minutes. The cloudy solution was stirred at -78°C for 40 minutes and DIPEA (60.5 g, 468.0 mmol) was added *via* an addition funnel over 10 minutes. The resulting homogeneous solution was stirred at –78°C for 1.5 hours, then warmed to room temperature and stirred 18 hours. The crude solution was concentrated *in vacuo*, the residue diluted with EtOAc and washed with H_2O (1x), 2N HCl (1x), brine (1x), aqueous $NaHCO_3$ (1x) and brine (1x). The organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (19.9 g, 95%) which was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 10.00 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.51 (s, 1H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

To a solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxybenzaldehyde (19.9 g, 88.6 mmol; see step (vi) above) in CH_2Cl_2 (600 mL) at 0°C was added ZnI_2 (1.4 g, 4.4 mmol) and trimethylsilyl cyanide (9.7 g, 97.5 mmol). After stirring at 0°C for 1.5 hours, and at room temperature for 2 hours, TLC analysis showed only the starting material. ZnI_2 was added portion-wise until the reaction proceeded (over 30.0 g of ZnI_2 was added in total). After

stirring at room temperature for 18 h, the reaction was quenched with water and the organics were separated. The organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (27.7 g, 96%) as a liquid that was used without further purification.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.43 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 0.38 (s, 9H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

A suspension of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (27.7 g, 85.6 mmol; see step (vii) above) in concentrated HCl (300 mL) was refluxed for 3 hours. The resulting brown heterogeneous mixture was cooled to room temperature and extracted with Et_2O (2x). The initial organics were extracted with 2N NaOH (2x), then the basic layer was acidified with 2N HCl and extracted with Et_2O. The Et_2O was dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (4.9 g, 21%). TLC analysis of the initial organics showed the sub-title compound was still present so the basic extraction/acidification was repeated using 6N NaOH to afford additional crude sub-title compound (2.8 g, 12%). TLC analysis of the initial organics showed the sub-title compound was still present so the organics were dried (Na_2SO_4) and concentrated *in vacuo* to give the sodium salt of the sub-title compound (18.3 g) as an oil. The salt was then re-dissolved in Et_2O and the organics acidified with 2N HCl and washed with brine. The resulting organics were dried (Na_2SO_4), treated with activated charcoal, filtered through Celite® and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound (14.3 g, 62%) as a solid that was used in the next step without further purification.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 5.23 (s, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

A mixture of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (7.7 g, 28.5 mmol; see step (viii) above) and Lipase PS "Amano" (3.8 g) in MTBE (100 mL) and vinyl acetate (50 mL) was stirred at 60°C for 26 hours. The reaction was cooled and filtered through Celite® and the filter cake washed with EtOAc. The combined organics were concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH (6:3:1) afforded a mixture of the ammonium salts of sub-title compound (a) and sub-title compound (b) (6.7 g) and a pure sample of the ammonium salt of sub-title compound (a) (1.2 g) with less than 95% e.e. The respective fractions were dissolved in Et_2O and washed with 2N HCl (1x) and brine (1x), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated to give the corresponding carboxylic acids (6.7 g and 1.1 g respectively). These fractions were then separately re-submitted to the resolution conditions and re-purified as necessary *via* chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH (6:3:1 or 75:20:5 or 145:45:10) as needed. The purified sub-title compound (a) was acidified with aqueous HCl or aqueous citric acid prior to further use. The ammonium salt of sub-title compound (b) was used without characterization.

For sub-title compound (a)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 5.23 (s, 1H)

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD): δ 174.9, 150.9, 145.4, 136.3, 126.8, 122.0, 120.6, 118.9, 72.9

MS (m/z) 269 (M - 1)$^-$

(x) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.73 g, 2.70 mmol; see step (ix) above) in DMF (40 mL) under a nitrogen atmosphere was cooled to 0°C. To the solution was added H-Aze-Pab(Teoc) (1.46 g, 3.24 mmol), collidine (0.82 g, 6.75 mmol) and PyBOP (1.83 g, 3.51 mmol). The solution was stirred at 0°C for 2 h, warmed to room temperature and stirred 18 hours, quenched with water and concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with EtOAc and washed with H_2O (1x), aqueous $NaHCO_3$ (1x), aqueous citric acid (1x) and brine (1x), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to give the crude sub-title compound. Flash chromatography on silica gel (2x) eluting with EtOAc:MeOH (30:1) then CH_2Cl_2:MeOH (93:7) afforded the sub-title compound (0.73 g, 43%) as a crushable foam.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers): δ 7.78-7.82 (d, 2H, J = 8 Hz), 7.25-7.54 (m, 5H), 5.25 and 5.16 (s, 1H), 5.22 and 4.79 (m, 1H), 3.92-4.58 (m, 6H), 2.20-2.76 (m, 2H), 1.04-1.13 (m, 2H), 0.08 (s, 9H) ,
MS (m/z) 629 $(M + 1)^+$

(xi) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

Trifluoroacetic acid (1.0mL) was added to a stirred ice/water-cooled solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (101 mg; 160 µmol; see step (x) above), in methylene chloride (10 mL). The cooling bath was removed after 1 hour. After 1.5 hours at room temperature, acetonitrile (30 mL) was added and the solvents were carefully removed under reduced pressure. The residue was dissolved in water and freeze dried to afford 90 mg (92%) of the title compound as its TFA salt.

MS (m/z) 483 $(M - 1)^-$; 485 $(M + 1)^+$

^{1}H NMR (300 MHz; CD_3OD): (complex due to diastereomers/rotamers): δ 7.70-7.80 (m, 2H), 7.45-7.58 (m, 3H), 7.24-7.38 (m, 2H), 5.26 (s, 1H), 5.17 (m, 1H, minor rotamer), 4.82 (m, 1H, major rotamer), 4.35-4.6 (m, 3H), 4.22 (m, 1H, major rotamer), 3.92-4.12 (m, 2H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.55 (m, 1H, major rotamer), 2.30 (m, 1H, major rotamer), 2.16 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers): δ 173.7, 173.4, 173.0, 172.8, 168.1

Example 7

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

HATU (71 mg; 0.19 mmol) was added to a stirred ice/water-cooled solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (39 mg; 0.14 mmol; see Example 6(ix) above) in DMF (3mL). After 30 minutes, a solution of H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (69 mg; 0.21 mmol; see international patent application WO 00/42059) and 2,4,6-collidine (0.080 mL; 0.58 mmol) in DMF (1.5 mL) was added. The reaction mixture was left overnight and the temperature was allowed to rise slowly to ambient. The solvents were removed *in vacuo* and the crude product was purified using reverse-phase HPLC (acetonitrile: 0.1M aq. ammonium acetate) to afford, after freeze drying the appropriate fractions, the title compound (61 mg, 97%) as a colourless solid.

MS (m/z) 513 $(M - 1)^-$, 515 $(M + 1)^+$

^{1}H NMR (500 MHz; CD_3OD): δ 7.97 (bt, 1H), 7.53 (d, 2H), 7.27 (t, 1H), 7.22 (d, 2H), 7.19 (t, 1H), 7.11 (t, 2H), 6.77 (s, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.9 (bs, 3H), 4.81 (m, 2H), 4.40 (m, 2H), 4.09 (m, 1H) 3.87 (s, 3H), 2.58 (m, 1H), 2.37(m, 1H)

^{13}C NMR (125 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons): δ 171.8, 169.9, 156.8

Example 8

Parallel Synthesis of Alkoxyamidines

This synthesis was performed in a 96-well Robbins block. To wells containing an appropriate amount of O-substituted hydroxylamine (specified below; all of which are commercially available or were prepared using well known literature procedures) was added a solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (10 mg; 17 μmol; see Example 6(x) above) in acetonitrile (1.0 mL). The block was sealed and the reaction mixture was rotated overnight in an oven at 60°C. After cooling and filtration, the solids were washed with acetonitrile (3 x 0.3 mL). The combined liquid fractions were concentrated in a vacuum centrifuge. The residue was partitioned between water (0.4 mL) and ethyl acetate (0.4 mL). After liquid-liquid extraction was finished, everything was filtered through a column of Hydromatrix™. After washing three times with ethyl acetate, the combined filtrates were concentrated in a vacuum centrifuge. Deprotection was performed by addition of methylene chloride (0.1 mL), and trifluroacetic acid (0.3 mL). After stirring at room temperature for 3 hours, the solvents were removed *in vacuo*. The residue was partitioned between aqueous saturated sodium hydrogen carbonate (0.5 mL) and ethyl acetate (0.5 mL). After extraction, filtration through Hydromatrix™ and concentration (*vide infra*) the residue was dissolved in isopropanol/water (7/3) (1 mL). About 2% of this solution was removed and diluted with isopropanol/water (7/3) (1 mL) for LC-MS analysis. After removal of the solvents *in vacuo* the solid residue was transferred to a 96-well plate using acetonitrile and ethyl acetate to dissolve the compound. The solvents were evaporated in a vacuum centrifuge to afford the following title compounds:

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-(5-Me-isoxazole))

(from 3-[(aminooxy)methyl]-5-methylisoxazole x HCl (18 mg; 0.11 mmol)). Yield: 3.64mg (35%) (MS (m/z) 596 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-pyridine)

(from 3-[(aminooxy)methyl]pyridine x 2 HCl (19 mg; 96 µmol). Yield: 5.14 mg (50%) (MS (m/z) 592 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu)

(from *O*-isobutyl hydroxylamine x HCl (17 mg; 140 µmol). Yield: 4.4 mg (45%). MS (m/z) 557 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

(from *O*-ethyl hydroxylamine x HCl (14 mg; 140 µmol). Yield: 4.04 mg (42%). MS (m/z) 529 $(M+1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn)

(from *O*-benzylhydroxylamine x HCl (17 mg; 110 µmol). Yield: 3.22 mg (29%). MS (m/z) 591 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Hexyl)

(from *O*-cyclohexyl hydroxylamine x HCl (15 mg; 99 µmol). Yield: 2.9 mg (26%). MS (m/z) 583 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu)

(from *O*-cyclobutyl hydroxylamine x HCl (17 mg; 140 µmol). Yield: 3.3 mg (30%). MS (m/z) 555 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab($OCH_2CH_2OPh(3\text{-}CF_3)$)

(from *O*-[2-[3-(trifluoromethyl)phenoxy]ethyl]hydroxylamine x HCl (24 mg; 93 µmol). Yield: 6.52 mg (46%). MS (m/z) 689 $(M+1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Cl))

(from O-(4-chlorobenzyl)hydroxylamine x HCl (16 mg; 82 µmol). Yield: 3.47 mg (29%). MS (m/z) 625 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(3-MeO))

(from O-(3-methoxybenzyl)hydroxylamine x HCl (18 mg; 94 µmol). Yield: 4.33 mg (36%). MS (m/z) 621 $(M+1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(2-Br))

(from O-(2-bromobenzyl)hydroxylamine x HCl (23 mg; 96 μmol). Yield: 3.87 mg (30%). MS (m/z) 671 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Me))

(from O-(4-methylbenzyl)hydroxylamine x HCl (14 mg; 81μmol). Yield: 2.91 mg (25%). MS (m/z) 605 $(M + 1)^+$); and

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-4-heptyl)

(from *O*-(4-heptyl)hydroxylamine x HCl (15 mg; 89 μmol). Yield: 17 mg (100%). MS (m/z) 599 $(M + 1)^+$).

Example 9

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) 3-Chloro-5-methoxybenzoic acid

Magnesium turnings (Fluka purum for Grignard reactions) were pre-treated in the following way: The turnings were placed in a glass sintered funnel and 0.1 M of hydrochloric acid was poured onto them. The turnings were stirred with a glass rod for a few seconds and then the acid was washed away with 3 portions of water. Finally, the turnings were washed with 2 portions of acetone and bottled. Tetrahydrofuran (100 mL, 99.95%) was dried by adding RedAl (1 g, 70% wt. in toluene). Pre-treated magnesium turnings (5 g, 200 mmol) were placed in a round bottomed flask, and were flushed with nitrogen 3 times. Dichloroanisole (26 g, 146 mmol) was dissolved in THF (100 mL, RedAl-dried) and dibromoethane (1.8 g, 10 mmol) was added. The reaction mixture was flushed with nitrogen and then refluxed for 2 hours. Heating was interrupted and dry ice (10 g) was added portionwise over 2 minutes. When all of the dry ice was dissolved, the reaction mixture was poured into ice containing hydrochloric acid (400 mL, 2 M). Extractive work up (ether, 300 mL) gave 11.2 g, 60.2 mmol (yield: 41%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (500 MHz; acetone-d_6): δ 7.57 (m, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.23 (m, 1H), 3.91 (s, 3H)

(ii) 3-Chloro-5-hydroxybenzoic acid

Alumina (1.65 g, 60 mmol) and iodine (21 g, 82 mmol) were refluxed in toluene (200 mL) for 2 hours. Then, 3-chloro-5-methoxybenzoic acid (11.2 g, 60.2 mmol; see step (i) above) dissolved in toluene (50 mL) was added, together with tetrabutylammonium iodide (1.5 g, 4 mmol), and the mixture was refluxed for another 2 hours. After cooling to ambient temperature, extractive work up gave 8.7 g, 50 mmol (yield: 83%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (300 MHz; acetone-d_6): δ 9.27 (s, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.11 (m, 1H)

(iii) 3-Chloro-5-difluoromethoxybenzoic acid

3-Chloro-5-hydroxybenzoic acid (6.4 g, 37.2 mmol; see step (ii) above) dissolved in chloroform (200 mL) was transferred to a 500 mL three-necked round-bottomed flask fitted with a dry ice condenser and a gas inlet tube. Sodium hydroxide (100 mL, 5 M) was added and with vigorous stirring. Chlorodifluoromethane (Freon 22; 25 g, 290 mmol) was added portionwise through the gas inlet tube at ambient temperature. After 2 hours, the reaction was complete. Extractive work up gave 6.2 g, 28 mmol (yield: 75%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (500 MHz; acetone-d_6): δ 7.87 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.19 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz)

(iv) 3-Chloro-5-difluoromethoxy-N-methoxy-N-methylbenzamide

3-Chloro-5-difluoromethoxybenzoic acid (1.8 g, 8 mmol; see step (iii) above) and oxalyl chloride (1.5 g,11.8 mmol) were dissolved in methylene chloride (50 mL). DMF (2 drops) was added and the reaction mixture was stirred at ambient temperature for 30 minutes. Then, *N,O*-dimethylhydroxylamine (1 g, 10.2 mmol) and triethylamine (3 g, 30 mmol) were added and after another 10 minutes stirring at ambient temperature, the reaction mixture was concentrated at reduced pressure. The residue was taken up in ether (100 mL) and water (50 mL). After separation, the organic phase was washed with brine, dried over sodium sulphate, filtered and concentrated. This residue was chromatographed on silica (hexane/ethyl acetate 2:1) which gave 2 g, 7.5 mmol (93%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$): δ 7.54 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 6.53 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz)

(v) 3-Chloro-5-difluoromethoxyacetophenone

3-Chloro-5-difluoromethoxy-N-methoxy-N-methylbenzamide (2 g, 7.5 mmol; see step (iv) above) was dissolved in ether (100 mL) and cooled under nitrogen to -70°C. Methyllithium (7 mL, 11 mmol, 1.6 M in ether) was added dropwise with a syringe to the stirred reaction mixture over 1 minute. The dry ice bath was removed and the mixture was allowed to reach ambient temperature before the reaction was quenched with ammonium chloride solution (50 mL, 5% NH_4Cl in water). The organic phase was washed with brine, dried over sodium sulphate, filtered and concentrated at reduced pressure. The residue was chromatographed on silica (hexane:ethyl acetate 2:1) which gave 1.5 g, 6.8 mmol (yield: 90%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (600 MHz; $CDCl_3$): δ 7.77 (m, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.35 (m, 1H), 6.56 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz), 2.60 (s, 3H)

(vi) 3-Chloro-5-difluoromethoxyphenylacetic acid methyl ester

3-Chloro-5-difluoromethoxyacetophenone (1.5 g, 6.8 mmol; see step (v) above) was dissolved in methylene chloride (200 mL). Thallium(III) nitrate x 3MeOH on K-10 montmorillonite (6 g, 10 mmol (ca 0.6 mmol/g); see *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 6750 (1976)) was added and the mixture was stirred at ambient temperature for 20 hours. The mixture was filtered and the filtrate was washed with sodium bicarbonate (100 mL, 0.5 M), dried over sodium sulphate, filtered and concentrated at reduced pressure. The residue was chromatographed on silica (hexane/ethyl acetate 2:1) which gave 1 g, 4 mmol (yield: 56%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$): δ 7.14 (m, 1H), 7.06 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 6.50 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz), 3.72 (s, 3H), 3.60 (s,1H)

(vii) α-Formyl(3-chloro-5-difluoromethoxyphenyl)acetic acid methyl ester

3-Chloro-5-difluoromethoxyphenylacetic acid methyl ester (1 g, 4 mmol; see step (vi) above) and methyl formate (1 g, 16 mmol) were dissolved in ether (100 mL) and cooled in an ice-bath (ca. 2°C). Then, finely cut sodium (180 mg, 7.8 mmol) and methanol (1 mL) were added and the mixture was left in the ice-bath with stirring overnight. Water (100 mL) was added carefully and the phases were separated. The water containing phase was acidified with hydrochloric acid (2 M) to pH 1 and extracted with ether (2 x 100 mL). The extract was dried over sodium sulphate, filtered and concentrated at reduced pressure. The residue was chromatographed on silica (hexane:ethyl acetate (1:1)) which gave 400 mg, 1.4 mmol (yield: 36%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz): δ 12.10 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.51 (t, 1H, J_{F-H} 73), 3.83 (s, 3H)

(viii) 3-Chloro-5-difluoromethoxytropic acid

α-Formyl(3-chloro-5-difluoromethoxyphenyl)acetic acid methyl ester (400 mg, 1.4 mmol; see step (vii) above) was dissolved in THF:methanol (50 mL, 9:1). Sodium borohydride was added and the mixture was stirred at ambient temperature for 30 minutes. Water was added and the mixture was concentrated to produce an aqueous suspension, which was taken up in ethyl acetate and water. The phases were separated and the organic phase was washed with sodium chloride (15% in water), dried over sodium sulphate, filtered and concentrated at reduced pressure. The residue was dissolved in methanol (30 mL) and hydrolyzed with sodium hydroxide (1 mL, 10 M) at ambient temperature for 10 minutes. Extractive work up gave 180 mg, 0.68 mmol (yield: 48%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$): δ 7.18 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.50 (t, 1H, J_{F-H} 73), 4.11 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.84 (m, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

3-Chloro-5-difluoromethoxytropic acid (180 mg, 0.7 mmol; see step (viii) above), H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (450 mg, 1 mmol) and PyBOP (530 mg, 1 mmol) were dissolved in DMF (10 mL), whereafter DIPEA (550 mg, 3.9 mmol) was added. The mixture was stirred at ambient temperature for 1 h before it was diluted with brine (20 mL, 15% NaCl) and extracted with ethyl acetate (40 mL). The extract was dried over sodium sulphate, filtered and evaporated to dryness. The residue was dissolved in methylene chloride (5 mL) and trifluroacetic acid (5 mL) was added. After 1 h at ambient temperature, the mixture of diastereomers was evaporated to dryness and the residue was chromatographed on a reverse phase

column (acetonitrile:water (30:70), buffer: ammonium acetate 0.1 M). Freeze drying gave 36 mg, 0.067 mmol (yield: 10.4%) of the title compound.

MS (ES) 481 $(M+1)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$): δ 7.77 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.13 (m, 2H), 6.87 (t, 1H, J_{F-H} 73 Hz), 4.76 (m, 1H), 4.55 (s, 2H); 4.37 (m, 1H), 4.03 (m, 2H), 3.82 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 2.53 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 1.92 (s, 1,5H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.3, 171.9, 167.2

Example 10

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 3-Chloro-5-trifluoromethoxybenzyl mesylate

To a solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxybenzyl alcohol (6.1 g, 26.9 mmol; see Example 6(v) above) in CH_2Cl_2 (250 mL) at 0°C under a nitrogen atmosphere was added DIPEA (4.2 g, 32.3 mmol) and methanesulfonyl chloride (3.4 g, 29.6 mmol). The solution was stirred at 0°C for 1.5 hours and quenched with H_2O. The organics were separated and then washed with H_2O (1x), 1N HCl (1x), H_2O (1x) and aqueous $NaHCO_3$ (1x) and then dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated to afford the sub-title compound (8.2 g, 99%) as an oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.37 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.18 (s, 1H) 5.23 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(ii) 3-Chloro-5-trifluoromethoxybenzyl cyanide

To a solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxybenzyl mesylate (8.2 g, 26.8 mmol; see step (i) above) in DMSO (50 mL) was added sodium cyanide (2.6 g, 53.6 mmol). The resulting heterogeneous solution was

warmed to 50°C and sonicated for 1 hour. The reaction was cooled and partitioned between Et_2O and H_2O. The organics were washed with H_2O (2x) and brine (2x). The combined aqueous phases were extracted with Et_2O (1x). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated under a low heat and partial vacuum to afford the sub-title compound (6.3 g, 100%) as a reddish volatile oil which was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 3.78 (s, 2H)

(iii) 3-Chloro-5-trifluoromethoxyphenylacetic acid

To a solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxybenzyl cyanide (6.3 g, 26.7 mmol; see step (ii) above) in 2-propanol (100 mL) was added water (200 mL) and potassium hydroxide (7.5 g, 133.5 mmol). The solution was refluxed for 18 h, cooled to room temperature, and the 2-propanol was removed *in vacuo*. The aqueous phase was washed with CH_2Cl_2 (2x) and the washings discarded. The basic aqueous phase was acidified with 2N HCl and extracted with CH_2Cl_2 (3x). The CH_2Cl_2 extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (5.2 g, 76%) as an oil which was used in the next step without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.25 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 3.68 (s, 2H)

(iv) Ethyl 3-chloro-5-trifluoromethoxyphenylacetate

To a solution of 3-chloro-5-trifluoromethoxyphenylacetic acid (5.2 g, 20.4 mmol; see step (iii) above) in EtOH (600 mL) was added sulfuric acid (several drops). The solution was refluxed for 18 h, cooled to room

temperature, neutralized with solid $NaHCO_3$ and the EtOH removed *in vacuo*. The residue was diluted with EtOAc then washed with H_2O (1x), aqueous $NaHCO_3$ (1x) and brine (1x). The organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (5.5 g, 96%) as an oil which was used in the next step without further purification.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.24 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.13-4.22 (q, J = 8 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 1.24-1.32 (t, J = 8 Hz, 3H)

(v) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CHO)C(O)OEt

To a solution of ethyl 3-chloro-5-trifluoromethoxyphenylacetate (4.5 g, 15.9 mmol; see step (iv) above) in anhydrous THF (400 mL) under a nitrogen atmosphere at less than 0°C (ice-MeOH bath) was added sodium ethoxide (4.5 g, 63.6 mmol). The cold solution was stirred for 40 minutes and ethyl formate (8.1 g, 111.3 mmol) was added. The solution was stirred at 0°C for 30 minutes, warmed to room temperature and stirred for 2 hours. Then, the THF was removed *in vacuo*. The residue was diluted with Et_2O and extracted with H_2O (1x) and 0.5M NaOH (3x). The aqueous extracts were acidified with 2N HCl and extracted with CH_2Cl_2 (3x). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the crude sub-title compound (3.9 g). Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (3.0 g, 61%) as an oil.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$, mixture of isomers): δ 12.30 and 12.25 (s, 1H), 7.39 and 7.34 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.27-4.37 (q, J = 8 Hz, 2H), 1.28-1.38 (t, J = 8 Hz, 3H)

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OEt

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CHO)C(O)OEt (3.0 g, 9.66 mmol; see step (v) above) in MeOH (200 mL) at –10°C (ice-MeOH

bath) was added sodium borohydride (0.7 g, 19.32 mmol) portion-wise over 5 min. The solution was stirred at –10°C for 45 minutes and additional sodium borohydride (0.4 g) was added. After another 15 minutes, the reaction was quenched with aqueous ammonium chloride, made weakly acidic with 2N HCl and the MeOH was removed *in vacuo*. The residue was diluted with EtOAc and washed with H_2O (1x), aqueous $NaHCO_3$ (1x) and brine (1x). The organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the crude sub-title compound. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (5:1) afforded the sub-title compound (2.0 g, 66%) as an oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.26 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.16-4.28 (m, 2H), 4.04-4.15 (m, 1H), 3.76-3.94 (m, 2H), 2.33 (t, J = 6 Hz, 1H), 1.18-1.30 (t, J = 8 Hz, 3H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OH

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OEt (2.0 g, 6.24 mmol; see step (vi) above) in THF (50 mL) and H_2O (25 mL) was added lithium hydroxide monohydrate (0.5 g, 12.48 mmol). The solution was stirred at room temperature for 1 hour and the THF was removed *in vacuo*. The residue was diluted with H_2O then washed with $CHCl_3$ (2x) and the washings discarded. The basic aqueous layer was acidified with 2N HCl and extracted with $CHCl_3$ (4x). The $CHCl_3$ extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the crude sub-title compound (1.5 g) as an oil. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH (gradient from 7.0:2.5:0.5 to 6:3:1) afforded the ammonium salt of the sub-title compound (1.1 g). The ammonium salt was partitioned between 1N HCl and $CHCl_3$. The organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-

title compound (also known as 3-chloro-5-trifluoromethoxytropic acid) as an oil (1.1 g, 62%).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD):δ 7.41 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.75-3.87 (m, 2H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (a) and Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (b)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OH (0.65 g, 2.28 mmol; see step (vii) above) in DMF at less than 0°C (ice-MeOH bath) was added H-Aze-Pab(Teoc) (0.90 g, 2.39 mmol), collidine (0.71 g, 5.70 mmol) and PyBOP (1.31 g, 2.51 mmol). The resulting solution was stirred at less than 0°C for 1 h, warmed to room temperature and stirred for 1 hour. The DMF was then removed *in vacuo*. The residue was diluted with EtOAc and washed with dilute aqueous HCl (1x), brine (1x), aqueous $NaHCO_3$ (1x) and brine (1x). The organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the crude sub-title compound (2.1 g) as a mixture of diastereomers. Flash chromatography (3x) on silica gel eluting first with EtOAc:MeOH (95:5) then with CH_2Cl_2:MeOH (97:3) and last with CH_2Cl_2:MeOH (95:5) afforded the sub-title compounds diastereomer (a) (0.51 g, 35%) and diastereomer (b) (0.45 g, 31%) as crushable foams.

For sub-title compound diastereomer (a)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.79-7.85 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.22-7.49 (m, 5H), 5.17-4.77 (m, 1H), 4.53-4.18 (m, 4H), 3.58-4.11 (m, 5H), 2.47-2.73 (m, 1H), 2.11-2.34 (m, 1H), 1.08-1.12 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

MS (m/z) 643 $(M + 1)^+$

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc), (78 mg, 0.121 mmol; see step (viii) above - diastereomer (a)), was dissolved in 5 mL of trifluoroacetic acid. After 10 minutes, the reaction was over and the solvent was evaporated. The residue was freeze dried from water and acetonitrile to give the desired product. Yield: 70 mg (94%).

MS (m/z) 483 $(M - 1)^-$; 485 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR(400 MHz; D_2O) rotamers 1:1: δ 8.83 (bt, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.72 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.43 (d, 2H), 7.35 (m, 1H, rotamer), 7.28 (m, 1H, rotamer), 7.20 (m, 1H, rotamer), 7.05 (m, 1H, rotamer), 5.22 (m, 1H, rotamer), 4.83 (m, 1H, rotamer), 4.57 (m, 2H, rotamer), 4.38 (m, 2H, rotamer), 4.3-3.7 (m, 5H), 2.77 (m, 1H, rotamer), 2.55 (m, 1H, rotamer), 2.27 (m, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; D_2O): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.9, 172.2, 172.0, 171.8, 166.9

Example 11

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (100 mg, 0.155 mmol; see Example 10(viii) above), was dissolved in 12 mL of tetrahydrofuran. *O*-Methylhydroxylamine hydrochloride (44 mg, 0.53 mmol), was added and the reaction was heated at 50°C overnight. The reaction mixture was evaporated and the residue purified by preparative HPLC (CH_3CN/0.1 M NH_4OAc (70/30)). The pertinent fractions were evaporated and the residue dissolved in a small amount of acetonitrile and

water and freeze dried. The freeze drying was repeated once. Yield: 80 mg (76%) of pure material.

^{1}H-NMR(400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.5-7.4 (m, 3H), 7.35-7.2 (m, 4H), 5.15 (m, 1H, minor rotamer), 4.74 (m, 1H, major rotamer), 4.5-4.25 (m, 3H), 4.2-3.95 (m, 4H), 3.91 (b, 3H), 3.9-3.6 (m, 2H), 2.63 (m, 1H, minor rotamer), 2.50 (m, 1H, major rotamer), 2.3-2.1 (m, 1H), 0.95 (m, 2H), 0.02 (s, 9H, major rotamer), 0.01 (s, 9H, minor rotamer)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc), (80 mg, 0.12 mmol; see step (i) above), was dissolved in 1 mL of methylene chloride and cooled in an ice bath. Trifluoroacetic acid, 3 mL, was added and the reaction flask was kept in the ice bath for two hours. The mixture was evaporated and dissolved in ethyl acetate and washed three times with $NaHCO_3$ (aq) then with water and brine. The organic phase was dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated. The residue was freeze dried from a small amount of acetonitrile and water. Yield: 60 mg (95%) of pure title product.

MS (m/z) 528 $(M - 1)^-$; 531 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR(500 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.65-7.55 (m, 3H, rotamers), 7.45 (m, 1H, major rotamer), 7.4-7.2 (m, 4H), 5.15 (m, 1H, minor rotamer), 4.74 (m, 1H, major rotamer), 4.5-4.3 (m, 3H), 4.05-3.95 (m, 2H), 3.85 (m, 1H, major rotamer), 3.82 (s, 3H, major rotamer), 3.81 (s, 3H, minor rotamer), 3.73 (m, 1H, major rotamer), 3.67 (m, 1H, minor rotamer), 3.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.63 (m, 1H, minor rotamer), 2.50 (m, 1H, major rotamer), 2.24 (m, 1H, major rotamer), 2.16 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (125 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 174.0, 173.2, 172.7, 172.6, 155.1

Example 12

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.40 g, 0.65 mmol; see Example 1(ix) above), was dissolved in 20 mL of acetonitrile and 0.50 g (6.0 mmol) of O-methyl hydroxylamine hydrochloride was added. The mixture was heated at 70°C for 2 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and ethyl acetate. The aqueous phase was extracted twice more with ethyl acetate and the combined organic phase was washed with water, brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated. Yield: 0.41 g (91%).

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.83 (bt, 1H), 7.57 (bs, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.47 (m, 2H), 4.4-4.2 (b, 1H), 4.17-4.1 (m, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.42 (m,1H) 0.97 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc) (0.40 g, 0.62 mmol; see step (i) above), was dissolved in 5 mL of TFA and allowed to react for 30 min. TFA was evaporated and the residue was partitioned between ethyl acetate and $NaHCO_3$ (aq.). The aqueous phase was extracted twice more with ethyl acetate and the combined organic phase was washed with water, brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated. The product was

freeze dried from water/acetonitrile. No purification was necessary.Yield: 0.28 g (85%).

^{1}H-NMR (600 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.89 (bt, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.28 (d, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.13 (m,1H), 6.99 (m, 1H), 6.51 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.80 (bs, 2H), 4.48 (dd, 1H), 4.43 (dd, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.40 (m, 1H).

^{13}C-NMR (125 MHz; $CDCl_3$): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.9, 170.8, 152.7, 152.6

MS (m/z) 495 $(M - 1)^-$, 497 $(M + 1)^+$

Example 13

Ph(3-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) (13 mg, 0.026 mmol; see Example 12 above) was dissolved in abs. ethanol (5 mL) and 30 mg of 10% Pd/C was added. Finally acetic acid (5 µL) was added and the mixture was hydrogenated at atmospheric pressure for 20h. The mixture was, filtered through Celite®, evaporated, and purified by reversed phase HPLC (0.1 M aq. ammonium acetate/MeCN). The appropriate fractions were freeze-dried to afford the title compound as a white solid: 8.5 mg (66%).

^{1}H-NMR(400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.73-7.78 (m, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.19-7.43 (m, 3H), 7.06-7.13 (m, 1H), 6.83 (t, 1H, J_{HF} = 74Hz, major rotamer), 6.81 (t, 1H, major rotamer), 5.20 (s, 1H, major rotamer), 5.19 (m, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, minor rotamer), 4.78 (m, 1H, major rotamer), 4.4-4.6 (several peaks, 2H), 4.35 (m, 1H, major rotamer), 4.08 (m, 1H), 3.99 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.52 (m, 1H, major rotamer), 2.30 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer), 1.89 (s, 3H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 173.7, 172.9, 168.3.

MS (m/z) 433 $(M+1)^+$; 431 $(M-1)^-$

Example 14

Ph(3-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (34 mg, 0.057 mmol, from Example 6) was dissolved in 5 mL of ethanol and 20 mg of 10% Pd/C was added. The mixture was hydrogenated at atmospheric pressure overnight. The mixture was filtered through Celite®, evaporated, and freeze dried from water/acetonitrile.

^{1}H-NMR(400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.5-7.2 (m, 4H), 5.24 (s, 1H, major rotamer), 5.23 (m, 1H, minor rotamer), 5.18 (s, 1H, minor rotamer), 4.77 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.36 (m, 1H, major rotamer), 4.08 (m, 1H), 3.99 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.52 (m, 1H, major rotamer), 2.30 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 174.1, 173.9, 173.5, 172.9, 168.2.

^{19}-F NMR (282 MHz; CD_3OD): -59.8 and -59.9 (3F, minor and major rotamer respectively), -77.4 (3F) indicates that the salt is TFA.

MS (m/z) 451.3 $(M+1)^+$

Example 15

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 3-Chloro-5-trifluoroethoxybenzaldehyde

To a magnetically stirred solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (2.0 g, 12.8 mmol; see Example 1(ii) above) and potassium carbonate (2.3 g, 16.6 mmol) in DMF (35 mL) under nitrogen was added 2,2,2-trifluoroethyl *p*-toluenesulfonate (4.2 g, 16.6 mmol) at room temperature. The mixture was heated to 110°C for 7 h and then stirred overnight at room temperature. The reaction was cooled to 0°C, poured into ice-cold 2 N HCl (100 mL) and extracted with EtOAc (2 x 75 mL). The combined organic extracts were washed with 0.5 N HCl (2 x 50 mL), dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The brown oil was chromatographed on silica gel eluting with Hex:EtOAc (6:1) to afford the sub-title compound (1.9 g, 61%) as a yellow oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.44 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.42 (q, J = 8 Hz, 2H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

To a solution of 3-chloro-5-trifluoroethoxybenzaldehyde (5.2 g, 21.7 mmol; see step (i) above) and zinc iodide (1.7 g, 5.4 mmol) in CH_2Cl_2 (200 mL) under nitrogen was added trimethylsilyl cyanide (4.3 g, 43.3 mmol) dropwise *via* syringe at 0°C. The mixture was stirred at 0°C for 3 h then diluted with H_2O (150 mL). The organic layer was separated, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (6.9 g, 95%) as a yellow oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.27 (s, 1H), 6.98 (s, 2H), 5.44 (s, 1H), 4.38 (q, J = 8 Hz, 2H), 0.30 (s, 9 H)

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*,*S*)CH(OH)C(O)OH

Concentrated hydrochloric acid (170 mL) was added to Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*,*S*)CH(OTMS)CN (6.9 g, 20.4 mmol; see step (ii) above) and stirred at 100°C for 1 h. After cooling to room temperature, the reaction was further cooled to 0°C and basified slowly with 3 N NaOH (300 mL). This mixture was washed with Et_2O (2 x 100 mL) and the aqueous layer was acidified with 2 N HCl (50 mL). The aqueous layer was then extracted with EtOAc (2 x 100 mL), dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (5.3 g, 92%) as a pale yellow oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.18 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.58 (q, J = 8 Hz, 2H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

A solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*,*S*)CH(OH)C(O)OH (7.06 g, 24.8 mmol; see step (iii) above) and Lipase PS "Amano" (4.30 g) in vinyl acetate (250 mL) and MTBE (250 mL) was heated at 70°C under nitrogen for 40 h. The reaction was cooled to room temperature, the enzyme was removed by filtration washing with EtOAc, and the filtrate concentrated *in vacuo*. Chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (92:6:2) afforded the triethylamine salt of the sub-title compound (a) (3.02 g) as a yellow oil. The salt of sub-title compound (a) was dissolved in H_2O (150 mL), acidified with 2 N HCl and extracted with EtOAc (2 x 75 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to yield the sub-title compound (a) (2.18 g) as an off-white solid.

In addition, the triethylamine salt of sub-title compound (b) (4.73 g) was obtained from the column chromatography mentioned above.

Data for sub-title compound (a):

mp: 98-103°C

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.18 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.58 (q, J = 8 Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.4, 159.6, 144.6, 136.2, 125.0 (q, J = 277 Hz), 121.8, 115.9, 113.1, 73.3, 67.0 (q, J = 35 Hz)

HPLC Analysis: 98.6%, >99% ee, Chiralcel OD Column (97:3:0.5 Hex:EtOH:TFA mobile phase)

$[\alpha]^{25}_D$ = -81.5° (c = 1.0, MeOH)

APCI-MS: (M - 1) = 283 m/z

(v) <u>Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)</u>

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.50 g, 1.8 mmol; see step (iv) above (compound (a))) in DMF (20 mL) under nitrogen was added H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (1.03 g, 2.3 mmol), PyBOP (1.01 g, 1.9 mmol), and DIPEA (0.57 g, 4.4 mmol) at 0°C. The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for 20 h. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (10:1) and then with EtOAc:EtOH (10:1) to afford the sub-title compound (0.55 g, 48%) as a crushable white foam.

mp: 90-95°C

R_f = 0.42 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.78-7.81 (m, 2H), 7.38-7.41 (m, 2H), 7.12-7.16 (m, 1H), 7.00-7.06 (m, 2H), 5.09-5.22 and 4.75-4.79 (m, 2H), 3.94-4.61 (m, 8H), 2.09-2.75 (m, 2H), 1.04-1.11 (m, 2H), 0.70 (s, 9H)

APCI-MS: (M + 1) = 643 m/z

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.066 g, 0.103 mmol; see step (v) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 30 min. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.060 g (94%) of the title compound as its TFA salt.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.2-7.0 (m, 3H), 5.21 (m, 1H, minor rotamer), 5.17 (s, 1H, major rotamer), 5.11 (s, 1H, minor rotamer), 4.81 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m, 4H), 4.37 (m, 1H, major rotamer), 4.16 (m, 1H, major rotamer), 4.06 (m, 1H, minor rotamer), 3.99 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.54 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.2, 171.8, 171.7, 167.0.

MS (m/z) 499.3 $(M+1)^+$

Example 16

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.48 g, 1.7 mmol; see Example 15(iv) above (compound (a)) in DMF (20 mL) under nitrogen was added H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (0.74 g, 2.2 mmol), PyBOP (0.97 g, 1.9 mmol), and DIPEA (0.55 g, 4.2 mmol) at 0°C. The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for 20 h. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (10:1) and second with

EtOAc:EtOH (10:1) to afford the title compound (0.62 g, 69%) as a crushable white foam.

mp: 75-80°C

R_f = 0.43 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.57-7.60 (m, 2H), 7.32-7.36 (m, 2H), 7.13-7.17 (m, 1H), 7.00-7.06 (m, 2H), 5.09-5.19 and 4.74-4.80 (m, 2H), 3.93-4.62 (m, 6H), 3.81 (s, 3H), 2.10-2.73 (m, 2H)

APCI-MS: (M + 1) = 529 m/z

Example 17

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 2,2-Difluoroethyl ester methanesulfonic acid

To a magnetically stirred solution of 2,2-difluoroethanol (1.52 g, 18.5 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) under nitrogen was added triethylamine (5.61 g, 55.5 mmol) and methanesulfonyl chloride (2.54 g, 22.2 mmol) at 0°C. The mixture was stirred at 0°C for 1.5 h, diluted with CH_2Cl_2 (50 mL), and washed with 2 N HCl (50 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (30 mL) and the combined organic extracts washed with brine (30 mL), dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (2.52 g, 85%) as a yellow oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.02 (tt, *J* = 3 Hz, *J* = 55 Hz, 1H), 4.39 (dt, *J* = 3 Hz, *J* = 13 Hz, 2H), 3.13 (s, 3H)

(ii) 3-Chloro-5-difluoroethoxybenzaldehyde

To a solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (1.50 g, 9.6 mmol; see Example 1(ii) above) and potassium carbonate (1.72 g, 12.5 mmol) in DMF

(10 mL) under nitrogen was added a solution of 2,2-difluoroethyl ester methanesulfonic acid (2.0 g, 12.5 mmol; see step (i) above) in DMF (10 mL) dropwise at room temperature. The mixture was heated to 100°C for 6 h and then stirred overnight at room temperature. The reaction was cooled to 0°C, poured into ice-cold 2 N HCl (100 mL), and extracted with EtOAc (2 x 75 mL). The combined organic extracts were washed with 0.5 N HCl (2 x 50 mL), dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The brown oil was chromatographed on silica gel eluting with Hex:EtOAc (5:1) to afford the sub-title compound (1.35 g, 64%) as a yellow oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.12 (tt, J = 3 Hz, J = 55 Hz, 1H), 4.26 (dt, J = 3 Hz, J = 15 Hz, 2H)

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

To a solution of 3-chloro-5-difluoroethoxybenzaldehyde (1.35 g, 6.1 mmol; see step (ii) above) and zinc iodide (0.48 g, 1.5 mmol) in CH_2Cl_2 (50 mL) was added trimethylsilyl cyanide (1.21 g, 12.2 mmol) dropwise at 0°C under nitrogen. The mixture was stirred at 0°C for 3 h, then diluted with H_2O (50 mL). The organic layer was separated, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (1.85 g, 95%) as a brown oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.13 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.10 (tt, J = 3 Hz, J = 55 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.20 (dt, J = 3 Hz, J = 15 Hz, 2H), 0.28 (s, 9H).

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Concentrated hydrochloric acid (60 mL) was added to Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (1.85 g, 5.8 mmol; see step (iii) above) and stirred at 100°C for 1 h. After cooling to room temperature, the reaction was further cooled to 0°C, basified slowly with 3 N NaOH (~180

mL) and washed with Et_2O (2 x 75 mL). The aqueous layer was acidified with 2 N HCl (20 mL) and extracted with EtOAc (2 x 75 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (1.50 g, 97%) as a pale yellow solid which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.15 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.19 (tt, J = 4 Hz, J = 55 Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.25 (dt, J = 4 Hz, J = 17 Hz, 2H)

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (b)

A solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (3.90 g, 14.6 mmol; see step (iv) above) and Lipase PS "Amano" (2.50 g) in vinyl acetate (140 mL) and MTBE (140 mL) was heated at 70°C under nitrogen for 40 h. The reaction was cooled to room temperature, the enzyme removed by filtration washing with EtOAc, and the filtrate concentrated *in vacuo*. Chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (92:6:2) afforded the triethylamine salt of the sub-title compound (a) as a yellow oil. In addition, the triethylamine salt of the sub-title compound (b) (1.47 g) was obtained and the salt was dissolved in H_2O (100 mL), acidified with 2 N HCl and extracted with EtOAc (2 x 75 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to yield the sub-title compound (b) (1.00 g) as an off-white solid.

Data for sub-title compound (b):

mp: 103–106°C

R_f = 0.39 (90:8:2 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.13 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.17 (tt, J = 4 Hz, J = 55 Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.24 (dt, J = 4 Hz, J = 8 Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.5, 160.3, 144.5, 136.1, 121.3, 115.7, 115.3, (t, J = 240 Hz), 112.9, 73.4, 68.6 (t, J = 29 Hz)

HPLC Analysis: 96.2%, >95.0% ee, ChiralPak AD Column (95:5:0,5 Hex:EtOH:TFA mobile phase)

$[\alpha]^{25}_D$ = -84.0° (c = 0.85 MeOH)

APCI-MS: (M - 1) = 265 m/z

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.35 g, 1.3 mmol; see step (v) above (compound (b))) in DMF (18 mL) under nitrogen was added H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (0.76 g, 1.7 mmol), PyBOP (0.75 g, 1.4 mmol), and DIPEA (0.43 g, 3.3 mmol) at 0°C. The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for 20 h. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (10:1), and then with EtOAc:EtOH (10:1) to afford the sub-title compound (0.69 g, 84%) as a crushable white foam.

mp: 108–118°C

R_f = 0.48 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.78-7.81 (m, 2H), 7.40-7.43 (m, 2H), 7.09-7.12 (m, 1H), 6.96-7.02 (m, 2H), 6.16 (t, J = 57 Hz, 1H), 5.09-5.20 and 4.75-4.80 (m, 2H), 3.95-4.55 (m, 8H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.04-1.11 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

APCI-MS: (M + 1) = 625 m/z

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.086 g, 0.138 mmol; see step (vi) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 1 h. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from

water/acetonitrile to yield 0.080 g (98%) of the title compound as its TFA salt.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.15-6.95 (m, 3H), 6.35-5.95 (m, 1H), 5.20 (m, 1H, minor rotamer), 5.14 (s, 1H, major rotamer), 5.10 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.0 (m, 6H), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.53 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 174.0, 173.8, 173.4, 172.9, 168.2

MS (m/z) 481.2 $(M+1)^+$

Example 18

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.30 g, 1.7 mmol; see Example 17(v) above (compound (b))) in DMF (15 mL) under nitrogen was added H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (0.49 g, 1.5 mmol), PyBOP, (0.65 g, 1.2 mmol), and DIPEA (0.36 g, 2.8 mmol) at 0°C. The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for 20 h. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed three times on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (10:1), then with EtOAc:EtOH (10:1), and finally with $CHCl_3$:MeOH (20:1) to afford the title compound (0.47 g, 81%) as a crushable white foam.

mp: 65-75°C

R_f = 0.37 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.58-7.60 (m, 2H), 7.32-7.35 (m, 2H), 7.09-7.12 (m, 1H), 6.96-7.02 (m, 2H), 6.16 (t, *J* =

55 Hz, 1H), 5.08-5.18 and 4.74-4.80 (m, 2H), 3.96-4.50 (m, 6H), 3.80 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H)

APCI-MS: (M + 1) = 511 m/z.

Example 19

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-Cl)(5-TMSO)-*(R,S)*CH(OTMS)CN

To a solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (9.8 g, 62.6 mmol; see Example 1(ii) above) and ZnI_2 (5.0 g, 15.7 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (500 mL) at 0°C was added trimethylsilyl cyanide (13.7 g, 138 mmol). The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. Water (250 mL) was added, and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (16.9 g, 83%) as a yellow oil that was used without further purification.

R_f = 0.42 (3:1 Hex:EtOAc)

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.06 (s, 1H), 6.86 (s, 2H), 5.40 (s, 1H), 0.30 (s, 9 H), 0.24 (s, 9 H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OH)-*(R,S)*CH(OH)C(O)OH

A solution of Ph(3-Cl)(5-OTMS)-(R,S)CH(OTMS)CN (22.6 g, 68.8 mmol; see step (i) above) in concentrated HCl (200 mL) was refluxed under nitrogen for 3 h. The reaction was cooled to 0°C and basified slowly with 2N NaOH. The mixture was washed with Et_2O (3 x 100 mL) to remove the organic impurities. The aqueous layer was acidified with 2N HCl and extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title

compound (9.3 g, 67%) as a brown oil that was used without further purification.

R_f = 0.23 (6:3:1 $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.05 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 5.03 (s, 1H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OH)-*(R,S)*CH(OH)C(O)OEt

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OH)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (9.3 g, 46.0 mmol; see step (ii) above) in absolute EtOH (200 mL) was added concentrated sulfuric acid (0.25 mL) and the reaction was refluxed under nitrogen for 4 h. The reaction was cooled to 0°C and solid $NaHCO_3$ (0.2 g) was added. The reaction was concentrated *in* vacuo and partitioned with saturated $NaHCO_3$ (100 mL) and Et_2O (3 x 50 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to give the sub-title compound (6.9 g, 65%) as a yellow oil which was used without further purification.

R_f = 0.62 (6:3:1 $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH).

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.99 (s, 1H), 6.81 (s, 2H), 5.07 (s, 1H), 4.16-4.32 (m, 2H), 1.23 (t, J = 7 Hz, 3H).

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-*(R,S)*CH(OH)C(O)OEt

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OH)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt (6.1 g, 26.8 mmol; see step (iii) above) in DMF (100 mL) in a sealed flask under nitrogen at 0°C was added cesium carbonate (13.1 g, 40.2 mmol). The reaction mixture was stirred at 0°C for 15 minutes followed by the addition of potassium iodide (0.5 g, 2.7 mmol). The reaction was cooled to –78°C and chlorofluoromethane (18.4 g, 268 mmol) was bubbled into the vessel. The sealed flask was then allowed to warm to room temperature and stirred for

18 h. The reaction mixture was cooled to 0°C, vented carefully to remove any excess chlorofluoromethane, and partitioned with H_2O (20 mL) and Et_2O (3 x 50 mL). The combined organics were washed with brine (2 x 50 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (gradient from 9:1 to 3:1) afforded the sub-title compound (2.4 g, 35%) as a light yellow oil. Note: The compound is faintly uv-visible on TLC. It can be visualised by staining the TLC with bromocresol green.

R_f = 0.46 (2:1 Hex:EtOAc)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 5.70 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 5.12 (d, J = 5 Hz, 1H), 3.80-4.35 (m, 2H), 3.50 (d, J = 5 Hz, 1H), 1.26 (t, J = 7 Hz, 3H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-*(R,S)*CH(OH)C(O)OH

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt (1.8 g, 6.8 mmol; see step (iv) above) in H_2O:THF (30 mL, 1:2) at 0°C under nitrogen was added lithium hydroxide monohydrate (0.40 g, 10.3 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 2 h. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and partitioned with H_2O (5 mL) and Et_2O (2 x 20 mL). The aqueous layer was acidified carefully with 0.2N HCl at 0°C and extracted with EtOAc (3 x 30 mL). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (1.4 g, 87%) as a colourless oil which solidified to a white solid upon standing.

R_f = 0.43 (6:2:1 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.24 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.78 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H).

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

A mixture of Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (3.2 g, 13.9 mmol; see step (v) above) and Lipase PS "Amano" (1.9 g) in vinyl acetate (150 mL) and MTBE (150 mL) was heated at 70°C under a nitrogen atmosphere for 3 d. The reaction mixture was cooled, filtered through Celite® and the filter cake washed with EtOAc. The filtrate was concentrated *in vacuo* and subjected to flash chromatography on a silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (15:1:0.5) to afford the triethylamine salt of the sub-title compound (a) (0.50 g, 21%) that was used without neutralisation. In addition, the triethylamine salt of the sub-title compound (b) (0.46 g, 20%) was obtained.

Data for Sub-Title Compound (a):

R_f = 0.19 (15:1:0.5 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.26 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 5.74 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 4.81 (s, 1H), 3.17 (q, J = 7 Hz, 6H), 1.28 (t, J = 7 Hz, 9H).

Data for Sub-Title Compound (b)

R_f = 0.33 (15:1:0.5 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.28 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 5.76 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 5.75 (s, 1H), 3.17 (q, J = 7 Hz, 6H), 2.16 (s, 3H), 1.28 (t, J = 7 Hz, 9H).

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of the triethylamine salt of Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.50 g, 1.50 mmol; see step (vi) above) and HAze-Pab(Teoc)•HCl (0.87 g, 1.90 mmol) in dry DMF (15 mL) under nitrogen at

0°C was added PyBOP (0.85 g, 2.60 mmol) and DIPEA (0.48 g, 3.70 mmol). The reaction was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and flash chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (9:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the sub-title compound (0.23 g, 26%) as a crushable white foam.

Mp: 88-92°C

R_f = 0.61 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.81 (d, J = 8 Hz, 2H); 7.40-7.42 (m, 2H), 7.06-7.23 (m, 3H), 5.76 (d, J_{H-F} = 51 Hz, 2H), 5.10-5.16 and 4.77-4.83 (m, 2H), 3.80-4.49 (m, 6H), 2.30-2.53 (m, 2H), 1.08 (t, J = 7 Hz, 2H), 0.08(s, 9H).

APCI-MS (M + 1) = 593 m/z

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.051 g, 0.086 mmol; see step (vii) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 20 min. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile. The product was 95% pure with 5% of defluoromethylated material. Attempts to purify it by preparative RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc failed, and the material, partially as an acetate, was dissolved in 5 mL of TFA, evaporated and freeze dried to yield 26 mg (51%) of the title compound as its TFA salt. Purity: 95%.

^{1}H-NMR (600 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.21 (s, 1H, major rotamer), 7.17 (s, 1H, minor rotamer), 7.13 (s, 1H, major rotamer), 7.09 (s, 1H, minor rotamer), 7.07 (m, 1H, major rotamer), 7.04 (m, 1H, minor rotamer), 5.73 (d, 2H), 5.18 (m, 1H, minor rotamer), 5.16 (s,

1H, major rotamer), 5.09 (s, 1H, minor rotamer), 4.78 (m, 1H, minor rotamer), 4.56 (d, 1H, major rotamer), 4.50 (d, 1H, minor rotamer), 4.46 (d, 1H, minor rotamer), 4.45 (d, 1H, major rotamer), 4.35 (m, 1H, major rotamer), 4.14 (m, 1H, major rotamer), 4.05 (m, 1H, minor rotamer), 3.97 (m, 1H, minor rotamer), 2.68 (m, 1H, minor rotamer), 2.52 (m, 1H, major rotamer), 2.28 (m, 1H, major rotamer), 2.19 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 173.9, 173.3, 172.9, 168.2.

ESI-MS+: (M+1) = 449 (m/z)

Example 20

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of the triethylamine salt of Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.60 g, 1.80 mmol; see Example 19(vi)) and HAze-Pab(OMe)·2HCl (0.79 g, 2.30 mmol) in DMF (15 mL) under nitrogen at 0°C was added PyBOP (1.04 g, 1.90 mmol) and DIPEA (0.58 g, 4.50 mmol). The reaction was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and flash chromatographed three times on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (9:1) and then twice with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the title compound (0.22 g, 26%) as a crushable white foam.

Mp: 66-70°C

R_f = 0.45 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.59 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 7 Hz, 2H), 7.06-7.23 (m, 3H), 5.75 (s, J_{H-F} = 54 Hz, 1H), 5.10-5.16 and 4.78-4.84 (m, 2H), 4.11-4.45 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 173.0, 170.8, 170.7, 152.5.

APCI-MS:(M + 1) = 479 m/z

Example 21

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) (2-Monofluoroethyl) methanesulfonate

To a magnetically stirred solution of 2-fluoroethanol (5.0 g, 78.0 mmol) in CH_2Cl_2 (90 mL) under nitrogen at 0°C was added triethylamine (23.7 g, 234 mmol) and methanesulfonyl chloride (10.7 g, 93.7 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 1.5 h, diluted with CH_2Cl_2 (100 mL) and washed with 2N HCl (100 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (50 mL) and the combined organic extracts washed with brine (75 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (9.7 g, 88%) as a yellow oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.76 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.64 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.52 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.43 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 3.09 (s, 3H).

(ii) 3-Chloro-5-monofluoroethoxybenzaldehyde

To a solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (8.2 g, 52.5 mmol; see Example 1(ii) above) and potassium carbonate (9.4 g, 68.2 mmol) in DMF (10 mL) under nitrogen was added a solution of (2-monofluoroethyl) methanesulfonate (9.7 g, 68.2 mmol; see step (i) above) in DMF (120 mL) dropwise at room temperature. The mixture was heated to 100°C for 5 h and then stirred overnight at room temperature. The reaction was cooled to 0°C, poured into ice-cold 2N HCl and extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered

and concentrated *in vacuo*. The brown oil was chromatographed on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) to afford the sub-title compound (7.6 g, 71%) as a yellow oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 4.87 (t, J = 4 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 3 Hz, 1H), 4.33 (t, J = 3 Hz, 1H), 4.24 (t, J = 3 Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

To a solution of 3-chloro-5-monofluoroethoxybenzaldehyde (7.6 g, 37.5 mmol; see step (ii) above) and zinc iodide (3.0 g, 9.38 mmol) in CH_2Cl_2 (310 mL) was added trimethylsilyl cyanide (7.4 g, 75.0 mmol) dropwise at 0°C under nitrogen. The mixture was stirred at 0°C for 3 h and at room temperature overnight. The reaction was diluted with H_2O (300 mL), the organic layer was separated, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (10.6 g, 94%) as a brown oil that was used without further purification or characterisation.

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Concentrated hydrochloric acid (100 mL) was added to Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (10.6 g, 5.8 mmol; see step (iii) above) and the solution stirred at 100°C for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction was further cooled to 0°C, basified slowly with 3N NaOH (~300 mL) and washed with Et_2O (3 x 200 mL). The aqueous layer was acidified with 2N HCl (80 mL) and extracted with EtOAc (3 x 300 mL). The combined EtOAc extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (8.6 g, 98%) as a pale yellow solid that was used without further purification.

R_f = 0.28 (90:8:2 $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (b)

A solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (8.6 g, 34.5 mmol; see step (iv) above) and Lipase PS "Amano" (4.0 g) in vinyl acetate (250 mL) and MTBE (250 mL) was heated at 70°C under nitrogen for 3 d. The reaction was cooled to room temperature and the enzyme removed by filtration through Celite®. The filter cake was washed with EtOAc and the filtrate concentrated *in vacuo*. Chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (90:8:2) afforded the triethylamine salt of sub-title compound (a) as a yellow oil. In addition, the triethylamine salt of sub-title compound (b) (4.0 g) was obtained. The salt of sub-title compound (b) was dissolved in H_2O (250 mL), acidified with 2N HCl and extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to yield the sub-title compound (b) (2.8 g, 32%) as a yellow oil.

Data for Sub-Title Compound (b):

R_f = 0.28 (90:8:2 $CHCl_3$:MeOH:concentrated NH_4OH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (940 mg, 3.78 mmol; see step (v) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was

added HAze-Pab(Teoc)•HCl (2.21 g, 4.91 mmol), PyBOP (2.16 g, 4.15 mmol), and DIPEA (1.22 g, 9.45 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature for 4 h. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the sub-title compound (450 mg, 20%) as a crushable white foam.

Mp: 80-88°C

R_f = 0.60 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.79 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 1H), 6.93-6.99 (m, 2H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.75-4.80 (m, 2H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.95-4.55 (m, 8H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 607 m/z.

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.357 g, 0.589 mmol; see step (vi) above), was dissolved in 10 mL of TFA and allowed to react for 40 min. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.33 g (93%) of the title compound as its TFA salt.

^{1}H-NMR (600 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (d, 2H), 7.08 (s, 1H, major rotamer), 7.04 (s, 1H, minor rotamer), 6.99 (s, 1H, major rotamer), 6.95 (s, 1H), 6.92 (s, 1H, minor rotamer), 5.18 (m, 1H, minor rotamer), 5.14 (s, 1H, major rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.73 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.35 (m, 1H, major rotamer), 4.21 (doublet of multiplets; 2H), 4.12 (m, 1H, major rotamer), 4.06 (m, 1H, minor rotamer), 3.99 (m, 1H, minor rotamer), 2.69

(m, 1H, minor rotamer), 2.53 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.8, 172.1, 167.4.

ESI-MS+: (M+1) = 463 (m/z)

Example 22

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (818 mg, 3.29 mmol; see Example 21(v) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(OMe)•2HCl (1.43 g, 4.27 mmol), PyBOP (1.89 g, 3.68 mmol), and DIPEA (1.06 g, 8.23 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed two times on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the title compound (880 mg, 54%) as a crushable white foam.

Mp: 65-72°C

R_f = 0.60 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.58-7.60 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 7 Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 2H), 6.95-6.99 (m, 1H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.99-4.51 (m, 7H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 173.3, 170.8, 152.5.

APCI-MS: (M + 1) = 493 m/z.

Example 23

Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1,3-Difluoroisopropyl methanesulfonate

To a magnetically stirred solution of 1,3-difluoro-2-propanol (7.0 g, 72.8 mmol) in CH_2Cl_2 (100 mL) under nitrogen at 0°C was added triethylamine (22.1 g, 219 mmol) and methanesulfonyl chloride (10.0 g, 87.4 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 3 h. The mixture was washed with 2N HCl (150 mL) and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (200 mL) and the combined organic extracts washed with brine (100 mL), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (11.5 g, 91%) as a yellow oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.97-5.08 (m, 1H), 4.75-4.77 (m, 2H), 4.59-4.61 (m, 2H), 3.12 (s, 3H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)CHO

To a solution of 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (8.0 g, 50.7 mmol; see Example 1(ii) above) and potassium carbonate (9.1 g, 66.0 mmol) in DMF (75 mL) under nitrogen was added a solution of 1,3-difluoroisopropyl methanesulfonate (11.5 g, 66.0 mmol; see step (i) above) in DMF (75 mL) dropwise at room temperature. The mixture was heated to 110°C for 18 h. The reaction was cooled to 0°C, poured into ice-cold 2N HCl (200 mL) and extracted with EtOAc (3 x 250 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The brown oil was chromatographed on silica gel eluting with Hex:EtOAc (4:1) to afford the sub-title compound (4.4 g, 37%) as a yellow oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 4.70-4.89 (m, 3H), 4.63-4.68 (m, 2H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(R,S)CH(OTMS)CN.

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)CHO (4.4 g, 18.7 mmol; see step (ii) above) and zinc iodide (1.5 g, 4.67 mmol) in CH_2Cl_2 (200 mL) at 0°C under nitrogen was added trimethylsilyl cyanide (3.7 g, 37.3 mmol) dropwise. The mixture was stirred at 0°C for 3 h and overnight at room temperature, then diluted with H_2O (200 mL). The organic layer was separated, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (5.5 g, 87%) as a brown oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.12 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 5.42 (s, 1H), 4.70-4.80 (m, 3H), 4.59-4.64 (m, 2H), 0.26 (s, 9H).

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Concentrated hydrochloric acid (50 mL) was added to Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(R,S)CH(OTMS)CN (5.5 g, 16.3 mmol; see step (iii) above) and the solution stirred at 100°C for 1.5 h. After cooling to room temperature, the reaction was further cooled to 0°C, basified slowly with 3N NaOH (~200 mL) and washed with Et_2O (3 x 200 mL). The aqueous layer was acidified with 2N HCl (75 mL) and extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined EtOAc extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (4.6 g, 100%) as a brown oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.70-4.90 (m, 3H), 4.52-4.67 (m, 2H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (b)

A solution of Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (4.6 g, 16.4 mmol; see step (iv) above) and Lipase PS "Amano" (3.0 g) in vinyl acetate (150 mL) and MTBE (150 mL) was heated at 70°C under nitrogen for 2.5 d. The reaction was cooled to room temperature, the enzyme removed by filtration through Celite®. The filter cake was washed with EtOAc and the filtrate concentrated *in vacuo*. Chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (90:8:2) afforded the triethylamine salt of the sub-title compound (a) as a yellow oil. In addition, the triethylamine salt of the sub-title compound (b) (2.2 g) was obtained and the salt was dissolved in H_2O (100 mL), acidified with 2N HCl and extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to yield the sub-title compound (b) (1.4 g, 29%) as a yellow oil.

Data for Sub-Title Compound (b):

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.70-4.90 (m, 3H), 4.52-4.67 (m, 2H).

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (824 mg, 2.94 mmol; see step (v) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(Teoc)•HCl (1.71 g, 3.81 mmol), PyBOP (1.68 g, 3.23 mmol), and DIPEA (949 mg, 7.34 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (15:1), and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the sub-title compound (720 mg, 38%) as a crushable white foam.

Mp: 78-84°C

R_f = 0.62 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.79 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.00-7.12 (m, 3H), 5.08-5.20 (m, 1H), 3.97-4.80 (m, 12H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 639 m/z.

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.129 g, 0.202 mmol; see step (vi) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 20 min. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.123 g (100%) of the title compound as its TFA salt.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.2-7.0 (m, 3H), 5:18 (m, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer partly obscured by the CD_3OH peak), 4.75-4.4 (m, 7H), 4.38 (m, 1H, major rotamer), 4.15 (m, 1H, major rotamer), 4.1-3.9 (m, 2H, 2 signals from minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.53 (m, 1H, major rotamer), 2.30 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.9, 172.6, 172.2, 171.7, 167.1.

ESI-MS+: (M+1) = 495 (m/z)

Example 24

Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (513 mg, 1.83 mmol; see Example 23(v) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at

0°C was added HAze-Pab(OMe)·2HCl (797 mg, 2.38 mmol), PyBOP (1.04 g, 2.01 mmol), and DIPEA (591 mg, 4.57 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed two times on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the title compound (370 mg, 39%) as a crushable white foam.

Mp: 58-63°C

R_f = 0.66 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.58-7.60 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.00-7.12 (m, 3H), 5.08-5.20 (m, 1H), 4.65-4.82 (m, 3H), 4.28-4.65 (m, 5H), 3.92-4.18 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 173.2, 170.8, 152.5.

APCI-MS: (M + 1) = 525 m/z.

Example 25

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1-Bromo-3-fluoro-5-benzyloxybenzene

Sodium hydride (60% dispersion in oil, 24.0 g, 0.48 mol) was added portionwise to a stirred solution of anhydrous benzyl alcohol (64.5 g, 0.60 mol) in THF (1.0 L). After the mixture was stirred for 1 h, a solution of 1-bromo-3,5-difluorobenzene (76.8 g, 0.40 mmol) in THF (100 mL) was added dropwise over a period of 1 h. The reaction was stirred at room temperature for 2 d. Water (400 mL) was added and the THF was removed *in vacuo*. The aqueous layer was extracted with hexane (3 x 150 mL). The combined organic extracts

were washed with 2N NaOH (2 x 100 mL) then, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (110.7 g, 98%) as a light yellow oil that was used without further purification.

R_f = 0.47 (Hex)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36-7.41 (m, 5H), 6.94 (bs, 1H), 6.87 (d, J_{H-F} = 8 Hz, 1H), 6.63 (d, J_{H-F} = 10 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H).

(ii) 3-Bromo-5-fluorophenol

To a solution of 1-bromo-3-fluoro-5-benzyloxybenzene (110.0 g, 0.39 mol; see step (i) above) and *N,N*-dimethylaniline (474.0 g, 3.92 mol) in anhydrous CH_2Cl_2 (1.0 L) at 0°C was added aluminium chloride (156.0 g, 1.17 mol). After 10 min, the ice bath was removed and the stirring was continued for 2 h. The reaction was quenched by the cautious addition of 3N HCl (600 mL). The layers were separated, and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (2 x 150 mL). The combined organic extracts were washed with 2N HCl (250 mL) and H_2O (3 x 250 mL). To the organic layer was added 15% KOH (500 mL), and the layers were separated. The organic layer was further extracted with 2 N KOH (2 x 70 mL). The combined aqueous layers were washed with CH_2Cl_2 (3 x 100 mL) and then acidified with 4N HCl. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 125 mL) then, the combined Et_2O extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (69.0 g, 92%) as a brown oil that was used without further purification.

Mp: 33-35°C

R_f = 0.25 ($CHCl_3$)

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.38 (s, 1H), 6.90 (dd, J_{H-F} = 11 Hz, J = 2 Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.59 (dt, J_{H-F} = 11 Hz, J = 2 Hz, 1H).

APCI-MS: (M-1) = 189 m/z

(iii) 1-Bromo-3-fluoro-5-difluoromethoxybenzene

A mixture of 3-bromo-5-fluorophenol (6.1 g, 31.0 mmol; see step (ii) above) and chlorodifluoromethane (13.0 g, 150.0 mmol) in *i*-PrOH (100 mL) and 30% KOH (80 mL) was heated in a sealed flask for 18 h at 80-85°C. The reaction mixture was cooled to room temperature and the layers were separated. The organic layer was concentrated *in vacuo* to afford a colourless oil. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 30 mL). The crude oil and the combined organic extracts were washed with 2N NaOH (3 x 30 mL) and H_2O (3 x 30 mL). The organics were then dried (Na_2SO_4), filtered through a small silica gel plug, and concentrated *in vacuo to* afford the sub-title compound (6.1 g, 79%) as a colourless oil that was used without further purification.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.11-7.14 (m, 2H), 6.84 (dt, J = 9 Hz, J = 2 Hz, 1H), 6.50 (t, J_{H-F} = 72 Hz, 1H).

(iv) 1-Fluoro-3-difluoromethoxy-5-vinylbenzene

Tri(butyl)vinylstannane (7.0 g, 22.2 mmol) was added to a suspension of 1-bromo-3-fluoro-5-difluoromethoxybenzene (4.9 g, 20.2 mmol; see step (iii) above), dichlorobis(triphenylphosphine)palladium(II) (1.42 g, 2.02 mmol) and anhydrous lithium chloride (0.90 g, 20.2 mmol) in THF (40 mL) under nitrogen at 65°C and the mixture was stirred for 5 h. The reaction mixture was cooled to 0°C and 1N NaOH (90 mL) was added. The biphasic mixture was vigorously stirred for 1 h then the layers were separated. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 70 mL). The combined organic layers were washed with 2N NaOH (2 x 40 mL) and H_2O (40 mL) then dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on

silica gel eluting with hexane afforded the sub-title compound (2.2 g, 57%) as a colourless oil.

R_f = 0.47 (Hex)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.93-6.99 (m, 2H), 6.73-6.78 (m, 1H), 6.67 (dd, J = 18 Hz, J = 11 Hz, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.77 (d, J = 18 Hz, 1H), 5.36 (d, J = 11 Hz, 1H).

(v) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH

2-Methyl-2-propanol (140 mL), H_2O (140 mL), and AD-mix-β (39.2 g) were combined together and cooled to 0°C. 1-Fluoro-3-difluoromethoxy-5-vinylbenzene (5.0 g, 26.4 mmol; see step (iv) above) dissolved in a small amount of 2-methyl-2-propanol was added at once, and the heterogeneous slurry was vigorously stirred at 0°C until TLC revealed the absence of the starting material. The reaction was quenched at 0°C by addition of sodium sulfite (42.0 g) and then warmed to room temperature and stirred for 60 min. The reaction mixture was extracted with Et_2O (3 x 120 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOAc (3:2) afforded the sub-title compound (5.8 g, 98%) as a colourless oil.

R_f = 0.41 (3:2 $CHCl_3$:EtOAc)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.96-6.99 (m, 2H), 6.77-6.82 (m, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.79-4.85 (m, 1H), 3.76-3.84 (m, 1H), 3.58-3.66 (m, 1H), 2.66 (d, J = 3 Hz, 1H), 2.00 (t, J = 6 Hz, 1H).

HPLC Analysis: 89.2%, >99% ee, ChiralPak AD Column (95:5 Hex:EtOH mobile phase).

(vi) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OTBS

A solution of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH (5.5 g, 24.7 mmol; see step (v) above), 4-(dimethylamino)pyridine (121 mg, 1.0 mmol) and triethylamine (3.0 g, 29.6 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (100 mL) was cooled to 0°C. A 1.0 M solution of *tert*-butyldimethylsilyl chloride in CH_2Cl_2 (26.0 mL, 26.0 mmol) was added dropwise, and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. Saturated ammonium chloride solution (60 mL) was added, and the layers were separated. The organic layer was washed with saturated ammonium chloride solution (60 mL) and H_2O (2 x 35 mL) then dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:Hex (3:1) afforded the sub-title compound (7.9 g, 85%) as a yellow oil.

R_f = 0.47 (3:1 $CHCl_3$:Hex)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.95-6.98 (m, 2H), 6.76-6.79 (m, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.71-4.74 (m, 1H), 3.75-3.80 (m, 1H), 3.48-3.54 (m, 1H), 2.99 (bs, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.05 (s, 3H), 0.00 (s, 3H).

(vii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS

To a solution of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OTBS (7.9 g, 0.51 mmol; see step (vi) above) and DIPEA (4.9 g, 48.1 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (50 mL) at 0°C under nitrogen was added dropwise 2-methoxyethoxymethyl chloride (6.6 g, 48.1 mmol). The mixture was stirred for 24 h. Saturated ammonium chloride solution (70 mL) was added, and the layers were separated. The organic layer was washed with saturated ammonium chloride solution (70 mL) and H_2O (3 x 60 mL) then dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (8.8 g, 99%) as a yellow oil that was used without further purification.

R_f = 0.41 (4:1 $CHCl_3$:EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.50 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.79-4.81 (m, 1H), 4.66-4.68 (m, 2H), 3.47-3.82 (m, 6H), 3.36 (s, 3H), 0.85 (s, 9H), 0.01 (s, 3H), 0.00 (s, 3H).

(viii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH

To a solution of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS (9.3 g, 21.9 mmol; see step (vii) above) in THF (60 mL) at room temperature was added a 1.0 M solution of tetrabutylammonium fluoride in THF (70.0 mL, 70.0 mmol) and the mixture was stirred overnight under nitrogen. The reaction was concentrated *in vacuo*. The yellow residue was dissolved in Et_2O (100 mL) and hexane (100 mL) and washed successively with saturated ammonium chloride solution (2 x 150 mL) and H_2O (3 x 70 mL). The organic layer was dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (1:1) afforded the sub-title compound (4.2 g, 62%) as a yellow oil.

R_f = 0.42 (1:1 Hex:EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.91-6.95 (m, 2H), 6.75-6.81 (m, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.80-4.82 (m, 1H), 4.70-4.74 (m, 2H), 3.88-3.93 (m, 1H), 3.67-3.71 (m, 3H), 3.53-3.56 (m, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.96-2.99 (m, 1H).

(ix) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH

A solution of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH (4.2 g, 13.4 mmol; see step (viii) above) in acetone (100 mL) was added to an aqueous 5% $NaHCO_3$ solution (35 mL). This magnetically stirred heterogeneous mixture was cooled to 0°C and potassium bromide (159 mg, 1.3 mmol) and 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy, free radical (2.2 g, 14.1 mmol) were added. Sodium hypochlorite (5.25%, 30 mL) was then added dropwise over

a period of 20 min while the mixture was vigorously stirred and maintained at 0°C. After 1 h, additional sodium hypochlorite (30 mL) and 5% $NaHCO_3$ solution (35 mL) were added and stirring was continued at 0°C for 2 h. The acetone was removed *in vacuo*. The aqueous layer was washed with Et_2O (4 x 40 mL). The aqueous layer was acidified to pH 3.5 with 10% citric acid and extracted with EtOAc (4 x 50 mL). The combined EtOAc extracts were successively washed with H_2O (4 x 30 mL) and brine (60 mL) then, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (4.3 g; 98%) as a colourless oil which was used without further purification.

R_f = 0.74 (8.0:1.5:0.5 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, acetone-d_6) δ 7.16-7.18 (m, 2H), 7.16 (t, J_{H-F} = 89 Hz, 1H), 7.00-7.03 (m, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.88 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 7 Hz, 1H), 3.54-3.75 (m, 2H), 3.46-3.49 (m, 2H), 3.28 (s, 3H).

(x) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.1 g, 3.4 mmol; see step (ix) above) in DMF (20 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(Teoc)•HCl (2.0 g, 4.4 mmol), PyBOP (1.9 g, 3.7 mmol), and DIPEA (1.1 g, 8.4 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the sub-title compound (1.3 g, 56%) as a crushable white foam.

R_f = 0.65 (15:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.80-7.84 (m, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H), 6.95-7.16 (m, 3H), 6.92 and 6.88 (t, J_{H-F} = 73 Hz,

1H), 5.28 and 5.08 (s, 1H), 5.18-5.22 and 4.70-4.78 (m, 1H), 4.50-4.75 (m, 1H), 4.30-4.49 (m, 2H), 4.21-4.26 (m, 3H), 3.97-4.08 (m, 1H), 3.35-3.72 (m, 6H), 3.30 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

(xi) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A mixture of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (590 mg, 0.87 mmol; see step (x) above) and carbon tetrabromide (287 mg, 0.87 mmol) in 2-propanol (20 mL) was refluxed for 1.5 h. The mixture was concentrated *in vacuo* then, partitioned with H_2O (50 mL) and EtOAc (3 x 50 mL). The aqueous layer was extracted with additional EtOAc (2 x 10 mL). The combined organic extracts were washed with brine (30 mL) then dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOH (15:1) afforded the sub-title compound (60 mg, 12%) as a crushable white foam.

R_f = 0.46 (15:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.74 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.35-7.37 (m, 2H), 6.97-7.07 (m, 2H), 6.80-6.84 (m, 1H), 6.82 and 6.80 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.10 and 5.06 (s, 1H), 4.68-4.70 (m, 1H), 3.97-4.60 (m, 6H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 595 m/z

(xii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.053 g, 0.089 mmol; see step (xi) above), was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 80 min while cooled on an ice bath. TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water/acetonitrile to yield 0.042 g (80%) of the title compound as its TFA salt.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.7-7.6 (m, 2H), 7.5-7.4 (m, 2H), 7.1-6.6 (m, 4H), 5.2-5.0 (m, 1H plus minor rotamer of 1H), ca 4.8 (major rotamer of previous signal obscured by the CD_3OH signal), 4.6-4.3 (m, 2H), 4.26 (m, 1H, major rotamer), 4.10 (m, 1H, major rotamer), 3.96 (m, 1H, minor rotamer), 3.89 (m, 1H, minor rotamer), 2.60 (m, 1H, minor rotamer), 2.44 (m, 1H, major rotamer), 2.19 (m, 1H, major rotamer), 2.05 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.8, 172.0, 167.0.

ESI-MS+: (M+1) = 451 (m/z)

Example 26

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.0 g, 3.1 mmol; see Example 25(ix) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(OMe)•2HCl (1.4 g, 4.1 mmol), PyBOP (1.8 g, 3.4 mmol), and DIPEA (1.0 g, 7.8 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed two times on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (15:1) and second with EtOAc to afford the sub-title compound (1.5 g, 79%) as a crushable white foam.

R_f = 0.24 (EtOAc)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.58-7.62 (m, 2H), 7.32-7.38 (m, 2H), 7.03-7.16 (m, 3H), 6.92 and 6.88 (d, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.27 and 5.08 (s, 1H), 5.22-5.15 and 4.75-4.80 (m, 1H), 4.38-4.65 (m,

5H), 3.92-4.27 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.43-3.68 (m, 4H), 3.29 (s, 3H), 2.28-2.85 (m, 2H).

(ii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A mixture of Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe) (828 mg, 2.33 mmol; see step (i) above) and carbon tetrabromide (525 mg, 2.33 mmol) in 2-propanol (20 mL) was refluxed for 8 h and then stirred at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue partitioned with H_2O (70 mL) and EtOAc (50 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 25 mL). The combined organic extracts were washed with brine (35 mL) then, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOH (15:1) afforded the title compound (520 mg, 74%) as a crushable white foam.

Mp: 73-81°C

R_f = 0.43 (15:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.59 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.32-7.37 (m, 2H), 7.05-7.14 (m, 2H), 6.87-6.92 (m, 1H), 6.90 and 6.86 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.13-5.18 and 4.75-4.85 (m, 2H), 4.15-4.45 (m, 4H), 3.81 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.0, 171.4, 153.9.

APCI-MS: (M + 1) = 481 m/z

65

Example 27

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1,3-Dibromo-5-benzyloxybenzene

Sodium hydride (9.9 g, 0.414 mol, 95% dry) was added in portions to a stirred solution of benzyl alcohol (41.0 g, 0.394 mol) in THF (1.0 L) at room temperature under a nitrogen atmosphere and stirred for 1 h. To this solution was added dropwise 1,3-dibromo-5-fluorobenzene (100.0 g, 0.394 mol). After stirring overnight, the mixture was partitioned with H_2O (600 mL) and EtOAc (4 x 600 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with hexanes afforded the sub-title compound (101.3 g, 75%) as a yellow oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30-7.48 (m, 5H), 7.18 (s, 1H), 7.06 (s, 2H), 4.99 (s, 2H).

(ii) 3,5-Dibromophenol

Aluminium chloride (11.7 g, 87.6 mmol) was added in portions to a solution of 1,3-dibromo-5-benzyloxybenzene (10.0 g, 29.2 mmol; see step (i) above) and *N,N*-dimethylaniline (35.4 g, 292 mmol) in CH_2Cl_2 (100 mL) at room temperature under a nitrogen atmosphere. After 30 min, the mixture was partitioned with 1N HCl (300 mL) and EtOAc (5 x 150 mL). The combined organic extracts were washed with saturated $NaHCO_3$ (150 mL) and brine (150 mL) then, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (9:1) afforded the sub-title compound (6.1 g, 82%) as a white solid.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (s, 1H), 6.97 (s, 2H), 5.88 (bs, 1H).

(iii) 1,3-Dibromo-5-monofluoromethoxybenzene

To a tared, sealed 350 mL round-bottomed pressure flask containing a suspension of 3,5-dibromophenol (10.0 g, 39.7 mmol; see step (ii) above) and Cs_2CO_3 (20.7 g, 63.5 mmol) in DMF (150 mL) at –78°C was added chlorofluoromethane via bubbling for 5 min through the septum. The septum was replaced with a Teflon stopper and the flask was then sealed and allowed to warm to room temperature where the flask was weighed and determined to contain 9.0 g (131 mmol) of chlorofluoromethane. The solution was heated in an oil bath set at 70°C overnight. The flask was cooled to room temperature, the pressure cautiously released and the contents diluted with water (100 mL). The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 200 mL) then, the combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with hexanes afforded the sub-title compound (7.9 g, 71%) as a white solid.

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40 (s, 1H), 7.18 (s, 2H), 5.67 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H).

(iv) 1-Bromo-3-monofluoromethoxy-5-vinylbenzene

Tri(butyl)vinyltin (10.0 g, 31.4 mmol) was added dropwise to a solution of 1,3-dibromo-5-monofluoromethoxybenzene (8.5 g, 29.9 mmol; see step (iii) above), tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (690 mg, 0.599 mmol), and 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (spatula tip) in toluene (100 mL) under nitrogen. The mixture was stirred at 70°C for 8 h. The mixture was cooled to 0°C and 1N NaOH (70 mL) was added. After 1 h, the mixture was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 300 mL) then, the combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with hexanes afforded the sub-title compound (4.3 g, 57%) as a colourless oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.60 (dd, J = 6 Hz, J = 11 Hz, 1H), 5.74 (d, J = 16 Hz, 1H), 5.67 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 5.32 (d, J = 8 Hz, 1H).

(v) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)CH_2OH

2-Methyl-2-propanol (100 mL), H_2O (100 mL), and AD-mix-β (27.5 g) were combined together and cooled to 0°C. 1-Bromo-3-monofluoromethoxy-5-vinylbenzene (4.3 g, 17.3 mmol; see step (iv) above) was added at once, and the heterogeneous slurry was vigorously stirred at 0°C until TLC revealed the absence of the starting material. The reaction was quenched at 0°C by addition of saturated sodium sulfite (200 mL) and then warmed to room temperature and stirred for 60 min. The reaction mixture was extracted with EtOAc (3 x 150 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (4.9 g, 100%) as a colourless oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.30 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 5.70 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 4.62-4.70 (m, 1H), 3.52-3.70 (m, 2H).

HPLC Analysis: 92.1%, 96.9% ee, ChiralPak AD Column (95:5 Hex:EtOH mobile phase).

(vi) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS

To a solution of Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)CH_2OH (4.9 g, 18.6 mmol; see step (v) above), 4-(dimethylamino)pyridine (453 mg, 3.71 mmol), and DIPEA (8.9 g, 93.0 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (200 mL) was added dropwise a 1.0 M solution of *tert*-butyldimethylsilyl chloride in CH_2Cl_2 (22.3 mL, 22.3 mmol). The reaction mixture was stirred 10 h at room temperature. To the mixture was added DIPEA (8.9 g, 93.0 mmol)

and 2-methoxyethoxymethyl chloride (13.9 g, 111 mmol) dropwise. After 16 h, additional 2-methoxyethoxymethyl chloride (2.2 g) was added and the reaction stirred overnight. The mixture was diluted with H_2O (100 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 200 mL) then, the combined organic layers were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with Hex:EtOAc (5:1) afforded the sub-title compound (4.8 g, 55%) as a colourless oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 5.74 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 4.84 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.70-4.74 (m, 2H), 3.50-3.91 (m, 6H), 3.42 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.05 (s, 3H), 0.01 (s, 3H).

(vii) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH

To a solution of Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS (4.7 g, 10.1 mmol; see step (vi) above) in THF (100 mL) was added a 1.0 M solution of tetrabutylammonium fluoride in THF (13.1 mL, 13.1 mmol) at room temperature and the mixture was stirred 1 h. The mixture was partitioned with H_2O (100 mL) and EtOAc (3 x 100 mL) then, the combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (3.3 g, 92%) as a colourless oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.22 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 5.71 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 4.80-4.82 (m, 1H), 4.58-4.66 (m, 2H), 3.71-3.77 (m, 1H), 3.39-3.65 (m, 5H), 3.27 (s, 3H).

(viii) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH

A solution of Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH (2.1 g, 6.0 mmol; see step (vii) above) in acetone (40 mL) was added to an aqueous 5% $NaHCO_3$ solution (15 mL). This magnetically stirred heterogeneous mixture was cooled to 0°C and potassium bromide (70 mg, 0.60 mmol) and 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy, free radical (976 mg, 5.8 mmol) were added. Sodium hypochlorite (5.25%, 15 mL) was then added dropwise over a period of 10 min while the mixture was vigorously stirred and maintained at 0°C. After 1 h, additional sodium hypochlorite (10 mL) and $NaHCO_3$ solution (20 mL) were added and stirring was continued at 0°C for an additional 4 h. The acetone was removed on a rotary evaporator. The aqueous layer was diluted with 10% $NaHCO_3$ solution (30 mL) and was washed with Et_2O (3 x 20 mL). The aqueous layer was acidified to pH 3.5 with 10% citric acid and extracted with EtOAc (3 x 40 mL). The combined EtOAc extracts were washed with H_2O (3 x 50 mL) and brine (50 mL) then, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (1.7 g, 78%) as a colourless oil which was used without further purification.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 5.76 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 5.21 (s, 1H), 4.83 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.75 (d, J = 7 Hz, 1H), 3.62-3.78 (m, 2H), 3.48-3.52 (m, 2H), 3.32 (s, 3H).

(ix) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.0 g, 2.72 mmol; see step (viii) above) in DMF (20 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(Teoc)•HCl (1.6 g, 3.5 mmol), PyBOP (1.6 g, 3.0 mmol), and DIPEA (880 mg, 6.81 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with

$CHCl_3$:EtOH (15:1) and second with EtOAc:EtOH (20:1) to afford the sub-title compound (1.2 g, 62%) as a crushable white foam.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD; complex mixture of rotamers) δ 7.80-7.84 (m, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H), 7.13-7.32 (m, 3H), 5.84-5.87 (m, 1H), 5.67-5.69 (m, 1H), 5.25 and 5.07 (s, 1H), 5.18-5.23 and 4.80-4.88 (m, 1H), 3.97-4.79 (m, 8H), 3.60-3.71 (m, 2H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

(x) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A mixture of Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (347 mg, 0.478 mmol; see step (ix) above) and carbon tetrabromide (159 mg, 0.478 mmol) in 2-propanol (10 mL) was refluxed for 1.5 h. The mixture was concentrated *in vacuo* then partitioned with H_2O (20 mL) and EtOAc (3 x 30 mL). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOH (15:1) afforded the sub-title compound (59 mg, 19%) as a crushable white foam.

Mp: 81-87°C

R_f = 0.58 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.84 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.40-7.48 (m, 2H) 7.18-7.30 (m, 3H), 5.80 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 5.21 and 5.15 (s, 1H), 5.18-5.24 and 4.80-4.88 (m, 1H), 3.98-4.54 (m, 6H), 2.10-2.70 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 637 m/z

(xi) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.073 g, 0.11 mmol; see step (x) above), was dissolved in 5 mL of TFA and allowed to react for 90 min while being cooled on an ice bath. TFA was evaporated and the residue purified by prep RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:70). The pertinent fractions were evaporated and freeze dried from water/acetonitrile to yield 49 mg (77%) of the title compound as its acetate salt.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (m, 2H), 7.37 (s, 1H, major rotamer), 7.33 (s, 1H, minor rotamer), 7.25-7.1 (m, 2H), 5.75 (d, 2H), 5.22 (m, 1H, minor rotamer), 5.18 (s, 1H, major rotamer), 5.11 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.37 (m, 1H, major rotamer), 4.16 (m, 1H, major rotamer), 4.1-3.9 (m, 2H, two signals from minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.52 (m, 1H, major rotamer), 2.30 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer), 1.89 (s, 3H).

ESI-MS+: (M+1) = 493/495 (m/z)

Example 28

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1,3-Dibromo-5-difluoromethoxybenzene

To a tared, sealed 350 mL round-bottomed pressure flask containing a solution of 3,5-dibromophenol (10.0 g, 39.7 mmol; see Example 27(ii) above) in 2-propanol (100 mL) and 30% KOH (80 mL) at -78°C was added chlorodifluoromethane *via* bubbling for 15 min through the septum. The septum was replaced with a Teflon stopper and the flask was then sealed and allowed to warm to room temperature where the flask was weighed and determined to contain 12.0 g (138 mmol) of chlorodifluoromethane. The solution was refluxed overnight in an oil bath set at 80°C. The flask was

cooled to room temperature, the pressure cautiously released and the contents diluted with H_2O (200 mL). The aqueous layer was extracted with $CHCl_3$ (2 x 150 mL), then the combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by Kugelrohr distillation at 80°C at 0.2 mm Hg to afford the sub-title compound (9.6 g, 80%) as clear liquid.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.55 (s, 1H), 7.26 (s, 2H), 6.52 (t, J_{H-F} = 68 Hz, 1H).

(ii) 1-Bromo-3-difluoromethoxy-5-vinylbenzene

Tri(butyl)vinyltin (10.5 g, 33.1 mmol) was added dropwise to a solution of 1,3-dibromo-5-difluoromethoxybenzene (9.1 g, 30.1 mmol; see step (i) above), tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (700 mg, 0.60 mmol), and 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (spatula tip) in toluene (125 mL) under nitrogen. The mixture was stirred at 50°C overnight. The mixture was cooled to 0°C and 1N NaOH (70 mL) was added. After 1 h, the mixture was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 300 mL) then, the combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with hexanes afforded the sub-title compound (5.1 g, 68%) as a colourless oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.53 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.60 (dd, J = 6 Hz, J = 11 Hz, 1H), 6.57 (t, J_{H-F} = 68 Hz, 1H), 5.77 (d, J = 11 Hz, 1H), 5.36 (d, J = 8 Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH

2-Methyl-2-propanol (150 mL), H_2O (150 mL), and AD-mix-β (27.8 g) were combined together and cooled to 0°C. 1-Bromo-3-difluoromethoxy-5-

vinylbenzene (4.6 g, 18.6 mmol; see step (ii) above) was added at once, and the heterogeneous slurry was vigorously stirred at 0°C until TLC indicated the absence of the starting material, then the solution was warmed to room temperature and stirred overnight. The reaction was quenched at 0°C by addition of saturated sodium sulfite (300 mL) and then warmed to room temperature and stirred for 60 min. The reaction mixture was extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (5.0 g, 95%) as a colourless oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.43 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.86 (t, J_{H-F} = 75 Hz, 1H), 4.64-4.67 (m, 1H), 3.54-3.59 (m, 2H).
HPLC Analysis: 88.6%, 96.3% ee, ChiralPak AD Column (95:5 Hex:EtOH mobile phase).

(iv) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS

To a solution of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH (4.9 g, 17.3 mmol; see step (iii) above), 4-(dimethylamino)pyridine (420 mg, 3.5 mmol), and DIPEA (11.2 g, 86.3 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (250 mL) was added dropwise a 1.0 M solution of *tert*-butyldimethylsilyl chloride in CH_2Cl_2 (20.7 mL, 20.7 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature. To the mixture was added DIPEA (11.2 g, 86.3 mmol) and 2-methoxyethoxymethyl chloride (12.9 g, 104 mmol) dropwise. After 3 d, additional 2-methoxyethoxymethyl chloride (3.3 g) was added and the reaction stirred overnight. The mixture was diluted with water (250 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (2 x 250 mL), then the combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel

eluting with Hex:EtOAc (4:1) afforded the sub-title compound (4.3 g, 51%) as a colourless oil.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.58 (t, J_{H-F} = 75 Hz, 1H), 4.84 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.70-4.74 (m, 2H), 3.50-3.91 (m, 6H), 3.42 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.12 (s, 3H), 0.05 (s, 3H).

(v) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH

To a solution of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS (3.3 g, 6.9 mmol; see step (iv) above) in THF (60 mL) was added a 1.0 M solution of tetrabutylammonium fluoride in THF (9.0 mL, 9.0 mmol) at room temperature. The reaction was stirred for 45 min, then the mixture was partitioned with water (150 mL) and EtOAc (2 x 120 mL). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (2.5 g, 98%) as a yellow oil that was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.35 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.83 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.73 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.59-4.68 (m, 2H), 3.40-380 (m, 6H), 3.26 (s, 3H).

(vi) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH

A solution of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH (3.0 g, 8.1 mmol; see step (v) above) in acetone (60 mL) was added to an aqueous 5% $NaHCO_3$ solution (25 mL). This magnetically stirred heterogeneous mixture was cooled to 0°C then potassium bromide (100 mg, 0.81 mmol) and 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy, free radical (1.3 g, 8.5 mmol) were added. Sodium hypochlorite (5.25%, 19 mL) was then added dropwise over a period of 10 min while the mixture was vigorously stirred

and maintained at 0°C. After 1 h, additional sodium hypochlorite (17 mL) and $NaHCO_3$ solution (34 mL) were added and stirring was continued at 0°C for an additional 4 h. The acetone was removed on a rotary evaporator. The aqueous layer was diluted with 10% $NaHCO_3$ solution (30 mL) and was washed with Et_2O (3 x 20 mL). The aqueous layer was acidified to pH 3.5 with 10% citric acid and extracted with EtOAc (3 x 40 mL). The combined EtOAc layers were washed with H_2O (3 x 50 mL) and brine (50 mL), and then dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo* to afford the sub-title compound (2.1 g, 66%) as a colourless oil which was used without further purification.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.51 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.88 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.84 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 7 Hz, 1H), 3.62-3.80 (m, 2H), 3.48-3.52 (m, 2H), 3.32 (s, 3H).

(vii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

To a solution of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.0 g, 2.62 mmol; see step (vi) above) in DMF (50 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(Teoc)•HCl (1.5 g, 3.38 mmol), PyBOP (1.5 g, 2.9 mmol), and DIPEA (840 mg, 6.50 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOH (15:1) to afford the sub-title compound (1.1 g, 59%) as a crushable white foam.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.79-7.83 (m, 2H), 7.26-7.52 (m, 5H), 6.94 and 6.91 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.27 and 5.07 (s, 1H), 5.20-5.23 and 4.80-4.88 (m, 1H), 4.01-4.79 (m, 8H), 3.60-3.71 (m,

2H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

(viii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A mixture of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (369 mg, 0.496 mmol; see step (vii) above) and carbon tetrabromide (165 mg, 0.496 mmol) in 2-propanol (10 mL) was refluxed for 12 h. The mixture was concentrated *in vacuo*, then partitioned with H_2O (15 mL) and EtOAc (5 x 20 mL). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOH (15:1) afforded the sub-title compound (134 mg, 41%) as a crushable white foam.

Mp: 92-98°C

R_f = 0.37 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.80-7.86 (m, 2H), 7.40-7.48 (m, 2H) 7.10-7.33 (m, 3H), 6.92 and 6.88 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.18 and 5.11 (s, 1H), 5.18-5.24 and 4.76-4.80 (m, 1H), 3.98-4.54 (m, 6H), 2.10-2.70 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 655 m/z

(ix) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.081 g, 0.124 mmol; see step (viii) above), was dissolved in 5 mL of TFA and allowed to react for 80 min while being cooled on an ice bath. TFA was evaporated and the residue purified by prep RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:70). The pertinent fractions were evaporated and freeze dried from water/acetonitrile to yield 59 mg (83%) of the title compound as its acetate salt.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.4 (m, 3H), 7.3-7.2 (m, 2H), 6.89 (t, 1H, major rotamer), 6.87 (t, 1H, minor rotamer), 5.23 (m, 1H, minor rotamer), 5.21 (s, 1H, major rotamer), 5.13 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.38 (m, 1H, major rotamer), 4.20 (m, 1H, major rotamer), 4.1-3.9 (m, 2H, two signals from minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.54 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer), 1.89 (s, 3H).

^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.0, 171.7, 167.0.

MS (m/z) 511/513 $(M+1)^+$

Example 29

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)

To a solution of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (957 mg, 2.48 mmol; see Example 28(vi) above) in DMF (30 mL) under nitrogen at 0°C was added HAze-Pab(OMe)•2HCl (1.1 g, 3.2 mmol), PyBOP (1.4 g, 2.7 mmol), and DIPEA (804 mg, 6.2 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 2 h and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated *in vacuo* and the residue chromatographed twice on silica gel, eluting first with $CHCl_3$:EtOH (9:1) and second with EtOAc:EtOH (15:1) to afford the sub-title compound (1.1 g, 72%) as a crushable white foam.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.59-7.65 (m, 2H), 7.20-7.55 (m, 5H), 6.95 and 6.91 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.27 and 5.07 (s, 1H), 5.18-5.23 and 4.75-4.84 (m, 1H), 3.87-4.89 (m, 6H), 3.84 (s, 3H), 3.60-3.71 (m, 2H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

(ii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A mixture of Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe) (1.1 g, 1.8 mmol; see step (i) above) and carbon tetrabromide (583 mg, 1.8 mmol) in 2-propanol (30 mL) was refluxed for 2.5 d. During this time, additional carbon tetrabromide (5 portions of 50 mg at intervals for an additional 0.90 mmol) was added to ensure completion of the reaction. The mixture was concentrated *in vacuo*, then partitioned with H_2O (50 mL) and EtOAc (5 x 25 mL). The combined organics were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography on silica gel eluting with $CHCl_3$:EtOH (15:1) afforded the title compound (460 mg, 50%) as a crushable white foam.

Mp: 71-75°C

R_f = 0.63 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, complex mixture of rotamers) δ 7.59 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.20-7.54 (m, 5H), 6.90 and 6.87 (t, $J_{H\text{-}F}$ = 73 Hz, 1H), 5.18 and 5.11 (s, 1H), 4.76-4.80 (m, 1H), 3.98-4.54 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.70 (m, 2H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.5, 172.1, 171.6, 154.1.

APCI-MS: (M + 1) = 542 m/z

Example 30

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (see international patent application WO 97/02284, 92 mg, 0.197 mmol) was dissolved in 10 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and allowed to react for 10 min. The solvent was evaporated and the residue

was mixed with Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.188 mmol; see Example 17(v) above), PyBOP (109 mg, 0.209 mmol) and finally diisopropylethyl amine (96 mg, 0.75 mmol) in 2 mL of DMF. The mixture was stirred for 2 h and then poured into 50 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc:MeOH (9:1). Yield: 100 mg (87%).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.85-7.75 (m, 2H), 7.45-7.25 (m, 7H), 7.11 (m, 1H, major rotamer), 7.08 (m, 1H, minor rotamer), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.13 (bt, 1H), 5.25-5.05 (m, 3H), 4.77 (m, 1H, partially hidden by the CD_3OH signal), 4.5-3.9 (m, 7H), 2.64 (m, 1H, minor rotamer), 2.47 (m, 1H, major rotamer), 2.25 (m, 1H, major rotamer), 2.13 (m, 1H, minor rotamer)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Hydroxylamine hydrochloride (65 mg, 0.94 mmol) and triethylamine (0.319 g, 3.16 mmol) were mixed in 8 mL of THF and sonicated for 1 h at 40°C. Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0.156 mmol; see step (i) above) was added with 8 mL more of THF. The mixture was stirred at 40°C for 4.5 days. The solvent was evaporated and the crude product was purified by preparative RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (40:60). Yield: 30 mg (38%). Purity: 99%.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.6-7.55 (m, 2H), 7.35-7.3 (m, 2H), 7.12 (m, 1H, major rotamer), 7.09 (m, 1H, minor rotamer), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.15 (triplet of multiplets, 1H), 5.15 (m, 1H, minor rotamer), 5.13 (s, 1H, major rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.77 (m,

1H, major rotamer), 4.5-4.2 (m, 5H), 4.08 (m, 1H, major rotamer), 3.97 (m, 1H, minor rotamer), 2.66 (m, 1H, minor rotamer), 2.50 (m, 1H major rotamer), 2.27 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 172.8, 172.2, 171.4, 159.1, 158.9, 154.2.

APCI-MS: (M + 1) = 497/499 m/z

Example 31

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (130 mg, 0.279 mmol) was dissolved in 15 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and allowed to react for 10 min. The solvent was evaporated and the residue was mixed with Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-*(R)*CH(OH)-C(O)OH (63 mg, 0.188 mmol; see Example 21(v) above) in 3 mL of DMF, PyBOP (147 mg, 0.279 mmol) and finally diisopropylethyl amine (134 mg, 1.03 mmol). The mixture was stirred for 130 min and then poured into 75 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc/MeOH = 95/5. Yield: 119 mg (79%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (bt, 1H), 7.67 (d, 2H), 7.45-7.25 (m, 5H), 7.18 (d, 2H), 6.89 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.66 (doublet of multiplets, 2H), 4.4-4.3 (m, 2H), 4.10 (doublet of multiplets, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.28 (m, 1H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Hydroxylamine hydrochloride (80 mg, 1.16 mmol) and triethylamine (0.392 g, 3.87 mmol) were mixed in 9 mL of THF and sonicated for 1 h at 40°C. Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0.156 mmol; see step (i) above) was added with 9 mL more of THF. The mixture was stirred at 40°C for 48 h and 3 days at room temperature. The solvent was evaporated and the crude product was purified by preparative RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:70). Yield: 72 mg (78%). Purity: 100%.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.6-7.55 (m, 2H), 7.35-7.25 (m, 4H), 7.07 (m, 1H, major rotamer), 7.04 (m, 1H, minor rotamer), 7.0-6.9 (M, 2h), 5.12 (m, 1H, minor rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 5.04 (s, 1H), 4.78 (m, 1H, major rotamer), 4.68 (doublet of multiplets, 2 H), 4.5-4.25 (m, 3H), 4.20 (doublet of multiplets, 2H) 4.06 (m, 1H, major rotamer), 3.97 (m, 1H, minor rotamer), 2.65 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H major rotamer), 2.27 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 172.3, 171.5, 159.8,154.3

APCI-MS: (M + 1) = 479/481 m/z

Example 32

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Pro-Pab

(i) Boc-Pro-Pab(Teoc)

Boc-Pro-Pab(Z) (see international patent application WO 97/02284, 15.0 g, 0.0321 mol) was dissolved in 150 mL of ethanol and 200 mg 10% Pd/C (50% moisture) was added. The mixture was stirred and hydrogenated at atmospheric pressure for 2 h, filtered through Hyflo and concentrated.

The product was used without further purification. Of this product was taken 10 g (0.029 mol), which was dissolved in 300 mL of THF. Teoc-*p*-nitrophenyl carbonate (10 g, 0.035 mol) was added. A solution of potassium carbonate (5.2 g, 0.038 mol) in 50 mL of water was added over 3 min and the resulting solution was stirred for 3 days, concentrated and the remainder was extracted with EtOAc three times. The combined organic layer was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel using methylene chloride:acetone (4:1). Yield: 9.8 g (69%).

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(Teoc)

Boc-Pro-Pab(Teoc) (107 mg, 0.218 mmol; see step (i) above) was dissolved in 10 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and allowed to react for 10 min. The solvent was evaporated and the residue was mixed with Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.198 mmol; see Example 1(viii) above) in 3 mL of DMF, PyBOP (115 mg, 0.218 mmol) and finally diisopropylethyl amine (104 mg, 0.80 mmol). The mixture was stirred for 2 h and then poured into 75 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc:MeOH (95:5). Yield: 89 mg (72%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.54 (bt, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.12 (m, 1H), 7.08 (d, 2H), 7.02 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 6.50 (t, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.35-4.15 (m, 3H), 3.59 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.1-1.7 (m, 4H), 1.06 (m, 2H), 0.04 (s, 9H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Pro-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Pro-Pab(Teoc) (85 mg, 0.136 mmol; see step (ii) above) was dissolved in 1 mL of methylene chloride and cooled on an ice bath. TFA (4 mL) was added and the reaction was stirred for 90 min. The TFA was evaporated and the residue was freeze-dried from water and acetonitrile. Yield: 79 mg (92%). Purity: 94%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.85-7.7 (m, 2H), 7.58 (d, 2H, major rotamer), 7.47 (d, 2H, minor rotamer), 7.35 (m, 1H, major rotamer), 7.27 (m, 1H, minor rotamer), 7.2.7.1 (m, 2H), 6.88 (t, 1H), 5.38 (s, 1H, major rotamer), 5.22 (s, 1H, minor rotamer), 4.58 (d, 1H), 4.5-4.2 (m, 2H), 3.8-3.5 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.2-1.8 (m, 4H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 173.6, 171.1, 167.0.

APCI-MS: (M + 1) = 481/483 m/z

Example 33

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)

(i) 4-Azidomethyl-N-methoxy-benzamidine

4-Azidomethylbenzonitrile (17.3 g, 0.109 mol; Nishiyama *et al*; *Chem. Lett.* (1982) 1477) was dissolved in 500 mL of toluene and 200 mL of absolute ethanol. The solution was cooled to -10°C and HCl(g) was bubbled through until saturation. The mixture was kept in the refrigerator for 2 days when most of the solvents were evaporated. Diethyl ether was added and was decanted off. The product was re-dissolved in a solution of O-methylhydroxyl amine (10.5 g, 0.125 mol) and triethyl amine (56 mL) in 200 mL of methanol. The mixture was allowed to stand for 3 days whence the methanol was evaporated with addition of EtOAc. The organic phase

was washed with water, dilute HOAc and aqueous sodium bicarbonate, dried (Na_2SO_4) and diluted with more EtOAc to a total volume of 500 mL. A sample of 25 mL was evaporated to dryness. The remainder was 932 mg. Total yield: 18.6 g (83%).

(ii) 4-Aminomethyl-N-methoxy-benzamidine

To a solution of 4-azidomethyl-N-methoxy-benzamidine (11.3 g, 0.055 mol; see step (i) above) in 200 mL of ethanol was added 200 mg of PtO_2. The mixture was hydrogenated with constant bubbling of hydrogen for 4 h and subsequently filtered through Celite® and evaporated. Yield: 7.34 g (74%).

(iii) Boc-Pro-Pab(OMe)

To a suspension of Boc-Pro-OH (9.7 g, 0.045 mol), 4-aminomethyl-N-methoxy-benzamidine (7.34 g, 0.041 mol; see step (ii) above) and dimethylaminopyridine (7.8 g, 0.064 mol) in 300 mL of acetonitrile was added EDC base (11.7 mL, 0.068 mol). The mixture was stirred for 18 h, concentrated and partitioned between water and EtOAc. The organic layer was washed with water, aqueous sodium bicarbonate, dried ($MgSO_4$) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc. Yield: 9.73 g (63%).

(iv) H-Pro-Pab(OMe) x 2 HCl

Boc-Pro-Pab(OMe) (9.7 g, 0.026 mol; see step (iii) above) was dissolved in 250 mL of EtOAc. The ice cooled solution was saturated with HCl(g) by bubbling for 5 min. The product precipitated immediately and 125 mL of absolute ethanol was added. The mixture was sonicated until most of the material had solidified. Diethyl ether (200 mL) was added and the suspension was filtered. A few lumps that had not solidified were again

treated with absolute ethanol and diethyl ether. The solid was dried. Yield: 7.57 g (86%).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.74 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.38 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.45-3.3 (m, 2H), 2.50 (m, 1H), 2.15-2.0 (m, 3H)

(v) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.198 mmol; see Example 1(viii) above), H-Pro-Pab(OMe) (76 mg, 0.218 mmol, see step (iv) above) and PyBOP (115 mg, 0.218 mmol) were dissolved in 2 mL of DMF. Diisopropylethyl amine (104 mg, 0.80 mmol) was added and the mixture was stirred for 2.5 h. The mixture was poured into 50 mL of water and extracted three times with EtOAc and the combined organic phase was washed with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The residue was flash chromatographed on silica gel with EtOAc:MeOH (95:5). Yield: 37 mg (36%). Purity: 98%.

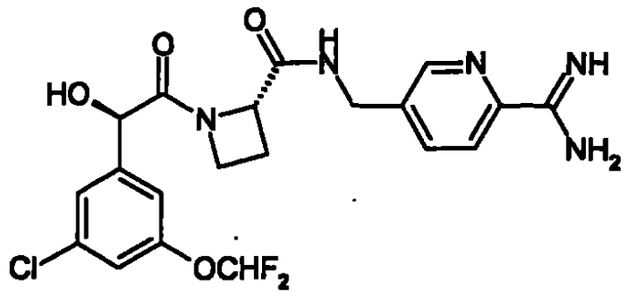
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.60 (d, 2H, major rotamer), 7.57 (d, 2H, minor rotamer), 7.4-7.1 (m, 5H), 6.89 (t, 1H, major rotamer), 6.87 (t, 1H, minor rotamer), 5.35 (s, 1H, major rotamer), 5.21 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, minor rotamer), 4.5-4.35 (m, 1H and 2H, major rotamer), 4.3-4.25 (m, 2H, minor rotamer), 3.814 (s, 3H, major rotamer), 3.807 (s, 3H, minor rotamer), 3.75-3.5 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.2-1.8 (m, 4H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 173.3, 173.2, 171.3, 171.0, 153.9, 152.4

APCI-MS: (M + 1) = 511/513 m/z

Example 34

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-pyridinyl)



(i) 6-Cyanonicotinic acid

To a solution of the nicotinic acid N-oxide (51 g, 0.37 mol) in 1.2 L of DMF, NaCN (54 g, 1.1 mol) was added, followed by triethylamine (255 mL, 1.83 mol) and TMSCl (185 mL). The reaction mixture was stirred at 110°C for 10 h, filtered and the filtrate was concentrated. The residue was dissolved in 100 mL of 2N HCl and extracted with methylene chloride. The organic layers were combined, concentrated and recrystallised from water to yield 12 g (22%) of the product.

(ii) 5-(Hydroxymethyl)pyridine-2-carbonitrile

To a solution of 6-cyanonicotinic acid (12g, 0.081mol; see step (i) above) in THF at 0°C, Et_3N (12.4 mL, 0.0892 mol) was added followed by ethyl chloroformate (8.53 mL, 0.0892 mol). The reaction mixture was stirred for 15 min and $NaBH_4$ (6.14 g, 0.162 mol) was added. Then the mixture was stirred at RT overnight, quenched with water and extracted with methylene chloride. The organic layer was concentrated and purified by column chromatography to yield 4g (20%) of the alcohol.

(iii) 5-(Azidomethyl)pyridine-2-carbonitrile

5-(Hydroxymethyl)pyridine-2-carbonitrile (4 g, 0.03 mol; see step (ii) above) was dissolved in 25 mL of methylene chloride and cooled in an ice bath. Mesyl chloride (2.32 mL, 0.0300 mol) and then triethylamine (4.6 mL, 0.033 mol) were added dropwise. The reaction mixture was stirred and after work up the crude mesylate was treated with NaN_3 (7.35 g, 0.113 mol) in 20 mL of DMF. The reaction mixture was stirred at 40°C for 2 h, diluted with water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was concentrated to yield 3.95g (83%) of the crude azide.

(iv) 5-(*tert*-Butoxycarbonylaminomethyl)pyridine-2-carbonitrile

To a solution of 5-(azidomethyl)pyridine-2-carbonitrile (3.95 g, 0.0248 mol; see step (iii) above) in 30 mL of THF and 10 mL of water, triphenyl phosphine (7.8 g, 0.0298 mol) was added and the resultant stirred for 24 h. Then, triethylamine (3.8 mL, 0.027 mol) was added, followed by Boc anhydride (5.4 g, 0.025 mol) and stirring for 2 h. The reaction mixture was partitioned between water and ethyl acetate. The organic layer was concentrated and purified by column chromatography to yield 2.1 g (36%) of the sub-title compound.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.6 (s, 1H), 8.0 (d, 1H), 8.9 (d, 1H), 4.1 (m, 2H), 1.4 (s, 9H)

(v) 5-(Aminomethyl)pyridine-2-carbonitrile x 2 HCl

5-(*tert*-Butoxycarbonylaminomethyl)pyridine-2-carbonitrile (0.200 g, 0.86 mmol, see step (iv) above) was dissolved in 10 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and was stirred for 30 min. The solvent was evaporated and 0.175 g (99%) of the sub-title compound was obtained as its dihydrochloride salt.

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.79 (s, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.05 (d, 1H), 4.38 (s, 2H)

(vi) Boc-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN)

To a mixture of 5-(aminomethyl)pyridine-2-carbonitrile x 2 HCl (0.175 g, 0.85 mmol; see step (v) above), Boc-Aze-OH (0.201 g, 1.00 mmol) and TBTU (0.321 g, 1.00 mmol) in 5 mL of DMF was added dimethylaminopyridine (0.367 g, 3.00 mmol). The mixture was stirred overnight and subsequently poured into water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with aqueous sodium bicarbonate, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product started to crystallise and was used as such in the next step. Yield: 0.23 g (73%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.66 (s, 1H), 8.2-7.8 (broad, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.67 (d, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.65-4.5 (m, 2H), 3.94 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 2.6.2.35 (m, 2H), 1.8 (broad, 1H), 1.45 (s, 9H)

(vii) H-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) x 2 HCl

Boc-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) (0.23 g, 0.73 mmol; see step (vi) above) was dissolved in 10 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and was stirred for 30 min. The solvent was evaporated and 0.21 g (100%) of the sub-title compound was obtained as its dihydrochloride salt.

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.64 (s, 1H), 8.0-7.9 (m, 2H), 5.19 (m, 1H), 4.65-4.55 (m, 2H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.64 (m, 1H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN)

To a mixture of H-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) x 2 HCl (0.206 g, 0.713 mmol; see step (vii) above), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (0.180 g, 0.713 mmol; see Example 1(viii) above) and PyBOP (0.408 g,

0.784 mmol) in 5 mL of DMF was added dimethylaminopyridine (0.367 g, 3.00 mmol). The mixture was stirred overnight and subsequently poured into water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with aqueous sodium bicarbonate, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc gave a pure product. Yield: 0.197 g (61%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.63 (m, 1H), 8.22 (bt, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.67 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 6.56 (t, 1H), 4.97 (bd, 1H), 4.92 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.40 (bd, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 1.92 (s, 1H)
APCI-MS: (M + 1) = 451/453 m/z

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-pyridinyl) x HOAc

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) (0.200 g, 0.444 mmol; see step (viii) above), ammonium acetate (1.00 g, 0.0130 mol), and N-acetylcysteine (2.00 g, 0.0122 mol) in 10 mL of methanol was heated at 50°C for 2 days. Preparative RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:79) and running the appropriate fractions again with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (5:95 – 40:60) gave 60 mg (26%) of pure title compound as its acetate salt after freeze drying from water and acetonitrile. Purity: 100%.

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O, mixture of rotamers) δ 8.68 (s, 1H, major rotamer), 8.62 (s, 1H, minor rotamer), 8.05-7.9 (m, 2H), 7.33 (m, 1H, rotamer), 7.27 (m, 1H, rotamer), 7.22 (m, 1H, rotamer), 7.17 (m, 1H, rotamer), 7.01 (m, 1H, rotamer), 6.84 (t, 1H), 5.32 (s, 1H, major rotamer), 5.20 (m, 1H, minor rotamer), 5.13 (s, 1H, minor rotamer), 4.88 (m, 1H, major rotamer), 4.65-4.55 (m, 2H, major rotamer), 4.45-4.35 (m, 1H, rotamer plus 1H, minor rotamer), 4.31 (d, 1H, minor rotamer), 4.2-4.05 (m,

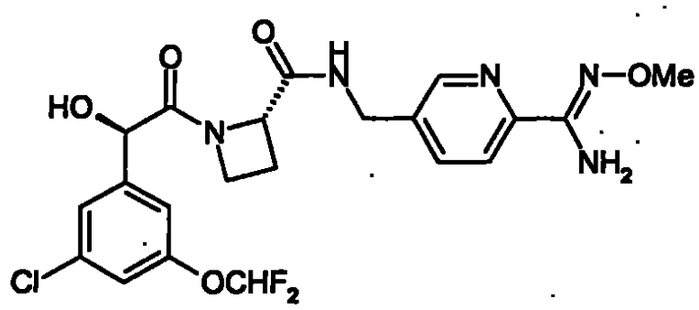
1H plus 1H, rotamer), 2.80 (m, 1H, minor rotamer), 2.61 (m, 1H, major rotamer), 2.33 (m, 1H, major rotamer), 2.24 (m, 1H, minor rotamer), 1.93 (s, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz; D_2O): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 181.6, 173.3, 172.7, 172.6, 172.3, 162.6, 162.3

APCI-MS: (M + 1) = 468/470 m/z

Example 35

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-methoxyamidino)-5-pyridinyl)



(i) Boc-NH-CH_2-[(2-(amino(hydroxylimino)methyl))-5-pyridinyl]

5-(*tert*-Butoxycarbonylaminomethyl)pyridine-2-carbonitrile (1.00 g, 4.29 mmol; see Example 34(iv) above) was dissolved in 10 mL of ethanol and hydroxylamine hydrochloride (0.894 g, 0.0129 mol) and triethyl amine (1.30 g, 0.0129 mol) were added. The mixture was stirred at room temperature for 6 days. The mixture was partitioned between water and methylene chloride. The aqueous layer was extracted with methylene chloride and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 0.96 g (84%).

^{1}H NMR (400 MHz, acetone-d_6) δ 9.01 (bs, 1H), 8.50 (bs, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 6.58 (broad, 1H), 5.70 (broad, 2H), 4.31 (d, 2H), 1.41 (s, 9H)

(ii) Boc-Aze-NH-CH_2-(2-(amidino)-5-pyridinyl) x HOAc

This reaction was carried out according to the method described in Judkins *et al*, *Synth. Comm.* (1998) 4351. A suspension of Boc-NH-CH_2-[(2-(amino(hydroxylimino)methyl))-5-pyridinyl] (0.910 g, 3.42 mmol; see step (i) above), acetic anhydride (0.35 mL, 3.7 mmol) and 0.35 g of 10% Pd/C (50% moisture) in 100 mL of acetic acid was hydrogenated at a pressure of 5 atm. for 5 h. The mixture was filtered through Celite and concentrated. The residue was freeze-dried from water and acetonitrile to give 0.97 g (92%) of the sub-title compound.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.74 (s, 1H), 8.12 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 4.38 (s, 2H), 1.92 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)

(iii) Boc-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)

To a suspension of Boc-NH-CH_2-(2-(amidino)-5-pyridinyl) x HOAc (0.96 g, 3.1 mmol; see step (ii) above) in 75 mL of THF was added a solution of potassium carbonate (1.07 g, 7.7 mmol) and Teoc-*p*-nitrophenyl carbonate (1.14g, 4.02 mmol) in 15 mL of water. The mixture was stirred overnight. An excess of glycine and potassium carbonate was added, and the reaction was continued for 2 h. The THF was evaporated and the remainder was extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.31 (broad, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.35 (broad, 1H), 7.74 (d, 1H), 4.97 (broad, 1H), 4.39 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.14 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(iv) H_2N-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) x 2 HCl

Boc-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) (0.23 g, 0.58 mmol; see step (iii) above) was dissolved in 25 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and stirred for 30 min. The solvent was evaporated and the product used without further purification. Yield: 0.21 g (98%).

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.89 (s, 1H), 8.25 (s, 2H), 4.55 (m, 2H), 4.42 (s, 2H), 1.20 (m, 2H), 0.09 (s, 9H)

(v) Boc-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)

To a solution of H_2N-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) x 2 HCl (0.21 g, 0.57 mmol; see step (iv) above), Boc-Aze-OH (0.127 g, 0.631 mmol), and TBTU (233 mg, 0.726 mmol) in 5 mL of DMF was added dimethylaminopyridine (269 mg, 2.20 mmol). The mixture was stirred overnight, poured into 100 mL of water and extracted with EtOAc three times. The combined organic phase was washed with aqueous sodium bicarbonate and water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc to give 170 mg (56%) of the desired product.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.33 (broad, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.36 (broad, 1H), 7.75 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 4.56 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 3.93 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 2.6-2.4 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.14 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(vi) H-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) x 2 HCl

Boc-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) (170 mg, 0.356 mmol; see step (v) above) was dissolved in 25 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and stirred for 30 min. The solvent was evaporated and the product used without further purification. Yield: 160 mg (100%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 9.00 (m, 1H), 8.84 (m, 1H), 8.23 (d, 2H), 8.10 (m, 1H), 5.09 (m, 1H), 4.7-4.6 (m, 2H), 4.51 (m, 2H), 4.14 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 2.86 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 1.22 (m, 2H), 0.11 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)

To a solution of H-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)-methyl)-5-pyridinyl) x 2 HCl (160 mg, 0.462 mmol; see step (vi) above), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (131 mg, 0.462 mmol; see Example 1(viii) above) and PyBOP (263 mg, 0.505 mmol) in 5 mL of DMF was added diisopropylethyl amine (0.30 mL, 1.71 mmol). The mixture was stirred overnight, poured into 100 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with aqueous sodium bicarbonate and water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with EtOAc:MeOH (95:5) to give 148 mg (52%) of the desired product.

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)

A suspension of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) (148 mg, 0.242 mmol; see step (vii) above) and O-methylhydroxyl amine (202 mg, 2.42 mmol) in 10 mL of acetonitrile was heated at 70°C for 3 h. The

mixture was partitioned between water and EtOAc. The aqueous layer was extracted twice with EtOAc and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude material was flash chromatographed on silica gel with EtOAc:MeOH (95:5) to give 44 mg (28%) of pure material.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.55 (m, 1H), 8.05 (bt, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.50 (t, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.89 (m, 1H), 4.55-4.45 (m, 2H), 4.38 (broad, 1H), 4.2-4.1 (m, 3H), 4.00 (s, 3H), 3.73 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 0.97 (m, 2H), 0.02 (s, 9H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-methoxy-amidino)-5-pyridinyl)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(methoxyamino(tri-methylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) (44 mg, 0.069 mmol; see step (viii) above) was dissolved in 2 mL of TFA and allowed to react for 1 h. The TFA was evaporated and the residue was partitioned between EtOAc and aqueous sodium bicarbonate. The aqueous layer was extracted with EtOAc and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 30 mg (88%). Purity: >95%.

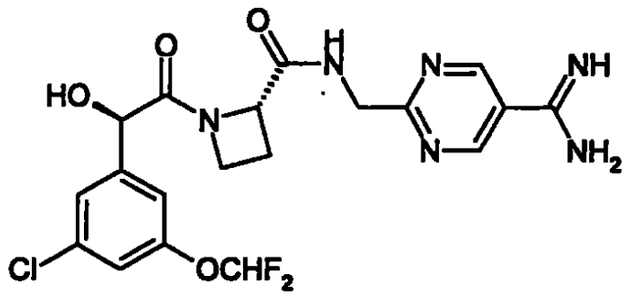
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.44 (m, 1H), 8.03 (bt, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.19 (m, 1H), 7.13 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 5.6-5.45 (broad, 2H), 4.90 (s, 1H), 4.89 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.27 (broad, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.92 (s, 3 H), 2.68 (m, 1H), 2.41 (m, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; $CDCl_3$): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 173.0, 170.9, 152.6

APCI-MS: (M + 1) = 498/500 m/z

Example 36

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pyrimidinyl)



(i) 2-Amino-2-iminoethylcarbamate•AcOH

N-Boc-aminoacetonitrile (40.2 g, 257.4 mmol) and *N*-acetylcysteine (42.0 g, 257.4 mmol) were dissolved in methanol (300 mL) at 60°C and ammonia was passed through for 18 h. The solvent was removed *in vacuo*. After ion exchange chromatography (Amberlite IRA-400 (AcOH)) and recrystallisation from acetone, 28.4 g (53%) of the sub-title compound was obtained as a white solid.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 4.41 (t, J = 4.9 Hz, 1H), 4.01 (s, 2H), 2.91 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 2.01 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)

(ii) 1,3-Bis(dimethylamino)-2-cyanotrimethinium perchlorate

A solution of 3-dimethylaminoacrylonitrile (25.0 g, 260.0 mmol) in chloroform (75 mL) was added dropwise to a solution of (chloromethylene)dimethylammonium chloride (50.0 g, 390.1 mmol) in chloroform (175 mL) at 0°C. The reaction mixture was stirred an additional 2 h at 0°C, then allowed to warm to room temperature overnight, then subsequently heated for 8 h under reflux. The solvent was removed *in vacuo*. The residue was added to a mixture of sodium perchlorate (110 g, 0.898 mmol) in water (150 mL) and ethanol (300 mL). The mixture was

heated under reflux for 15 min then cooled and allowed to stand overnight in a refrigerator. The precipitate was collected and recrystallized from ethanol to yield 23.8 g (52%) of the sub-title compound as colorless needles.

mp: 140-141°C

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.24 (s, 2H), 3.59 (s, 6H), 3.51 (s, 6H)

(iii) Boc-NH-CH_2-(5-cyano)-2-pyrimidine

A mixture of *t*-butyl 2-amino-2-iminoethylcarbamate•AcOH (5.0 g, 23.8 mmol; see step (i) above) and 1,3-bis(dimethylamino)-2-cyanotrimethinium perchlorate (6.0 g, 23.8 mmol; see step (ii) above) in pyridine (300 mL) was stirred under nitrogen at 70-75 °C for 16 h and then heated under reflux for 6 h. The mixture was cooled to room temperature and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was extracted with a hot mixture (1:1) of ethyl acetate and chloroform, filtered through a small pad of silica, and concentrated to give the crude product. Flash chromatography on silica eluting with chloroform gave 4.0 g (71%) of the title compound as colorless oil, which solidified upon standing.

mp: 86-87 °C

R_f = 0.77 (silica, 3:2 Ethyl Acetate/Chloroform)

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 9.25 (s, 2H), 7.39 (bt, 1H), 4.39 (d, J = 6 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H).

^{13}C NMR (750 MHz, DMSO-d_6) δ 170.4, 160.3, 155.8, 115.2, 106.9, 80.0, 46.3, 28.1

APCI-MS: (M + 1) = 235 m/z

(iv) Boc-Aze-NH-CH_2-((5-cyano)-2-pyrimidinyl)

Boc-NH-CH_2-(5-cyano)-2-pyrimidine (1.14 g, 4.87 mmol; see step (iii) above) was dissolved in 50 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and allowed to react for 1 h and concentrated. The residue was dissolved in 20 mL of DMF and cooled in an ice bath. Diisopropylethyl amine (3.5 mL, 0.020 mol), Boc-Aze-OH (1.08 g, 5.37 mmol) and HATU (2.80 g, 5.38 mmol) were added and the reaction mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was evaporated and the product was purified by preparative RPLC using CH_3CN:0.1M NH_4OAc (40:60). The acetonitrile was evaporated and the aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layer was dried ($MgSO_4$) and evaporated. Yield: 1.12 g (72%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.95 (s, 2H), 4.82 (d, 2H), 4.74 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 2.6-2.4 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)

(v) Boc-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pyrimidinyl) x HOAc

A solution of Boc-Aze-NH-CH_2-((5-cyano)-2-pyrimidinyl) (0.83 g, 2.6 mmol; see step (iv) above), N-acetylcysteine (0.43 g, 2.6 mmol) and ammonium acetate (0.60 g, 7.8 mmol) in 10 mL of methanol was heated at 60°C under nitrogen for 2 days. The solvent was evaporated and the crude material was purified by preparative RPLC using a gradient of CH_3CN:0.1M NH_4OAc (5:95 to 100:0). The fractions of interest were freeze dried to give 1.0 g (93%) of the desired material.

^{1}H NMR (300 MHz, D_2O, signals obscured by the HDO signal) δ 9. 17 (s, 2H), 4.1-3.9 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.29 (m, 1H), 1.93 (s, 3H), 1.44 (s, 9H)

(vi) Boc-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]

To a suspension of Boc-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pyrimidinyl) x HOAc (0.95 g, 2.41 mmol; see step (v) above) in 50 mL of THF was added a solution of Teoc-*p*-nitrophenyl carbonate (0.85 g, 3.0 mmol) and potassium carbonate (1.0 g, 7.2 mmol) in 10 mL of water. The mixture was stirred for 24 h, concentrated and partitioned between water and methylene chloride. The organic layer was washed twice with saturated aqueous sodium bicarbonate, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel with heptane:EtOAc (1:1). Yield: 1.04 g (90%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.16 (s, 2H), 4.80 (d, 2H), 4.73 (m, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.0-3.8 (m, 2H), 2.6-2.4 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.12 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]

Boc-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl] (0.209 g, 0.437 mmol; see step (vi) above) was dissolved in 25 mL of EtOAc saturated with HCl(g) and allowed to react for 15 min. The solvent was evaporated and the remainder was dissolved in 4 mL of DMF. Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (0.100 g, 0.396 mmol; see Example 1(viii) above), PyBOP (0.231 g, 0.444 mmol) and diisopropylethyl amine (0.208 g, 1.61 mmol) were added, and the mixture was stirred for 80 min. The reaction mixture was poured into 100 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was purified by preparative RPLC using CH_3CN:0.1M NH_4OAc (1:1). Yield: 63 mg (26%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, mixture of rotamers) δ 9.3 (broad, 1H), 9.03 (s, 2H, minor rotamer), 9.00 (s, 2H, major rotamer), 8.25 (m, 1H, major rotamer), 7.9 (broad, 1H), 7.80 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-6.9 (m, 3H), 6.50 (t, 1H), 5.14 (s, 1H, minor rotamer), 5.08 (m, 1H, minor rotamer), 4.94 (s, 1H, major rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.7-4.4 (m, 2H), 4.3-3.9 (m, 3H), 3.74 (m, 1H, major rotamer), 2.7-2.1 (m, 2H), 1.03 (m, 2H), 0.01 (s, 9H)

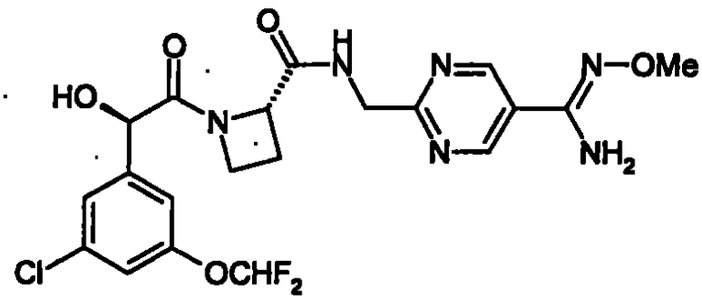
(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pyrimidinyl) x TFA

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl] (21 mg, 0.034 mmol; see step (vii) above) was dissolved in 0.5 mL of methylene chloride and cooled in an ice bath. TFA (2 mL) was added and the mixture was stirred for 60 min and then concentrated. The product was freeze-dried from water and acetonitrile. Yield: 20 mg (100%). Purity: 100%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamer signals obscured by the HDO signal) δ 9.08 (s, 2H), 7.4-7.1 (m, 3H), 6.88 (t, 1H, major rotamer), 6.85 (t, 1H, minor rotamer), 5.30 (m, 1H, minor rotamer), 5.22 (s, 1H, minor rotamer), 5.20 (s, 1H, major rotamer), 4.73 (m, 1H, major rotamer), 4.34 (m, 1H, rotamer), 4.21 (m, 1H, rotamer), 4.15-3.95 (m, 2H, rotamers), 2.73 (m, 1H, rotamer), 2.57 (m, 1H, rotamer), 2.45-2.25 (m, 2H, rotamers)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 173.0, 172.6, 172.1, 171.0, 163.4.
APCI-MS: (M + 1) = 469/471 m/z

Example 37

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-methoxyamidino)-2-pyrimidinyl)



(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(methoxyamino-(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]

A suspension of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl] (40 mg, 0.065 mmol; see Example 36(vii) above) and O-methylhydroxyl amine (33 mg, 0.40 mmol) in 3 mL of acetonitrile was heated at 70°C for 3 h. The mixture was partitioned between water and EtOAc. The aqueous layer was extracted twice with EtOAc and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 33 mg (79%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, mixture of rotamers) δ 8.76 (s 2H, major rotamer), 8.70 (s, 2H, rotamer), 8.18 (m, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.4-6.9 (m, 4H), 6.50 (bt, 1H), 5.3-4.5 (m, 4H), 4.2-4.05 (m, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 2.8-2.2 (m, 2H), 2.1 (broad, 1H), 0.96 (m, 2H), 0.01 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-methoxy-amidino)-2-pyrimidinyl)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(methoxyamino-(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl] (33 mg, 0.052 mmol; see step (i) above) was dissolved in 0.5 mL of methylene chloride and cooled in

an ice bath. TFA (2 mL) was added and the mixture was stirred for 2 h and then concentrated. The product was freeze dried from water and acetonitrile. Yield: 31 mg (81%). Purity: 100%.

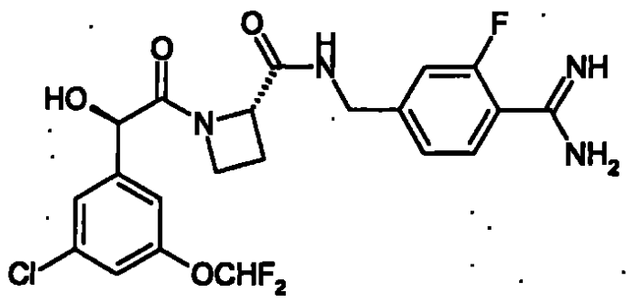
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamer signals obscured by the HDO signal) δ 8.96 (s, 2H, rotamer), 8.94 (s, 2H, rotamer), 7.4-7.3 (m, 1H), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.88 (t, 1H, rotamer), 6.85 (t, 1H, rotamer), 5.29 (m, 1H, rotamer), 5.24 (s, 1H, rotamer), 5.20 (s, 1H, rotamer), 4.75-4.55 (m, 2H), 4.33 (m, 1H, rotamer), 4.19 (m, 1H, rotamer), 4.15-3.95 (m, 2H, rotamers), 3.88 (s, 3H, rotamer), 3.86 (s, 3H, rotamer), 2.72 (m, 1H, rotamer), 2.56 (m, 1H, rotamer), 2.45-2.25 (m, 2H, rotamers)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 172.8, 172.6, 172.1, 171.8, 167.8, 167.7, 155.1, 152.3, 152.1

APCI-MS: (M + 1) = 499/501 m/z

Example 38

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F)



(i) 2-Fluoro-4-vinylbenzonitrile

A solution of 4-bromo-2-fluorobenzonitrile (4.92 g, 0.0246 mol), vinyltributyltin (0.78 g, 0.246 mol), and tetrakistriphenylphosphine (0.67 g, 0.58 mmol) in 250 mL of toluene was refluxed under nitrogen overnight. The solvent was evaporated and the residue was flash chromatographed on

silica gel with heptane:CH_2Cl_2 (1:1) to pure CH_2Cl_2. A colourless oil was obtained that crystallised. Yield: 3.0 g (82%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.56 (m, 1H), 7.3-7.2 (m, 2H), 6.69 (m, 1H), 5.89 (d, 1H), 5.51 (d, 1H)

(ii) 2-Fluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile

Into a cooled solution (-78°C) of 2-fluoro-4-vinylbenzonitrile (1.3 g, 8.8 mmol; see step (i) above) in 40 mL of CH_2Cl_2 and 5 mL of methanol was bubbled ozone (50 L/h, 29 g/m^3) for 30 min. Argon was subsequently bubbled through to remove excess ozone. Sodium borohydride (0.67 g, 0.018 mol) was added and the cooling bath was removed. The mixture was stirred and allowed to react for 1 h. The mixture was evaporated and 2M HCl was added. The mixture was extracted twice with diethyl ether and the combined ether fraction was dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product crystallised. Yield: 1.1 g (81%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.59 (m, 1H), 7.3-7.2 (m, 2H), 4.79 (d, 2H), 2.26 (t, 1H)

(iii) 4-Cyano-3-fluorobenzyl methanesulfonate

2-Fluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile (1.3 g, 8.6 mmol; see step (ii) above) was dissolved in 50 mL of CH_2Cl_2 and cooled on an ice bath. Triethylamine (0.87 g, 8.6 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.99 g, 8.7 mmol) were added. After stirring for 1.5 h the reaction mixture was washed with 1M HCl. The organic phase was dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without purification. Yield of a colourless oil: 1.8 g (92%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.66 (m, 1H), 7.35-7.3 (m, 2H), 5.26 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(iv) 4-Azidomethyl-2-fluorobenzonitrile

To an ice cooled solution of 4-cyano-3-fluorobenzyl methanesulfonate (1.8 g, 7.9 mmol; see step (iii) above) was added sodium azide (0.80 g, 0.012 mol). The mixture was stirred overnight and then poured into 200 mL of water and extracted three times with diethyl ether. The combined ethereal phase was washed five times with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude colourless oil could be used without further purification. Yield: 1.2 g (87%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.64 (m, 1H), 7.25-7.18 (m, 2H), 4.47 (s, 2H)

(v) 4-Aminomethyl-2-fluorobenzonitrile

To a suspension of stannous chloride dihydrate (0.45 g, 2.4 mmol) in 20 mL of acetonitrile under stirring was added thiophenol (1.07 g, 9.7 mmol) and triethylamine (0.726 g, 7.17 mmol). Thereafter was added a solution of 4-azidomethyl-2-fluorobenzonitrile (0.279 g, 1.58 mmol; see step (iv) above) in a few mLs of acetonitrile. After 1.5 h, the azide was consumed and the solvent was evaporated. The residue was dissolved in methylene chloride and washed three times with 2M NaOH. The organic phase was extracted twice with 1M HCl. The combined acidic aqueous phase was washed with methylene chloride and then made alkaline with 2M NaOH and extracted three times with methylene chloride. The organic phase was dried (Na_2SO_4) and evaporated to give 0.172 g (72%) of the desired sub-title compound which could be used without purification.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.58 (m, 1H), 7.3-7.2 (m, 2H), 3.98 (s, 2H), 1.55-1.35 (broad, 2H)

(vi) Boc-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN)

To an ice cooled solution of Boc-Aze-OH (0.194 g, 0.96 mmol) in 5 mL of DMF was added TBTU (0.50 g, 9.6 mmol). After 30 min another solution, comprising 4-aminomethyl-2-fluorobenzonitrile (0.17 g, 0.81 mmol; see step (v) above) and diiisopropylethyl amine (0.326 g, 2.53 mmol) in 7 mL of DMF was added. The resulting solution was stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated and the product was purified by preparative RPLC using CH_3CN:0.1M NH_4OAc (50:50). Freeze-drying gave 0.237 g (74%) of the desired sub-title compound.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.70 (m, 1H), 7.35-7.25 (m, 2H), 4.65-4.35 (m, 3H), 4.0-3.85 (m, 2H), 2.51 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 1.40 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN)

Boc-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN) (0.118 g, 0.354 mmol; from step (vi) above) was dissolved in 30 mL of EtOAc saturated with HCl(g). The reaction was stirred for 20 min and evaporated. The resulting dihydrochloride and HATU (0.152 g, 0.400 mmol) were dissolved in 5 mL of DMF. That solution was added to an ice cooled solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (0.101 g, 0.400 mmol; see Example 1(viii) above) in 5 mL of DMF. The reaction was stirred overnight at ambient temperature. The solvent was evaporated and the product was purified by preparative RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (50:50). Freeze-drying gave 0.130 g (77%) of the desired sub-title compound.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD mixture of rotamers) δ 7.7-7.6 (m, 1H), 7.35-7.1 (m, 5H), 6.88 (t, 1H, rotamer), 6.86 (t, 1H, rotamer), 5.25-5.1 (m, 1H

plus minor rotamer from the following proton), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.36 (m, 1H, major rotamer), 4.18 (m, 1H, major rotamer), 4.07 (m, 1H, minor rotamer), 3.98 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.53 (m, 1H, major rotamer), 2.29 (m, 1H, major rotamer), 2.16 (m, 1H, minor rotamer)

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN) (0.130 g, 0.278 mmol; see step (vii) above) was dissolved in 80 mL of ethanol saturated with HCl(g). The mixture was allowed to react at room temperature overnight. The solvent was evaporated and the residue was re-dissolved in 100 mL of ethanol saturated with NH_3(g). The reaction was allowed to proceed slowly at room temperature for two days. The temperature was raised to 50°C and the reaction continued for another 3 days. The starting material was consumed and the solvent was evaporated. The product was purified by preparative RPLC and freeze-dried to give 17 mg (13%) of the title compound as its HOAc salt.

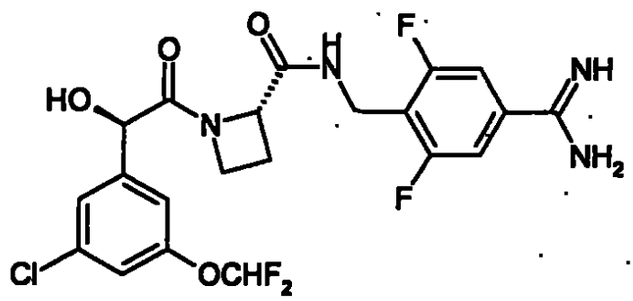
^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD mixture of rotamers) δ 7.65-7.6 (m, 1H), 7.4-7.3 (m, 3H), 7.25-7.1 (m, 2H), 7.15-6.7 (m, 1H), 5.25-5.1 (m, 1H plus minor rotamer of the following proton), 4.8 (m, 1H, major rotamer partially hidden by CD_3OH), 4.6-3.95 (m, 4H), 2.69 (m, 1H, minor rotamer), 2.56 (m, 1H, major rotamer), 2.28 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer), 1.90 (s, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 180.6, 173.4, 173.1, 172.9, 164.5, 162.3, 159.8

APCI-MS: (M + 1) = 485/487 m/z

Example 39

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)



(i) 2,6-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile

(Methylsulfinyl)(methylthio)methane (7.26g, 0.0584 mol) was dissolved in 100 mL of dry THF under argon and was cooled to –78°C. Butyllithium in hexane (16 mL 1.6M, 0.0256 mol) was added dropwise with stirring. The mixture was stirred for 15 min. Meanwhile, a solution of 3,4,5-trifluorobenzonitrile (4.0 g, 0.025 mmol) in 100 mL of dry THF was cooled to -78°C under argon and the former solution was added through a cannula to the latter solution over a period of 35 min. After 30 min, the cooling bath was removed and when the reaction had reached room temperature it was poured into 400 mL of water. The THF was evaporated and the remaining aqueous layer was extracted three times with diethyl ether. The combined ether phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 2.0 g (30%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.4-7.25 (m, 2H), 5.01 (s, 1H, diasteromer), 4.91 (s, 1H, diasteromer), 2.88 (s, 3H, diasteromer), 2.52 (s, 3H, diasteromer), 2.49 (s, 3H, diasteromer), 2.34 (s, 3H, diasteromer), 1.72 (broad, 1H)

86

(ii) 2,6-Difluoro-4-formylbenzonitrile

2,6-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile (2.17 g, 8.32 mmol; see step (i) above) was dissolved in 90 mL of THF and 3.5 mL of concentrated sulfuric acid was added. The mixture was left at room temperature for 3 days and subsequently poured into 450 mL of water. Extraction three times with EtOAc followed and the combined ethereal phase was washed twice with aqueous sodium bicarbonate and with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 1.36 g (98%). The position of the formyl group was established by ^{13}C NMR. The signal from the fluorinated carbons at 162.7 ppm exhibited the expected coupling pattern with two coupling constants in the order of 260 Hz and 6.3 Hz respectively corresponding to an *ipso* and a *meta* coupling from the fluorine atoms.

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.35 (s, 1H), 7.33 (m, 2H)

(iii) 2,6-Difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile

2,6-Difluoro-4-formylbenzonitrile (1.36 g, 8.13 mmol; see step (ii) above) was dissolved in 25 mL of methanol and cooled on an ice bath. Sodium borohydride (0.307 g, 8.12 mmol) was added in portions with stirring and the reaction was left for 65 min. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between diethyl ether and aqueous sodium bicarbonate. The ethereal layer was washed with more aqueous sodium bicarbonate and brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product crystallised soon and could be used without further purification. Yield: 1.24 g (90%).

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.24 (m, 2H), 4.81 (s, 2H), 2.10 (broad, 1H)

(iv) 4-Cyano-2,6-difluorobenzyl methanesulfonate

To an ice cooled solution of 2,6-difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile (1.24 g, 7.32 mmol; see step (iii) above) and methanesulfonyl chloride (0.93 g, 8.1 mmol) in 60 mL of methylene chloride was added triethylamine (0.81 g, 8.1 mmol) with stirring. After 3 h at 0°C, the mixture was washed twice with 1M HCl and once with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 1.61 g (89%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (m, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(v) 4-Azidomethyl-2,6-difluorobenzonitrile

A mixture of 4-cyano-2,6-difluorobenzyl methanesulfonate (1.61 g, 6.51 mmol; see step (iv) above) and sodium azide (0.72 g, 0.0111 mol) in 10 mL of water and 20 mL of DMF was stirred at room temperature overnight. The resultant was subsequently poured into 200 mL of water and extracted three times with diethyl ether. The combined ethereal phase was washed five times with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. A small sample was evaporated for NMR purposes and the product crystallised. The rest was evaporated cautiously but not until complete dryness. Yield (theoretically 1.26 g) was assumed to be almost quantitative based on NMR and analytical HPLC.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (m, 2H), 4.46 (s, 2H)

(vi) 4-Aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile

This reaction was carried out according to the procedure described in *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. To a suspension of 520 mg of 10% Pd/C (50% moisture) in 20 mL of water was added a solution of sodium borohydride (0.834 g, 0.0221 mol) in 20 mL of water. Some gas evolution resulted. 4-Azidomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (1.26 g, 6.49 mmol; see

step (v) above) was dissolved in 50 mL of THF and added to the aqueous mixture on an ice bath over 15 min. The mixture was stirred for 4 h, whereafter 20 mL of 2M HCl was added and the mixture was filtered through Celite. The Celite was rinsed with more water and the combined aqueous phase was washed with EtOAc and subsequently made alkaline with 2M NaOH. Extraction three times with methylene chloride followed and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 0.87 g (80%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.51 (broad, 2H)

(vii) 2,6-Difluoro-4-*tert*-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile

A solution of 4-aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (0.876 g, 5.21 mmol; see step (vi) above) was dissolved in 50 mL of THF and di-*tert*-butyl dicarbonate (1.14 g , 5.22 mmol) in 10 mL of THF was added. The mixture was stirred for 3.5 h. The THF was evaporated and the residue was partitioned between water and EtOAc. The organic layer was washed three times with 0.5 M HCl and water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 1.38 g (99%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (m,2H), 4.95 (broad, 1H), 4.43 (broad, 2H), 1.52 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,6-diF)(OH)

A mixture of 2,6-difluoro-4-*tert*-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile (1.38 g, 5.16 mmol; see step (vii) above), hydroxylamine hydrochloride (1.08 g, 0.0155 mol) and triethylamine (1.57 g, 0.0155 mol) in 20 mL of ethanol was stirred at room temperature for 36 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and methylene chloride. The organic layer was washed with water, dried (Na_2SO_4) and

evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 1.43 g (92%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (m, 2H), 4.97 (broad, 1H), 4.84 (broad, 2H), 4.40 (broad, 2H), 1.43 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc

This reaction was carried out according to the procedure described by Judkins *et al*, *Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,6-diF)(OH) (1.32 g, 4.37 mmol; see step (viii) above), acetic anhydride (0.477 g, 4.68 mmol) and 442 mg of 10% Pd/C (50% moisture) in 100 mL of acetic acid was hydrogenated at 5 atm pressure for 3.5 h. The mixture was filtered through Celite, rinsed with ethanol and evaporated. The residue was freeze-dried from acetonitrile and water and a few drops of ethanol. The sub-title product could be used without further purification. Yield: 0.1.49 g (99%).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (m, 2H), 4.34 (s, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc)

To a solution of Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc (1.56 g, 5.49 mmol; see step (ix) above) in 100 mL of THF and 1 mL of water was added 2-(trimethylsilyl)ethyl p-nitrophenyl carbonate (1.67 g, 5.89 mmol). A solution of potassium carbonate (1.57 g, 0.0114 mol) in 20 mL of water was added dropwise over 5 min. The mixture was stirred overnight. The THF was evaporated and the residue was partitioned between water and methylene chloride. The aqueous layer was extracted with methylene chloride and the combined organic phase was washed twice with aqueous sodium bicarbonate, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography

on silica gel with heptane/EtOAc = 2/1 gave 1.71 g (73%) of pure compound.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 (m, 2H), 4.97 (broad, 1H), 4.41 (broad, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

(xi) Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1.009 g, 2.35 mmol; see step (x) above) was dissolved in 50 mL of EtOAc saturated with HCl(g). The mixture was left for 10 min., evaporated and dissolved in 18 mL of DMF, and then cooled on an ice bath. Boc-Aze-OH (0.450 g, 2.24 mmol), PyBOP (1.24 g, 2.35 mmol) and lastly diisopropylethyl amine (1.158 g, 8.96 mmol) were added. The reaction mixture was stirred for 2 h and then poured into 350 mL of water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with heptane:EtOAc (1:3) gave 1.097 g (96%) of the desired compound.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.46 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 4.23 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.10 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

(xii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (0.256 g, 0.500 mmol; see step (xi) above) was dissolved in 20 mL of EtOAc saturated with HCl(g). The mixture was left for 10 min. and evaporated and dissolved in 5 mL of DMF. Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (0.120 g, 0.475 mmol; see Example 1(viii) above), PyBOP (0.263 g, 0.498 mmol) and lastly diisopropylethyl amine (0.245 g, 1.89 mmol were added. The reaction mixture was stirred for 2 h and then poured into 350 mL of water and extracted three times with

EtOAc. The combined organic phase was washed with brine, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with EtOAc gave 0.184 g (60%) of the desired sub-title compound.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.55-7.45 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, major rotamer), 7.27 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H,major rotamer), 5.12 (m, 1H, minor rotamer), 5.06 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.24 (m, 2H), 4.13 (m, 1H, major rotamer), 4.04 (m, 1H, minor rotamer), 3.95 (m, 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.22 (m, 1H, major rotamer), 2.10 (m, 1H, minor rotamer), 1.07 (m, 2H), 0.07 (m, 9H)

(xiii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81 mg, 0.127 mmol; see step (xii) above) was dissolved in 0.5 mL of methylene chloride and cooled on an ice bath. TFA (3 mL) was added and the reaction was left for 75 min. The TFA was evaporated and the residue was freeze dried from water and acetonitrile. The crude product was purified by preparative RPLC with CH_3CN:0.1M NH_4OAc (35:65) to produce 39 mg (55%) of the title compound as its HOAc salt, purity: 99%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD mixture of rotamers) δ 7.5-7.4 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, major rotamer), 7.28 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 3H) 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.14 (m, 1H, minor rotamer), 5.07 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.65-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.16 (m, 1H, major rotamer), 4.03 (m, 1H, minor rotamer), 3.95 (m, 1H, minor

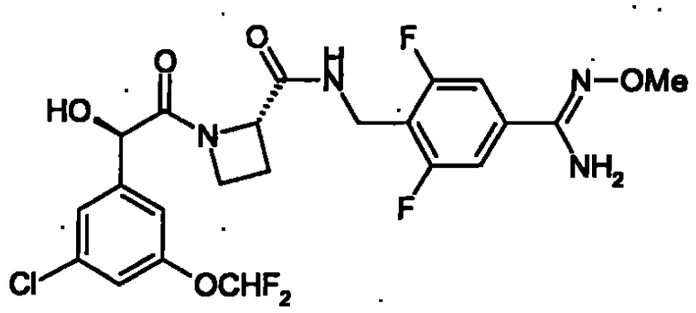
rotamer), 2.63 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.21 (m, 1H, major rotamer), 2.07 (m, 1H, minor rotamer), 1.89 (s, 3H)

^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 171.9, 171.2, 165.0, 162.8, 160.4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

Example 40

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe,Teoc)

A mixture of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (64 mg, 0.099 mmol; see Example 39(xii) above) and O-methyl hydroxylamine hydrochloride (50 mg, 0.60 mmol) in 4 mL of acetonitrile was heated at 70°C for 3 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and EtOAc. The aqueous layer was extracted twice with EtOAc and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 58 mg (87%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.90 (bt, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.25-6.95 (m, 5H), 6.51, t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.4-3.9 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.63 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.87 (broad, 1H), 0.98 (m, 2H), 0.01, s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe,Teoc) (58 mg, 0.086 mmol; see step (i) above) was dissolved in 3 mL of TFA, cooled on an ice bath and allowed to react for 2 h. The TFA was evaporated and the residue dissolved in EtOAc. The organic layer was washed twice with aqueous sodium carbonate and water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The residue was freeze-dried from water and acetonitrile to give 42 mg (92%) of the title compound. Purity: 94%.

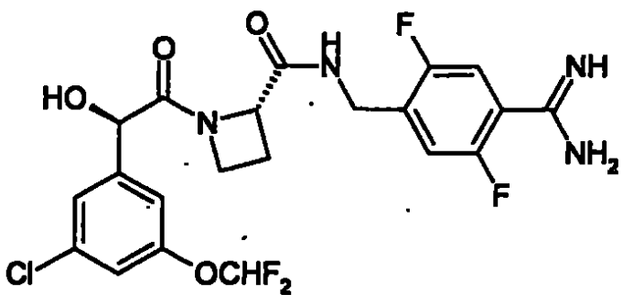
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.95 (bt, 1H), 7.2-7.1 (m, 4H), 6.99 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.85-4.75 (m, 3H), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.29 (broad, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.85 (broad, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; $CDCl_3$): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.1, 169.8, 151.9

APCI-MS: (M + 1) = 533/535 m/z

Example 41

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)



(i) 2,5-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile

(Methylsulfinyl)(methylthio)methane (3.16 g, 0.0255 mol) was dissolved in 50 mL of dry THF under argon and then cooled to –78°C. Butyllithium in

hexane (16 mL 1.6M, 0.0256 mol) was added dropwise with stirring. The mixture was stirred for 15 min. Meanwhile a solution of 2,4,5-trifluorobenzonitrile (2.0 g; 0.013 mol) in 50 mL of dry THF was cooled to -78°C under argon and the former solution was added through a cannula to the latter solution over a period of 3-5 min. After 30 min, the cooling bath was removed and when the reaction had reached room temperature it was poured into 200 mL of water. The THF was evaporated and the remaining aqueous layer was extracted three times with diethyl ether. The combined ether phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product started to crystallise and could be used as such in the next step. Yield: 2.8 g (84%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.51-7.44 (m, 2H, major diastereomer), 7.39 (dd, 1H, minor diastereomer), 5.00 (s, 1H, minor diastereomer), 4.92 (s, 1H, major diastereomer), 2.59 (s, 3H, minor diastereomer), 2.56 (s, 1H, major diastereomer), 2.46 (s, 1H, minor diastereomer), 2.40 (s, 1H, major diastereomer)

(ii) 2,5-Difluoro-4-formylbenzonitrile

2,5-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile (2.8 g, 0.0107 mol; see step (i) above) was dissolved in 100 mL of THF and 6.5 g of concentrated sulfuric acid was added. The mixture was left at room temperature for 6 days and subsequently poured into 500 mL of water. Extraction three times with diethyl ether followed and the combined ethereal phase was washed several times with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product was flash chromatographed on silica gel using heptane:EtOAc (8:2). Yield: 1.2 g (67%). The position of the formyl group was established by use of ^{13}C NMR. The carbon signals from the fluorinated carbons at 160.1 and 158.4 respectively were doublets and not

quartets, which they would have been if the formyl group had been in the 2-position.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10.36 (d, 1H), 7.72 (dd, 1H), 7.54 (dd, 1H)

(iii) 2,5-Difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile

2,5-Difluoro-4-formylbenzonitrile (3.60 g, 0.0215 mol; see step (ii) above) was dissolved in 50 mL of methanol and cooled on an ice bath. Sodium borohydride (0.815 g, 0.0215 mol) was added in portions with stirring and the reaction was left for 45 min. Water (300 mL) was added and thereafter carefully 2M HCl was added until an acidic pH was attained. The mixture was extracted three times with diethyl ether, and the combined ethereal phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The crude product crystallised soon and could be used without further purification. Yield: 3.1 g (85%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.45 (dd, 1H), 7.30 (dd, 1H), 4.85 (s, 2H), 2.10 (broad, 1H)

(iv) 4-Cyano-2,5-difluorobenzyl methanesulfonate

To an ice cooled solution of 2,5-difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile (3.10 g, 0.0183 mol; see step (iii) above) and methanesulfonyl chloride (2.21 g, 0.0192 mol) in 60 mL of methylene chloride was added triethyl amine (1.95 g, 0.0192 mol) with stirring. After 1.5 h at 0°C the mixture was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 4.5 g (99%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.45-7.35 (m, 2H), 5.32 (s, 2H), 3.13 (s, 3H)

(v) 4-Azidomethyl-2,5-difluorobenzonitrile

A mixture of 4-cyano-2,5-difluorobenzyl methanesulfonate (4.5 g, 0.0182 mol; see step (iv) above) and sodium azide (2.0 g, 0.031 mol) in 20 mL of water and 40 mL of DMF was stirred at room temperature for 2 h. It was subsequently poured into 300 mL of water and extracted three times with diethyl ether. The combined ethereal phase was washed several times with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. A small sample was evaporated for NMR purposes and the product crystallised. The rest was evaporated cautiously but not until complete dryness. Yield (theoretically 3.5 g) is assumed to be almost quantitative based on NMR and analytical HPLC.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ .38 (dd, 1H), 7.32 (dd, 1H), 4.54 (s, 2H)

(vi) 4-Aminomethyl-2,5-difluorobenzonitrile

This reaction was carried out according to the procedure described in *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. To a suspension of 300 mg of 10% Pd/C (50% moisture) in 20 mL of water was added a solution of sodium borohydride (0.779 g, 0.0206 mol) in 20 mL of water. Some gas evolution resulted. 4-Azidomethyl-2,5-difluorobenzonitrile (1.00 g, 5.15 mmol; from step (v) above) was dissolved in 60 mL of THF and added to the aqueous mixture on an ice bath. The mixture was stirred for 1.5 h whereafter 10 mL of 2M HCl was added and the mixture was filtered through Celite. The Celite was rinsed with more water and the combined aqueous phase was washed with EtOAc and subsequently made alkaline with 2M NaOH. Extraction three times with methylene chloride followed and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Yield: 0.47 g (54%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39 (dd, 1H), 7.29 (dd, 1H), 3.99 (s, 2H), 1.45 (broad, 2H)

(vii) 2,5-Difluoro-4-*tert*-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile

A solution of 4-aminomethyl-2,5-difluorobenzonitrile (0.46 g, 2.7 mmol; see step (vi) above) and di-*tert*-butyl dicarbonate (0.60 g , 2.7 mmol) in 10 mL of THF was stirred overnight. The THF was evaporated and the residue was partitioned between water and EtOAc. The organic layer was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 0.71 g (97%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35-7.2 (m, 2H), 5.11 (broad triplet, 1H), 4.38 (d, 2H), 1.45 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,5-diF)(OH)

A mixture of 2,5-difluoro-4-*tert*-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile (0.70 g, 2.6 mmol; see step (vii) above), hydroxylamine hydrochloride (0.54 g, 7.8 mmol) and triethylamine (0.79 g, 7.8 mmol) in 10 mL of ethanol was stirred at room temperature for 6 days. It was then partitioned between water and methylene chloride. The aqueous layer was extracted with methylene chloride and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 0.72 g (92%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.27 (dd, 1H), 7.12 (dd, 1H), 4.29 (s, 2H), 1.47 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,5-diF) x HOAc

This reaction was carried out according to the procedure described by Judkins *et al*, *Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,5-diF)(OH) (0.70 g, 2.3 mmol; see step (viii) above), acetic anhydride (0.25 g, 2.4 mmol) and 230 mg of 10% Pd/C (50% moisture) in 70 mL of acetic acid was

92

hydrogenated at 5 atm pressure for 2.5 h. The mixture was filtered through Celite and evaporated. The residue was freeze dried from acetonitrile and water. The product could be used without further purification in the next step. Yield: 0.80 g (100%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.49 (dd, 1H), 7.31 (dd, 1H), 4.33 (s, 2H), 1.91 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,5-diF)(Teoc)

To a suspension of Boc-Pab(2,5-diF) x HOAc (0.80 g, 2.3 mmol; see step (ix) above) in 50 mL of THF was added 2-(trimethylsilyl)ethyl p-nitrophenyl carbonate (0.85 g, 3.0 mmol). A solution of potassium carbonate (0.80 g, 5.8 mmol) in 10 mL of water was added dropwise. The mixture was stirred overnight. The excess Teoc reagent was destroyed by addition of glycine (0.100 g) and potassium carbonate (0.75 g) to the solution, letting it react for an additional 2 h. The THF was evaporated and the residue was partitioned between water and methylene chloride. The aqueous layer was extracted with methylene chloride and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with heptane:EtOAc (2:1) gave 0.72 g (72%) of pure compound.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00 (dd, 1H), 7.15 (dd, 1H), 4.98 (broad, 1H), 4.36 (bd, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.12 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(xi) H-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl

Boc-Pab(2,5-diF)(Teoc) (0.38 g, 0.88 mmol; see step (x) above) was dissolved in 50 mL of EtOAc saturated with HCl(g). The mixture was left for 30 min and evaporated.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.75-7.6 (m, 2H), 4.46 (m, 2H), 4.3 (s, 2H), 1.15 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(xii) Boc-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

To a stirred solution of Boc-Aze-OH (0.189 g, 0.94 mmol), H-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl (0.36 g, 0.89 mmol; see step (xi) above) and PyBOP (0.54 g, 1.03 mmol) in 5 mL of DMF was added diisopropylethyl amine (0.49 g, 3.8 mmol) and the mixture was allowed to react overnight. The resultant was then poured into aqueous sodium bicarbonate and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with heptane:EtOAc (3:7) gave a sufficiently pure compound. Yield: 0.25 g (48%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98 (dd, 1H), 7.13 (dd, 1H), 4.69 (m, 1H), 4.53 (m, 2H), 4.22 (m, 2H), 3.92 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 2.55-2.35 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

(xiii) H-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl

Boc-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (0.25 g, 0.49 mmol; see step (xii) above) was dissolved in 50 mL of EtOAc saturated with HCl(g). The mixture was left for 30 min. and evaporated. The product was used in the next step without further purification. Yield: 0.23 g (97%).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.59 (dd, 1H), 7.47 (dd, 1H), □5.14 (m, 1H), 4.54 (m, 2H), 4.48 (m,2H), 4.15 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.56 (m, 1H), 1.17 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

93

(xiv) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

To a solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)OH (0.12 g, 0.47 mmol; see Example 1(viii) above), H-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl (0.23 g, 0.47 mmol; see step (xiii) above) and PyBOP (0.27 g, 0.52 mmol) in 10 mL of DMF was added diisopropylethyl amine (0.245 g, 1.90 mmol), and the mixture was stirred overnight. The resultant was poured into water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. Flash chromatography on silica gel with EtOAc gave 100 mg of a pure fraction and 30 mg of a 90% pure fraction. Total yield: 0.13 g (41%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.80 (broad, 1H), 8.05 (bt, 1H), 7.94 (dd, 1H),7.20 (m, 1H), 7.2-7.1 (m, 2H), 7.02 (m, 1H), 6.54 (t, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.91 (m, 1H), 4.51 (m, 2H), 4.28 (broad, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.13 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.73 (broad, 1H), 1.11 (m, 2H), 1.11 (s, 9H)

(xv) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (60 mg (0.093 mmol) of the pure fraction from step (xiv) above) was dissolved in 3 mL of TFA and left at room temperature for 1 h. The TFA was evaporated and the residue was freeze-dried from water and acetonitrile to produce 55 mg (96%) of the title compound as its TFA salt, purity: >99%.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD mixture of rotamers) δ 7.55-7.3 (m, 3H), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.88 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.22 (m, 1H, minor rotamer), 5.20 (s, 1H, major rotamer), 5.13 (s, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.36 (m, 1H, major rotamer), 4.19 (m, 1H, major rotamer), 4.07 (m, 1H, minor rotamer),

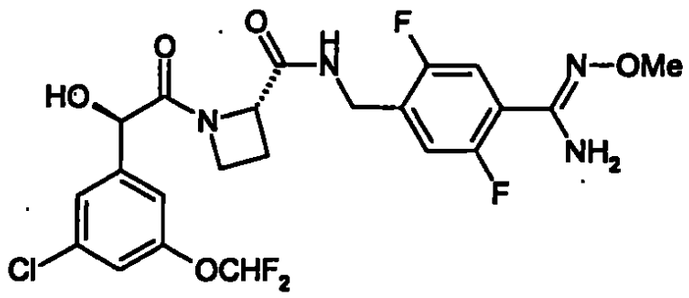
3.98 (m, 1H, minor rotamer), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.54 (m, 1H, major rotamer), 2.28 (m, 1H, major rotamer), 2.14 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 173.0, 172.6, 172.1, 172.0, 162.4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

Example 42

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze Pab(2,5-diF)(OMe,Teoc)

A mixture of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (40 mg, 0.062 mmol; see Example 41(xiv) above) and O-methyl hydroxylamine hydrochloride (58 mg, 0.70 mmol) in 5 mL of acetonitrile was heated at 70°C for 2 h. The solvent was evaporated and the residue was partitioned between water and EtOAc. The aqueous layer was extracted with EtOAc and the combined organic phase was washed with water, dried (Na_2SO_4) and evaporated. The product could be used without further purification. Yield: 35 mg (84%).

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99 (bt, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.20 (m, 1H) 7.15-7.1 (m, 1H), 7.07 (dd, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.88 m, 1H), 4.48 (m, 2H), 4.2-4.1 (m, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 0.97 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe,Teoc) (35 mg, 0.052 mmol; see step (i) above) was dissolved in 3 mL of TFA and allowed to react for 30 min. The TFA was evaporated and the residue freeze-dried from water and acetonitrile to give 29 mg (99%) of the title compound. Purity: 97%.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.01 (bt, 1H), 7.45 (dd, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.15 (m, 1H), 7.09 (dd, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.54 (t, 1H), 5.2-5.0 (m, 2H), 4.95-4.85 (m, 2H), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.25 (broad, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.71 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.43 (m, 1H)

^{13}C-NMR (75 MHz; $CDCl_3$): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 173.0, 170.9, 152.6

APCI-MS: (M + 1) = 533/535 m/z.

Example 43

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (55 mg, 0.090 mmol; see Example 1(ix) above) and *O*-ethylhydroxyl amine hydrochloride (53 mg, 0.54 mmol) were dissolved in 4 mL of THF. The mixture was stirred at 60°C for 5 h. The solvent was evaporated. The residue was chromatographied on silica gel, eluting with methylene chloride:methanol (95:5) to afford 55 mg (93%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.84 (bt, 1H), 7.59 (bs, 1H), 7.47 (bd, 1H), 7.29 (bd, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.90

(s, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.25-4.1 (m, 5H), 3.69 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.33 (t, 3H), 0.98 (m, 2H), 0.02 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

To an ice-cold solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc) (55 mg, 0.084 mmol; see step (i) above) in 0.5 mL of methylene chloride was added 3 mL of TFA. The mixture was stirred (ice-bath) for 160 minutes. The material was purified using preparative HPLC. The fractions of interest were pooled and freeze-dried (2x), yielding 20 mg (47%) of the title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.59 (bd, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.32 (bd, 2H), 7.25-7.1 (m, 2H), 6.89 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.18 (s, 1H, major rotamer), 5.18 (m, 1H, minor rotamer), 5.11 (s, 1H, minor rotamer), 4.77 (m, 1H), 4.5-4.3 (m, 3H), 4.2-3.9 (m, 3H), 2.67 (m, 1H, minor rotamer), 2.52 (m, 1H, major rotamer), 2.28 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer), 1.28 (t, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 172.4, 171.9, 171.4, 153.8, 152.3

MS (m/z) 509 $(M-1)^-$, 511 $(M+1)^+$

Example 44

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (53 mg, 0.087 mmol; see Example 1(ix) above) and *O*-*n*-propylhydroxyl amine hydrochloride, 58 mg (0.52 mmol) were dissolved in 4 mL of THF. The mixture was stirred at 60°C for 5 h. The solvent was evaporated. The residue was

chromatographed on silica gel, eluting with methylene chloride:methanol (95:5) to afford 51 mg (88%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.84 (m, 1H), 7.59 (bs, 1H), 7.47 (bd, 2H), 7.28 (bd, 2H), 7.21 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.2-4.05 (m, 5H), 3.69 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.74 (m, 2H), 1.05-0.95 (m, 5H), 0.03 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr)

To an ice-cold solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr, Teoc) (51 mg, 0.078 mmol; see step (i) above) in 0.5 mL of methylene chloride was added 3 mL of TFA. The mixture was stirred (ice-bath) for 110 minutes. The material was purified using preparative HPLC. The fraction of interest was evaporated and freeze-dried, yielding 20 mg (47%) of the title compound.

^{1}H-NMR (500 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.61 (bd, 2H), 7.38 (m, 1H), 7.35, (bd, 2H), 7.22 (m, 1H, major rotamer), 7.18 (m, 1H), 7.15 (m, 1H, minor rotamer), 6.92 (t, 1H, major rotamer), 6.89 (t, 1H, minor rotamer), 5.20 (s, 1H, major rotamer), 5.20 (m, 1H, minor rotamer), 4.80 (m, 1H, major rotamer), 4.5-4.4 (m, 2H, including minor rotamer corresponding to major at 4.37), 4.37 (m, 1H, major rotamer), 4.18 (m, 1H, major rotamer), 4.09 (m, 1H, minor rotamer), 3.99 (m, 2H), 2.70 (m, 1H, minor rotamer), 2.54 (m, 1H, major rotamer), 2.30 (m, 1H, major rotamer), 2.18 (m, 1H, minor rotamer), 1.73 (m, 2H), 1.01 (t, 3H)

^{13}C-NMR (125 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 171.4, 153.8, 152.3

MS (m/z) 523 $(M-1)^-$, 525 $(M+1)^+$

Example 45

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (50 mg, 0.082 mmol; see Example 1(ix) above) and *O-i*-propylhydroxyl amine hydrochloride, 55 mg (0.49 mmol) were dissolved in 4 mL of THF. The mixture was stirred at 60°C for 5 h. The solvent was evaporated. The residue was chromatographed on silica gel, eluting with methylene chloride:methanol (95:5) to afford 46 mg (84%) of the sub-title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.84 (m, 1H), 7.57 (bs, 1H), 7.48 (bd, 2H), 7.29 (bd, 2H), 7.21 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m,1H), 6.53 (t, 1H), 4.91 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.55-4.45 (m, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.2-4.1 (m, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 1.30 (d, 6H), 0.98 (m, 2H), 0.02 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr)

To an ice-cold solution of Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr, Teoc) (46 mg, 0.069 mmol; see step (i) above) in 0.5 mL of methylene chloride was added 3 mL of TFA. The mixture was stirred (ice-bath) for 150 minutes. The material was purified using preparative HPLC. The fraction of interest was evaporated and freeze-dried (2x), yielding 22 mg (58%) of the title compound.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.59 (d, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.32 (d, 2H), 7.19 (m, 1H, major rotamer), 7.15 (m, 1H), 7.12 (m, 1H, minor rotamer), 6.89 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.18 (s, 1H, major rotamer), 5.18 (m, 1H, minor rotamer), 5.12 (s, 1H, minor

rotamer), 4.78 (m, 1H, major rotamer), 4.5-3.9 (m, 5H), 2.67 (m, 1H, minor rotamer), 2.52 (m, 1H, major rotamer), 2.28 (m, 1H, major rotamer), 2.15 (m, 1H, minor rotamer), 1.26 (d, 6H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, rotamers) δ 171.9, 171.4, 153.6.

MS (m/z) 523 $(M - 1)^-$, 525 $(M + 1)^+$.

Example 46

The title compounds of Examples 3, 6, 9, 10, 13 to 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 32, 34, 36, 38, 39 and 41 were tested in Test A above and were found to exhibit IC_{50}TT values of less than 3.5 μM. Those of Examples 3, 6, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 27, 32, 34 and 39 were found to exhibit values of less than 0.02 μM; those of Examples 25 and 28 less than 0.03 μM, that of Example 14 less than 0.04 μM; and those of Examples 38 and 41 less than 0.15 μM.

Example 47

The title compounds of Examples 3, 6, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 32 and 34 were tested in Test D above and were found to exhibit an IC_{50} APTT value of less than 1 μM.

Example 48

The title compounds of Examples 1, 2, 4, 5, 7, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 30, 33 and 43 to 45 were tested in Test E above and were found to exhibit oral and/or parenteral bioavailability in the rat as the corresponding active inhibitor (free amidine).

Example 49

Title compounds of Examples 1, 2, 7, 8, 11, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 33, 37, 40, 43 and 45 were tested in Test G above and were found to be converted to the corresponding active inhibitor (free amidine) in liver microsomes from humans and from rats.

Abbreviations

Ac	=	acetyl
AcOH	=	acetic acid
APCI	=	atmospheric pressure chemical ionisation (in relation to MS)
API	=	atmospheric pressure ionisation (in relation to MS)
aq.	=	aqueous
AUC	=	area under the curve
Aze	=	(*S*)-azetidine-2-carboxylate (unless otherwise specified)
AzeOH	=	azetidine-2-carboxylic acid
Bn	=	benzyl
Boc	=	*tert*-butyloxycarbonyl
BSA	=	bovine serum albumin
Bu	=	butyl
Bzl	=	benzyl
CI	=	chemical ionisation (in relation to MS)
d	=	day(s)
DCC	=	dicyclohexyl carbodiimide
DIBAL-H	=	di-isobutylaluminium hydride
DIPEA	=	diisopropylethylamine
DMAP	=	4-(*N*,*N*-dimethyl amino) pyridine
DMF	=	dimethylformamide
DMSO	=	dimethylsulfoxide

	DVT	=	deep vein thrombosis
	EDC	=	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
	e.e.	=	enantiomeric excess
	Et	=	ethyl
	ether	=	diethyl ether
	EtOAc	=	ethyl acetate
	EtOH	=	ethanol
	Et_2O	=	diethyl ether
	h	=	hour(s)
	HATU	=	*O*-(azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium hexafluorophosphate
	HBTU	=	[*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyl-*O*-(benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate]
	HCl	=	hydrochloric acid, hydrogen chloride gas or hydrochloride salt (depending on context)
	Hex	=	hexanes
	HOAc	=	acetic acid
	HPLC	=	high performance liquid chromatography
	LC	=	liquid chromatography
	Me	=	methyl
	MEM	=	methoxyethoxymethyl
	MeOH	=	methanol
	min	=	minute(s)
	MS	=	mass spectroscopy
	MTBE	=	methyl *tert*-butyl ether
	NADH	=	nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form
	NADPH	=	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form
	NIH	=	National Institute of Health (US)

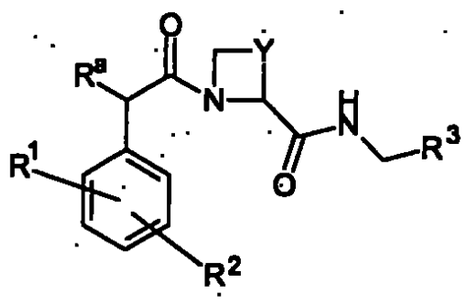
NIHU	=	National Institute of Health units
NMR	=	nuclear magnetic resonance
OAc	=	acetate
Pab	=	*para*-amidinobenzylamino
H-Pab	=	*para*-amidinobenzylamine
Ph	=	phenyl
Pr	=	propyl
Pro	=	(*S*)-prolinyl
PyBOP	=	(benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
QF	=	tetrabutylammonium fluoride
RedAl	=	sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminium hydride
RPLC	=	reverse phase high performance liquid chromatography
rt/RT	=	room temperature
SOPs	=	standard operating procedures
TBTU	=	[*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyl-*O*-(benzotriazol-1-yl)uronium tetrafluoroborate]
TEA	=	triethylamine
Teoc	=	2-(trimethylsilyl)ethoxycarbonyl
TEMPO	=	2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical
TFA	=	trifluoroacetic acid
THF	=	tetrahydrofuran
THP	=	tetrahydropyranyl
TLC	=	thin layer chromatography
TMSCl	=	trimethylsilyl chloride
TMSCN	=	trimethylsilyl cyanide
UV	=	ultraviolet
Z	=	benzyloxycarbonyl

98

Prefixes *n*, *s*, *i* and *t* have their usual meanings: normal, secondary, iso and tertiary. The prefix *c* means cyclo.

Claims

1. A compound of formula I



I

wherein

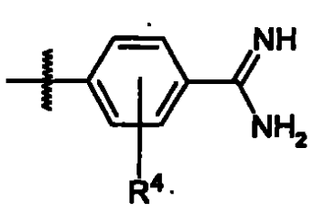
R^a represents -OH or $-CH_2OH$;

R^1 represents one or more optional halo substituents;

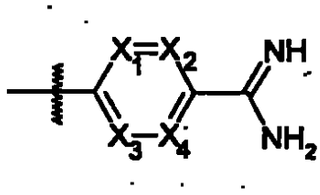
R^2 represents one or two C_{1-3} alkoxy substituents, the alkyl parts of which substituents are themselves substituted by one or more fluoro substituents;

Y represents $-CH_2-$ or $-(CH_2)_2-$; and

R^3 represents a structural fragment of formula I(i) or I(ii):



I(i)



I(ii)

wherein

R^4 represents H or one or more fluoro substituents; and

one or two of X_1, X_2, X_3 and X_4 represent -N- and the others represent -CH-,

or a pharmaceutically-acceptable derivative thereof.

2. A compound as claimed in Claim 1 wherein R^1 represents a single fluoro, chloro or bromo substituent.

3. A compound as claimed in Claim 2 wherein R^1 represents chloro.

4. A compound as claimed in any one of the preceding claims wherein R^2 represents $-OCHF_2$, $-OCF_3$, $-OCH_2CF_3$, $-OCH_2CHF_2$, $-OCH_2CH_2F$ or $-OCH(CH_2F)_2$.

5. A compound as claimed in Claim 4 wherein R^2 represents $-OCHF_2$, $-OCH_2CHF_2$ or $-OCH_2CH_2F$.

6. A compound as claimed in any one of the preceding claims wherein R^3 represents a structural fragment of formula I(i).

7. A compound as claimed in Claim 6 wherein R^4 represents H.

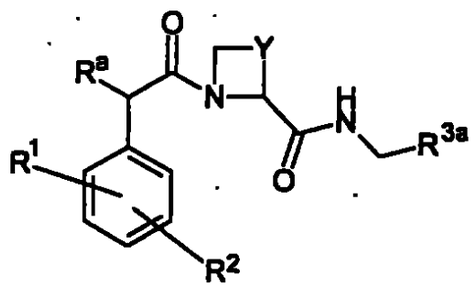
8. A compound as claimed in Claim 6 wherein, when R^4 represents one or more fluoro substituents, it represents a single fluoro substituent in the 2- or the 3-position, or two fluoro substituents in either the 2- and 5- positions or the 2- and 6-positions.

9. A compound as claimed in Claim 8 wherein R^4 represents a single fluoro substituent in the 2-position or two fluoro substituents in the 2- and 6-positions.

10. A compound as claimed in any one of the preceding claims wherein R^5 represents OH.

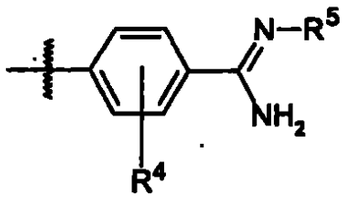
11. A compound as claimed in any one of the preceding claims wherein the points of substitution of R^1 and R^2 on the relevant phenyl group of the compound of formula I is one or both of the two *meta*-positions, relative to the point of attachment of that phenyl group to the rest of the molecule.

12. A pharmaceutically acceptable derivative of a compound of formula I as defined in any one of Claims 1 to 11, which derivative compound is a compound of formula Ia,

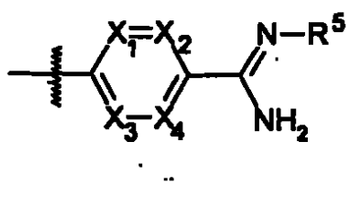


Ia

wherein R^{3a} represents a structural fragment of formula I(iii) or I(iv):



I(iii)



I(iv)

wherein R^5 represents OR^6 or $C(O)OR^7$;

R^6 represents H, C_{1-10} alkyl, C_{1-3} alkylaryl or C_{1-3} alkyloxyaryl (the alkyl parts of which latter two groups are optionally interrupted by one or more oxygen atoms, and the aryl parts of which latter two groups are optionally substituted by one or more substituents selected from halo, phenyl, methyl

or methoxy, which latter three groups are also optionally substituted by one or more halo substituents);

R^7 represents C_{1-10} alkyl (which latter group is optionally interrupted by one or more oxygen atoms), or C_{1-3} alkylaryl or C_{1-3} alkyloxyaryl (the alkyl parts of which latter two groups are optionally interrupted by one or more oxygen atoms, and the aryl parts of which latter two groups are optionally substituted by one or more substituents selected from halo, phenyl, methyl or methoxy, which latter three groups are also optionally substituted by one or more halo substituents); and

R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as defined in any one of Claims 1 to 11 (as appropriate),

or a pharmaceutically-acceptable derivative thereof.

13. A compound as claimed in Claim 12 wherein R^5 represents OR^6.

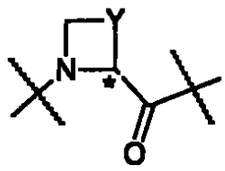
14. A compound as claimed in Claim 13 wherein R^6 represents H or unsubstituted, linear, branched or cyclic C_{1-8} alkyl.

15. A compound as claimed in Claim 14 wherein R^6 represents H or C_{1-6} alkyl.

16. A compound as claimed in Claim 14 wherein R^6 represents linear C_{1-3} alkyl, branched C_{3-8} alkyl or cyclic C_{4-7} alkyl.

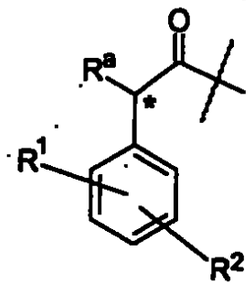
17. A compound as claimed in Claim 15 or Claim 16 wherein R^6 represents methyl, ethyl, *n*-propyl, *i*-propyl or cyclobutyl.

18. A compound as claimed in any one of Claims 1 to 17, wherein the



fragment is in the *S*-configuration.

19. A compound as claimed in any one of Claims 1 to 18, wherein the fragment



is in the *R*-configuration when R^a represents -OH or is in the *S*-configuration when R^a represents $-CH_2OH$.

20. A compound as claimed in Claim 1 which is:

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-CO-Aze-Pab;

Ph(3-OCF_3)-(*R*)CH(OH)-CO-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab;

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-pyridinyl);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pyrimidinyl);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF).

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentyl);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-(5-Me-isoxazole));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-pyridine);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Hexyl);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab($OCH_2CH_2OPh(3\text{-}CF_3)$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Cl));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(3-MeO));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(2-Br));
Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Me));
Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-4-heptyl);
Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl, 5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
Ph(3-Cl, 5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(OMe);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-methoxy-amidino)-5-pyridinyl);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-methoxy-amidino)-2-pyrimidinyl);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); or
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe).

21. A pharmaceutical formulation including a compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, in admixture with a pharmaceutically acceptable adjuvant, diluent or carrier.

22. A formulation as claimed in Claim 21, wherein the adjuvant, diluent and/or carrier gives rise to a modified release of compound.

23. A formulation as claimed in Claim 21 or Claim 22, which is adapted for oral administration.

24. A formulation as claimed in Claim 22 or Claim 23, which is in the form of a gelling matrix modified-release system comprising a hydrophilic gelling component and active ingredient.

25. A compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, for use as a pharmaceutical.

26. A compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, for use in the treatment of a condition where inhibition of thrombin is required.

27. A compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, for use in the treatment of a condition where anticoagulant therapy is indicated.

28. A compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, for use in the treatment of thrombosis.

29. A compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, for use as an anticoagulant.

30. The use of a compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, as an active ingredient for the manufacture of a medicament for the treatment of a condition where inhibition of thrombin is required.

31. The use of a compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, as an active ingredient for

the manufacture of a medicament for the treatment of a condition where anticoagulant therapy is indicated.

32. The use as claimed in Claim 30 or Claim 31, wherein the condition is thrombosis.

33. The use as claimed in Claim 30 or Claim 31, wherein the condition is hypercoagulability in blood and/or tissues.

34. The use of a compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, as an active ingredient for the manufacture of an anticoagulant.

35. A method of treatment of a condition where inhibition of thrombin is required which method comprises administration of a therapeutically effective amount of a compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, to a person suffering from, or susceptible to, such a condition.

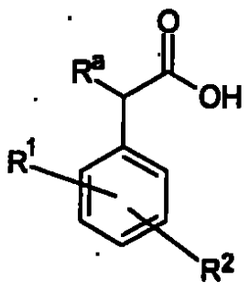
36. A method of treatment of a condition where anticoagulant therapy is indicated which method comprises administration of a therapeutically effective amount of a compound as defined in any one of Claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable derivative thereof, to a person suffering from, or susceptible to, such a condition.

37. A method as claimed in Claim 35 or Claim 36, wherein the condition is thrombosis.

38. A method as claimed in Claim 35 or Claim 36, wherein the condition is hypercoagulability in blood and/or tissues.

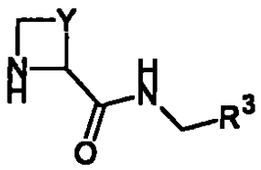
39. A process for the preparation of a compound of formula I as defined in Claim 1, which comprises:

(i) the coupling of a compound of formula II,



II

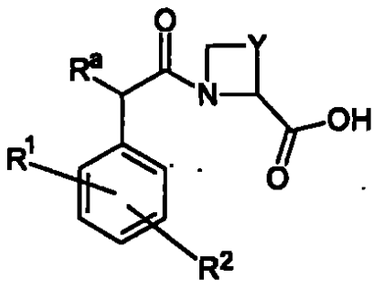
wherein R^a, R^1 and R^2 are as defined in Claim 1 with a compound of formula III,



III

wherein Y and R^3 are as defined in Claim 1;

(ii) the coupling of a compound of formula IV,



IV

wherein R^a, R^1, R^2 and Y are as defined in Claim 1 with a compound of formula V,

$$R^3CH_2NH_2 \qquad V$$

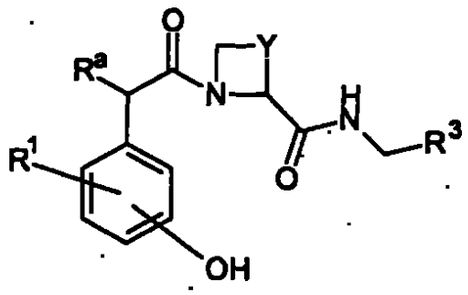
wherein R^3 is as defined in Claim 1;

(iii) for compounds of formula I in which R^1 does not represent one or more halo groups, reduction of a corresponding compound of formula Ia, as defined

in Claim 12, in which R^5 represents OR^6, wherein R^5 and R^6 are as defined in Claim 12;

(iv) reaction of a corresponding compound of formula XVIA or XVIB, as defined in Claim 47, with a source of ammonia;

(v) reaction of a compound of formula XIVA,



XIVA

wherein R^a, R^1, R^3 and Y are as defined in Claim 1 with:

(a) a corresponding fluorinated haloalkane; or

(b) for compounds of formula I in which R^2 represents $-OCH_2CF_3$, $-OCH_2CHF_2$, $-OCH_2CH_2F$ or $-OCH(CH_2F)_2$, a compound of formula XIVJ,

$$R^xS(O)_2OR^y \qquad \text{XIVJ}$$

wherein R^x represents C_{1-4} alkyl, C_{1-4} perfluoroalkyl or phenyl (optionally substituted by methyl, nitro or halo) and R^y represents $-CH_2CF_3$, $-CH_2CHF_2$, $-CH_2CH_2F$ or $-CH(CH_2F)_2$;

(vi) for compounds of formula I in which R^1 does not represent one or more halo groups, hydrogenation of a corresponding compound of formula I in which R^1 represents one or more halo groups; or

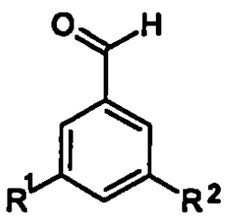
(vii) deprotection of a protected derivative of a compound as claimed in Claim 1.

40. A compound of formula II as defined in Claim 39 or a protected derivative thereof.

41. A compound as claimed in Claim 40, where the compound is in the *R*-configuration (about the carbon atom to which R^a is attached) when R^a represents –OH, or is in the *S*-configuration which R^a represents $-CH_2OH$.

42. A compound of formula IV as defined in Claim 39 or a protected derivative thereof.

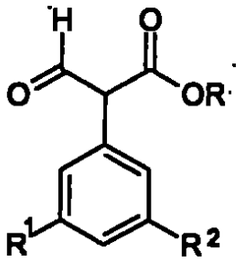
43. A compound of formula VI^a,



VI^a

wherein R^1 represents halo and R^2 is as defined in Claim 1, or a protected derivative thereof.

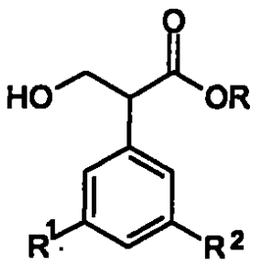
44. A compound of formula IX^a,



IX^a

wherein R represents C_{1-6} alkyl or C_{1-3} alkylphenyl, R^1 represents halo and R^2 is as defined in Claim 1, or a protected derivative thereof.

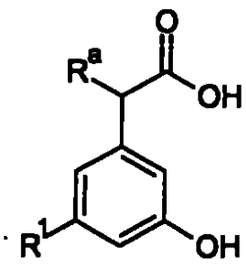
45. A compound of formula IXA^a,



IXA[a]

wherein R is as defined in Claim 44, R^1 represents halo and R^2 is as defined in Claim 1, or a protected derivative thereof.

46. A compound of formula XIVB[a],

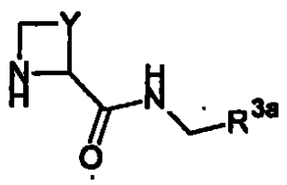


XIVB[a]

or a phenol *O*-protected derivative thereof, wherein R^1 represents halo and R^a is as defined in Claim 1.

47. A process for the preparation of a compound of formula Ia as defined in Claim 12, which comprises:

(a) reaction of a corresponding compound of formula II as defined in Claim 39 with a compound of formula XV,



XV

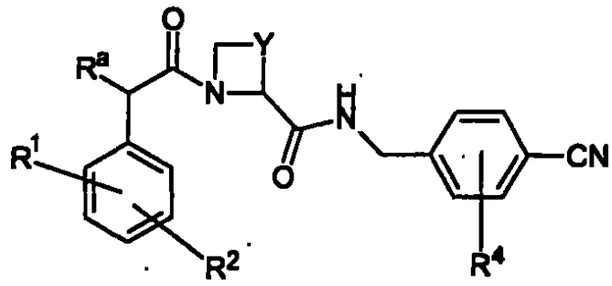
wherein Y is as defined Claim 1 and R^{3a} is as defined in Claim 12;

(b) reaction of a corresponding compound of formula IV as defined in Claim 39 with a compound of formula XVI,

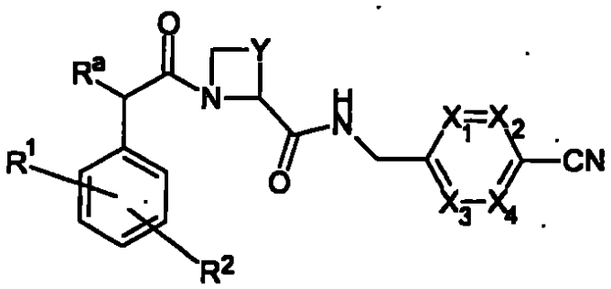
$R^{3a}CH_2NH_2$ XVI

wherein R^{3a} is as defined in Claim 12;

(c) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OH, reaction of a corresponding compound of formula XVIA or XVIB,



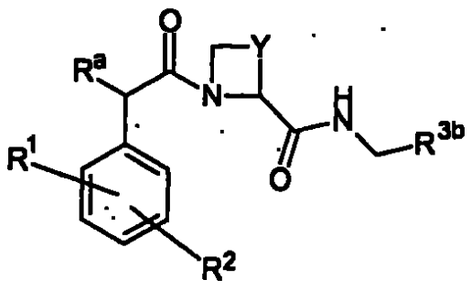
XVIA



XVIB

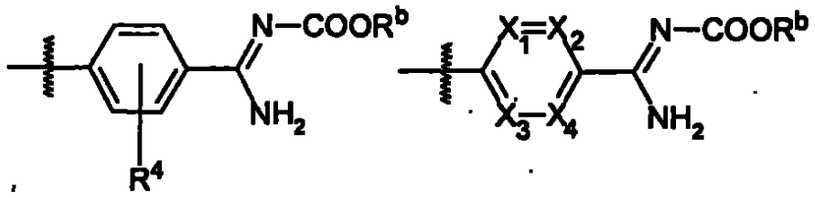
wherein R^a, R^1, R^2, R^4, Y, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as defined in Claim 1, with hydroxylamine;

(d) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OR^6, reaction of a compound of formula XVII,



XVII

wherein R^{3b} represents a structural fragment of formula I(v) or I(vi):



I(v) I(vi)

wherein R^b represents $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ or benzyl, or a tautomer thereof, and R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 and X_4 are as defined in Claim 1 with a compound of formula XVIII,

$$R^6ONH_2 \qquad \text{XVIII}$$

wherein R^6 is as defined in Claim 12, or an acid addition salt thereof, followed by removal of the $-C(O)OR^b$ group;

(e) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OH, reaction of a compound of formula XVII, as defined above, in which R^b represents benzyl with hydroxylamine, or an acid addition salt thereof;

(f) for compounds of formula Ia in which R^5 represents $COOR^7$, reaction of a corresponding compound of formula I as defined in Claim 1 with a compound of formula XIX,

$$L^1COOR^7 \qquad \text{XIX}$$

wherein L^1 represents a leaving group and R^7 is as defined in Claim 12; or

(g) for compounds of formula Ia in which R^5 represents OCH_3 or OCH_2CH_3, reaction of a corresponding compound of formula Ia in which R^5 represents OH with dimethylsulfate or diethylsulfate, respectively.

48. A compound of formula XVIA or XVIB as defined in Claim 47, or a protected derivative thereof.

49. A compound of formula XVII as defined in Claim 47, or a protected derivative thereof.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE 01/02657

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: C07D 205/04, C07D 207/10, C07D 401/12. C07D 403/12. C07C 47/575. C07C 59/52, C07C 59/64, C07C 69/734 A61K 31/397, A61K 31/401, 31/4427, 31/506. A61P 7/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: C07D, C07C, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

SE,DK,FI,NO classes as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CHEM.ABS.DATA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 0042059 A1 (ASTRAZENECA AB), 20 July 2000 (20.07.00) --	1-39,40-41, 42,43,44, 45-46,47-49
X	WO 9702284 A1 (ASTRA AKTIEBOLAG), 23 January 1997 (23.01.97) --	1-39,40-41, 42,43,44, 45-46,47-49
X	WO 9929664 A1 (ASTRA AKTIEBOLAG), 17 June 1999 (17.06.99) --	1-39,40-41, 42,43,44, 45-46,47-49

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 April 2002	26 -04- 2002
Name and mailing address of the ISA: Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86	Authorized officer Nebil Gecer/BS Telephone No. +46 8 782 25 00

Form PCT ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE 01/02657

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 9746577 A1 (ASTRA AKTIEBOLAG), 11 December 1997 (11.12.97), see particularly page 58, line 4	1-39,40-41, 42,43,44, 45-46,47-49
X	WO 9625426 A1 (BASF AKTIENGESELLSCHAFT), 22 August 1996 (22.08.96)	1-39,40-41, 42,43,44, 45-46,47-49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/SE01/02657

Box I **Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 35-38
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

see next sheet*

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II **Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see next sheet**

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

*
Claims 35-38 relate to methods of treatment of the human or animal body by surgery or by therapy/ diagnostic methods practised on the human or animal body/Rule 39.1.(iv). Nevertheless, a search has been executed for these claims. The search has been based on the alleged effects of the compounds/compositions.

**
According to PCT Rules 13.1 and 13.2, an international application shall relate to one invention only or a group of inventions linked by one or more of the same corresponding "special technical features", i.e. features that define a contribution which each of the inventions makes over the prior art.

In the present application the following inventions have been found:

Invention 1 according to claims 1-39, 40-41, 42, 45-46, 47-49:
Relates to compounds of formula (I) in claim 1 and formula (Ia) in claim 12, to methods for their preparation, and to the medical uses thereof. Furthermore, invention I relates to intermediates according to formula II in claims 40-41, formula IV in claim 42, formula IXA^a in claim 45, formula $XIVB^a$ in claim 46, formula XVIA and XVIB in claim 48, and formula XVII in claim 49. The mentioned intermediates and the final products of formulas (I) and (Ia) are linked by common, special technical features, i.e. clear and important structural elements.

Invention 2 according to claim 43:
Relates to intermediates of formula VI^a in claim 43. The intermediates of invention 2 differ structurally from both the final products and the intermediates of invention 1 as well as the intermediates of invention 3.

Invention 3 according to claim 44:
Relates to intermediates of formula IX^a in claim 44. The intermediates of invention 3 differ structurally from both the final products and the intermediates of invention 1 as well as the intermediates of invention 2.

Thus, inventions 1, 2 and 3 are not linked by any common special technical feature. Therefore, the inventions lack unity.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/SE 01/02657

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0042059 A1	20/07/00	AU 2336200 A	01/08/00
		BR 0007453 A	30/10/01
		CZ 20012529 A	14/11/01
		EE 200100371 A	15/02/02
		EP 1049438 A	08/11/00
		EP 1150996 A	07/11/01
		JP 2002500927 T	15/01/02
		NO 20013319 A	12/09/01
		SE 9900071 D	00/00/00
		SE 9904228 D	00/00/00
WO 9702284 A1	23/01/97	AU 709710 B	02/09/99
		AU 6325396 A	05/02/97
		BR 9609447 A	02/03/99
		CA 2226256 A	23/01/97
		CN 1195354 A	07/10/98
		CZ 9704212 A	17/06/98
		EE 9700354 A	15/06/98
		EP 0836615 A	22/04/98
		GB 9526411 D	00/00/00
		HU 9802315 A	28/01/99
		IL 122813 D	00/00/00
		JP 11508591 T	27/07/99
		NO 980015 A	25/02/98
		PL 324483 A	25/05/98
		SK 180497 A	04/11/98
		TR 9800009 T	00/00/00
		US 6051568 A	18/04/00
		US 6337343 B	08/01/02
		SE 9502487 D	00/00/00
		ZA 9605344 A	06/01/97
		SE 9502504 D	00/00/00
		SE 9502505 D	00/00/00
		SE 9503923 D	00/00/00
		SE 9504349 D	00/00/00
WO 9929664 A1	17/06/99	AU 1791299 A	28/06/99
		BR 9813410 A	10/10/00
		CA 2312431 A	17/06/99
		CN 1284063 T	14/02/01
		EE 200000322 A	15/08/01
		EP 1036061 A	20/09/00
		HU 0102681 A	28/12/01
		JP 2001525394 T	11/12/01
		NO 20002848 A	07/08/00
		PL 341047 A	26/03/01
		SE 9704543 D	00/00/00
		SK 6992000 A	12/02/01
		TR 200001554 T	00/00/00
		US 6337394 B	08/01/02
		US 2001046981 A	29/11/01

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
100200-1 WO		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/SE01/02657	30.11.2001	01.12.2000

International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC

C07D 205/04, 207/10, 401/12, 403/12, C07C 47/575, 59/52, 59/64, 69/734, A61K 31/397, 31/401, 31/4427, 31/506, A61P 7/02

Applicant

AstraZeneca Aktiebolag et al

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand	Date of completion of this report
12.06.2002	03.03.2003
Name and mailing address of the IPEA/SE Patent- och registreringsverket Box 5055 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. 08-667 72 88	Telex 17978 PATOREG-S	Authorized officer Nebil Gecer/BS Telephone No. 08-782 25 00

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) (January 1998)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/SE01/02657

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

☒ the international application as originally filed

☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement) under article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.
These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).

☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).

☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____

☐ the claims, Nos. _____

☐ the drawings, sheet/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2 (c)).**

* *Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).*

** *Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item I and annexed to this report.*

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/SE01/02657

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application,

☒ claims Nos. 35-38

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 35-38
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination *(specify)*:

See PCT Rule 67.1.(iv).: Methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.

☐ the description, claims or drawings *(indicate particular elements below)* or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

   ☐ restricted the claims.

   ☐ paid additional fees.

   ☐ paid additional fees under protest.

   ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

   ☐ complied with.

   ☐ not complied with for the following reasons:

According to PCT Rules 13.1 and 13.2, an international application shall relate to one invention only or a group of inventions linked by one or more of the same corresponding "special technical features", i.e. features that define a contribution which each of the inventions makes over the prior art. In the present application the following inventions have been found:

Invention 1 according to claims 1-39, 40-41, 42, 45-46, 47-49:
Relates to compounds of formula (I) in claim 1 and formula (Ia) in claim 12, to methods for their preparation, and to the medical uses thereof. Furthermore, invention I relates to intermediates according to formula II in claims 40-41, formula IV in claim 42, formula IXA[a] in claim 45, formula XIVB[a] in claim 46, formula XVIA and XVIB in claim 48, and formula XVII in claim 49. The mentioned intermediates and the end products of formulas (I) and (Ia) are linked by common, special technical features, i.e. clear and important structural elements.

Invention 2 according to claim 43:
Relates to intermediates of formula VI[a] in claim 43. The intermediates of invention 2 differ structurally from both the end products and the intermediates of invention 1 as well as the intermediates of invention 3.

.../...

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

   ☒ all parts.

   ☐ the parts relating to claims Nos. _____

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/SE01/02657

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

Invention 3 according to claim 44:
Relates to intermediates of formula IX[a] in claim 44. The intermediates of invention 3 differ structurally from both the end products and the intermediates of invention 1 as well as the intermediates of invention 2.
Thus, inventions 1, 2 and 3 are not linked by any common special technical feature. Therefore, the inventions lack unity.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/SE01/02657

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-34,39-45, 47-49	YES
	Claims	46	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-34, 39-49	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-34, 39-49	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

The following documents are cited in the international search report:

D1) WO 0042059 A1
D2) WO 9702284 A1
D3) WO 9929664 A1
D4) WO 9746577 A1
D5) WO 9625426 A1

The claimed compound according to claim 46 of the present application is known from D4 (see page 58, line 4). Therefore, claim 46 lacks both novelty and inventive step.

D1-D4 relates to thrombin inhibitors based on peptidyl derivatives.

The claimed compounds of the present application differ from the exemplified or explicitly mentioned prior art compounds of D1-D4 at least in the substitution of the phenyl-ring containing the substituents R1 and R2. Therefore, claims 1-34, 39-45 and 47-49 are novel.

However, the applicant has not shown that the structural differences render the claimed compounds any unexpected and beneficial effects in comparison with the closely related compounds of D1-D4. Therefore, claims 1-34, 39-45 and 47-49 are not considered to involve an inventive step.

D5 relates to structurally more remote thrombin inhibitors. This document only discloses the general state of the art and is not considered to be of particular relevance.

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No. 115

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference *(if desired) (12 characters maximum)* 100200-1 WO

Box No. I TITLE OF INVENTION

NEW MANDELIC ACID DERIVATIVES AND THEIR USE AS THROMBIN INHIBITORS

Box No. II APPLICANT ☐ This person is also inventor

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

AstraZeneca AB
S-151 85 Södertälje
Sweden

Telephone No. +46 8 553 260 00

Facsimile No. +46 8 553 288 20

Teleprinter No.

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality: SE

State *(that is, country)* of residence: SE

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

INGHARDT, Tord
AstraZeneca R&D Mölndal
S-431 83 Mölndal
Sweden

This person is:
☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality: SE

State *(that is, country)* of residence: SE

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as: ☒ agent ☐ common representative

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

Global Intellectual Property
AstraZeneca AB
S-151 85 Södertälje
Sweden

Telephone No. +46 8 553 260 00

Facsimile No. +46 8 553 288 20

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

☐ **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

JOHANSSON, Anders
AstraZeneca R&D Mölndal
S-431 83 Mölndal
Sweden

This person is:
- ☐ applicant only
- ☒ applicant and inventor
- ☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality: SE

State *(that is, country)* of residence: SE

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

SVENSSON, Arne
AstraZeneca R&D Mölndal
S-431 83 Mölndal
Sweden

This person is:
- ☐ applicant only
- ☒ applicant and inventor
- ☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality: SE

State *(that is, country)* of residence: SE

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

This person is:
- ☐ applicant only
- ☐ applicant and inventor
- ☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:

State *(that is, country)* of residence:

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

This person is:
- ☐ applicant only
- ☐ applicant and inventor
- ☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:

State *(that is, country)* of residence:

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

117

Box No. V DESIGNATION OF STATES *Mark the applicable check-boxes below; at least one must be marked.*

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a):

Regional Patent

☒ **AP** **ARIPO Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mozambique, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ United Republic of Tanzania, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT

☒ **EA** **Eurasian Patent:** AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT

☒ **EP** **European Patent:** AT Austria, BE Belgium, CH & LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, TR Turkey, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT

☒ **OA** **OAPI Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT *(If other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)* .....

National Patent *(If other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)*:

☒ AE United Arab Emirates	☒ GH Ghana	☒ MX Mexico
☒ AG Antigua and Barbuda	☒ GM Gambia	☒ MZ Mozambique
☒ AL Albania	☒ HR Croatia	☒ NO Norway
☒ AM Armenia	☒ HU Hungary	☒ NZ New Zealand
☒ AT Austria	☒ ID Indonesia	☒ PL Poland
☒ AU Australia	☒ IL Israel	☒ PT Portugal
☒ AZ Azerbaijan	☒ IN India	☒ RO Romania
☒ BA Bosnia and Herzegovina	☒ IS Iceland	☒ RU Russian Federation
☒ BB Barbados	☒ JP Japan	
☒ BG Bulgaria	☒ KE Kenya	☒ SD Sudan
☒ BR Brazil	☒ KG Kyrgyzstan	☒ SE Sweden
☒ BY Belarus	☒ KP Democratic People's Republic	☒ SG Singapore
☒ BZ Belize	of Korea	☒ SI Slovenia
☒ CA Canada	☒ KR Republic of Korea	☒ SK Slovakia
☒ CH & LI Switzerland and Liechtenstein	☒ KZ Kazakhstan	☒ SL Sierra Leone
☒ CN China	☒ LC Saint Lucia	☒ TJ Tajikistan
☒ CO Colombia	☒ LK Sri Lanka	☒ TM Turkmenistan
☒ CR Costa Rica	☒ LR Liberia	☒ TR Turkey
☒ CU Cuba	☒ LS Lesotho	☒ TT Trinidad and Tobago
☒ CZ Czech Republic	☒ LT Lithuania	
☒ DE Germany	☒ LU Luxembourg	☒ TZ United Republic of Tanzania
☒ DK Denmark	☒ LV Latvia	☒ UA Ukraine
☒ DM Dominica	☒ MA Morocco	☒ UG Uganda
☒ DZ Algeria	☒ MD Republic of Moldova	☒ US United States of America
☒ EC Ecuador		
☒ EE Estonia	☒ MG Madagascar	☒ UZ Uzbekistan
☒ ES Spain	☒ MK The former Yugoslav Republic of	☒ VN Viet Nam
☒ FI Finland	Macedonia	☒ YU Yugoslavia
☒ GB United Kingdom	☒ MN Mongolia	☒ ZA South Africa
☒ GD Grenada	☒ MW Malawi	☒ ZW Zimbabwe
☒ GE Georgia		

Check-boxes below reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

☒ PH Philippines	☒ ZM Zambia	☐
☒ OM Oman	☐	☐

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. *(Confirmation (including fees) must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)*

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application *(day/month/year)*	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 01.12.2000 (01 December 2000)	0004458-6	SE		
item (2) 19.03.2001 (19 March 2001)	0100965-3	SE		
item (3) 06.04.2001 (06 April 2001)	0101239-2	SE		
item (4) 30.08.2001 (30 August 2001)	0102921-4	SE		
item (5)				

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) *(only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office)* identified above as:

☐ all items ☒ item (1) ☒ item (2) ☒ item (3) ☒ item (4) ☐ item (5) ☐ other, see Supplemental Box

* *Where the earlier application is an ARIPO application, indicate at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property or one Member of the World Trade Organization for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)):* ....

.....

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) *(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used)*:

ISA / SE .....

Request to use results of earlier search; reference to that search *(if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority)*:

Date *(day/month/year)*	Number	Country *(or regional Office)*
30.08.2001	SE 00/01483	SE

Box No. VIII DECLARATIONS

The following declarations are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) *(mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration)*:		Number of declarations
☐ Box No. VIII (i)	Declaration as to the identity of the inventor :	
☒ Box No. VIII (ii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent :	1
☐ Box No. VIII (iii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application :	
☐ Box No. VIII (iv)	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America) :	
☐ Box No. VIII (v)	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty :	

119

Box No. VIII (ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII (i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to this international application,

AstraZeneca AB is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

AstraZeneca AB is entitled as employer of the inventors, INGHARDT, Tord; JOHANSSON, Anders and SVENSSON, Arne

This declaration is made for the purposes of all designations, except the designation of the United States of America.

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (ii)".

120

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains:

(a) the following number of sheets in paper form:

request (including declaration sheets)	:	6
description (excluding sequence listing part)	:	183
claims	:	15
abstract	:	1
drawings	:	
Sub-total number of sheets	:	205
sequence listing part of description *(actual number of sheets if filed in paper form, whether or not also filed in computer readable form; see (b) below)*	:	
Total number of sheets	:	205

(b) sequence listing part of description filed in computer readable form

(i) ☐ only (under Section 801(a)(i))

(ii) ☐ in addition to being filed in paper form (under Section 801(a)(ii))

Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which the sequence listing part is contained *(additional copies to be indicated under item 9(ii), in right column)*: .....

This international application is accompanied by the following item(s) *(mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item)*:

		Number of items
1. ☒ fee calculation sheet	:	1
2. ☒ original separate power of attorney	:	1
3. ☐ original general power of attorney	:	
4. ☒ copy of general power of attorney; reference number, if any: GF3502/2001	:	1
5. ☐ statement explaining lack of signature	:	
6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):	:	
7. ☐ translation of international application into *(language)*:	:	
8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material	:	
9. ☐ sequence listing in computer readable form (indicate also type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other))		
(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13*ter* only (and not as part of the international application)	:	
(ii) ☐ *(only where check-box (b)(i) or (b)(ii) is marked in left column)* additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13*ter*	:	
(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing part mentioned in left column	:	
10. ☒ other *(specify)*: ITS Report SE 00/01483	:	1

Figure of the drawings which should accompany the abstract:

Language of filing of the international application: English

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

Södertälje, 30 November 2001

Margareta Linderoth
Global Intellectual Property, AstraZeneca AB

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:	2. Drawings: ☐ received: ☐ not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ SE

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty and hereby elects all eligible States (except where otherwise indicated).

For International Preliminary Examining Authority use only	
Identification of IPEA	Date of receipt of DEMAND

Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION		Applicant's or agent's file reference 100200-1 WO
International application No. PCT/SE01/02657	International filing date *(day/month/year)* 30 November 2001 (30.11.2001)	(Earliest) Priority date *(day/month/year)* 01 December 2000 (01.12.2000)
Title of invention NEW MANDELIC ACID DERIVATIVES AND THEIR USE AS THROMBIN INHIBITORS		

Box No. II APPLICANT(S)

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*	Telephone No. +46 8 553 260 00
AstraZeneca AB S-151 85 Södertälje Sweden	Facsimile No. +46 8 553 288 20
	Teleprinter No.
	Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
SE	SE

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*
INGHARDT, Tord
AstraZeneca R&D Mölndal
S-431 83 Mölndal
Sweden

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
SE	SE

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*
JOHANSSON, Anders
AstraZeneca R&D Mölndal
S-431 83 Mölndal
Sweden

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
SE	SE

☒ Further applicants are indicated on a continuation sheet.

International application No.
PCT/SE01/02657

Continuation of Box No. II APPLICANT(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the demand.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

SVENSSON, Arne
AstraZeneca R&D Mölndal
S-431 83 Mölndal
Sweden

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:
SE	SE

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

State *(that is, country)* of nationality:	State *(that is, country)* of residence:

☐ Further applicants are indicated on another continuation sheet.

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is [X] agent [ ] common representative

and [X] has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.

[ ] is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.

[ ] is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

Global Intellectual Property
AstraZeneca AB
S-151 85 Södertälje
Sweden

Telephone No.
+46 8 553 260 00

Facsimile No.
+46 8 553 288 20

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

[ ] **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION

Statement concerning amendments:*

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:

   [X] the international application as originally filed

   the description [ ] as originally filed
   [ ] as amended under Article 34

   the claims [ ] as originally filed
   [ ] as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)
   [ ] as amended under Article 34

   the drawings [ ] as originally filed
   [ ] as amended under Article 34

2. [ ] The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.

3. [ ] The applicant wishes the start of the international preliminary examination to be postponed until the expiration of 20 months from the priority date unless the International Preliminary Examining Authority receives a copy of any amendments made under Article 19 or a notice from the applicant that he does not wish to make such amendments (Rule 69.1(d)). *(This check-box may be marked only where the time limit under Article 19 has not yet expired.)*

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: English

[X] which is the language in which the international application was filed.

[ ] which is the language of a translation furnished for the purposes of international search.

[ ] which is the language of publication of the international application.

[ ] which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination.

Box No. V ELECTION OF STATES

The applicant hereby elects all eligible States *(that is, all States which have been designated and which are bound by Chapter II of the PCT)*

excluding the following States which the applicant wishes not to elect:

124

International application No.
PCT/SE01/02657

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:			For International Preliminary Examining Authority use only: received	not received
1. translation of international application	:	sheets	☐	☐
2. amendments under Article 34	:	sheets	☐	☐
3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19	:	sheets	☐	☐
4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19	:	sheets	☐	☐
5. letter	:	sheets	☐	☐
6. other *(specify)*	:	sheets	☐	☐

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ original separate power of attorney
3. ☐ original general power of attorney
4. ☒ copy of general power of attorney; reference number, if any: GF 643/2002
5. ☐ statement explaining lack of signature
6. ☐ sequence listing in computer readable form
7. ☐ other *(specify)*:

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).

Södertälje, 11 June 2002

Christer Wahlström
Global Intellectual Property, AstraZeneca AB

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply. ☐ The applicant has been informed accordingly.

4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the period of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.

5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

100200-1P CO

125

ASSIGNMENT

The undersigned,

INGHARDT, Tord
JOHANSSON, Anders
SVENSSON, Arne

domiciled in
AstraZeneca R&D, S-431 83 Mölndal, Sweden
(same address for all inventors)

hereby state under oath to be the sole and true inventor of

NEW MANDELIC ACID DERIVATIVES AND THEIR USE AS THROMBIN INHIBITORS

We state as well that we assign, without reservations or limitation, in favor of

AstraZeneca AB

a corporation organized and existing under the laws of

Sweden

domiciled in

S-151 85 Södertälje, Sweden

all rights inherent to said invention, and that the above mentioned corporation hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent in the Republic of Colombia.

TRASPASO

abajo firmado

domiciliado en

declara bajo juramento ser único y verdadero inventor de.

Declara asimismo que cede y transfiere sin reserva ni limitación, a favor de la sociedad

organizada y existente de conformidad con la leyes de

domiciliada en

Todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada sociedad queda facultada para solicitar en su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia.

Tord Inghardt — 20030407 — Date

Anders Johansson — 20030408 — Date

Arne Svensson — 2003 04 07 — Date

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
3RD FLOOR, 16-19 GREAT TITCHFIELD STREET, LONDON W1P 7FB
TELEPHONE 020-7637 9893 • TELEFAX 020-7637 5804
E-MAIL consulco@consulco.demon.co.uk

126

El suscrito Cónsul General de Colombia en Londres, vistos los documentos presentados ante este Despacho,

CERTIFICA

Que, **J.B. HODGSON**, Notario Público de Macclesfield, Cheshire, Inglaterra, legalizó la firma del documento precedente y su firma se encuentra certificada por **J. GARBRAH**, Oficial de del Ministerio de Relacione Exteriores Británico, firma que se encuentra registrada en este Consulado General.

Que, **AstraZeneca AB**, es una Sociedad constituída, organizada y existente en Sodertalje, Suecia, y que cumple con su objeto social de acuerdo con las leyes de ese país.

Que, **DAVID ERIC GILES**, en su calidad de Representante Legal de la mencionada Sociedad, debidamente autorizado otorga el documento precedente y su firma se encuentra legalizada por **J.B. HODGSON**, Notario Público de Macclesfield, Cheshire, Inglaterra, Gran Bretaña.

El Cónsul General no asume responsabilidad por el contenido del mencionado documento.

Dado en Londres, Inglaterra, Gran Bretaña, a los quince (15) días del mes de Noviembre de dos mil (2000).

Certificación No.11 /1722
Derechos: U$ 106,00 CANCELADOS

JAIRO H. BERRIO VILLARREAL
Cónsul General

HUGO NAVARRO ALVAREZ
TRADUCTOR E. INTERPRETE OFICIAL

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

En la Notaría Cuarenta y Uno se cotejó la presente fotocopia con el documento que se ha tenido a la vista
Fecha DIC. 2 2002
NOTARIO CUARENTA Y UNO
Agustín Castillo Zárate
Santafé de Bogotá D.C., Colombia

15 DIC 2000

REPUBLICA DE COLOMBIA
Ana Felia Latorre Notaria
Cuarenta y uno (41)
Santafé de Bogotá D.C.

BRIGARD & CASTRO

SANTAFE DE BOGOTA - COLOMBIA

PODER

Yo (nosotros) ASTRAZENECA AB

Domiciliado(s) en: S-151 85, Sodertalje, SUECIA

Nombro(amos) a: **RAMIRO CASTRO DUQUE** y/o **HECTOR GOMEZ MEJIA**, de Santafé de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseñas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros intereses), con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **RAMIRO CASTRO DUQUE** y/o **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-58 Piso 9, mis (nuestros) apoderados especiales en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de de 20

Firma

Nombre
Cargo

P WER OF ATTORNEY

I (We ASTRAZENECA AB

Domicilied in: S-151 85, Sodertalje SWEDEN

Hereby appoint **RAMIRO CASTRO DUQUE** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, of Santafé de Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetable varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourses, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; penal demands, actions of indemnities for damages: claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures: and in other actions or similar proceedings.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. Likewise I (We) hereby appoint **RAMIRO CASTRO DUQUE** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciled in Carrera 7 No. 16-58, Floor 9, my (our) attorney(s) in Colombia with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Granted and signed in

this 15 NOV 2002 day

Signature

Name DAVID ERIC GILES
Title DIRECTOR IP SERVICES

DIC. 2 2002
NOTARIO NOVARO ALVAREZ
Santafé de Bogotá, D.C., Colombia

15 NOV 2002

CERTIFICAD N TARIAL (S CIEDAD)

Hoy de de
Personalmente compareció ante mí

a quien conozco, y de quien me consta que firmó el anterior documento, debidamente juramentado declaró y dijo que él es

De ASTRAZENECA AB

Sociedad legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado; que el declarante está autorizado por dicha compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y representación de la expresada compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la vista las pruebas de la existencia de la sociedad.

Estado de
con fecha

y que quien confiere el presente poder es su representante.

Notario Público (sello)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

On this 10 day of November of 2000
Personally appeared before me

DAVID ERIC GILES

to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument who being by me duly sworn did depose and say that he (she) is the

DIRECTOR IP SERVICES

of ASTRAZENECA AB

Which is legally constituted for a term not yet expired, that deponent is authorized by said Company to confer this Power of Attorney: that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purpose of company.

The undersigned Notary Public attests that he has seen the documents that prove the existence of the company.

State of SWEDEN
under date of 3RD JANUARY 2000

and that he (she) who grants the present power of attorney is its Representative.

Notary Public (Seal)

CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL

Hoy de de
compareció(eron) ante mí

a quien (es) conozco y me consta que es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del documento que antecede y quien(es) declara(n) que otorgan el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público (sello)

NOTARIAL CERTIFICATE
NATURAL PERSON

On this day of of
personally appeared before me

who is(are) known to me and who I attest executed the foregoing document and he (they) declared he (they) grant(s) the document for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public (Seal)

LEGALIZACION ANTE CONSUL C LOMBIANO ES REQUERIDA

LEGALIZATION BEFORE COLOMBIAN CONSUL IS REQUIRED

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

No. **D644894**

Date **14 November, 2000**

This document bears the signature / seal of **J B Hodgson**

HUGO [illegible]RO ALVAREZ
TRADUCTOR INTERPRETE OFICIAL
Res. 4414 Minjusticia 1989

Acting in the capacity of **Notary Public**

Signed by: J. Garbrah

FOREIGN AND COMMONWEALTH OFFICE LONDON

For Her Majesty's Principal Secretary of State
For Foreign and Commonwealth Affairs

El (la) suscrito(a) de este oficio
Se certifica que la presente fotocopia que
coincide con la fotocopia autenticada
que se ha tenido a la vista
Fecha DIC. 2 2002
NOTARIO CUARENTA
Agueda Castillo Zárate
Santafé de Bogotá D.C., Colombia

COMO NOTARIO CUARENTA Y SEIS DEL CIRCULO DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE ESTA COPIA FOTOSTATICA CONCUERDA CON ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA.
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA
15 DIC 2000
NOTARIO CUARENTA Y SEIS

REPUBLICA DE COLOMBIA
Rosa Falla Latorre
Notaria
Cuarenta y seis
(E)
Notaría Cuarenta y Seis de Bta.

130

TRADUCCION OFICIAL No. 432/2000 de las legalizaciones que se encuentran a continuación de un Poder otorgado **ASTRAZENECA AB**, una compañía domiciliada en S-151 85. Sodertalje, SUECIA al doctor **RAMIRO CASTRO y HECTOR GOMEZ**, Santafé de Bogotá, D.C., Colombia, del inglés al español, las cuales para su identificación se sella con el Sello del Traductor al mismo tiempo que la presente.-

++

ANEXOS: El Poder arriba mencionado, Certificación Notarial, Certificación por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad Para los Asuntos de la Comunidad y el Extranjero en Londres, Inglaterra, Certificación del Consulado General de Colombia en Londres, Inglaterra, Autenticación por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.-

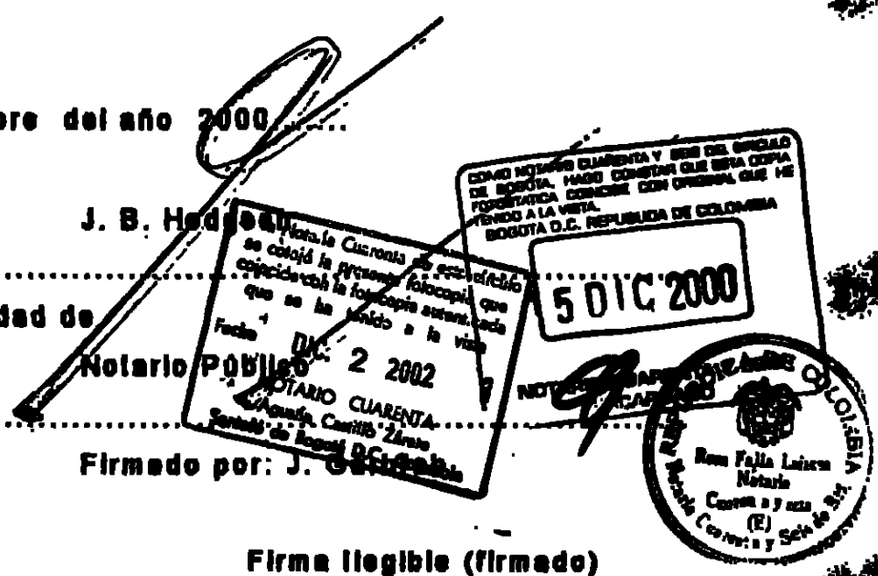
++

Firma Ilegible (Firmado)
Notario Público
SELLO NOTARIAL EN RELIEVE.

++

REINO UNIDO DE LA GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

No. D644894
Fecha...14 de Noviembre del año 2000.....
Este documento porta
la firma/sello de J. B. Hodgson
.....
actuando en la capacidad de
Notario Público
.....
Firmado por: J. Goldsmith



Firma Ilegible (firmado)

HUGO NAVARRO ALVAREZ
TRADUCTOR E. INTERPRETE OFICIAL
Res. 1478 Min-Justicia 1983

131

Por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para los Asuntos de la Comunidad y el Extranjero.

SELLO EN RELIEVE.

HAY SELLO DE LA COMUNIDAD
Y EL EXTRANJERO EN LONDRES,
INGLATERRA.

++

EN ESPAÑOL: La Certificación del Consulado General de Colombia en Londres, Inglaterra bajo el Número de Certificación 11/1722 de fecha 16 de Noviembre del año 2000; Autenticación Hasta por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el Número 481834 de fecha 29 de Noviembre del año 2000.

(Pagados Derechos por valor de $108.00 Dólares)

++

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE LOS DOCUMENTOS ADJUNTOS.

HUGO NAVARRO ALVAREZ
TRADUCTOR E. INTERPRETE OFICIAL
Res. 1876 Diciembre 1999

Resolución Número 1876 del Ministerio de Justicia
Fecha: 4 de Diciembre del año 2000.

Es la fiel Copia del documento de esta diligencia se compuso la presente fotocopia que coincide con la fotocopia autenticada que se ha tenido a la vista
Fecha DIC. 2 2000
NOTARIO CUARENTA
Agustín Codazzi Zárate
Santafé de Bogotá D.C. Colombia

COMO NOTARIO CUARENTA Y SIES DEL CIRCULO DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE ESTA COPIA FOTOSTATICA CONCUERDA CON ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA.
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
5 DIC 2000
NOTARIA CUARENTA Y SEIS
ENCARGADO

REPUBLICA DE COLOMBIA
Ana Felia Latorre
Notaria
Cuarenta y seis
(E)
Círculo de Bogotá

137

Por el Secretario de Estado Principal de
Su Majestad para los Asuntos de la
Comunidad y el Extranjero

SELLO EN RELIEVE

HAY SELLO DE LA COMUNIDAD
Y EL EXTRANJERO EN LONDRES,
INGLATERRA.

++

EN ESPAÑOL: La Certificación del Consulado General de Colombia en Londres, Inglaterra bajo el Número de Certificación 117172 de fecha 15 de Noviembre del año 2000; Autenticación Hecha por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el Número 491234 de fecha 23 de Noviembre del año 2000.

(Pagados Derechos por valor de $100.00 Dólares)

++

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE LOS DOCUMENTOS ADJUNTOS

Resolución Número 1618 del Primero (1) de
Febrero 4 de Dieciseis (16) de Diciembre del año

DOCUMENTO DE CERTIFICACIONES
DIVISION DE LEGALIZACIONES
DEC -2 2 2p

133

NUEVOS DERIVADOS DE ÁCIDO MANDÉLICO Y SU USO COMO INHIBIDORES DE TROMBINA

Campo de la Invención

Esta invención se refiere a compuestos novedosos de utilidad farmacéutica, en particular a compuestos que son, y/o compuestos que se metabolizan en compuestos que son, inhibidores competitivos de serina proteasas análogas a tripsina, especialmente trombina, su uso como medicamentos, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a rutas sintéticas para su producción.

Antecedentes

La coagulación de la sangre es un proceso clave involucrado tanto en la hemostasis (es decir, la prevención de pérdida de sangre de un vaso dañado) como en la trombosis (es decir, la formación de un coágulo en un vaso sanguíneo, lo que lleva a menudo a la obstrucción de los vasos).

La coagulación es el resultado de una serie compleja de reacciones enzimáticas. Uno de los últimos pasos en esta serie de reacciones es la conversión de la proenzima protrombina en la enzima activa trombina.

Se sabe que la trombina juega un papel central en la coagulación. Activa las plaquetas, lo que lleva a la agregación plaquetaria, convierte el fibrinógeno en monómeros de fibrina, que se polimerizan espontáneamente en polímeros de fibrina, y activa el factor XIII que, a su vez, crea enlaces cruzados en los polímeros para formar fibrina insoluble. Además, la trombina activa el factor V y el factor VIII lo que lleva a una generación de "retroalimentación positiva" de trombina a partir de protrombina.

Al inhibir la agregación de plaquetas y la formación de enlazamiento

cruzado de fibrina, se esperaría que inhibidores efectivos de trombina exhiban actividad anti-trombótica. Adicionalmente, se esperaría que la actividad anti-trombótica se aumentara por la inhibición efectiva del mecanismo de retroalimentación positiva.

Arte Previo

El primer desarrollo de inhibidores de trombina de bajo peso molecular ha sido descrito por Claesson en Blood Coagul. Fibrinol. (1994) **5**, 411.

Blombäck *y colaboradores* (en J. Clin. Lab. Invest. 24, suppl. 107, 59, (1969)) informa de inhibidores de trombina a base de la secuencia de aminoácidos situada alrededor del sitio de seccionamiento de la cadena Aα de fibrinógeno. De las secuencias de aminoácidos discutidas, estos autores sugerían que la secuencia tripeptídica Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, denominada en lo sucesivo la secuencia P3-P2-P1) sería el inhibidor más efectivo.

Inhibidores de trombina a base de derivados dipeptidilo con una α,ω-aminoalquil guanidina en la posición P1 son conocidos de la Patente No. 4,346,078 y la Solicitud de Patente Internacional WO 93/11152. También se ha informado de derivados dipeptidilo similares, estructuralmente relacionados. Por ejemplo, la Solicitud de Patente Internacional WO 94/29336 divulga compuestos con, por ejemplo, aminometil benzamidinas, aminoalquil amidinas cíclicas y aminoalquil guanidinas cíclicas en la posición P1 (Solicitud de Patente Internacional WO 97/23499 divulga profármacos de algunos de estos compuestos); la Solicitud de Patente Europea 0 648 780 divulga compuestos con, por ejemplo, aminoalquil guanidinas cíclicas en la posición P1.

Inhibidores de trombina a base de derivados peptidilo, que tienen igualmente aminoalquil guanidinas cíclicas (e.g. cualquiera de las dos 3- ó 4-aminometil-1-amidino-piperidina) en la posición P1 se conocen de las

135

Solicitudes de Patente Europeas 0 468 231, 0 559 046 y 0 641 779.

Inhibidores de trombina a base de derivados tripeptidilo con aldehído de arginina en la posición P1 se divulgaron por primera vez en la Solicitud de Patente Europea 0 185 390.

Más recientemente se ha informado de derivados peptidilo a base de aldehído de arginina, modificados en la posición P3. Por ejemplo, la Solicitud de Patente Internacional WO 93/18060 divulga hidroxiácidos, la Solicitud de Patente Europea 0 526 877 des-aminoácidos, y la Solicitud de Patente Europea 0 542 525 ácidos O-metil mandélicos en la posición P3.

También se conocen inhibidores de serina proteasas (e.g. trombina) basados en cetonas electrofílicas en la posición P1. Por ejemplo, la Solicitud de Patente Europea 0 195 212 divulga peptidil α-ceto ésteres y amidas, la Solicitud de Patente Europea 0 362 002 cetonas de fluoroalquilamida, la Solicitud de Patente Europea 0 364 344 α,β,δ-tricetocompuestos, y la Solicitud de Patente Europea 0 530 167 derivados de α-alcoxi cetona de arginina en la posición P1.

Otros inhibidores, estructuralmente diferentes, de serina proteasas, análogas a tripsina, a base de derivados de ácido bórico c-terminales de arginina y sus análogos de isotiouronio son conocidos de la Solicitud de Patente Europea 0 293 881.

Más recientemente, inhibidores de trombina a base de derivados peptidilo se han divulgado en la Solicitud de Patente Europea 0 669 317 y las Solicitudes de Patente Internacional WO 95/35309, WO 95/23609, WO 96/25426, WO 97/02284, WO 97/46577, WO 96/32110, WO 96/31504, WO 96/03374, WO 98/06740, WO 97/49404, WO 98/57932, WO 99/29664, WO 00/35869 y WO 00/42059.

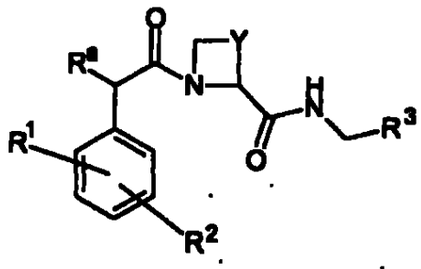
136

En particular, WO 97/02284 y WO 00/42059 divulgan inhibidores de trombina con ácidos mandélicos sustituidos en la posición P3.

No obstante, subsiste una necesidad de inhibidores efectivos de serina proteasas análogas a tripsina, tales como trombina. Existe además una necesidad de compuestos que tengan un perfil fármaco-cinético favorable y que sean selectivos en inhibir trombina sobre otras serina proteasas, en particular aquellos involucrados en hemostasis. Se esperaría que compuestos que exhiben actividad inhibidora competitiva hacia trombina fueran especialmente útiles como anticoagulantes y, por lo tanto, en el tratamiento terapéutico de trombosis y desórdenes relacionados.

Divulgación de la Invención

De acuerdo con la invención se provee un compuesto de fórmula I:



I

en donde:

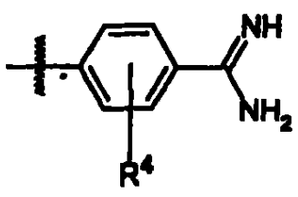
R^a representa -OH ó $-CH_2OH$;

R^1 representa por lo menos un sustituyente halo;

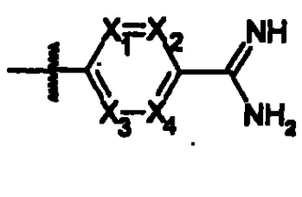
R^2 representa uno o dos sustituyentes C_{1-3} alcoxi, las partes alquilo de cuyos sustituyentes se sustituyen ellas mismas con uno o más sustituyentes fluoro (es decir, R^2 representa uno o dos grupos fluoroalcoxi(C_{1-3});

Y representa $-CH_2-$ ó $-(CH_2)_2-$; y

R^3 representa un fragmento estructural de fórmula I(i) ó I(ii):



I(i)



I(ii)

en donde:

R^4 representa H ó uno o más sustituyente fluoro; y

uno o dos de X_1, X_2, X_3 y X_4 representan -N- y los otros representan -CH-,

o su derivado de aceptación farmacéutica.

El término "derivados de aceptación farmacéutica" incluye sales de aceptación farmacéutica (e.g. sales de adición ácidas).

Las abreviaturas se relacionan al final de esta especificación. Las líneas onduladas sobre los enlaces en los fragmentos de fórmulas I(i) y I(ii) significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

Grupos halo que R^1 puede representar incluyen, fluoro, cloro, bromo y yodo. Para evitar dudas, al representar por lo menos un grupo halo opcional, R^1 puede no estar presente (y, en consecuencia, ser reemplazado por H, de modo que las reglas de valencia están adheridas) o puede representar uno o más átomos halo.

Cuando R^3 representa un fragmento estructural de fórmula I(i) en la cual R^4 representa uno o más sustituyentes fluoro, compuestos preferidos de fórmula I incluyen aquellos en los cuales R^4 representa un sustituyente fluoro único en la posición 2 ó 3, o dos sustituyentes fluoro en cualquiera de las dos posiciones 2 y 5 o, más preferiblemente, las posiciones 2 y 6 (en donde las posiciones de sustituyentes se determinan en relación con el punto de unión del fragmento estructural de fórmula I(i) al resto de la molécula (es decir, al grupo $-NHCH_2-$)).

Cuando R3 representa un fragmento estructural de fórmula I(ii), compuestos preferidos de fórmula I incluyen aquellos en los cuales:

(a) uno de X_1, X_2, X_3 y X_4 representa -N- y los otros representan -CH-;

o

(b) cualquiera de los dos X_1 y X_3, o X_2 y X_4, los dos, representan -N- y

los otros dos (según lo apropiado) representan -CH-.

Compuestos preferidos de fórmula I incluyen aquellos en los cuales:
R^1 representa un sustituyente único fluoro, cloro o bromo;
R^2 representa C_{1-2} alcoxi sustituido con uno o más sustituyentes fluoro tales como $-OCHF_2$, $-OCF_3$, $-OCH_2CF_3$, $-OCH_2CHF_2$, $-OCH_2CH_2F$, o $-OCH(CH_2F)_2$;
R^3 representa un fragmento estructural de fórmula I(i);
R^4 representa H.

Compuestos más preferidos de fórmula I incluyen aquellos en los cuales:
R^a representa OH;
R^1 representa un sustituyente único cloro;
R^2 representa $-OCF_3$, preferiblemente $-OCH_2CHF_2$, o más preferiblemente $-OCHF_2$, o $-OCH_2CH_2F$.

Puntos preferidos de sustitución de R^1 y R^2 en el grupo fenilo relevante de compuestos de fórmula I incluyen las dos posiciones *meta* relativas al punto de unión de ese grupo fenilo al resto de la molécula (es decir, en la posición 3 y/o la posición 5 (preferiblemente sustitución 3,5) relativa al átomo de carbono que lleva el grupo α- o β-hidroxiácido).

Compuestos de fórmula I que pueden mencionarse incluyen aquellos en los cuales:
R^2 representa uno o dos sustituyentes C_{1-2} alcoxi, las partes alquilo de cuyos sustituyentes se sustituyen ellas mismas por uno o más sustituyentes fluoro;
o
R^2 representa uno o dos sustituyentes C_3 alcoxi, las partes alquilo de cuyos sustituyentes se sustituyen ellas mismas con uno o más sustituyentes fluoro.

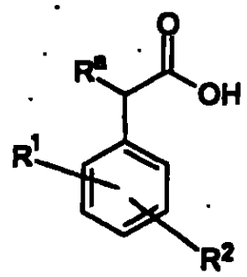
Compuestos de fórmula I pueden elaborarse de acuerdo con técnicas bien conocidas por personas expertas en el arte, por ejemplo como se describe

139

más adelante.

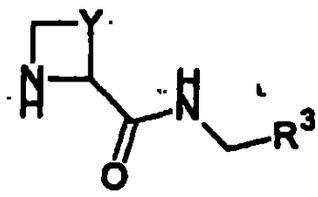
De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se provee un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I, que comprende:

(i) el acoplamiento de un compuesto de fórmula II,



II

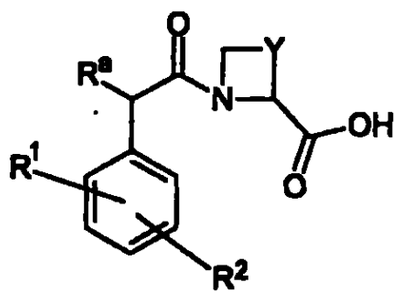
en donde R^a, R^1 y R^2 son como se definen en los sucesivo con un compuesto de fórmula III,



III

en donde Y y R^3 son como se definen más arriba en el texto, por ejemplo en presencia de un agente de acoplamiento (e.g. cloruro de oxalilo en DMF, EDC, DCC, HBTU, HATU, PyBOP o TBTU), una base apropiada (e.g. piridina, DMAP, TEA, 2,4,6-colidina o DIPEA) y un solvente orgánico apropiado (e.g. diclorometano, acetonitrilo, EtOAc o DMF);

(ii) el acoplamiento de un compuesto de fórmula IV,



IV

en donde R^a, R^1, R^2 y Y son como se define más arriba en el texto con un compuesto de fórmula V,

$$R^3CH_2NH_2 \qquad V$$

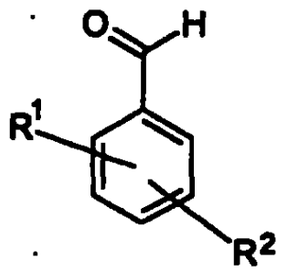
en donde R^3 es como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones como se describe en el proceso (i) de arriba;

(iii) para compuestos de fórmula I en la cual R^1 no está presente, reducción de un compuesto correspondiente de fórmula Ia, como se define más adelante, en la cual R^5 representa OR^6, en donde R^5 y R^6 son como se definen más adelante, por ejemplo mediante hidrogenación en presencia de un catalizador adecuado (e.g. un catalizador con soporte de metal tal como Pd/C (e.g. 10% (p/p) Pd/C)) y un solvente apropiado (e.g. un alcohol de alquilo (e.g. C_{1-6}) inferior tal como etanol), y opcionalmente en presencia de un ácido adecuado (e.g. ácido acético) y/o como se describe en *Synth. Comm.* (1998) 4351; o

(iv) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XVIA o XVIB, como se define más adelante, con una fuente adecuada de amoníaco (e.g. acetato de amonio o gas de amoníaco) bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte, tal como mediante reacción de un intermedio etilimidoato (formado por reacción de un compuesto de fórmula XVIA o XVIB con HCl (g) en etanol) con gas de amoníaco en etanol, o bajo aquellas condiciones descritas en *Tetrahedron Lett.* 40, 7067 (1999), las divulgaciones de cuyo documento se incorporan aquí por referencia (por ejemplo, para preparación de compuestos de fórmula I en los cuales R^3 representa un fragmento estructural de fórmula I(ii) en la cual X_2 o X_4 representa N, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XVIB con acetato de amonio (e.g. 1 a 30 equivalentes de *N*-acetil cisteína) y un solvente apropiado (e.g. un alcohol de alquilo (e.g. C_{1-6}) inferior tal como metanol)).

Compuestos de fórmula II se obtienen usando técnicas conocidas y/o estándar.

Por ejemplo, compuestos de fórmula II en la cual R^a representa OH pueden prepararse por reacción de un aldehído de fórmula VI,



VI

en donde R^1 y R^2 son como se define más arriba en el texto con:

(a) un compuesto de fórmula VII,

R"CN VII

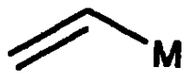
en donde R" representa H o $(CH_3)_3Si$, por ejemplo a temperatura ambiente, o elevada (e.g. por debajo de 100°C) en presencia de un solvente orgánico adecuado (e.g. cloroformo o cloruro de metileno) y, si es necesario, en presencia de una base apropiada (e.g. TEA) y/o un sistema catalizador apropiado (e.g. cloruro de bencilamonio o yoduro de zinc, o usando un catalizador quiral, por ejemplo como se describe en *Chem. Rev.*, (1999) **99**, 3649), seguido por hidrólisis bajo condiciones que son bien conocidas por las personas expertas en el arte (e.g. como se describe más adelante);

(b) NaCN o KCN, por ejemplo en presencia de $NaHSO_3$ y agua, seguido por hidrólisis;

(c) cloroformo, por ejemplo a temperatura elevada (e.g. por encima de la temperatura ambiente pero por debajo de 100°C) en presencia de un

solvente orgánico adecuado (e.g. cloroformo) y, si es necesario, en presencia de un sistema catalizador apropiado (e.g. cloruro de bencilamonio) seguido por hidrólisis;

(d) un compuesto de fórmula VIII,

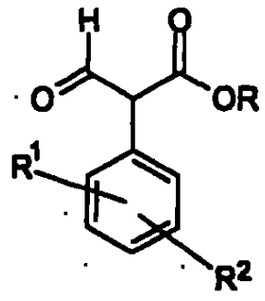


VIII

en donde M representa Mg o Li, seguido por seccionamiento oxidativo (e.g. ozonólisis o catalizado por osmio o rutenio) bajo condiciones que son bien conocidas por personas expertas en el arte, o

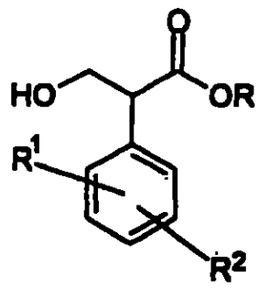
(e) tris(metilito)metano bajo condiciones que son bien conocidas por personas expertas en el arte, seguido por hidrólisis en presencia de e.g. HgO y HBF_4.

Compuestos de fórmula II en la cual R^a representa $-CH_2OH$ pueden prepararse por reducción de un compuesto de fórmula IX,



IX

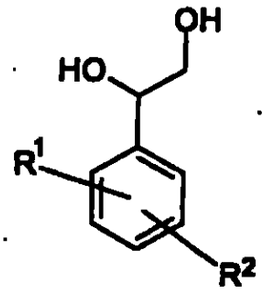
en donde R representa C_{1-6} alquilo o C_{1-3} alquilfenilo y R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto, por ejemplo a temperatura ambiente o por debajo de ella en presencia de un agente reductor adecuado (e.g. borohidruro de sodio) y un solvente orgánico apropiado (e.g. metanol, etanol, THF o sus mezclas), seguido por hidrólisis del intermedio éster de ácido trópico resultante de fórmula IXA,



IXA

en donde R, R^1, y R^2 son como se define más arriba en el texto, bajo condiciones bien conocidas por las personas expertas en el arte, por ejemplo como se describe más adelante. La persona experta apreciará que los pasos de reducción e hidrólisis pueden llevarse a cabo como un procedimiento autónomo de un solo paso, por ejemplo como se describe más adelante.

Compuestos de fórmula II en la cual R^a representa -OH pueden prepararse alternativamente por oxidación de un compuesto de fórmula IXB,



IXB

o su derivado que se protege opcionalmente en el grupo hidroxilo secundario, en donde R^1 y R^2 son como se define más arriba en el texto, en presencia de un agente oxidante adecuado (e.g. una combinación de un oxidante de radical libre apropiado (tal como TEMPO) y una sal de hipoclorito adecuada (tal como hipoclorito de sodio)) bajo condiciones conocidas por aquellas personas expertas en el arte, por ejemplo a entre -10°C y temperatura ambiente, en presencia de un solvente adecuado (e.g. agua, acetona o una mezcla de ambas), una sal apropiada (e.g. halogenuro de metal alcalino tal como bromuro de potasio) y una base idónea (e.g. carbonato de metal alcalino o carbonato de hidrogenado tal como carbonato hidrogenado de sodio).

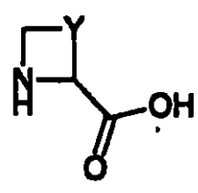
Las formas enantioméricas del compuesto de fórmula II en la cual R^a

representa -OH (es decir, aquellos compuestos que poseen diferentes configuraciones de sustituyentes alrededor de átomo C α- al grupo CO_2H) pueden separarse por un paso de derivación enantioespecífica. Esto puede lograrse, por ejemplo mediante un proceso enzimático. Dichos procesos enzimáticos incluyen, por ejemplo transesterificación del grupo α-OH a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo (e.g. a entre 45 y 65°C) en presencia de una enzima adecuada (e.g. Lipasa PS Amano), un éster apropiado (e.g. acetato de vinilo) y un solvente adecuado (e.g. éter metil *tert*-butílico). El isómero derivado puede separarse entonces del isómero sin reaccionar mediante técnicas de separación convencionales (e.g. cromatografía).

Grupos agregados a compuestos de fórmula II en dicho paso de derivación pueden retirarse bien sea antes de cualesquiera reacciones adicionales o bien sea en cualquier etapa posterior en la síntesis de compuestos de fórmula I. Los grupos adicionales pueden retirarse usando técnicas convencionales (e.g. para ésteres del grupo α-OH, hidrólisis bajo condiciones conocidas por las personas expertas en el arte (e.g. a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo en presencia de una base adecuada (e.g. NaOH) y un solvente apropiado (e.g. MeOH, agua o sus mezclas))).

Las formas enantioméricas del compuesto de fórmula II en la cual R^a representa $-CH_2OH$ pueden separarse mediante técnicas cromatográficas quirales (e.g. HPLC quiral).

Compuestos de fórmula III pueden prepararse acoplando un compuesto de fórmula X,



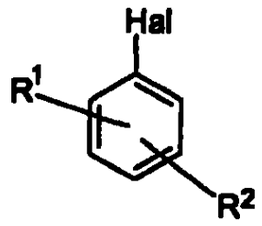
X

en donde Y es como se define más arriba en el texto, a un compuesto de fórmula V, como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas aquí para la preparación de compuestos de fórmula I.

Compuestos de fórmula IV pueden prepararse acoplando un compuesto de fórmula II, como se define más arriba en el texto, a un compuesto de fórmula X como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas aquí para la preparación de compuestos de fórmula I.

Compuestos de fórmula VI se obtienen usando técnicas conocidas y/o estándar. Por ejemplo, pueden prepararse mediante:

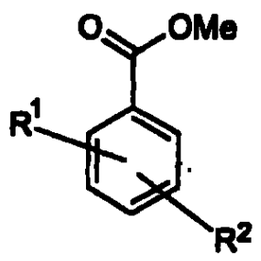
(i) metalación (en donde el metal puede ser, por ejemplo, un metal alcalino tal como Li o, preferiblemente, un metal divalente tal como Mg) de un compuesto de fórmula XI,



XI

en donde Hal representa un átomo de halógeno seleccionado de Cl, Br e I y R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto, seguida por la reacción con una fuente apropiada del grupo formilo (tal como *N,N*-dimetilformamida), por ejemplo bajo condiciones descritas más adelante;

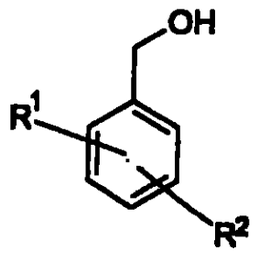
(ii) reducción de un compuesto de fórmula XII,



XII

en donde R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto en presencia de un agente reductor adecuado (e.g. DIBAL-H); o

(iii) oxidación de un compuesto de fórmula XIII,

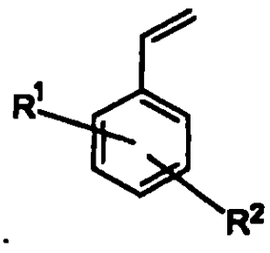


XIII

en donde R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto en presencia de un agente oxidante apropiado (e.g. MnO_2, clorocromato de piridinio, una combinación de DMSO y cloruro de oxalilo, o SO_3 complejo de piridina en DMSO).

Compuestos de fórmula IX pueden prepararse a partir del fenilacetato correspondiente (que puede, por ejemplo, obtenerse de la acetofenona correspondiente, como se describe en *J. Am. Chem. Soc.* 98, 6750 (1976) o del cianuro de bencilo correspondiente por procedimientos hidrolíticos estándar) mediante técnicas convencionales, por ejemplo análogamente a aquellas técnicas descritas en *J. Org. Chem.* 54, 3831 (1989) y/o como se describe más adelante.

Compuestos de fórmula IXB pueden prepararse mediante deshidroxilación de un compuesto correspondiente de fórmula XIIIA



XIIIA

en donde R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto, en presencia de un agente deshidroxilante adecuado (e.g. un reactivo o mezcla de reactivos que porporcione OsO_4, tal como AD-mix-α o, particularmente,

AD-mix-β), por ejemplo bajo condiciones conocidas por aquellas personas expertas en el arte, tal como entre -10°C y temperatura ambiente en presencia de un solvente apropiado (e.g agua, *tert*-butanol o su mezcla). Cuando se emplean oxidantes asimétricos tales como AD-mix-α ó AD-mix-β, este método puede usarse para preparar compuestos de fórmula IXB que tienen configuraciones específicas de grupos (es decir, *R* o *S*) alrededor de los dos átomos C a los cuales se unen los grupos hidroxilo primarios y secundarios.

Compuestos de fórmula XIIIA pueden prepararse por reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XI, como se define más arriba en el texto, con una fuente adecuada de anión de vinilo (e.g. tributil(vinil)tina) bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte, por ejemplo a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo (e.g. 50°C) en presencia de un solvente apropiado (e.g. tolueno), un agente acoplante adecuado (e.g. un complejo de coordinación de palladio(0) tal como tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)) y opcionalmente en presencia de un catalizador apropiado (e.g. 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol).

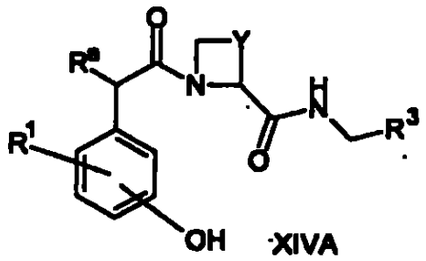
Compuestos de fórmulas V, VII, VIII, X, XI, XII y XIII se consiguen en el comercio, se conocen en la literatura, o pueden obtenerse por analogía con los procesos descritos aquí, o por procesos sintéticos convencionales, de acuerdo con técnicas estándar, a partir de productos iniciales de fácil obtención usando reactivos y condiciones de reacción apropiados. Compuestos de fórmulas Ia, XVIA y XVIB pueden obtenerse por procesos descritos más adelante.

Sustituyentes en el anillo fenilo en compuestos de fórmulas I, II, III, IV, V, VI, IX, IXA, IXB, XI, XII, XIII y XIIIA pueden introducirse y/o interconvertirse usando técnicas bien conocidas por aquellas personas expertas en el arte mediante interconversiones de grupos funcionales estándar, a partir de materiales iniciales de fácil obtención usando reactivos

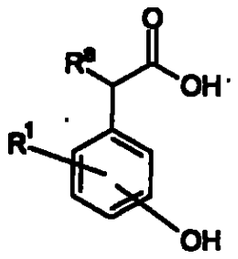
148

y condiciones de reacción apropiados.

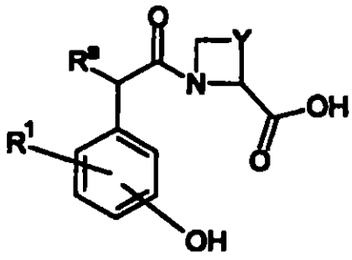
Por ejemplo, compuestos de fórmulas I, II, IV, VI, IXA, XI, XII y XIII pueden prepararse de compuestos correspondientes de fórmulas XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG y XIVH, respectivamente,



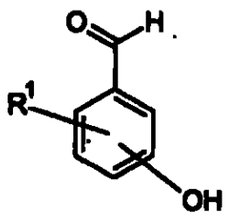
XIVA



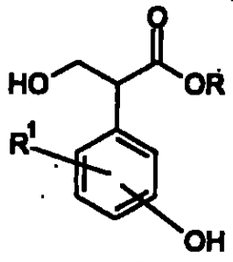
XIVB



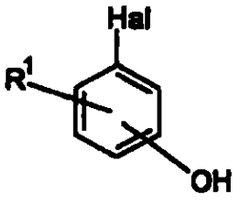
XIVC



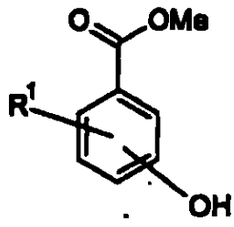
XIVD



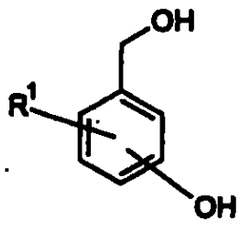
XIVE



XIVF



XIVG



XIVH

en donde R^a, R, R^1, R^3, Y y Hal (según sea apropiado) son como se definen más arriba en el texto, por ejemplo:

(a) mediante reacción con un haloalcano fluorinado correspondiente (e.g. un cloroalcano correspondiente), e.g. a temperatura ambiente o por encima de ella (e.g. a reflujo) en presencia de una base apropiada (e.g. *tert*-butóxido de potasio, KOH o NaOH, por ejemplo en solución acuosa) y un solvente orgánico adecuado (e.g. THF, cloroformo o *i*-propanol); o

(b) mediante reacción con un compuesto de fórmula XIVJ,

$$R^xS(O)_2OR^y \qquad \text{XIVJ}$$

en donde R^x representa C_{1-4} alquilo, C_{1-4} perfluoroalquilo o fenilo (opcionalmente sustituido por metilo, nitro o halo) y R^y es CH_2CF_3, CH_2CHF_2, CH_2CH_2F, o $CH(CH_2F)_2$, por ejemplo en presencia de una base adecuada (e.g. K_2CO_3) y un solvente apropiado (e.g. DMF),

por ejemplo, en los dos casos, como se describe más adelante.

La persona experta apreciará que estas transformaciones de grupos funcionales pueden también llevarse a cabo en una primera fase en la síntesis general de compuestos de fórmulas II, IV, VI, IXA, XI, XII y XIII (es decir, en precursores apropiados de compuestos de fórmulas XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG y XIVH, respectivamente.

Compuestos de fórmulas XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG, XIVH y XIVJ se consiguen en el comercio, se conocen en la literatura, o pueden obtenerse por analogía con los procesos descritos aquí, o por procedimientos sintéticos convencionales, de acuerdo con técnicas estándar, a partir de materiales iniciales de fácil obtención usando reactivos y condiciones de reacción apropiados. Por ejemplo, compuestos de fórmulas XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG y XIVH pueden obtenerse por desprotección de los correspondientes fenoles protegidos (donde el grupo protector puede ser, por ejemplo, metilo, alilo, bencilo o *tert*-butilo) bajo condiciones estándar. Además, compuestos de fórmula XIVD en la cual R^1 es un sustituyente cloro único pueden obtenerse a partir de un benceno di- o tri-halo sustituido (e.g. 1-Br, 3-Cl, 5-F-benceno, mediante sustitución del átomo de fluór con un grupo metoxi (e.g. mediante reacción con NaOMe en 1-metil-2-pirrolidinona/metanol a temperatura elevada), reemplazo del grupo bromo con un grupo formilo (e.g. como se describe más arriba en el texto para la preparación de compuestos de fórmula VI), y luego desmetilación (e.g. mediante el empleo de PhSH en 1-metil-2-pirrolidinona en presencia de K_2CO_3)).

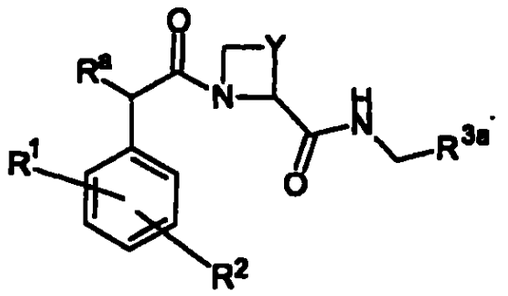
Igualmente, compuestos de fórmula I en la cual R^1 está ausente pueden

prepararse de los compuestos correspondientes de fórmula I (o *mediante* sus precursores apropiados) en la cual R^1 representa halo (tal como cloro), por ejemplo por hidrogenación bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte.

Compuestos de fórmula I pueden aislarse de sus mezclas de reacción usando técnicas convencionales.

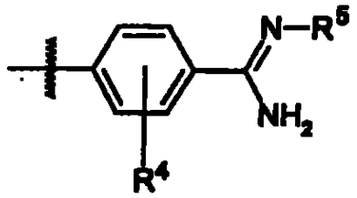
De acuerdo con la presente invención, derivados de aceptación farmacéutica de compuestos de fórmula I incluyen también derivados "protegidos", y/o compuestos que actúan como profármacos, de compuestos de fórmula I.

Compuestos que pueden actuar como profármacos de compuestos de fórmula I que pueden mencionarse incluyen compuestos de fórmula Ia,

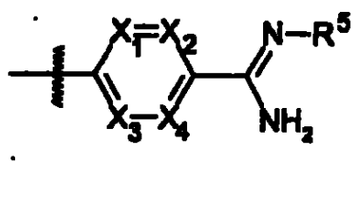


Ia

en donde R^{3a} representa un fragmento estructural de fórmula I(iii) ó I(iv):



I(iii)



I(iv)

en donde R^5 representa OR^6 ó $C(O)OR^7$;

R^6 representa H, C_{1-10} alquilo, C_{1-3} alquilarilo o C_{1-3} alquiloxiarilo (las partes alquilo de cuyos últimos dos grupos se interrumpen opcionalmente por uno o más átomos de oxígeno, y las partes arilo de cuyos últimos dos grupos se sustituyen opcionalmente por uno o más sustituyentes

seleccionados de halo, fenilo, metilo o metoxi, cuales últimos tres grupos se sustituyen asimismo opcionalmente por uno o más sustituyentes halo);
R^7 representa C_{1-10} alquilo (el cual último grupo se interrumpe opcionalmente por uno o más átomos de oxígeno), ó C_{1-3} alquilarilo ó C_{1-3} alquiloxiarilo (las partes alquilo de cuyos dos últimos grupos se interrumpen opcionalmente por uno o más átomos de oxígeno, y las partes arilo de cuyos dos últimos grupos se sustituyen opcionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados de halo, fenilo, metilo o metoxi, los cuales tres últimos grupos se sustituyen también opcionalmente por uno o más sustituyentes halo); y
R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se definen más arriba en el texto, y sus derivados de aceptación farmacéutica.

El término "derivados de aceptación farmacéutica" de compuestos de fórmula Ia incluye sales de aceptación farmacéutica (e.g. sales de adición ácidas).

Las líneas onduladas en los enlaces en los fragmentos de fórmulas I(iii) y I(iv) significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

Grupos alquiloxiarilo que R^6 y R^7 pueden representar comprenden un grupo alquilo y un grupo arilo enlazado mediante un átomo de oxígeno. Grupos alquilarilo y alquiloxiarilo se enlazan al resto de la molécula *vía* la parte alquilo de aquellos grupos, las cuales partes alquilo pueden ser de cadena ramificada (si hay un número suficiente (es decir, tres) de átomos de carbono). Las partes arilo de grupos alquilarilo y alquiloxiarilo que R^6 y R^7 pueden representar, o sustituirse por ellas, incluyen grupos aromáticos carbocíclicos y heterocíclicos, tales como fenilo, naftilo, piridinilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, indolilo y benzofuranilo y similares.

Grupos alquilo, que R^6 y R^7 pueden representar, pueden ser de cadena ramificada o, cuando hay un número suficiente (es decir, un mínimo de tres)

de átomos de carbono, ser de cadena ramificada y/o cíclicos. Además, cuando hay un número suficiente (es decir, un mínimo de cuatro) de átomos de carbono, dichos grupos alquilo pueden ser igualmente parte cíclica/acíclica. Dichos grupos alquilo pueden ser también saturados o, cuando hay un número suficiente (es decir, un mínimo de dos) de átomos de carbono, ser insaturados.

Grupos halo con los cuales R^6 y R^7 pueden sustituirse incluyen fluoro, cloro, bromo y yodo.

Cuando R^5 representa $C(O)OR^7$, grupos R^7 preferidos incluyen:

(a) C_{3-6} alquilo lineal, ramificado o cíclico, por ejemplo C_{4-6} cicloalquilo;

(b) grupos C_{1-2} alquilarilo, tales como bencilo, opcionalmente sustituidos como se indica más arriba en el texto.

Compuestos preferidos de fórmula Ia incluyen aquellos en los cuales R^5 representa OR^6.

Cuando R^5 representa OR^6, grupos R^6 preferidos incluyen:

(a) H;

(b) C_{1-8} (e.g. C_{1-6}) alquilo no sustituido, lineal, ramificado o cíclico, tal como C_{1-3} alquilo lineal (e.g. etilo o, particularmente, metilo), C_{3-8} alquilo ramificado (e.g. *i*-propilo, *i*-butilo o 4-heptilo) o C_{4-7} alquilo cíclico (es decir, C_{4-7} cicloalquilo, e.g. ciclobutilo o ciclohexilo);

(c) C_{1-3} alquiloxifenilo (e.g. C_2 alquiloxifenilo), el cual grupo fenilo se sustituye opcionalmente por uno o más sustituyentes como se indica más arriba en el texto (e.g. trifluorometilo);

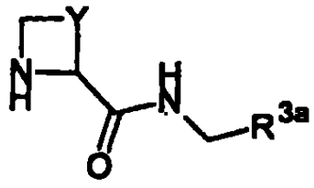
(d) C_{1-2} alquilarilo (e.g. metilarilo), en donde el grupo arilo es fenilo, piridinilo, oxazolilo o isoxazolilo, los cuales últimos tres grupos se sustituyen opcionalmente por uno o más sustituyentes como se indica más arriba en el texto (e.g. metoxi, metilo, bromo y/o cloro).

153

Compuestos preferidos de fórmula Ia incluyen aquellos en los cuales R^5 representa OR^6 y R^6 representa C_{1-6} (e.g. C_{1-4}) alquilo lineal, ramificado (según lo apropiado), o cíclico (según lo apropiado), C_{1-6} (e.g. C_{1-4}) alquilo, tal como metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo o ciclobutilo.

Compuestos de fórmula Ia pueden prepararse por uno o más de los siguientes métodos:

(a) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula II como se define más arriba en el texto con un compuesto de fórmula XV,



XV

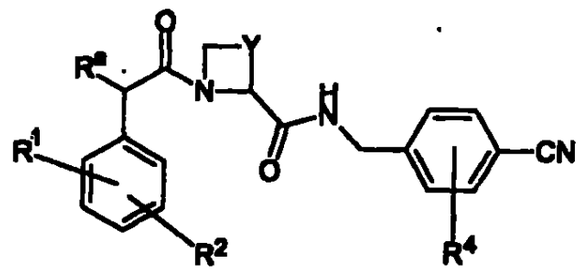
en donde Y y R^{3a} son como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I;

(b) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula IV como se define más arriba en el texto con un compuesto de fórmula XVI,

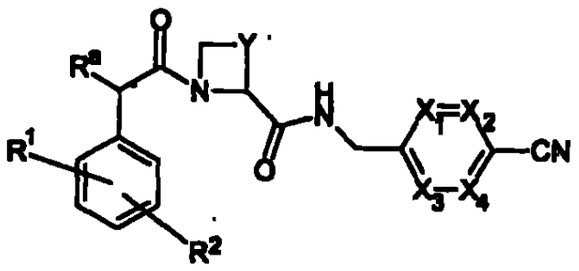
$$R^{3a}CH_2NH_2 \qquad \text{XVI}$$

en donde R^{3a} es como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I;

(c) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OH, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XVIA o XVIB,



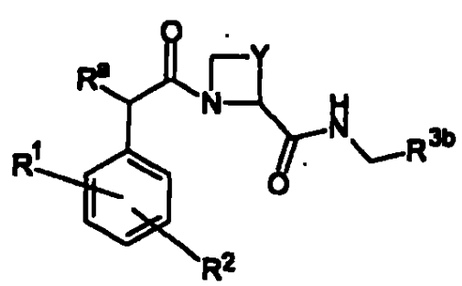
XVIA



XVIB

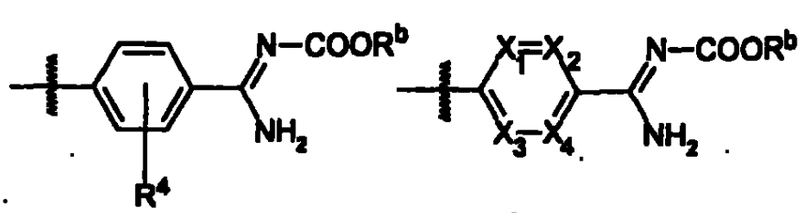
en donde R^a, R^1, R^2, R^4, Y, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se define más arriba en el texto, con hidroxilamina, por ejemplo bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte;

(d) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OR^6, reacción de un derivado protegido de un compuesto correspondiente de fórmula I que es, por ejemplo, un compuesto de fórmula XVII,



XVII

en donde R^{3b} representa un fragmento estructural de fórmula I(v) o I(vi):



I(v) I(vi)

en donde R^b representa, por ejemplo, $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ o bencilo, o su tautómero, y R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se define más

arriba en el texto con un compuesto de fórmula XVIII,

R^6ONH_2 XVIII

en donde R^6 es como se define más arriba en el texto, o su sal de adición ácida, por ejemplo a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo en presencia de un solvente orgánico apropiado (e.g. THF, CH_3CN, DMF o DMSO), seguido por retiro del grupo $-C(O)OR^b$ bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte (e.g. haciendo reaccionar con QF o TFA (e.g. como se describe más adelante));

(e) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OH, reacción de un compuesto de fórmula XVII, como se define más arriba en el texto, en la cual R^b representa bencilo con hidroxilamina, o su sal de adición ácida, por ejemplo bajo condiciones que serán bien conocidas por aquellas personas expertas en el arte;

(f) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa $COOR^7$, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula I como se define más arriba en el texto con un compuesto de fórmula XIX,

L^1COOR^7 XIX

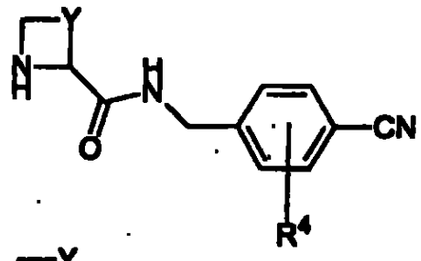
en donde L^1 representa un grupo saliente adecuado, tal como halo o nitrofenilo (e.g. 4-nitrofenilo), y R^7 es como se define más arriba en el texto, por ejemplo a o alrededor de temperatura ambiente en presencia de una base adecuada (e.g. NaOH, por ejemplo en solución acuosa) y un solvente orgánico apropiado (e.g. cloruro de metileno); o

(g) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OCH_3 o OCH_2CH_3, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula Ia en la cual R^5 representa OH con dimetilsulfato o dietilsulfatoe, respectivamente,

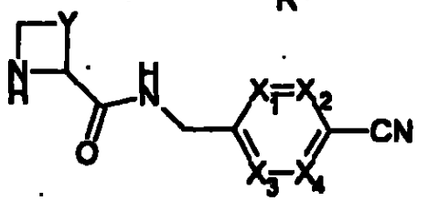
por ejemplo en presencia de una base adecuada (e.g. un hidróxido de metal alcalino tal como KOH (por ejemplo en solución acuosa a e.g. 50 % en peso)) y un catalizador apropiado (e.g. un halogenuro de amonio cuaternario tal como cloruro de benciltrimetilammono (por ejemplo en CH_2Cl_2 o solución de THF a e.g. 10 % en peso)).

Las líneas onduladas en los enlaces en los fragmentos de fórmulas I(v) y I(vi) significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

Compuestos de fórmulas XVIA y XVIB pueden prepararse mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula II, como se define más arriba en el texto, con un compuesto de fórmula XIXA o XIXB,



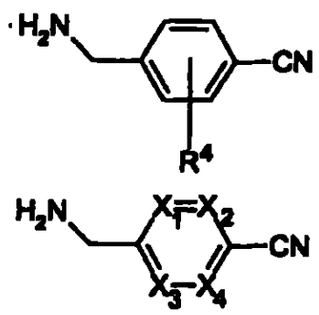
XIXA



XIXB

en donde R^4, Y, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I.

Compuestos de fórmulas XVIA y XVIB pueden prepararse alternativamente mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula IV, como se define más arriba en el texto, con un compuesto de fórmula XIXC o XIXD,

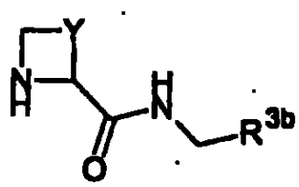


XIXC

XIXD

en donde R^4, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I.

Compuestos de fórmula XVII pueden prepararse mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula II, como se define más arriba en el texto, con un compuesto de fórmula XX,



XX

en donde Y y R^{3b} son como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I.

Alternativamente, compuestos de fórmula XVII pueden prepararse mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula I con un compuesto correspondiente a un compuesto de fórmula XIX en la cual, en lugar de R^7, está presente el grupo R^b, en la cual R^b es como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones descritas anteriormente con respecto a la preparación de compuestos de fórmula Ia.

Compuestos de fórmulas XV y XX pueden prepararse mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula X como se define más arriba en el texto con, respectivamente, un compuesto de fórmula XVI como se

define más arriba en el texto, o un compuesto de fórmula XXI,

$$R^{3b}CH_2NH_2 \qquad XXI$$

en donde R^{3b} es como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I.

Compuestos de fórmula XVI, XVIII, XIX, XIXA, XIXB, XIXC, XIXD y XXI se consiguen en el comercio, se conocen en la literatura, o pueden obtenerse por analogía con los procesos descritos aquí, o por procedimientos sintéticos convencionales, de acuerdo con técnicas estándar, de materiales base de fácil obtención usando reactivos y condiciones de reacción apropiados. Por ejemplo, compuestos de fórmulas XIXA y XIXB pueden prepararse mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XIXC o XIXD (según lo apropiado) con un compuesto de fórmula X, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto.

Compuestos de fórmulas I y Ia, como se define anteriormente, y derivados de cualquiera de las dos, se designan en lo sucesivo como "los compuestos de la invención".

Compuestos preferidos de la invención incluyen por lo tanto los compuestos de los ejemplos descritos más adelante. A este respecto, compuestos de la invención que pueden mencionarse incluyen:
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr);
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr);
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

159

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentilo);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-(5-Me-isoxazol));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-piridina);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Hexilo);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2CH_2OPh(3-CF_3));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Cl));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(3-MeO));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(2-Br));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Me));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-4-heptilo);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)- (*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

160

Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl, 5-OCH_2CHF_2)- (*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl, 5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab;

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(OMe);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-piridinilo);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-metoxiamidino)-5-piridinilo);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pirimidinilo);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-metoxiamidino)-2-pirimidinilo);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF); y

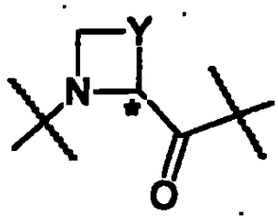
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe).

Los compuestos de la invención pueden exhibir tautomerismo. Todas las formas tautoméricas y sus mezclas se incluyen en la órbita de la invención. Formas tautoméricas particulares que pueden mencionarse incluyen aquellas conectadas con la posición del doble enlace en la funcionalidad amidina en un compuesto de fórmula Ia, y la posición del sustituyente R^5.

Compuestos de la invención contienen igualmente dos o más átomos de carbono asimétricos y pueden exhibir, en consecuencia, isomerismo óptico

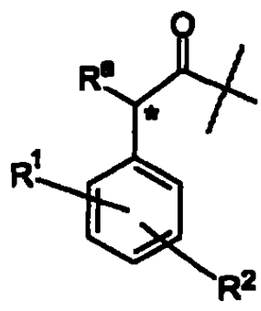
y/o diastereoisomerismo. Diastereoisómeros pueden separarse usando técnicas convencionales, e.g. cromatografía. Los diferentes estereoisómeros pueden aislarse por separación de una mezcla racémica, u otra, de los compuestos empleando técnicas convencionales, e.g. HPLC. Alternativamente, los isómeros ópticos deseados pueden elaborarse por reacción de los materiales base de acción óptica apropiados bajo condiciones que no causarán racemización o epimerización, o por derivatización, por ejemplo con un ácido homoquiral seguido por separación de los derivados diastereoméricos por medios convencionales (e.g. HPLC, cromatografía sobre sílice). Todos los estereoisómeros se encuentran incluidos en la órbita de la invención.

Se prefieren compuestos de la invención en los cuales el



fragmento se encuentra en la configuración *S*.

Compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los cuales el fragmento estructural



Se encuentra en la configuración *R* cuando R^8 representa -OH o se encuentra en la configuración *S* cuando R^8 representa $-CH_2OH$.

Las líneas onduladas en los enlaces en los dos fragmentos anteriores significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

Compuestos de la invención que pueden mencionarse incluyen Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab (en donde, en esta ocasión, Aze simboliza azetidina-2-carboxilatoe (i.e. en conformaciones (*R*)- y/o (*S*)-), así como compuestos equivalentes en los cuales, en lugar de un átomo de hidrógeno en la unidad amidino en Pab, está presente el grupo -OR^6 (como se define más arriba en el texto) en el cual R^6 representa C_{1-3} alquilo (es decir, Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr) o Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr)). Compuestos de la invención que pueden mencionarse adicionalmente incluyen aquellos que no son los compuestos específicos identificados en la frase precedente.

Se apreciará por aquellas personas expertas en el arte que en los procesos descritos anteriormente y más adelante los grupos funcionales de compuestos intermedios pueden necesitar ser protegidos por grupos protectores.

Grupos funcionales que es deseable proteger incluyen hidroxi, amino y ácido carboxílico. Grupos protectores apropiados para hidroxi incluyen grupos alquilo opcionalmente sustituidos y/o insaturados(e.g. metilo, allilo, bencilo o *tert*-butilo), grupos trialquilsililo o diarilalquilsililo (e.g. *t*-butildimetilsililo, *t*-butildifenilsililo o trimetilsililo) y tetrahidropiranilo. Grupos protectores apropiados para ácido carboxílico incluyen C_{1-6} alquilo o ésteres bencílicos. Grupos protectores apropiados para amino y amidino incluyen *t*-butiloxicarbonilo, benciloxicarbonilo o 2-trimetilsililetoxicarbonilo (Teoc). Nitrógenos amidino pueden protegerse igualmente por grupos hidroxi o alkoxi, y pueden ser o mono o desprotegidos.

La protección y desprotección de grupos funcionales puede tener lugar

antes o después del acoplamiento, o antes o después de cualquier otra reacción en los esquemas anteriormente mencionados.

Grupos protectores pueden retirarse de acuerdo con técnicas que son bien conocidas por aquellas personas expertas en el arte y como se describe más adelante.

Personas expertas en el arte apreciarán que, con el fin de obtener compuestos de la invención en una forma alternativa, y, en algunas ocasiones, más conveniente, los pasos del proceso individual mencionados más arriba en el texto pueden realizarse en un orden diferente, y/o las reacciones individuales pueden efectuarse en una etapa diferente en la ruta general (es decir, pueden agregarse sustituyentes a y/o realizarse transformaciones químicas sobre, diferentes intermedios a los mencionados más arriba en el texto en conjunción con una reacción particular). Esto puede negar, o hacer indispensable, la necesidad de grupos protectores.

El tipo de química involucrado dictará la necesidad, y tipo, de grupos protectores así como la secuencia para realizar la síntesis.

El uso de grupos protectores se describe completamente en "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por J W F McOmie, Plenum Press (1973), y "Protective Groups in Organic Synthesis", 3ª edición, T.W. Greene & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1999).

Derivados protegidos de compuestos de la invención pueden convertirse químicamente en compuestos de la invención usando técnicas estándar de desprotección (e.g. hidrogenación). La persona experta apreciará además que ciertos compuestos de fórmula Ia pueden designarse igualmente como siendo "derivados protegidos" de compuestos de fórmula I.

169

Uso médico y farmacéutico

Compuestos de la invención pueden poseer actividad farmacológica como tal. Compuestos de la invención que pueden poseer dicha actividad incluyen, pero no se limitan a, compuestos de fórmula I.

No obstante, otros compuestos de la invención (incluyendo compuestos de fórmula Ia) pueden no poseer dicha actividad, pero pueden administrarse parenteral u oralmente, y pueden metabolizarse posteriormente en el organismo para formar compuestos que son farmacológicamente activos (incluyendo, pero no limitados a, compuestos correspondientes de fórmula I). Dichos compuestos (lo cual incluye asimismo compuestos que pueden poseer alguna actividad farmacológica, pero esa actividad es apreciablemente inferior que la de los compuestos "activos" en los cuales se metabolizan), pueden describirse en consecuencia como "profármacos" de los compuestos activos.

Así, los compuestos de la invención son útiles porque poseen actividad farmacológica, y/o se metabolizan en el organismo luego de la administración oral o parenteral para formar compuestos que poseen actividad farmacológica. Los compuestos de la invención se indican por lo tanto como farmacéuticos.

De acuerdo con un aspecto más la invención se proveen en consecuencia los compuestos de la invención para uso como farmacéuticos.

En particular, compuestos de la invención son potentes inhibidores de trombina bien como tales y/o (e.g. en el caso de profármacos), se metabolizan después de la administración para formar potentes inhibidores de trombina, por ejemplo como puede demostrarse en las pruebas descritas más adelante.

Por "profármaco un inhibidor de trombina", incluimos compuestos que forman un inhibidor de trombina, en una cantidad experimentalmente detectable, y en un tiempo predeterminado (e.g. aproximadamente 1 hora), luego de la administración oral o parenteral administration (véase, por ejemplo. Prueba E más adelante) o, alternativamente, luego de la incubación en presencia de microsomas del hígado (véase, por ejemplo, Prueba G más adelante).

En consecuencia se espera que los compuestos de la invención sean útiles en aquellas condiciones en donde se requiere la inhibición de trombina, y/o condiciones en donde se indica terapia anticoagulante, incluyendo lo siguiente:

El tratamiento y/o profilaxis de trombosis e hipercoagulabilidad en la sangre y/o tejidos de animales incluyendo al hombre. Se sabe que la hipercoagulabilidad puede conducir a enfermedades trombo-embólicas. Condiciones asociadas con hipercoagulabilidad y enfermedades trombo-embólicas que pueden mencionarse incluyen resistencia adquirida o hereditaria activada por la proteína C, tal como la mutación de factor V (factor V Leiden), y deficiencias adquiridas o hereditarias en antitrombina III, proteína C, proteína S, cofactor II de heparina. Otras condiciones conocidas por estar asociadas con hipercoagulabilidad y enfermedad trombo-embólica incluyen anticuerpos antifosfolípidos en circulación (anticoagulante de Lupus), homocisteínemi, trombocitopenia inducida por heparina y defectos en fibrinólisis, así como síndromes de coagulación (e.g. coagulación diseminada diseminada (DIC)) y lesión vascular en general (e.g. debida a cirugía).

El tratamiento de condiciones donde hay un exceso indesable de trombina sin signos de hipercoagulabilidad, por ejemplo en enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer.

Estados patológicos particulares que pueden mencionarse incluyen el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de trombosis venosa (e.g. DVT) y embolismo pulmonar, trombosis arterial (e.g. en infarto del miocardio, angina inestable, infarto basado en trombosis y trombosis arterial periférica), y embolismo sistémico usualmente del atrio durante fibrilación atrial (e.g. fibrilación atrial no valvular) o del ventrículo izquierdo luego de infarto transmural del miocardio, o causado por falla cardiaca congestiva; profilaxis de re-occlusion (i.e. trombosis) luego de trombólisis, angioplastia trans-luminal percutánea (PTA) y operaciones de derivación coronaria; la prevención de re-trombosis después de microcirugía y cirugía vascular en general.

Otras indicaciones incluyen el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de coagulación intravascular diseminada causada por bacterias, trauma múltiple, intoxicación o cualquier otro mecanismo; tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con superficies extrañas en el organismo tales como injertos vasculares, stents vasculares, catéteres vasculares, válvulas protésicas mecánicas y biológicas o cualquier otro dispositivo médico; y tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con dispositivos médicos fuera del organismo tales como durante cirugía cardiovascular utilizando un máquina corazón-pulmón o en hemodiálisis; el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedad de la membrana hialina en adultos e idiopática, fibrosis pulmonar luego del tratamiento con radiación o quimioterapia, choque séptico, septicemia, respuestas inflamatorias, que incluyen, pero no se limitan a, edema, ateroesclerosis aguda o crónica tal como enfermedad arterial coronaria y la formación de placas ateroscleróticas, enfermedad arterial cerebral, infarto cerebral, trombosis cerebral, embolismo cerebral, enfermedad arterial periférica, isquemia, angina (incluyendo angina inestable), daño de repercusión, restenosis luego de angioplastia trans-luminal percutánea (PTA) y cirugía de derivación de arteria coronaria.

Compuestos de la invención que inhiben tripsina y/o trombina pueden ser igualmente útiles en el tratamiento de pancreatitis.

Los compuestos de la invención son indicados por lo tanto en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de estas condiciones.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se provee un método de tratamiento de una condición donde se requiere la inhibición de trombina, método que comprende la administración de una cantidad de efecto terapéutico de un compuesto de la invención a una persona que sufre de, o susceptible a, dicha condición.

Normalmente los compuestos de la invención se administrarán oralmente, intravenosamente, subcutáneamente, bucalmente, rectalmente, dérmicamente, nasalmente, traquealmente, bronquialmente, por cualquier otra ruta parenteral o *vía* inhalación, en la forma de preparaciones farmacéuticas que comprenda el compuesto de la invención como una base libre, o una sal de adición ácida orgánica o inorgánica, no tóxica, de aceptación farmacéutica, en una forma de dosificación de aceptación farmacéutica.

Rutas preferidas de administración de compuestos de la invención son orales. Preparaciones farmacéuticas preferidas incluyen composiciones farmacéuticas de liberación modificada que comprende compuestos de la invención. El término composición farmacéutica de "liberación modificada " se entenderá bien por la persona experta que incluye cualquier composición en la cual la iniciación y/o velocidad de liberación de fármaco (es decir, compuesto de la invención) se altera mediante manipulaciones galénicas, y, por lo tanto, incluye la definición contemplada en la *United States Pharmacopeia* (USP XXII) en las páginas xliii y xliv de la parte del prefacio/preámbulo, cuya divulgación relevante en ese documento se incorpora aquí por referencia.

Por lo tanto, formulaciones apropiadas de liberación modificada pueden prepararse por la persona experta de acuerdo con técnicas estándar en farmacia (véase, por ejemplo, *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition,* **6,** 57 (1984); *Medical Applications of Controlled Release,* **Vol II,** eds. Langer and Wise (1984) Bocaraton, Florida, en las páginas 1 a 34; *Industrial Aspects of Pharmaceuticals,* ed. Sandel, Swedish Pharmaceutical Press (1993) en las páginas 93 a 104; y páginas 191 a 211 de *"Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design",* ed. M. E. Aulton (1988) (Churchill Livingstone)).

Formulaciones preferidas de liberación modificada incluyen por lo tanto aquellas en las cuales un compuesto apropiado de la invención se incrusta en una matriz polimérica. En este aspecto, preferimos que las formulaciones que incluyen compuestos de la invención se provean para administración oral en la forma del así llamado sistema de liberación modificada con "matriz hinchable", o un sistema de liberación modificada con "matriz gelatinizante", en el cual el compuesto de la invención se provee junto con un polímero que se hincha en un medio acuoso (es decir, un "componente hidrofílico gelatinizante").

En particular preferimos que los compuestos de la invención se formulen juntos en una composición de matriz gelatinizante que comprenda iota-carragenina y uno o más polímeros gelatinizantes neutros.

Iota-carragenina se encuentra presente preferiblemente en dicha preparación preferida en un nivel de más de 15% en peso. Grados preferidos de iota-carragenina incluyen iota-carragenina de grado farmacéutico (obtenible de FMC Biopolymer), que tiene una viscosidad de no menos de 5 centipoise (cps), preferiblemente en el rango de 5-10 cps (para una solución al 1.5% calentada a 82°C, tras lo cual se mide la viscosidad a 75°C con un viscosímetro Brookfield LV equipado con un husillo #1 que gira a una

169

velocidad de 30 rpm), y iota-carragenina de grado técnico (obtenible de Fluka Biochemica), que preferiblemente tienen una viscosidad de no menos de 14 mPa.s, para una solución acuosa al 0.3 % calentada a 20°C, tras lo cual se mide la viscosidad usando un viscosímetro de bola descendente, del tipo Haake, usado junto con un termostato Lauda C3 y Hakke Mess-System III, y empleando bolas de acero inoxidable recubiertas de oro de densidad 7.8 g/cm^3.

El polímero gelatinizante neutro puede ser un polímero(s) único(s) erosionable(s) neutro(s), o una mezcla de más de uno, que tengan propiedades gelatinizantes y que posean solubilidad sustancialmente independiente del pH. El polímero gelatinizante neutro se encuentra, preferiblemente, presente en la formulación en un nivel de de más de 10% pero preferiblemente más de 20% en peso.

Polímeros gelatinizantes neutros apropiados incluyen óxido de polietileno (PEO), derivados y miembros de la familia PEO (por ejemplo, polietilen glicol (PEG), preferiblemente existentes naturalmente en estado sólido, de peso molecular adecuado o viscosidad). Si se utiliza como un polímero gelatinizante neutro único, un PEO tiene preferiblemente un peso molecular (MW) de $\geq$ 4 millones (4M), correspondiente a un rango de viscosidad de solución acuosa de 1650-5500 mPa.s (ó 1650-5500 cps; medido para una solución acuosa al 1% a 25°C, usando un viscosímetro Brookfield RVF, con un husillo No. 2, a 2 rpm). Otros ejemplos de PEOs apropiados incluyen a PEO de MW de alrededor de 5 millones (5M), correspondiente a un rango de viscosidad de solución acuosa de 5500 - 7500 mPa.s, ó un PEO de MW de alrededor de8 millones (8M), correspondiente a un rango de viscosidad de solución acuosa de 10000-15000 mPa.s. Este rango cubre el valor para una viscosidad de solución típica (en cps) medida a 25°C, citada para este polímero en la USP 24/NF 19, edición 2000, páginas 2285-2286. Si se utiliza PEG como un polímero gelatinizante neutro único, éste preferiblemente tiene un alto peso molecular, por ejemplo, un MW de

alrededor de 20000, correspondiente a un rango de viscosidad de 2700-3.500 mPa.s (ó 2700-3500 cps), medido usando una solución acuosa al 50% (p/p) a 20°C, utilizando un viscosímetro capilar (Ubbelohde o equivalente). [Ref; European Pharmacopoeia 3ª Ed., 2000, Supplement, páginas 908-909.]

Otros polímeros gelatinizantes apropiados incluyen derivados de celulosa tales como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) o hidroxietilcelulosa (HEC) con viscosidades apropiadamente elevadas (por ejemplo "HPMC 10000 cps", "HPMC 15000 cps", "HEC tipo HH" o "HEC tipo H"). Cuando se usa como un polímero neutro único, los polímeros de hidroxipropilmetilcelulosa como "HPMC 10000 cps" y "HPMC 15000 cps" tienen, respectivamente, viscosidades aparentes de 7500-14000 mPa.s (ó 7500 - 14000 cps), y 11250-21000 mPa.s (ó 11250-21000 cps), cuando se miden a 20°C con una solución acuosa al 2% (p/p), calculadas referencia a la sustancia seca, usando un viscosímetro capilar (Ubbelohde o equivalente). Un tipo de polímero de hidroxietilcelulosa, por ejemplo, "Natrosol 250 Pharma, tipo HH", de Hercules Incorporated (Aqualon), muestra típicamente una viscosidad Brookfield de aproximadamente 20,000 mPa.s usando un instrumento Brookfield Synchro-Lectric Model LVF, en las condiciones concentración de solución al 1%, husillo no. 4, velocidad del husillo 30 rpm, factor 200, 25 °C (véase Natrosol Physical and Chemical Properties booklet, 33.007-E6 (1993), página 21).

Formulaciones particulares que pueden mencionarse incluyen aquellas en las que el compuesto de la invención se formula junto con iota-carragenina y HPMC (10,000 cps) en una proporción 50:50 (% en peso), o junto con iota-carragenina y PEO 4M en una proporción 50:50 (% en peso).

Excipientes adicionales preferidos en dichas formulaciones incluyen lubricantes, tales como fumarato estearílico de sodio.

Dependiendo del desorden y el paciente a tratar y la ruta de administración, las composiciones pueden administrarse en diferentes dosis.

Los compuestos de la invención pueden combinarse asimismo y/o co-administrarse con cualquier agente(s) antitrombótico con un diferente mecanismo de acción), tal como uno o más de los siguientes: los agentes antiplaquetarios ácido acetilsalicílico, ticlopidina y clopidogrel; receptor de tromboxano y/o inhibidores de sintetasa; antagonistas de receptor de fibrinógeno; miméticos de prostaciclina; inhibidores de fosfodiesterasa; antagonistas de receptor ADP (P_2T); e inhibidores de carboxipeptidasa U (CPU).

Los compuestos de la invención pueden combinarse además y/o co-administrarse con trombolíticos tales como uno o más de activador de plasminógeno de tejido (natural, recombinante o modificado), estreptoquinasa, uroquinasa, prouroquinasa, complejo activador plasminógeno-estreptoquinasa anisolilado (APSAC), activadores de plaminógeno de glándula salival animal, y similares, en el tratamiento de enfermedades trombóticas, en particular infarto del miocardio.

De acuerdo con un aspecto más de la invención se provée por lo tanto una formulación farmacéutica que incluye un compuesto de la invención, en mezcla con un adyuvante, diluyente o transportador de aceptación farmacéutica.

Dosis diarias apropiadas de los compuestos de la invención en tratamiento terapéutico de humanos son de alrededor de 0.001-100 mg/kg de peso corporal en administración peroral y 0.001-50 mg/kg de peso corporal en administración parenteral.

Para evitar dudas, tal como se emplea aquí, el término "tratamiento" incluye tratamiento terapéutico y/o profiláctico.

Compuestos de la invención tienen la ventaja de que pueden ser más eficaces, ser menos tóxicos, ser de acción más prolongada, tener un rango más amplio de actividad, ser más potentes, producir menos efectos colaterales, absorberse más fácilmente, y/o tener un mejor perfil farmacocinético (e.g. más alta biodisponibilidad oral y/o más baja depuración), que, y/o tener otras propiedades farmacológicas, físicas o químicas útiles sobre, compuestos conocidos en el arte previo. Compuestos de la invención pueden tener la ventaja adicional de que pueden administrarse menos frecuentemente que compuestos conocidos en el arte previo.

Pruebas Biológicas

Pueden emplearse los siguientes procedimientos de prueba.

Prueba A

Determinación del Tiempo de Coagulación de Trombina (TT)

La solución inhibidora (25 µL) se incuba con plasma (25 µL) durante tres minutos. A continuación se agrega trombina humana (T 6769; Sigma Chem. Co. ó Hematologic Technologies) en solución tampón, pH 7.4 (25 µL, 4.0 NIH unidades/mL), y se mide el tiempo de coagulación en un dispositivo automático (KC 10; Amelung).

El tiempo de coagulación de trombina (TT) se expresa como valores absolutos (segundos) así como la proporción de TT sin inhibidor (TT_0) con respecto a TT con inhibidor (TT_1). Las últimas proporciones (rango 1-0) se grafican contra la concentración del inhibidor (log transformado) y se adaptan a curvas sigmoideas dosis-respuesta de acuerdo con la ecuación

$$Y=a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

donde: a = rango máximo, es decir, 1; s = pendiente de la curva dosis -

respuesta; e IC_{50} = la concentración de inhibidor que duplica el tiempo de coagulación. Los cálculos se procesan en un PC usando el programa de software GraFit Versión 3, fijando la ecuación igual a: Inicio en 0, definir final = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, Londres, Reino Unido).

Prueba B

Determinación de la Inhibición de Trombina con un Ensayo Robótico Cromogénico

Se mide la potencia del inhibidor de trombina con un método de sustrato cromogénico, en un procesador de microplaca robótico Plato 3300 (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Suiza), usando placas de microtitulación de semi-volumen de 96 pozos (Costar, Cambridge, MA, USA; Cat. No. 3690). Soluciones madre de sustancia de prueba en DMSO (72 µL), 0.1-1 mmol/L, se diluyen en serie 1:3 (24 + 48 µL) con DMSO para obtener diez diferentes concentraciones, las cuales se analizan como muestras en el ensayo. 2 µL de muestra de prueba se diluyen con 124 µL de tampon de ensayo, 12 µl de solución de sustrato cromogénico (S-2366, Cromogenix, Mölndal, Sweden) en tampón de ensayo y, finalmente, se agregan 12 µL de solución de α-trombina (α-trombina humana, Sigma Chemical Co. ó Hematologic Technologies) en tampón de ensayo, y se mezclan las muestras. Las concentraciones del ensayo final son: sustancia de prueba 0.00068 - 13.3 µmol/L, S-2366 0.30 mmol/L, α-trombina 0.020 NIHU/mL. El incremento de absorción lineal durante incubación de 40 minutos a 37°C se usa para cálculo de la inhibición porcentual de las muestras de prueba, comparados con blancos sin inhibidor. El valor IC_{50}-robótico, correspondiente a la concentración inhibidora que causa una inhibición del 50% de la actividad de la trombina, se calcula de una concentración logarítmica vs. % curva de inhibición.

Prueba C

Determinación de la Constante de Inhibición k_i para Trombina Humana

Las determinaciones K_i se realizan empleando un método de sustrato cromogénico, efectuado a 37°C en un analizador centrífugo Cobas Bio (Roche, Basel, Switzerland). La actividad enzimática residual luego de la incubación de α-trombina humana con diferentes concentraciones de compuesto de prueba se determina con tres diferentes concentraciones de sustrato, y se mide como la variación en absorción óptica a 405 nm.

Soluciones de compuesto de prueba (100 µL; normalmente en tampón o solución salina que contiene BSA 10 g/L) se mezclan con 200 µL de α-trombina humana (Sigma Chemical Co) en tampón de ensayo (0.05 mol/L Tris-HCl pH 7.4, fuerza iónica 0.15 ajustada con NaCl) que contiene BSA (10 g/L), y se analizan como muestras en el Cobas Bio. Se agrega una muestra de 60 µL, junto con 20 µL de agua, a 320 µL del sustrato S-2238 (Cromogenix AB, Mölndal, Suecia) en tampón de ensayo, y se monitorea la variación de la absorción (ΔA/min). Las concentraciones finales de S-2238 son 16, 24 y 50 µmol/L y de trombina 0.125 NIH U/mL.

La velocidad de reacción de estado continuo se usa para construir gráficos Dixon, es decir, diagramas de concentración inhibidora vs. 1/(ΔA/min). Para inhibidores competitivos, reversibles, los puntos de los datos par las diferentes concentraciones de sustrato forma típicamente líneas rectas que se interceptan en $x = -K_i$.

Prueba D

Determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT)

APTT se determina en plasma citrado humano normal agrupado con el reactivo PTT Automated 5 manufacturado por Stago. Los inhibidores se agregan al plasma (10 µL solución inhibidora a 90 µL de plasma) y se incubaron con el reactivo APTT durante 3 minutos seguido por la adición de 100 µL de solución de cloruro de calcio (0.025 M) y el APTT se determinó mediante el empleo del analizador de coagulación KC10 (Amelung) de acuerdo con las instrucciones del productor del reactivo.

El tiempo de coagulación se expresa como valores absolutos (segundos) así como la proporción de APTT sin inhibidor ($APTT_0$) a APTT con inhibidor ($APTT_i$). Las últimas proporciones (rango 1-0) se grafican contra la concentración de inhibidor (log transformado) y se ajustan a curvas sigmoidales dosis-respuesta de acuerdo con la ecuación

$$y=a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

donde: a = rango máximo, es decir, 1; s = pendiente de la curva dosis-respuesta; e IC_{50} = la concentración de inhibidor que duplica el tiempo de coagulación. Los cálculos se procesan en un PC utilizando el programa de software GraFit Versión 3, fijando la ecuación igual a: Inicio en 0, definir final = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, Londres, Reino Unido).

IC_{50}APTT se define como la concentración de inhibidor en plasma humano que duplicó el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada.

Prueba E

Determinación del tiempo de Trombina *ex vivo*

La inhibición de trombina luego de la administración oral o parenteral de los compuestos de la invención, disueltos en etanol:SolutolK: agua (5:5:90), se examina en ratas conscientes que, uno o dos días antes del experimento, se equipan con un cateter para tomar muestras de sangre de la arteria carótida. El día del experimento se extraen muestras de sangre a horas fijas después de la administración del compuesto en tubos plásticos que contienen 1 parte de solución de citrato de sodio (0.13 mol por L) y 9 partes de sangre. Se centrifugan los tubos para obtener plasma pobre en plaquetas.

50 µL de muestra de plasma se precipitan con 100 µl de acetonitrilo frío. Se centrifugan las muestras durante 10 minutos a 4000 rpm. 75 µL del

sobrenadante se diluyen con 75 µL de ácido fórmico al 0.2%. Volúmenes de 10 µL de las soluciones resultantes se analizan mediante LC-MS/MS y se determinan las concentraciones de inhibidor de trombina usando curvas estándar.

Prueba F

Determinación de Depuración del plasma en Rata

Se estima la depuración del plasma en ratas macho Sprague Dawley. El compuesto se disuelve en agua y se administra como un inyección de bolo subcutánea a una dosis de 4 µmol/kg. Se recogen muestras de sangre a intervalos frecuentes de hasta 5 horas después de la administración del fármaco. Se centrifugan las muestras de sangre y el plasma se separa de las células sanguíneas y se transfiere a frascos que contienen citrato (concentración final 10%). 50 µL de muestras de plasma se precipitan con 100 µL de acetonitrilo frío. Se centrifugan las muestras durante 10 minutos a 4000 rpm. 75 µL del sobrenadante se diluyen con 75 µL de ácido fórmico al 0.2%. Volúmenes de 10 µL de las soluciones resultantes se analizan por LC-MS/MS y las concentraciones de inhibidor de trombina se determinan usando curvas estándar. El área bajo el perfil concentración-tiempo del plasma se estima usando la regla trapezoidal log/lineal y se extrapola a tiempo infinito. La depuración del plasma (CL) del compuesto se determina entonces como

$$CL=Dosis/AUC$$

Los valores se reportan en mL/min/kg.

Prueba G

Determinación de la Estabilidad *in vitro*

Microsomas de hógado se preparan de muestras de hígado humano y de ratas Sprague-Dawley de acuerdo con SOPs internos. Los compuestos se incuban a 37°C a una concentración tota; de proteína de microsoma de 3

177

mg/mL en un tampón 0.05 mol/L TRIS a 7.4, en presencia de los cofactores NADH (2.5 mmol/L) y NADPH (0.8 mmol/L). La concentración inicial del compuesto es 5 ó 10 µmol/L. Se toman muestras para análisis hasta 60 minutos después de la incubación. La actividad enzimática de la muestra recogida se detiene inmediatamente agregando ácido mirístico al 20% en un volumen correspondiente a 3.3% del volumen total de la muestra. La concentración del compuesto restante (FINAL CONC) en la muestra de 60 minutos se determina por medio de LCMS usando una muestra recogida al tiempo cero como referencia (START CONC). El % de inhibidor de trombina degradada se calcula como:

$$100\% \times \frac{[\text{START CONC}] - [\text{FINAL CONC}]}{[\text{START CONC}]}$$

Prueba H

Modelo de Trombosis Arterial

Se induce daño de los vasos aplicando cloruro férrico ($FeCl_3$) tópicamente a la arteria carótida. Se anestesian las ratas con una inyección intraperitonela de pentobarbital de sodio (80 mg/kg; Apoteksbolaget; Umeå, Suecia), seguido por infusión continua (12 mg/kg/h) de principio a fin del experimento. Se mantuvo la temperatura corporal de la rata a 38°C de comienzo a fin del experimento mediante calefacción externa. El experimento se inicia con un período de control de 5 minutos. Cinco minutos después, ^{125}I-fibrinógeno humano (80 kBq; IM53; Amersham International, Buckinghamshire, Reino Unido) se aplica intravenosamente y se utiliza un marcador para la posterior incorporación de fibrina(nógeno) en el trombo. El extremo próximo del segmento de la arteria carótida se pone en un tubo plástico (6 mm; Silastic®; Dow Corning, MI, USA) abierta longitudinalmente, que contenía papel de filtro empapado en $FeCl_3$ (2 µL; 55% p/p; Merck, Darmstadt, Alemania) (diámetro 3 mm; 1F; Munktell, Grycksbo, Suecia). La arteria carótida izquierda se expuso a $FeCl_3$ durante 10 minutos y luego se extrajo del tubo plástico y se sumergió en solución

178

salina. Cincuenta minutos después, la arteria carótida se retiró y enjuagó en solución salina. Se toman asimismo muestras de sangre de referencia para la determinación de ^{125}I-actividad sanguínea, 10 minutos después de la inyección de ^{125}I-fibrinógeno, y al final del experimento. La ^{125}I-actividad en las muestras de sangre de referencia y en el segmento de los vasos se miden en un contador gamma (1282 Compugamma; LKB Wallac Oy, Turku, Finlandia) el mismo día que se realiza el experimento. Se determina el tamaño del trombo como la cantidad de ^{125}I-actividad incorporada en el segmento de los vasos en relación con la ^{125}I-actividad en la sangre (cpm/mg).

Detalles Experimentales Generales

Se realizó TLC en gel de sílice. Se llevó a cabo análisis de HPLC quiral utilizando una columna 46 mm X 250 mm Chiralcel OD con una columna guard de 5 cm. Se mantuvo la temperatura de la columna a 35°C. Se empleó una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. Se usó un detector Gilson 115 UV a 228 nm. La fase móvil se componía de hexanos, etanol y ácido trifluroacético y las proporciones apropiados se enumeran para cada compuesto. Típicamente, el producto se disuelve en una cantidad mínima de etanol y éste se diluye con la fase móvil.

Se realice LC-MS/MS usando un instrumento HP-1100 equipado con un inyector CTC-PAL y una columna 5 µm, 4 x 100 mm ThermoQuest, Hypersil BDS-C 18. Se empleó un detector API-3000 (Sciex) MS. La velocidad de flujo fue 1.2 mL/min y la fase móvil (gradiente) consistía de 10-90% acetonitrilo con 90-10% de 4 mM acetato de amonio acuoso, conteniendo ambos ácido fórmico al 0.2%.

Se registraron espectros ^{1}H NMR usando tetrametilsilano como el estándar interno. Se registraron espectros ^{13}C NMR usando los solventes deuterados listados como el estándar interno.

Ejemplo 1

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu)

(i) 3-Cloro-5-metoxibenzaldehído

3,5-Dicloroanisol (74.0 g, 419 mmol) en THF (200 mL) se agregó gota a gota a metal de magnesio (14.2 g, 585 mmol, pre-lavado con 0.5 N HCl) en THF (100 mL) a 25°C. Luego de la adición, se agregó gota a gota 1,2-dibromoetano (3.9 g, 20.8 mmol). La mezcla marrón oscuro resultante se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió a 0°C, y se agregó *N,N*-dimetilformamida (60 mL) en una porción. La mezcla se dividió en partes con éter dietílico (3 x 400 mL) y 6N HCl (500 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir un aceite. Cromatografía de destello (2x) en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (38.9 g, 54%) como un aceite amarillo.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.90 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 3.87 (s, 3H).

(ii) 3-Cloro-5-hidroxibenzaldehído

Una solución de 3-cloro-5-metoxibenzaldehído (22.8 g, 134 mmol; véase paso (i) más arriba) en CH_2Cl_2 (250 mL) se enfrió a 0°C. Se agregó gota a gota tribromuro de boro (15.8 mL, 167 mmol) durante 15 minutos. Luego de agitar la mezcla de reacción durante 2 horas, se agregó H_2O (50 mL) lentamente. Seguidamente la solución se extrajo con Et_2O (2 x 100 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (5.2 g, 25%).

180

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.85 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 3.68(s, 1H)

(iii) 3-Cloro-5-difluorometoxibenzaldehído

Una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (7.5g, 48 mmol; véase paso (ii) más arriba) en 2-propanol (250 mL) y 30% KOH (100 mL) se calentó a reflujo. Mientras se agitaba, se borboteó $CHClF_2$ en la mezcla de reacción durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se acidificó con 1N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Los orgánicos se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (4.6 g, 46%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.95 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.60 (t, J_{H-F}= 71.1 Hz, 1H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

Una solución de 3-cloro-5-difluorometoxibenzaldehído (4.6 g, 22.3 mmol; véase paso (iii) más arriba) en CH_2Cl_2 (200 mL) se enfrió a 0°C. Se agregaron ZnI_2 (1.8 g, 5.6 mmol) y cianuro de trimetilsililo (2.8 g, 27.9 mmol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas. La mezcla se concentró parcialmente *in vacuo* produciendo el compuesto del sub-título como un líquido, el cual se usó directamente en paso (v) más adelante sin más purificación o caracterización.

(v) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(NH)OEt

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (6.82 g, asúmanse 22.3 mmol; véase paso (iv) más arriba) se agregó gota a gota a HCl/EtOH (500 mL). La mezcla de reacción se agitó 15 horas, luego se concentró parcialmente *in vacuo* produciendo el compuesto del sub-título como un líquido, el cual se empleó en paso (vi) sin más purificación o caracterización.

(vi) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(NH)OEt (6.24 g, asúmanse 22.3 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en THF (250 mL), se agregó 0.5M H_2SO_4 (400 mL) y la reacción se agitó a 40°C durante 65 horas, se enfrió y luego se concentró parcialmente *in vacuo* para retira la mayor parte del THF. La mezcla de reacción se extrajo luego con Et_2O (3 x 100 mL), se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título como un sólido, el cual se empleó en paso (vii) sin más purificación o caracterización.

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt (6.25 g, asúmanse 22.3 mmol; véase paso (vi) más arriba) en 2-propanol (175 mL) y 20% KOH (350 mL) se agitó a temperatura ambiente 15 horas. La reacción se concentró entonces parcialmente *in vacuo* para retirar la mayor parte del 2-propanol. La mezcla restante se acidificó con 1M H_2SO_4, se extrajo con Et_2O (3 x 100 mL), se secó (Na_2SO_4) y de concentró *in vacuo* para producir un sólido. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado (6:3:1) prodividió en partes la sal de amonio del compuesto del sub-título. La sal de amonio se disolvió entonces en una mezcla de EtOAc (75 mL) y H_2O (75 mL) y se acidificó con 2N HCl. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera (50 mL), se secó (Na_2SO_4) y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (3.2 g, 57% de los pasos (iv) a (vii)).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.16 (s, 1H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (3.2 g, 12.7

mmol; véase paso (vii) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (~2.0 g) en acetato de vinilo (125 mL) y MTBE (125 mL) se calentó a reflujo durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de Celite® y la torata del filtro se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró *in vacuo* y se cromatografió de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado (6:3:1) produciendo las sales de amonio del compuesto de los sub-títulos (a) y (b). Compuesto (a) como una sal se disolvió en H_2O, se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (a) (1.2 g, 37%).

Para el compuesto de sub-título (a)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (1.1 g, 4.4 mmol; véase paso (viii) más arriba) y H-Aze-Pab(Teoc) (véase solicitud de patente internacional WO 00/42059, 2.6 g, 5.7 mmol) en DMF (50 mL) a 0°C se agregó PyBOP (2.8 g, 5.3 mmol) y colidina (1.3 g, 10.6 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante 15 horas adicionales. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y se expuso a cromatografía de destello en gel de sílice (3 x), fluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (9:1), luego con EtOAc:EtOH (20:1) y finalmente eluyendo con CH_2Cl_2:CH_3OH (95:5) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.0 g, 37%) como un sólido blanco.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros) δ 7.79-7.85 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H), 7.15-7.48 (m, 5H), 6.89 y 6.91 (t, J_{H-F} =71.1 Hz, 1H). 5.12, y 5.20 (s, 1H), 4.75-4.85 (m, 1H), 3.97-4.55 (m, 6H), 2.10-2.75 (m. 2H), 1.05-, 1.15 (m, 2H), 0.09 (s, 9H)

MS (m/z) 611 $(M + 1)^+$

(x) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu,Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.051 g, 0.08 mmol; véase paso (ix) más arriba), se disolvió en 3 mL de acetonitrilo y se agregó 0.062 g (0.5 mmol) de clorhidrato de *O*-ciclobutilhidroxilamina. La mezcla se calentó a 70° C durante 4.5 horas. El solvente se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y acetato de etilo. Se extrajo la fase acuosa dos veces más con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó (Na_2SO_4), filtró y evaporó. Rendimiento: 0.054 g (95%).

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 8.66-8.50 (m, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.29 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.88 (t, 1H rotámero mayor), 6.85 (t, 1H rotámero menor), 5.18 (s, 1H rotámero mayor), 5.12 (s, 1H rotámero menor), 5.16 (m, 1H rotámero menor), 4.78 (m, 1H rotámero mayor), 4.70 (m, 1H), 4.50-4.30 (m, 3H), 4.19-3.93 (m, 3H), 2.71-2.44 (m, 1H), 2.34-2.11 (m, 5H), 1.78 (m, 1H). 1.62 (m, 1H), 0.96 (m, 2H), 0.01 (s, 9H)

(xi) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu, Teoc) (0.054 g, 0.08 mmol; véase paso (x) más arriba), se disolvió en 0.5 mL de CH_2Cl_2 y 3 mL de TFA. Se dejó continuar la reacción durante 60 minutos. Se evaporó TFA y el residuo se purificó usando HPLC preparativa. Se agruparon las fracciones de interés y se secaron por congelamiento (2x), produciendo 23 mg (54%) del compuesto del título.

MS (m/z) 536 $(M - 1)^-$; 538 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7.56 (d, 2H),7.33 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.89 (t, 1H rotámero mayor), 6.86 (t, 1H rotámero menor), 5.18 (s, 1H rotámero mayor; y m, 1H rotámero menor), 5.11 (s, 1H rotámero menor), 4.77 (m, 1H rotámero mayor), 4.58 (m, 1H), 4.42 (m, 2H), 4.34 (m, 1H

rotámero mayor), 4.15 (m, 1H rotámero mayor), 4.06 (m, 1H rotámero menor), 3.97 (m, 1H rotámero menor), 2.66 (m, 1H rotámero menor), 2.52 (m, 1H rotámero mayor). 2.33-2.25 (m, 3H), 2.01-2.20 (m, 2H), 1.75 (m, 1H), 1.59 (m, 1H) ^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD) (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.4, 172.3, 171.9, 171.4, 152.3

Ejemplo 2

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)- (*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.148 g, 0.24 mmol; véase Ejemplo l(ix) más arriba), se disolvió en 9 mL de acetonitrilo y se agregó 0.101 g (1.45 mmol) de clorhidrato de hidroxilamina. La mezcla se calentó a 70°C durante 2.5 horas, se filtró a través de Celite® y se evaporó. El producto crudo (0.145 g; 75% puro) se empleó directamente en el siguiente paso sin más purificación.

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc) (0.145 g, 0.23 mmol; véase paso (i) más arriba), se disolvió en 0.5 mL de CH_2Cl_2 y 9 mL de TFA. La reacción se dejó continuar durante 60 minutos. TFA se evaporó y el residuo se purificó usando HPLC preparativa. Las fracciones de interés se agruparon y se secaron por congelamiento(2x), produciendo 72 mg (rendimiento en los dos pasos 62%) del compuesto del título.

MS (m/z) 482 $(M - 1)^-$; 484 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7.58 (d, 2H), 7.33 (m, 3H), 7.15 (m, 2H), 6.89 (t, 1H rotámero mayor), 6.86 (t, 1H rotámero menor), 5.18 (s, 1H rotámero mayor; y m, 1H rotámero menor), 5.12 (s, 1H rotámero menor), 4.77 (m, 1H rotámero mayor),4.42 (m, 2H), 4.34 (m, 1H rotámero mayor), 4.14 (m, 1H rotámero mayor), 4.06 (m, 1H rotámero menor), 3.95 (m, 1H rotámero menor), 2.66 (m, 1H rotámero menor), 2.50 (m, 1H rotámero

mayor), 2.27 (m, 1H rotámero mayor), 2.14 (m, 1H rotámero menor)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.4, 172.3, 172.0, 171.4 152.3, 152.1

Ejemplo 3

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.045 g, 0.074 mmol; véase Ejemplo 1(ix) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 1 hora. Se evaporó TFA y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 0.043 g (100%) del compuesto del sub-título como su sal de TFA.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.75 (m, 2H), 7.55-7.5 (m, 2H), 7.35 (m, 1H, rotámero mayor), 7.31 (m, 1H, rotámero menor), 7.19 (m, 1H, rotámero mayor), 7.15 (m, 1H), 7.12 (m, 1H, rotámero menor), 6.89 (t, 1H, rotámero mayor), 6.87 (t, 1H, rotámero menor), 5.22 (m, 1H, rotámero menor), 5.20 (s, 1H, rotámero mayor), 5.13 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.37 (m, 1H, rotámero mayor), 4.19 (m, 1H, rotámero mayor), 4.07 (m, 1H, rotámero menor), 3.98 (m, 1H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.55 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.6, 172.5, 172.0, 171.7, 167.0
MS (m/z) 465 $(M - 1)^-$, 467 $(M + 1)^+$

Ejemplo 4

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentilo)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (74 mg, 0.13 mmol; véase Ejemplo 3 más arriba) y ciclopentilcloroformato (44 mg, 0.30 mmol) en cloruro de metileno (5 mL) se agregó NaOH acuoso

(0.5 mL, 2M, 1 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente y la reacción se monitoreó con HPLC. Luego de 2.5 horas, se agregó agua y se separaron las fases líquidas. Se extrajo la fase acuosa dos veces con cloruro de metileno. Las fases orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$) y se purificaron en gel de sílice (primero cloruro de metileno, luego EtOAc). Luego del retiro de los solventes *in vacuo,* el residuo sólido se disolvió en agua/acetonitrilo y se secó por congelamiento para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. Rendimiento: 33mg (44%)

MS (m/z) 579 $(M + 1)^+$

^1H NMR (400MHz; CD_3OD): δ 7.79 (d, 2H), 7.43-7.30 (m, 5H), 7.20- 7.11 (m. 2H), 6.90 (t. 1H, rotámero mayor), 6.87 (t, 1H, rotámero menor), 5.19 (dd, 1H, rotámero menor), 5.18 (s, 1H, rotámero mayor), 5.13 (-m, 1H), 5.11 (s, 1H, rotámero menor), 4.78 (dd, 1H, rotámero mayor), 4.45 (m, 2H), 4.35 (m, 1H, rotámero mayor), 4.16 (s, 1H, rotámero mayor), 4.06 (s, 1H, rotámero menor), 3.97 (s, 1H, rotámero menor), 2.68 (m, 1H, rotámero menor), 2.52 (s, 1H, rotámero mayor), 2.28 (s, 1H, rotámero mayor), 2.16 (s, 1H, rotámero menor), 1.90 (m, 2H), 1.77 (m, 4H), 1.61 (m, 2H)

^{13}C NMR (carbonilo y/o protones de amidina; 100 MHz): δ 173.6, 173.1, 172.6, 170.3, 165.6

Ejemplo 5

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en Ejemplo 4 más arriba a partir de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (73 mg, 0.13 mmol; véase Ejemplo 3 más arriba) y bencilcloroformato (35 mg, 0.21 mmol). Fue necesaria purificación adicional mediante HPLC de fase reversa (0.1M acetato de amonio/MeCN 40/60). Las fracciones apropiadas se concentraron *in vacuo* y se extrajeron con EtOAc. Rendimiento: 24mg (32%).

MS (m/z) 602 $(M + 1)^+$

187

^{1}H NMR (400MHz; CD_3OD): δ 7.80 (d, 2H), 7.43-7.25 (m, 8H), 7.20-7.10 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, rotámero mayor), 6.88 (t, 1H, rotámero menor), 5.18 (dd, 1H, rotámero menor), 5.18 (s, 2H), 5.17 (s, 1H, rotámero), 5.11 (s, 1H, rotámero), 4.78 (dd, 1H, rotámero mayor), 4.45 (m, 2H), 4.34 (m, 1H, rotámero mayor), 4.15 (s, 1H, rotámero mayor), 4.06 (s, 1H, rotámero menor), 3.97(s, 1H, rotámero menor), 2.66 (m, 1H, rotámero menor), 2.51 (s, 1H, rotámero mayor), 2.27 (s, 1H, rotámero mayor), 2.15 (s, 1H, rotámero menor)

^{13}C NMR (carbonilo y/o protones de amidina; 100MHz): δ 173.6, 173.1, 172.6, 170.5, 164.9

Ejemplo 6

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ácido 2-Nitro-5-trifluorometoxibenzoicoo

A una solución de ácido 3-trifluorometoxibenzoicoo (49.0 g, 0.24 mol) en ácido sulfúrico (500 mL) a menos de 0°C (baño de hielo-MeOH) se agregó una solución de nitrato de potasio (31.3 g, 0.31 mol) en ácido sulfúrico (200 mL), durante 20 minutos. La solución resultante se agitó a 0°C durante 2 horas, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La reacción se vertió en hielo y la solución acídica resultante se extrajo con EtOAc (5x). Los orgánicos combinados se lavaron con H_2O (1x), salmuera (2x), H_2O (1x) y salmuera (1x), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (65.7 g) como un sólido contaminado con HOAc. El compuesto crudo del sub-título se disolvió en EtOAc y tolueno y se concentró *in vacuo* para producir un sólido libre de HOAc (58.4 g, 97%) que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 10.10 (br s, 1H), 8.02 (d, 1H, *J*= 8 Hz). 7.69

(d, 1H, J = 2 Hz), 7.54 (dd, 1H, J = 2 Hz, J = 8 Hz)

(ii) Ácido 2-Amino-5-trifluorometoxibenzoicoo

A una solución de ácido 2-nitro-5-trifluorometoxibenzoicoo (56.8 g, 0.23 mol; véase paso (i) más arriba) en EtOH (1000 mL) se agregó 10% Pd/C (5.7 g). La solución resultante se enjuagó con H_2 durante 5 horas, se filtró a través de Celite® y se concentró *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (49.7 g, 98%) como un sólido que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.66 (m, 1H), 7.17 (d, 1H, J = 8 Hz), 6.77 (d, 1H, J = 8 Hz)

(iii) Ácido 2-Amino-3-cloro-5-trifluorometoxibenzoicoo

A una solución de ácido 2-amino-5-trifluorometoxibenzoicoo (49.0 g, 0.22 mol; véase paso (ii) más arriba) en HOAc (1200 mL) se agregó lentamente cloruro de sulfurilo (41.8 g, 0.31 mol). Se observó evolución de gas. La mezcla heterogénea resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se agregó HOAc adicional (300 mL) para contribuir a la agitación, seguida por cloruro de sulfurilo en porciones de 5 mL hasta que el material inicial se consumió basándose en análisis TLC. La reacción se concentró *in vacuo* para producir sólidos que se enjuagaron en un evaporador rotatorio con EtOAc (2x) seguido por Et_2O (1x) para retirar el HOAc. Los sólidos resultantes se secaron posteriormente para producir la sal HCl del compuesto crudo del sub-título (60.5 g, 94%), el cual se empleó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.72 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.22 (s, intercambiables)

(iv) Ácido 3-Cloro-5-trifluorometoxibenzoicoo

A una solución de ácido 2-amino-3-cloro-5-trifluorometoxibenzoicoo (60.5

g, asúmanse 0.22 mol; véase paso (iii) más arriba) en 1,4-dioxano (1000 mL) se agregó 6N HCl (750 mL). Algunos orgánicos se extrajeron en forma de aceite de la solución. La solución de dioxano se enfrió a menos de 0°C (baño hielo-MeOH). Una solución de nitrito de sodio (18.2 g, 0.26 mol) en H_2O (250 mL) se agregó durante 15 minutos *vía* un embudo de adición. La solución resultante se agitó durante 45 minutos. Se agregó lentamente ácido hipofosforoso (221.5 mL de 50 % en peso en H_2O, 291.2 g, 2.20 mol) *vía* un embudo adicional. La solución se agitó a 0°C durante 1.5 horas, luego se calentó a temperatura ambiente (se observó evolución de gas) y se agitó durante 18 horas. La solución cruda se transfirió a un embudo separado y se extrajo con Et_2O (4x). Los orgánicos combinados se extrajeron con $NaHCO_3$ acuoso (3x). La capa acuosa básica se acidificó cuidadosamente con 6N HCl y se extrajo con CH_2Cl_2 (3x). Los extractos CH_2Cl_2 se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (26.5 g, 46% de ácido 3-trifluorometoxibenzoicoo) como un sólido que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.98 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.58 (s. 1H) *R*

(v) Alcohol 3-Cloro-5-trifluorometoxibencílico

A una solución de ácido 3-cloro-5-trifluorometoxibenzoicoo (22.5 g, 93.5 mmol; véase paso (iv) más arriba) en THF anhidro (1200 mL) bajo una atmósfera N_2 a temperatura ambiente se agregó una solución de complejo BH_3•THF (140 mL de 1M en THF; 140.3 mmol). Se hizo refluir la solución durante 2 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas, se extinguió cuidadosamente con H_2O y se concentró *in vacuo* para retirar la mayor parte del THF. El residuo se diluyó con EtOAc y los orgánicos se lavaron con salmuera (3x), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (21.2 g, 100%) como un aceite se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.33 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.14 (s, 1H). 4.72 (s, 2H), 2.05 (br s, 1H)

(vi) 3-Cloro-5-trifluorometoxibenzaldehído

Una solución de DMSO (16.1 g, 205.9 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (300 mL) se enfrió a -78°C. Se agregó lentamente cloruro de oxalilo (13.1 g, 103.0 mmol) *vía* una jeringa (se observó evolución de gas). La solución resultante se agitó a -78°C durante 15 minutos. Una solución de alcohol 3-cloro-5-trifluorometoxibencílico (21.2 g, 93.6 mmol; véase paso (v) más arriba) en CH_2Cl_2 (200 mL) se agregó *vía* un embudo adicional durante un período de 15 minutos. La solución turbia se agitó a -78°C durante 40 minutos y se agregó DIPEA (60.5 g, 468.0 mmol) *vía* un embudo adicional durante10 minutos. La solución homogénea resultante se agitó a -78°C durante 1.5 horas, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó 18 horas. La solución cruda se concentró *in vacuo*, el residuo se diluyó con EtOAc y se lavó con H_2O (1x), 2N HCl (1x), salmuera (1x), $NaHCO_3$ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del subtítulo (19.9 g, 95%) el cual se empleó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 10.00 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.51 (s, 1H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

A una solución de 3-cloro-5-trifluorometoxibenzaldehído (19.9 g, 88.6 mmol; véase paso (vi) más arriba) in CH_2Cl_2 (600 mL) a 0°C se agregó ZnI_2 (1.4 g, 4.4 mmol) cianuro de trimetilsililo (9.7 g, 97.5 mmol). Luego de agitar a 0°C durante 1.5 horas, y a temperatura ambiente durante 2 horas, el análisis TLC mostró únicamente el material inicial. Se agregó ZnI_2 en porciones hasta que la reacción se produjo (En total se agregaron más de 30.0 g de ZnI_2). Después de agitar a temperatura ambiente durante 18

horas, la reacción se extinguió con agua y los orgánicos se separaron. Los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (27.7 g, 96%) como un líquido que se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.43 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 0.38 (s, 9H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Una suspensión de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (27.7 g, 85.6 mmol; véase paso (vii) más arriba) en HCl concentrado (300 mL) se hizo refluir durante 3 horas. La mezcla heterogénea marrón resultante se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con Et_2O (2x). Los orgánicos iniciales se extrajeron con 2N NaOH (2x), seguidamente la capa básica se acidificó con 2N HCl y se extrajo con Et_2O. El Et_2O se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (4.9 g, 21%). El análisis TLC de los orgánicos iniciales mostraron que el compuesto del sub-título estaba aún presente, de modo que se repitió la extracción/acidificación básica usando 6N NaOH para proporcionar compuesto del sub-título crudo adicional (2.8 g, 12%). El análisis TLC de los orgánicos iniciales mostró que el compuesto del sub-título estaba aún presente, de modo que los orgánicos se secaron (Na_2SO_4) y concentraron *in vacuo* para producir la sal de sodio del compuesto del sub-título (18.3 g) como un aceite. A continuación se volvió a disolver la sal en Et_2O y los orgánicos se acidificaron con 2N HCl y se lavaron con salmuera. Los orgánicos resultantes se secaron (Na_2SO_4), se trataron con carbón activado, se filtraron a través de Celite® y se concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (14.3 g, 62%) como un sólido que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 5.23 (s, 1H)

192

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (7.7 g, 28.5 mmol; véase paso (viii) más arriba) y Lipase PS "Amano" (3.8 g) en MTBE (100 mL) y acetato de vinilo (50 mL) se agitó a 60°C durante 26 horas. La reacción se enfrió y se filtró a través de Celite® y la torta del filtro se lavó con EtOAc. Los orgánicos combinados se concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado (6:3:1) prodividió en partes una mezcla de las sales de amonio del compuesto del sub-título (a) y compuesto del sub-título (b) (6.7 g) y una muestra pura de la sal de amonio del compuesto del sub-título (a) (1.2 g) con menos del 95% e.e. Las fracciones respectivas se disolvieron en Et_2O y se lavaron con 2N HCl (1x) y salmuera (1x), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron para producir los correspondientes ácidos carboxílicos (6.7 g y 1.1 g respectivamente). Estas fracciones se volvieron entonces a someter separadamente a las condiciones de resolución y se purificaron nuevamente según lo necesario *vía* cromatografía en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado (6:3:1 ó 75:20:5 ó 145:45:10) según se requiriera. El compuesto purificado del sub-título (a) se acidificó con HCl acuoso o ácido cítrico acuoso antes de su uso posterior. La sal de amonio del compuesto del subtítulo (b) se empleó sin caracterización.

Para compuesto del sub-título (a)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.53 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 5.23 (s, 1H)

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD): δ 174.9, 150.9, 145.4, 136.3, 126.8, 122.0, 120.6, 118.9, 72.9

MS (m/z) 269 $(M - 1)^-$

(x) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.73 g, 2.70 mmol; véase paso (ix) más arriba) en DMF (40 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno se enfrió a 0°C. A la solución se agregó H-Aze-Pab(Teoc) (1.46 g, 3.24 mmol), colidina (0.82 g, 6.75 mmol) y PyBOP (1.83 g, 3.51 mmol). La solución se agitó a 0°C durante 2 horas, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas, se extinguió con agua y se concentró *in vacuo*. El residuo se diluyó con EtOAc y se lavó con H_2O (1x), $NaHCO_3$ acuoso (1x), ácido cítrico acuoso (1x) y salmuera (1x), se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título. Cromatografía de destello en gel de sílice (2x) eluyendo con EtOAc:MeOH (30:1) luego CH_2Cl_2:MeOH (93:7) prodividió en partes el compuesto del sub-título (0.73 g, 43%) como una espuma comprimible.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros): δ 7.78-7.82 (d, 2H, *J*= 8 Hz), 7.25-7.54 (m, 5H), 5.25 y 5.16 (s, 1H), 5.22 y 4.79 (m, 1H), 3.92-4.58 (m, 6H), 2.20-2.76 (m, 2H), 1.04-1.13 (m, 2H). 0.08 (s, 9H) MS (m/z) 629 $(M + 1)^+$

(xi) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

Ácido trifluoroacético (1.0mL) se agregó a una solución agitada enfriada con hielo/agua de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (101 mg; 160 μmol; véase paso (x) más arriba), en cloruro de metileno (10 mL). El baño de enfriamiento se retiró después de 1 hora. Después de 1.5 horas a temperatura ambiente, se agregó acetonitrilo (30 mL) y los solventes se retiraron cuidadosamente bajo presión reducida. El residuo se disolvió en agua y se secó por congelamiento para proporcionar 90 mg (92%) del compuesto del título como su sal TFA.

MS (m/z) 483 $(M - 1)^-$; 485 $(M + 1)^+$

^{1}H NMR (300 MHz; CD_3OD): (compleja debido a diastereómeros/rotámeros): δ 7.70-7.80 (m, 2H), 7.45-7.58 (m, 3H), 7.24-

7.38 (m, 2H), 5.26 (s, 1H), 5.17 (m, 1H, rotámero menor), 4.82 (m, 1H, rotámero mayor), 4.35-4.6 (m, 3H), 4.22 (m, 1H, rotámero mayor), 3.92-4.12 (m, 2H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.55 (m, 1H, rotámero mayor), 2.30 (m, 1H, rotámero mayor), 2.16 (m, 1H, rotámero menor)

^{13}C NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros): δ 173.7, 173.4, 173.0, 172.8, 168.1

Ejemplo 7

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

HATU (71 mg; 0.19 mmol) se agregó a una solución agitada enfriada con hielo/agua de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (39 mg; 0.14 mmol; véase Ejemplo 6(ix) más arriba) en DMF (3mL). Después de 30 minutos, se agregó una solución de H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (69 mg; 0.21 mmol; véase solicitud de patente internacional WO 00/42059) y 2,4,6-colidina (0.080 mL; 0.58 mmol) en DMF (1.5 mL). La mezcla de reacción se puso a reposar durante la noche y se dejó subir la temperatura lentamente a temperatura ambiente. Los solventes se retiraron *in vacuo* y el producto crudo se purificó usando HPLC de fase reversa (acetonitrilo: 0.1M acetato de amonio acuoso) para proporcionar, luego de secar por congelamiento las fracciones apropiadas, el compuesto del título (61 mg, 97%) como un sólido incoloro.

MS (m/z) 513 $(M - 1)^-$, 515 $(M + 1)^+$

^1H NMR (500 MHz; CD_3OD): δ 7.97 (bt, 1H), 7.53 (d, 2H), 7.27 (t, 1H), 7.22 (d, 2H), 7.19 (t, 1H), 7.11 (t, 2H), 6.77 (s, 1H). 4.92 (s, 1H), 4.9 (bs, 3H), 4.81 (m, 2H), 4.40 (m, 2H), 4.09 (m, 1H) 3.87 (s, 3H), 2.58 (m, 1H), 2.37 (m, 1H)

^{13}C NMR (125 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina): δ 171.8,
169.9, 156.8

195

Ejemplo 8

Síntesis Paralela de Alcoxiamidinas

Esta síntesis se realizó en un bloque Robbins de in a 96 pozos. A los pozos que contenían una cantidad apropiada de hidroxilamina O-sustituida (especificada más adelante; todas las cuales se obtuvieron en el comercio o se prepararon usando procedimientos bien conocidos de la literatura) se agregó una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (10 mg; 17 µmol; véase Ejemplo 6(x) más arriba) en acetonitrilo (1.0 mL). El bloque se selló y la mezcla de mezcla de reacción se sometió a rotación durante la noche en un horno a 60°C. Luego del enfriamiento y la filtración, los sólidos se lavaron con acetonitrilo (3 x 0.3 mL). Las fracciones líquidas combinadas se concentraron en una centrífuga de vacío. El residuo se dividió en partes entre agua (0.4 mL) y acetato de etilo (0.4 mL). Luego de concluida la extracción líquido-líquido, todo se filtró a través de una columna de Hidromatrix™. Después de lavar tres veces con acetato de etilo, los filtrados combinados se concentraron en una centrífuga de vacío. Se llevó a cabo desprotección mediante adición de cloruro de metileno (0.1 mL), y ácido trifluroacético (0.3 mL). Luego de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, los solventes se retiraron *in vacuo.* El residuo se dividió en partes entre carbonato hidrogenado de sodio saturado acuoso (0.5 mL) y acetato de etilo (0.5 mL). Luego de extracción, filtración a través de Hidromatrix™ y concentración (*vide infra*) el residuo se disolvió en isopropanol/agua (7/3) (1 mL). Alrededor del 2% de esta solución se retiró y se diluyó con isopropanol/agua (7/3) (1 mL) para análisis LC-MS. Después del retiro de los solventes *in vacuo* el residuo sólido se transfirió a una placa de 96 pozos usando acetonitrilo y acetato de etilo para disolver el compuesto. Los solventes se evaporaron en una centrífuga de vacío para proporcionar los siguientes compuestos del título:

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-(5-Me-isoxazol)) (de 3-[(aminooxi)metil]-5-metilisoxazol x HCl (18 mg; 0.11 mmol)). Rendimiento: 3.64mg (35%) (MS (m/z) 596 $(M + l)^+$);

196

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-piridina)

(de 3-[(aminooxi)metil]piridina x 2 HCl (19 mg; 96 μmol). Rendimiento: 5.14 mg (50%) (MS (m/z) 592 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu)

(de *O*-isobutil hidroxilamina x HCl (17 mg; 140 μmol). Rendimiento: 4.4 mg (45%). MS (m/z) 557 $(M + l)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

(de *O*-etil hidroxilamina x HCl (14 mg; 140 μmol). Rendimiento: 4.04 mg (42%). MS (m/z) 529 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn)

(de *O*-bencilhidroxilamina x HCl (17 mg; 110 μmol). Rendimiento: 3.22 mg (29%). MS (m/z) 591 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Hexilo)

(de *O*-ciclohexil hidroxilamina x HCl (15 mg; 99 μmol). Rendimiento: 2.9 mg (26%). MS (m/z) 583 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu)

(de *O*-ciclobutil hidroxilamina x HCl (17 mg; 140 μmol). Rendimiento: 3.3 mg (30%). MS (m/z) 555 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab($OCH_2CH_2OPh(3\text{-}CF_3)$)

(de *O*-[2-[3-(trifluorometil)fenoxi]etil]hidroxilamina x HCl (24 mg; 93 μmol). Rendimiento: 6.52 mg (46%). MS (m/z) 689 $(M+1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Cl))

(de O-(4-clorobencil)hidroxilamina x HCl (16 mg; 82 μmol). Rendimiento: 3.47 mg (29%). MS (m/z) 625 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(3-MeO))

(de O-(3-metoxibencil)hidroxilamina x HCl (18 mg; 94 μmol). Rendimiento:

4.33 mg (36%). MS (m/z) 621 $(M+1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(2-Br))

(de O-(2-bromobencil)hidroxilamina x HCl (23 mg; 96 μmol). Rendimiento: 3.87 mg (30%). MS (m/z) 671 $(M + 1)^+$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Me))

(de O-(4-metilbencil)hidroxilamina x HCl (14 mg; 81 μmol). Rendimiento: 2.91 mg (25%). MS (m/z) 605 $(M + 1)^+$); y

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-4-heptilo)

(de *O*-(4-heptilo)hidroxilamina x HCl (15 mg; 89 μmol). Rendimiento: 17 mg (100%). MS (m/z) 599 $(M + 1)^+$).

Ejemplo 9

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) Ácido 3-Cloro-5-metoxibenzoicoo

Recortes de magnesio (Fluka purum para reacciones de Grignard) se pre-trataron en la siguiente forma: Los recortes se pusieron en un embudo sinterizado de vidrio y se vertió sobre ellos 0.1 M de ácido clorhídrico. Se agitaron los recortes con una varilla de vidrio durante unos pocos segundos y luego se lavó el ácido con 3 porciones de agua. Finalmente, los recortes se lavaron con 2 porciones de acetona y se embotellaron. Se secó tetrahidrofurano (100 mL, 99.95%) agregando RedAl (1 g, 70% peso en tolueno). Recortes pre-tratados de magnesio (5 g, 200 mmol) se pusieron en un frasco de base redonda, y se enjuagaron con nitrógeno 3 veces. Se disolvió dicloroanisol (26 g, 146 mmol) en THF (100 mL, RedAl-seco) y se agregó dibromoetano (1.8 g, 10 mmol). La mezcla de reacción se enjuagó con nitrógeno y luego se hizo refluir durante 2 horas. Se interrumpió el calentamiento y se agregó hielo seco (10 g) en porciones durante 2 minutos. Cuando todo el hielo seco se disolvió, la mezcla de reacción se vertió en ácido clorhídrico que contenía hielo (400 mL, 2 M). El desarrollo de extracción (éter, 300 mL) produjo 11.2 g, 60.2 mmol (rendimiento: 41%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (500 MHz; acetona-d_6): δ 7.57 (m, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.23 (m, lH), 3.91 (s, 3H)

(ii) Ácido 3-Cloro-5-hidroxibenzoicoo

Óxido de aluminio (1.65 g, 60 mmol) y yoduro (21 g, 82 mmol) se hicieron refluir en tolueno (200 mL) durante 2 horas. Luego se agregó ácido 3-cloro-5-metoxibenzoicoo (11.2 g, 60.2 mmol; véase paso (i) más arriba) disuelto en tolueno (50 mL), junto con yoduro de tetrabutilamonio (1.5 g, 4 mmol), y la mezcla se hizo refluir durante otras 2 horas. Luego de enfriar a temperatura ambiente, el desarrollo de extracción produjo 8.7 g, 50 mmol (rendimiento: 83%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (300 MHz; acetona-d_6): δ 9.27 (s, 1H), 7.48 (m, 1H). 7.44 (m, 1H), 7.11 (m, 1H)

(iii) Ácido 3-Cloro-5-difluorometoxibenzoicoo

Ácido 3-Cloro-5-hidroxibenzoicoo (6.4 g, 37.2 mmol; véase paso (ii) más arriba) disuelto en cloroformo (200 mL) se transfirió a un frasco de base redonda con tres cuellos de 500 mL equipado con un condensador de hielo seco y un tubo de entrada de gas. Se agregó hidróxido de sodio (100 mL, 5 M) agitando al mismo tiempo vigorosamente. Clorodifluorometano (Freon 22; 25 g, 290 mmol) se agregó en porciones a través del tubo de entrada de gas a temperatura ambiente. Después de 2 horas, la reacción se concluyó. El desarrollo de extracción produjo 6.2 g, 28 mmol (rendimiento: 75%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (500 MHz; acetona-d_6): δ 7.87 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.19 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz)

(iv) 3-Cloro-5-difluorometoxi-N-metoxi-N-metilbenzamida

Ácido 3-Cloro-5-difluorometoxibenzoico (1.8 g, 8 mmol; véase paso (iii) más arriba) y cloruro de oxalilo (1.5 g, 11.8 mmol) se disolvieron en cloruro de metileno (50 mL). Se agregó DMF (2 gotas) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, se agregaron *N,O*-dimetilhidroxilamina (1 g, 10.2 mmol) y trietilamina (3 g, 30 mmol) y transcurridos otros 10 minutos agitando a temperatura

ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se tomó en éter (100 mL) y agua (50 mL). Luego de la separación, la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y concentró. Este residuo se cromatografió en sílice (hexano/acetato de etilo 2:1) que produjo 2 g, 7.5 mmol (93%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$): δ 7.54 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 6.53 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz)

(v) 3-Cloro-5-difluorometoxiacetofenona

3-Cloro-5-difluorometoxi-N-metoxi-N-metilbenzamida (2 g, 7.5 mmol; véase paso (iv) más arriba) se disolvió en éter (100 mL) y se enfrió bajo nitrógeno a -70°C. Se agregó gota a gota metil litio (7 mL, 11 mmol, 1.6 M en éter) con una jeringa a la mezcla de reacción agitada durante 1 minuto. Se retiró el baño helado y la mezcla se dejó llegar a temperatura ambiente antes de extinguir la reacción con solución de cloruro de amonio (50 mL, 5% NH_4Cl en agua). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se cromatografió en sílice (hexano:acetato de etilo 2:1) que produjo 1.5 g, 6.8 mmol (rendimiento: 90%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (600 MHz; $CDCl_3$): δ 7.77 (m, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.35 (m, 1H), 6.56 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz), 2.60 (s, 3H)

(vi) Éster metílico de ácido 3-Cloro-5-difluorometoxifenilacéticoo

3-Cloro-5-difluorometoxiacetofenona (1.5 g, 6.8 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en cloruro de metileno (200 mL). Se agregó nitrato de talio (III) x 3MeOH en K-10 montmorilonita (6 g, 10 mmol (aprox. 0.6 mmol/g); véase *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 6750 (1976)) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se filtró y el filtrado se lavó con bicarbonato de sodio (100 mL, 0.5 M), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se cromatografió

en sílice (hexano/acetato de etilo 2:1) que produjo 1 g, 4 mmol (rendimiento: 56%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$): δ 7.14 (m, 1H), 7.06 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 6.50 (t, 1H, J_{H-F} 73 Hz), 3.72 (s, 3H), 3.60 (s, 1H)

(vii) Éster metílico de ácido α-Formil(3-cloro-5-difluorometoxifenil)acético
Éster metílico de ácido 3-Cloro-5-difluorometoxifenilacéticoo (1 g, 4 mmol; véase paso (vi) más arriba) y formato de metilo (1 g, 16 mmol) se disolvieron en éter (100 mL) y se enfriaron en un baño helado (aprox. 2°C). A continuación, sodio finamente cortado (180 mg, 7.8 mmol) y metanol (1 mL) se agregaron y la mezcla se dejó en el baño helado con agitación durante la noche. Se agregó agua (100 mL) cuidadosamente y las fases se separaron. La fase que contenía agua se acidificó con ácido clorhídrico (2 M) a pH 1 y se extrajo con éter (2 x 100 mL). El extracto se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se cromatografió en sílice (hexano:acetato de etilo (1:1)) que produjo 400 mg, 1.4 mmol (rendimiento: 36%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (400 MHz): δ 12.10 (d, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.51 (t, 1H, J_{F-H} 73), 3.83 (s, 3H)

(viii) Ácido 3-Cloro-5-difluorometoxitrópico
Éster metílico de ácido α-Formil(3-cloro-5-difluorometoxifenil)acético (400 mg, 1.4 mmol; véase paso (vii) más arriba) se disolvió en THF:metanol (50 mL, 9:1). Se agregó borohidruro de sodio y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se agregó agua y la mezcla se concentró para producir una suspensión acuosa, que se tomó en acetato de etilo y agua. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con cloruro de sodio (15% en agua), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se disolvió en metanol (30 mL) y se hidrolizó con hidróxido de sodio (1 mL, 10 M) a temperatura ambiente

durante 10 minutos. El desarrollo de extracción produjo 180 mg, 0.68 mmol (rendimiento: 48%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$): δ 7.18 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 7.00 (m. 1H). 6.50 (t, 1H, J_{F-H} 73), 4.11 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.84 (m, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

Ácido 3-Cloro-5-difluorometoxitrópico (180 mg, 0.7 mmol; véase paso (viii) más arriba), H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (450 mg, 1 mmol) y PyBOP (530 mg, 1 mmol) se disolvieron en DMF (10 mL), tras lo cual se agregó DIPEA (550 mg, 3.9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora antes de diluirla con salmuera (20 mL, 15% NaCl) y se extrajo con acetato de etilo (40 mL). El extracto se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en cloruro de metileno (5 mL) y se agregó ácido trifluroacético (5 mL). Luego de 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de diastereómeros se evaporó a sequedad y el residuo se cromatografió en columna de fase reversa (acetonitrilo:agua (30:70), tampón: acetato de amonio 0.1 M). El secamiento por congelamiento produjo 36 mg, 0.067 mmol (rendimiento: 10.4%) del compuesto del título.

MS (ES) 481 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$): δ 7.77 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.13 (m, 2H), 6.87 (t, 1H, J_{F-H} 73 Hz), 4.76 (m, 1H), 4.55 (s, 2H), 4.37 (m, 1H), 4.03 (m, 2H), 3.82 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 2.53 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 1.92 (s, 1,5H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.3, 171.9, 167.2

Ejemplo 10

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 3-Cloro-5-trifluorometoxibencil mesilato

A una solución de alcohol 3-cloro-5-trifluorometoxibencílico (6.1 g, 26.9 mmol; véase Ejemplo 6(v) más arriba) en CH_2Cl_2 (250 mL) a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno se agregó DIPEA (4.2 g, 32.3 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (3.4 g, 29.6 mmol). La solución se agitó a 0°C durante 1.5 horas y se extinguió con H_2O. Los orgánicos se separaron y luego se lavaron con H_2O (1x), IN HCl (1x), H_2O (1x) y $NaHCO_3$ acuoso (1x) y seguidamente se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron para proporcionar el compuesto del sub-título (8.2 g, 99%) como un aceite.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.37 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.18 (s, 1H) 5.23 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(ii) 3-Cloro-5-trifluorometoxibencil cianuro

A una solución de 3-cloro-5-trifluorometoxibencil mesilato (8.2 g, 26.8 mmol; véase paso (i) más arriba) en DMSO (50 mL) se agregó cianuro de sodio (2.6 g, 53.6 mmol). La solución heterogénea resultante se calentó a 50°C y se sonicó durante 1 hora. La reacción se enfrió y dividió en partes entre Et_2O y H_2O. Los orgánicos se lavaron con H_2O (2x) y salmuera (2x). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con Et_2O (1x). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron bajo un calor reducido y vacío parcial para proporcionar el compuesto del sub-título (6.3 g, 100%) como un aceite volátil rojizo el cual se empleó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12 (s. 1H), 3.78 (s, 2H)

(iii) Ácido 3-Cloro-5-trifluorometoxifenilacético

A una solución de 3-cloro-5-trifluorometoxibencil cianuro (6.3 g, 26.7 mmol; véase paso (ii) más arriba) en 2-propanol (100 mL) se agregó agua (200 mL) e hidróxido de potasio (7.5 g, 133.5 mmol). La solución se hizo

refluir durante 18 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se retiró el 2-propanol *in vacuo*. La fase acuosa se lavó con CH_2Cl_2 (2x) y se descartaron los lavados. La fase acuosa básica se acidificó con 2N HCl y se extrajo con CH_2Cl_2 (3x). Los extractos CH_2Cl_2 se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (5.2 g, 76%) como un aceite el cual se empleó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.25 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 3.68 (s, 2H)

(iv) 3-Cloro-5-trifluorometoxifenilacetato de Etilo

A una solución de ácido 3-cloro-5-trifluorometoxifenilacético (5.2 g, 20.4 mmol; véase paso (iii) más arriba) en EtOH (600 mL) se agregó ácido sulfúrico (varias gotas). La solución se hizo refluir durante 18 horas, se enfrió a temperatura ambiente, se neutralizó con $NaHCO_3$ sólido y el EtOH se retiró *in vacuo*. El residuo se diluyó con EtOAc luego se lavó con H_2O (1x), $NaHCO_3$ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (5.5 g, 96%) como un aceite el cual se empleó en el paso siguiente sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.24 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.13-4.22 (q, J = 8 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 1.24-1.32 (t, J = 8 Hz, 3H)

(v) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,R*)CH(CHO)C(O)OEt

A una solución de 3-cloro-5-trifluorometoxifenilacetato de etilo (4.5 g, 15.9 mmol; véase paso (iv) más arriba) en THF anhidro (400 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno a menos de 0°C (baño de hielo-MeOH) se agregó etóxido de sodio (4.5 g, 63.6 mmol). La solución fría se agitó durante 40 minutos y se agregó formato de etilo (8.1 g, 111.3 mmol). La solución se agitó a 0°C durante 30 minutos, se calentó a temperatura ambiente y se

agitó durante 2 horas. Luego, el THF se retiró *in vacuo*. El residuo se diluyó con Et_2O y se extrajo con H_2O (1x) y 0.5M NaOH (3x). Los extractos acuosos se acidificaron con 2N HCl y se extrajeron con CH_2Cl_2 (3x). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título (3.9 g). Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (3.0 g, 61%) como un aceite.

^{1}H NMR (300 MHz. $CDCl_3$, mezcla de isómeros): δ 12.30 y 12.25 (s, 1H), 7.39 y 7.34 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.27-4.37 (q, *J*= 8 Hz, 2H), 1.28-1.38 (t, *J*= 8 Hz, 3H)

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OEt

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*,5)CH(CHO)C(O)OEt (3.0 g, 9.66 mmol; véase paso (v) más arriba) en MeOH (200 mL) a -10°C (baño de hielo-MeOH) se agregó borohidruro de sodio (0.7 g, 19.32 mmol) en porciones durante 5 minutos. La solución se agitó a -10°C durante 45 minutos y se agregó más borohidruro de sodio (0.4 g). Después de otros 15 minutos, la reacción se extinguió con cloruro de amonio acuoso, se acidificó semanalmente con 2N HCl y se retiró el MeOH *in vacuo*. El residuo se diluyó con EtOAc y se lavó con H_2O (1x), $NaHCO_3$ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (5:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (2.0 g, 66%) como un aceite.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.26 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.16-4.28 (m, 2H), 4.04-4.15 (m, 1H), 3.76-3.94 (m, 2H), 2.33 (t, *J* = 6 Hz, 1H), 1.18-1.30 (t, *J* = 8 Hz, 3H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*5)CH(CH_2OH)C(O)OH

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OEt (2.0 g, 6.24 mmol; véase paso (vi) más arriba) en THF (50 mL) y H_2O (25 mL) se agregó monohidrato de hidróxido de sodio (0.5 g, 12.48 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y el THF se retiró *in vacuo*. El residuo se diluyó con H_2O luego se lavó con $CHCl_3$ (2x) y se descartaron los lavados. La capa acuosa básica se acidificó con 2N HCl y se extrajo con $CHCl_3$ (4x). Los extractos $CHCl_3$ se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título (1.5 g) como un aceite. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado (gradiente de 7.0:2.5:0.5 a 6:3:1) prodividió en partes la sal de amonio del compuesto del sub-título (1.1 g). La sal de amonio se dividió en partes entre 1N HCl y $CHCl_3$. Los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (también conocido como ácido 3-cloro-5-trifluorometoxitrópico) como un aceite (1.1 g, 62%).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7.41 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.75-3.87 (m, 2H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (a) y Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(b)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R,S*)CH(CH_2OH)C(O)OH (0.65 g, 2.28 mmol; véase paso (vii) más arriba) en DMF a menos de 0°C (baño de hielo-MeOH) se agregó H-Aze-Pab(Teoc) (0.90 g, 2.39 mmol), colidina (0.71 g, 5.70 mmol) y PyBOP (1.31 g, 2.51 mmol). La solución resultante se agitó a menos de 0°C durante 1 hora, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Seguidamente el DMF se retiró *in vacuo*. El residuo se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl acuoso diluido (1x), salmuera (1x), $NaHCO_3$ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título (2.1 g) como una mezcla de diastereómeros.

Cromatografía de destello (3x) en gel de sílice fluyendo primero con EtOAc:MeOH (95:5) luego con CH_2Cl_2:MeOH (97:3) y, por último, con CH_2Cl_2:MeOH (95:5) prodividió en partes el diastereómero de los compuestos del sub-título (a) (0.51 g, 35%) y el diastereómero (b) (0.45 g, 31%) como espumas triturables.

Para el diastereómero del compuesto del sub-título (a)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.79-7.85 (d, *J*= 8 Hz, 2H). 7.22-7.49 (m, 5H), 5.17-4.77 (m, 1H), 4.53-4.18 (m, 4H), 3.58-4.11 (m. 5H), 2.47-2.73 (m, 1H). 2.11-2.34 (m, 1H), 1.08-1.12 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

MS (m/z) 643 $(M + 1)^+$

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc), (78 mg, 0.121 mmol; véase paso (viii) más arriba - diastereómero (a)), se disolvió en 5 mL de ácido trifluoroacético. Después de10 minutos, concluyó la reacción y se evaporó el solvente. El residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo para producir el producto deseado. Rendimiento: 70 mg (94%).

MS (m/z) 483 $(M - 1)^-$; 485 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR(400 MHz; D_2O) rotámeros 1:1: δ 8.83 (bt, 1H). 7.79 (d, 1H), 7.72 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.43 (d, 2H), 7.35 (m, 1H, rotámero), 7.28 (m, 1H, rotámero), 7.20 (m, 1H, rotámero), 7.05 (m, 1H, rotámero), 5.22 (m, 1H, rotámero), 4.83 (m. 1H, rotámero), 4.57 (m, 2H, rotámero), 4.38 (m, 2H, rotámero), 4.3-3.7 (m, 5H), 2.77 (m, 1H, rotámero), 2.55 (m, 1H, rotámero), 2.27 (m, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; D_2O): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.9, 172.2, 172.0, 171.8, 166.9

Ejemplo 11

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe,Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (100 mg, 0.155 mmol; véase Ejemplo 10(viii) más arriba), se disolvió en 12 mL de tetrahidrofurano. Se agregó clorhidrato de *O*-Metilhidroxilamina (44 mg, 0.53 mmol) y la reacción se calentó a 50°C durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (CH_3CN/0.1 M NH_4OAc (70/30)). Las fracciones pertinentes se evaporaron y el residuo se disolvió en una pequeña cantidad de acetonitrilo y agua y se secó por congelamiento. Se repitió el secamiento por congelamiento una vez más. Rendimiento: 80 mg (76%) de material puro.

^{1}H-NMR(400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.5-7.4 (m, 3H), 7.35-7.2 (m, 4H), 5.15 (m, 1H, rotámero menor), 4.74 (m, 1H, rotámero mayor), 4.5-4.25 (m, 3H), 4.2-3.95 (m, 4H), 3.91 (b, 3H). 3.9-3.6 (m, 2H), 2.63 (m, 1H, rotámero menor), 2.50 (m, 1H, rotámero mayor), 2.3-2.1 (m, 1H), 0.95 (m, 2H), 0.02 (s, 9H, rotámero mayor), 0.01 (s, 9H, rotámero menor)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc), (80 mg, 0.12 mmol; véase paso (i) más arriba), se disolvió en 1 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. Se agregó ácido trifluoroacético, 3 mL, y el matraz de reacción se mantuvo en el baño helado durante dos horas. La mezcla se evaporó y disolvió en acetato de etilo y se lavó tres veces con $NaHCO_3$ (aq) luego con agua y salmuera. La fase orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y evaporó. El residuo se secó por congelamiento a partir de una pequeña cantidad de acetonitrilo y agua. Rendimiento: 60 mg (95%) de producto puro del título.

MS (m/z) 528 $(M - 1)^-$; 531 $(M + 1)^+$

^{1}H-NMR(500 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.65-7.55 (m, 3H, rotámeros), 7.45 (m, 1H, rotámero mayor), 7.4-7.2 (m, 4H), 5.15 (m, 1H, rotámero menor), 4.74 (m. 1H, rotámero mayor), 4.5-4.3 (m, 3H), 4.05-3.95 (m, 2H), 3.85 (m, 1H, rotámero mayor), 3.82 (s, 3H, rotámero mayor), 3.81 (s, 3H, rotámero menor), 3.73 (m, 1H, rotámero mayor), 3.67 (m, 1H, rotámero menor), 3.62 (m, 1H, rotámero menor), 2.63 (m, 1H, rotámero menor), 2.50 (m, 1H, rotámero mayor), 2.24 (m, 1H, rotámero mayor), 2.16 (m, 1H, rotámero menor)

^{13}C-NMR (125 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 174.0, 173.2, 172.7, 172.6, 155.1

Ejemplo 12

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe.Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.40 g, 0.65 mmol; véase Ejemplo 1(ix) más arriba), se disolvió en 20 mL de acetonitrilo y se agregó 0.50 g (6.0 mmol) de clorhidrato de O-metil hidroxilamina. La mezcla se calentó a 70°C durante 2 horas. El solvente se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y acetato de etilo. Se extrajo la fase acuosa dos veces más con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó (Na_2SO_4), se filtró y evaporó. Rendimiento: 0.41 g (91%).

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$): δ 7.83 (bt, 1H), 7.57 (bs, 1H), 7.47 (d, 2H),, 7.30 (d, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.87 (m. 1H), 4.47 (m, 2H), 4.4-4.2 (b, 1H), 4.17-4.1 (m, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.42 (m, 1H) 0.97 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc) (0.40 g, 0.62 mmol; véase paso (i) más arriba), se disolvió en 5 mL de TFA y se dejó

reaccionar durante 30 minutos. TFA se evaporó y el residuo se dividió en partes entre acetato de etilo y $NaHCO_3$ (acuoso). Se extrajo la fase acuosa dos veces más con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó (Na_2SO_4), se filtró y evaporó. El producto se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo. No fue necesaria purificación. Rendimiento: 0.28 g (85%).

^{1}H-NMR (600 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.89 (bt, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.28 (d, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.13 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.51 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.80 (bs, 2H), 4.48 (dd, 1H), 4.43 (dd, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.40 (m, 1H).
^{13}C-NMR (125 MHz; $CDCl_3$): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.9. 170.8, 152.7, 152.6
MS (m/z) 495 $(M - 1)^-$, 497 $(M + 1)^+$

Ejemplo 13

Ph(3-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) (13 mg, 0.026 mmol; véase Ejemplo 12 más arriba) se disolvió en etanol absoluto (5 mL) y se agregaron 30 mg de 10% Pd/C. Finalmente se agregó ácido acético (5 µL) y la mezcla se hidrogenó a presión atmosférica durante 20 horas. La mezcla se filtró a través de Celite®, se evaporó y purificó mediante HPLC de fase reversa (0.1 M acetato de amonio acuoso/MeCN). Las fracciones apropiadasse secaron por congelamiento para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco: 8.5 mg (66%).

^{1}H-NMR(400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.73-7.78 (m, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.19-7.43 (m, 3H), 7.06-7.13 (m, 1H), 6.83 (t, 1H, J_{HF} = 74Hz, rotámero mayor), 6.81 (t, 1H, rotámero mayor), 5.20 (s, 1H, rotámero mayor), 5.19 (m, 1H, rotámero menor), 5.15 (s, 1H, rotámero menor), 4.78 (m, 1H, rotámero mayor), 4.4-4.6 (varios picos, 2H), 4.35 (m, 1H, rotámero mayor), 4.08 (m, 1H), 3.99 (m, 1H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero

menor), 2.52 (m, 1H, rotámero mayor), 2.30 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor), 1.89 (s, 3H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 173.7, 172.9, 168.3.

MS (m/z) 433 $(M+1)^+$; 431 $(M-1)^-$

Ejemplo 14

Ph(3-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (34 mg, 0.057 mmol, de Ejemplo 6) se disolvió en 5 mL de etanol y se agregaron 20 mg de 10% Pd/C. La mezcla se hidrogenó a presión atmosférica durante la noche. La mezcla se filtró a través de Celite®, se evaporó y se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo.

^{1}H-NMR(400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.5-7.2 (m, 4H), 5.24 (s, 1H, rotámero mayor), 5.23 (m, 1H, rotámero menor), 5.18 (s, 1H, rotámero menor), 4.77 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.45 (m, 2H),

4.36 (m, 1H, rotámero mayor), 4.08 (m, 1H), 3.99 (m, 1H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.52 (m, 1H, rotámero mayor), 2.30 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 174.1, 173.9, 173.5, 172.9. 168.2.

^{19}-F NMR (282 MHz; CD_3OD): -59.8 y -59.9 (3F, rotámero menor y rotámero mayor respectivamente), -77.4 (3F) indica que la sal es TFA.

MS (m/z) 451.3 $(M+1)^+$

Ejemplo 15

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 3-Cloro-5-trifluoroetoxibenzaldehído

A una solución agitada magnéticamente de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído

(2.0 g, 12.8 mmol; véase Ejemplo 1(ii) más arriba) y carbonato de potasio (2.3 g, 16.6 mmol) en DMF (35 mL) bajo nitrógeno se agregó 2,2,2-trifluoroetil *p*-toluenosulfonato (4.2 g, 16.6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 110°C durante 7 horas y luego se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a 0°C, se vertió en 2 N HCl helado (100 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 0.5 N HCl (2 x 50 mL)/se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. El aceite marrón se cromatografió en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (6:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.9 g, 61%) como un aceite amarillo.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.44 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.42 (q, J = 8 Hz, 2H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

A una solución de 3-cloro-5-trifluoroetoxibenzaldehído (5.2 g, 21.7 mmol; véase paso (i) más arriba) y yoduro de zinc (1.7 g, 5.4 mmol) en CH_2Cl_2 (200 mL) bajo nitrógeno se agregó cianuro de trimetilsililo (4.3 g, 43.3 mmol) gota a gota *vía* jeringa a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 3 horas luego se diluyó con H_2O (150 mL). La capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (6.9 g, 95%) como un aceite amarillo el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.27 (s, 1H), 6.98 (s, 2H), 5.44 (s, 1H), 4.38 (q, J =8Hz, 2H), 0.30 (s, 9H)

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (170 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (6.9 g, 20.4 mmol; véase paso (ii) más arriba) y se agitó a 100°C durante 1 hora. Luego de enfriar a temperatura

ambiente, la reacción se enfrió aún más a 0°C y se basificó lentamente con 3 N NaOH (300 mL). Esta mezcla se lavó con Et_2O (2 x 100 mL) y la capa acuosa se acidificó con 2 N HCl (50 mL). La capa acuosa se extrajo luego con EtOAc (2 x 100 mL), se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (5.3 g, 92%) como un aceite amarillo pálido el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.18 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.58 (q, J = 8 Hz, 2H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (7.06 g, 24.8 mmol; véase paso (iii) más arriba) y Lipase PS "Amano" (4.30 g) en acetato de vinilo (250 mL) y MTBE (250 mL) se calentó a 70°C bajo nitrógeno durante 40 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se retiró la enzima mediante filtración lavando con EtOAc, y el filtrado se concentró *in vacuo*. Cromatografía en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (92:6:2) prodividió en partes la sal trietilamina del compuesto del sub-título (a) (3.02 g) como un aceite amarillo. La sal de compuesto del sub-título (a) se disolvió en H_2O (150 mL), se acidificó con 2 N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del sub-título (a) (2.18 g) como un sólido blancuzco.

Adicionalmente, la sal trietilamina del compuesto del sub-título (b) (4.73 g) se obtuvo de la cromatografía de columna mencionada más arriba.

Datos para el compuesto del sub-título (a):

mp: 98-103°C

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7:18 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.58 (q, J = 8Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.4, 159.6, 144.6, 136.2, 125.0 (q, J = 277 Hz), 121.8, 115.9, 113.1, 73.3, 67.0 (q, J = 35 Hz)

Análisis HPLC: 98.6%, >99% ee, Columna Chiralcel OD (97:3:0.5 Hex:EtOH:TFA fase móvil)

$[\alpha]^{25}_D$ = -81.5° (c = 1.0, MeOH)

APCI-MS: (M - 1)$^-$ 283 m/z

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.50 g, 1.8 mmol; véase paso (iv) más arriba (compuesto (a))) en DMF (20 mL) bajo nitrógeno se agregó H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (1.03 g, 2.3 mmol), PyBOP (1.01 g, 1.9 mmol), y DIPEA (0.57 g, 4.4 mmol) a 0°C. La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (10:1) y luego con EtOAc:EtOH (10:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (0.55 g, 48%) como una espuma blanca triturable.

mp: 90-95°C

R_f = 0.42 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.78-7.81 (m, 2H), 7.38-7.41 (m, 2H), 7.12-7.16 (m, 1H), 7.00-7.06 (m, 2H), 5.09-5.22 y 4.75-4.79 (m,2H), .3.94-4.61 (m, 8H), 2.09-2.75 (m. 2H). 1.04-1.11 (m.

2H), 0.70 (s, 9H)

APCI-MS: (M + 1) = 643 m/z

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.066 g, 0.103 mmol; véase paso (v) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 30 minutos. Se evaporó TFA y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 0.060 g (94%) del

compuesto del título como su sal TFA.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.2-7.0 (m, 3H), 5.21 (m, 1H, rotámero menor), 5.17 (s, 1H, rotámero mayor), 5.11 (s, 1H, rotámero menor), 4.81 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.4 (m, 4H), 4.37 (m, 1H, rotámero mayor), 4.16 (m, 1H, rotámero mayor), 4.06 (m, 1H, rotámero menor), 3.99 (m, 1H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.54 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.2, 171.8, 171.7, 167.0.
MS (m/z) 499.3 $(M + 1)^+$

Ejemplo 16

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.48 g, 1.7 mmol; véase Ejemplo 15(iv) más arriba (compuesto (a)) en DMF (20 mL) bajo nitrógeno se agregó H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (0.74 g, 2.2 mmol), PyBOP (0.97 g, 1.9 mmol), y DIPEA (0.55 g, 4.2 mmol) a 0°C. La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (10:1) y segundo con EtOAc:EtOH (10:1) para proporcionar el compuesto del título (0.62 g, 69%) como una espuma blanca triturable.

mp: 75-80°C
R_f= 0.43 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)
^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.57-7.60 (m, 2H). 7.32-7.36 (m, 2H), 7.13-7.17 (m, 1H), 7.00-7.06 (m, 2H), 5.09-5.19 y 4.74-4.80 (m, 2H), 3.93-4.62 (m, 6H), 3.81 (s, 3H), 2.10-2.73 (m, 2H) APCI-MS: (M + 1) = 529 m/z

Ejemplo 17

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ácido metanosulfónico de éster 2,2-difluoroetílico

A una solución agitada magnéticamente de 2,2-difluoroetanol (1.52 g, 18.5 mmol) en CH_2Cl_2 (20 mL) bajo nitrógeno se agregó trietilamina (5.61 g, 55.5 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (2.54 g, 22.2 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 1.5 horas, se diluyó con CH_2Cl_2 (50 mL), y se lavó con 2 N HCl (50 mL). La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (30 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (2.52 g, 85%) como un aceite amarillo el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.02 (tt, *J*= 3 Hz, *J*= 55 Hz, 1H), 4.39 (dt, *J* = 3Hz, *J* = 13 Hz, 2H), 3.13 (s, 3H)

(ii) 3-Cloro-5-difluoroetoxibenzaldehído

A una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (1.50 g, 9.6 mmol; véase Ejemplo 1(ii) más arriba) y carbonato de potasio (1.72 g, 12.5 mmol) en DMF (10 mL) bajo nitrógeno se agregó una solución de ácido metanosulfónico de éster 2,2-difluoroetílico (2.0 g, 12.5 mmol; véase paso (i) más arriba) en DMF (10 mL) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 100°C durante 6 horas y luego se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a 0°C, se vertió en 2 N HCl helado (100 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 0.5 N HCl (2 x 50 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. El aceite marrón se cromatografió en gel de sílice eluyendo con Hex.-EtOAc (5:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.35 g, 64%) como un aceite amarillo.

^{1}H NMR (300 MHz. $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.12 (tt, *J*= 3 Hz, *J*= 55 Hz, 1H), 4.26 (dt, *J*= 3 Hz, *J*= 15 Hz, 2H)

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

A una solución de 3-cloro-5-difluoroetoxibenzaldehído (1.35 g, 6.1 mmol; véase paso (ii) más arriba) y yoduro de zinc (0.48 g, 1.5 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL) se agregó cianuro de trimetilsililo (1.21 g, 12.2 mmol) gota a gota a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 0°C durante 3 horas, luego se diluyó con H_2O (50 mL). La capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (1.85 g, 95%) como un aceite marrón el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.13 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.10 (tt, *J*= 3 Hz, 7= 55 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.20 (dt, *J*= 3 Hz, *J*= 15 Hz, 2H), 0.28 (s, 9H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (60 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (1.85 g, 5.8 mmol; véase paso (iii) más arriba) y se agitó a 100°C durante 1 hora. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se enfrió aún más a 0°C, se basificó lentamente con 3 N NaOH (~180 mL) y se lavó con Et_2O (2 x 75 mL). La capa acuosa se acidificó con 2 N HCl (20 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (1.50 g, 97%). como un sólido amarillo pálido el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.15 (s, 1H), 7.05 (s, 1H). 6.98 (s, 1H), 6.19 (tt, *J*= 4 Hz, *J*= 55 Hz, 1H). 5.12 (s, 1H), 4.25 (dt, *J*= 4 Hz, *J*= 17 Hz, 2H)

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (3.90 g, 14.6 mmol; véase paso (iv) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (2.50 g) en acetato de vinilo (140 mL) y MTBE (140 mL) se calentó a 70°C bajo nitrógeno durante 40 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se retiró la enzima mediante filtración lavando con EtOAc, y el filtrado se concentró *in vacuo*. Cromatografía en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (92:6:2), prodividió en partes la sal trietilamina del compuesto del sub-título (a) como un aceite amarillo. Adicionalmente se obtuvo la sal trietilamina del compuesto del sub-título (b) (1.47 g) y la sal se disolvió en H_2O (100 mL), se acidificó con 2 N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del sub-título (b) (1.00 g) como un sólido blancuzco.

Datos para el compuesto del sub-título (b):

mp: 103-106°C

R_f= 0.39 (90:8:2 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.13 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.17 (tt, *J*= 4 Hz, *J*= 55 Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.24 (dt. *J*= *4* Hz, *J*= 8 Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.5, 160.3, 144.5, 136.1, 121.3, 115.7, 115.3, (t, *J*= 240 Hz), 112.9, 73.4, 68.6 (t, *J*= 29 Hz)

Análisis HPLC: 96.2%, >95.0% ee, Columna ChiralPak AD (95:5:0.5 Hex:EtOH:TFA fase móvil)

$[\alpha]^{25}_D$ = -84.0° (c = 0.85 MeOH) .

APCI-MS: (M - 1) = 265 m/z

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.35 g, 1.3 mmol; véase paso (v) más arriba (compuesto (b))) en DMF (18 mL) baj nitrógeno se agregó H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (0.76 g, 1.7 mmol).

PyBOP (0.75 g, 1.4 mmol) y DIPEA (0.43 g, 3.3 mmol) a 0°C. La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$.-EtOH (10:1), y luego con EtOAc:EtOH (10:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (0.69 g, 84%) como una espuma blanca triturable.

mp: 108-118°C

R_f = 0.48 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.78-7.81 (m, 2H), 7.40-7.43 (m, 2H), 7.09-7.12 (m, 1H), 6.96-7.02 (m, 2H), 6.16 (t, *J*=57 Hz, 1H), 5.09-5.20 y 4.75-4.80 (m, 2H), 3.95-4.55 (m, 8H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.04-1.11 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

APCI-MS: (M + 1)= 625 m/z

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.086 g, 0.138 mmol; véase paso (vi) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 1 hora. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 0.080 g (98%) del compuesto del título como su sal de TFA.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.15-6.95 (m, 3H). 6.35-5.95 (m, 1H), 5.20 (m, 1H, rotámero menor), 5.14 (s, 1H, rotámero mayor), 5.10 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.0 (m, 6H), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.53 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 174.0, 173.8, 173.4, 172.9, 168.2

MS (m/z) 481.2 $(M+1)^+$

Ejemplo 18

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.30 g, 1.7 mmol; véase Ejemplo 17(v) más arriba (compuesto (b))) En DMF (15 mL) bajo nitrógeno se agregó H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (0.49 g, 1.5 mmol). PyBOP, (0.65 g, 1.2 mmol), y DIPEA (0.36 g, 2.8 mmol) a 0°C. La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo cromatografió tres veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (10:1), luego con EtOAc:EtOH (10:1), y, finalmente, con $CHCl_3$:MeOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (0.47 g, 81%) como una espuma blanca triturable.

mp: 65-75°C

R_f= 0.37 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.58-7.60 (m, 2H), 7.32-7.35 (m, 2H), 7.09-7.12 (m, 1H), 6.96-7.02 (m, 2H), 6.16 (t, *J*= 55 Hz, 1H), 5.08-5.18 y 4.74-4.80 (m, 2H), 3.96-4.50 (m, 6H), 3.80 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H)

APCI-MS: (M + 1) = 511 m/z.

Ejemplo 19

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i)Ph(3-Cl)(5-TMSO)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

A una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (9.8 g, 62.6 mmol; véase Ejemplo 1(ii) más arriba) y ZnI_2 (5.0 g, 15.7 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (500 mL) a 0°C se agregó cianuro de trimetilsililo (13.7 g, 138 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se agregó agua (250 mL), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para

proporcionar el compuesto del sub-título (16.9 g, 83%) como un aceite amarillo que se usó sin más purificación.

R_f= 0.42 (3:1 Hex:EtOAc)
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.06 (s, 1H), 6.86 (s, 2H), 5.40 (s, 1H),-0.30 (s, 9 H), 0.24 (s, 9 H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OH)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OTMS)-(R,S)CH(OTMS)CN (22.6 g, 68.8 mmol; véase paso (i) más arriba) en HCl concentrado (200 mL) se hizo refluir bajo nitrógeno durante 3 horas. La reacción se enfrió a 0°C y se basificaron lentamente con 2N NaOH. La mezcla se lavó con Et_2O (3 x 100 mL) para eliminar las impurezas orgánicas. La capa acuosa se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (9.3 g, 67%) como un aceite marrón que se usó sin más purificación.

R_f = 0.23 (6:3:1 $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado)
^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.05 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 5.03 (s, 1H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OH)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OH)-(*R*,5)CH(OH)C(O)OH (9.3 g, 46.0 mmol; véase paso (ii) más arriba) en EtOH absoluto (200 mL) se agregó ácido sulfúrico concentrado (0.25 mL) y la reacción se hizo refluir bajo nitrógeno durante 4 horas. La reacción se enfrió a 0°C se agregó $NaHCO_3$ sólido (0.2 g). La reacción se concentró *in* vacuo y se dividió en partes con $NaHCO_3$ saturado (100 mL) y Et_2O (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del sub-título (6.9 g, 65%) como un aceite amarillo el cual se empleó sin más purificación.

221

R_f = 0.62 (6:3:1 $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado).
^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.99 (s, 1H), 6.81 (s, 2H), 5.07 (s, 1H), 4.16-4.32 (m, 2H), 1.23 (t, J = 7 Hz, 3H).

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OH)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt (6.1 g, 26.8 mmol; véase paso (iii) más arriba) en DMF (100 mL) en un matraz sellado bajo nitrógeno a 0°C se agregó carbonato de cesio (13.1 g, 40.2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 15 minutos seguida por la adición de yoduro de potasio (0.5 g, 2.7 mmol). La reacción se enfrió a -78°C y se borboteó clorofluorometano (18.4 g, 268 mmol) en el recipiente. El matraz sellado se dejó entonces calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C, se ventiló cuidadosamente para retirar cualquier exceso de clorofluorometano, y se dividió en partes H_2O (20 mL) y Et_2O (3 x 50 mL). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (2 x 50 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (gradiente de 9:1 a 3:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (2.4 g, 35%) como un aceite amarillo claro. Nota: El compuesto es débilmente visible a los rayos uv en TLC. Puede visualizarse tiñendo el TLC con verde bromocresol.

R_f = 0.46 (2:1 Hex:EtOAc)
^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 5.70 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 5.12 (d, J = 5 Hz, 1H), 3.80-4.35 (m, 2H), 3.50 (d, J = 5 Hz, 1H), 1.26 (t, J=7 Hz, 3H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OEt (1.8 g, 6.8 mmol; véase paso (iv) más arriba) en H_2O:THF (30 mL, 1:2) a 0°C bajo nitrógeno se agregó monohidrato de hidróxido de litio (0.40 g, 10.3 mmol).

La mezcla se agitó a 0°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y se dividió en partes H_2O (5 mL) y Et_2O (2 x 20 mL). La capa acuosa se acidificó cuidadosamente con 0.2N HCl a 0°C y se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (1.4 g, 87%) como un aceite incoloro el cual se solidificó en un sólido blanco luego de reposar.

R_f= 0.43 (6:2:1 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)
^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.24 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.78 (d,. J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H).

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (3.2 g, 13.9 mmol; véase paso (v) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (1.9 g) en acetato de vinilo (150 mL) y MTBE (150 mL) se calentó a 70°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante 3 días. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de Celite® y la torta del filtro se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró *in vacuo* y se sometió a cromatografía de destello un gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (15:1:0.5) para proporcionar la sal trietilamina del compuesto del sub-título (a) (0.50 g, 21%) que se utilizó sin neutralización. Adicionalmente se obtuvo la sal trietilamina del compuesto del sub-título (b) (0.46 g, 20%).

Datos para el compuesto del sub-título (a):

R_f= 0.19 (15:1:0.5 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)
^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.26 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 5.74 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 4.81 (s, 1H), 3.17 (q, *J*= 7 Hz, 6H), 1.28 (t, *J*= 7 Hz, 9H).

223

Datos para el compuesto del sub-título (b)

R_f = 0.33 (15:1:0.5 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.28 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 5.76 (d, J_{H-F} = 54 Hz, 2H), 5.75 (s, 1H), 3.17 (q, J = 7 Hz, 6H), 2.16 (s, 3H), 1.28 (t,. J = 7Hz, 9H).

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de la sal trietilamina de Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.50 g, 1.50 mmol; véase paso (vi) más arriba) y HAze-Pab(Teoc)•HCl (0.87 g, 1.90 mmol) en DMF seco (15 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó PyBOP (0.85 g, 2.60 mmol) y DIPEA (0.48 g, 3.70 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y se cromatografió por destello dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (9:1) y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (0.23 g, 26%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 88-92°C

R_f = 0.61 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.81 (d, J= 8

Hz, 2H), 7.40-7.42 (m, 2H), 7.06-7.23 (m, 3H). 5.76 (d, J_{H-F} = 51 Hz, 2H), 5.10-5.16 y 4.77-4.83 (m, 2H), 3.80-4.49 (m, 6H), 2.30-2.53 (m, 2H), 1.08 (t, J= 7 Hz, 2H), 0.08(s, 9H).

APCI-MS (M + l)=593m/z

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.051 g, 0.086, mmol; véase paso (vii) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 20 minutos. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo. El producto era 95% puro con 5% de material defluorometilado. Los intentos por purificarlo por RPLC

preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc fallaron, y el material, parcialmente como un acetato, se disolvió en 5 mL de TFA, se evaporó y se secó por congelamiento para producir 26 mg (51%) del compuesto del título como su sal de TFA. Pureza: 95%.

^{1}H-NMR (600 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 2H), 7.21 (s, 1H, rotámero mayor), 7.17 (s, 1H, rotámero menor), 7.13 (s, 1H, rotámero mayor), 7.09 (s, 1H, rotámero menor), 7.07 (m, 1H, rotámero mayor), 7.04 (m, 1H, rotámero menor), 5.73 (d, 2H), 5.18 (m, 1H, rotámero menor), 5.16 (s, 1H, rotámero mayor), 5.09 (s, 1H, rotámero menor), 4.78 (m, 1H, rotámero menor), 4.56 (d, 1H, rotámero mayor), 4.50 (d, 1H, rotámero menor), 4.46 (d, 1H, rotámero menor), 4.45 (d, 1H, rotámero mayor), 4.35 (m, 1H, rotámero mayor), 4.14 (m, 1H, rotámero mayor), 4.05 (m, 1H, rotámero menor), 3.97 (m, 1H, rotámero menor), 2.68 (m, 1H, rotámero menor), 2.52 (m, 1H, rotámero mayor), 2.28 (m, 1H, rotámero mayor), 2.19 (m, 1H, rotámero menor).
^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 173.9, 173.3, 172.9, 168.2.
ESI-MS+: (M+1) = 449 (m/z)

Ejemplo 20

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de la sal trietilamina de Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.60 g, 1.80 mmol; véase Ejemplo 19(vi)) y HAze-Pab(OMe)•2HCl (0.79 g, 2.30 mmol) en DMF (15 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó PyBOP (1.04 g, 1,90 mmol) y DIPEA (0.58 g, 4.50 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* se cromatografió por destello tres veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (9:1) y luego dos veces con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (0.22 g, 26%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 66-70°C

R_f = 0.45 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.59 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7.32 (d, *J*= 7 Hz, 2H), 7.06-7.23 (m, 3H), 5.75 (s, J_{H-F} = 54 Hz, 1H), 5.10-5.16 y 4.78-4.84 (m, 2H), 4.11-4.45 (m, 4H). 3.80 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 173.0, 170.8, 170.7, 152.5.

APCI-MS;(M + 1) = 479 m/z

Ejemplo 21

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) (2-Monofluoroetil)metanosulfonato

A una solución agitada magnéticamente de 2-fluoroetanol (5.0 g, 78.0 mmol) in CH_2Cl_2 (90 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó trietilamina (23.7 g, 234 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (10.7 g, 93.7 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 1.5 horas, diluyó con CH_2Cl_2 (100 mL) y se lavó con 2N HCl (100 mL). La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (50 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (75 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (9,7 g, 88%) como un aceite amarillo el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.76 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.64 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.52 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 4.43 (t, *J* = 4 Hz, 1H), 3.09 (s, 3H).

(ii) 3-Cloro-5-monofluoroetoxibenzaldehído

A una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (8.2 g, 52.5 mmol; véase Ejemplo 1(ii) más arriba) y carbonato de potasio (9.4 g, 68.2 mmol) en DMF (10 mL) bajo nitrógeno se agregó una solución de (2-monofluoroetil)

metanosulfonato (9.7 g, 68.2 mmol; véase paso (i) más arriba) en DMF (120 mL) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 100°C durante 5 horas y luego se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a 0°C, se vertió en 2N HCl helado y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. El aceite marrón se cromatografió en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (7.6 g, 71%) como un aceite amarillo.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 4.87 (t, J = 4 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 3 Hz, 1H), 4.33 (t, J = 3 Hz, 1H), 4.24 (t, J = 3 Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OTMS)CN

A una solución de 3-cloro-5-monofluoroetoxibenzaldehído (7.6 g, 37.5 mmol; véase paso (ii) más arriba) y yoduro de zinc (3.0 g, 938 mmol) en CH_2Cl_2 (310 mL) se agregó cianuro de trimetilsililo (7.4 g, 75.0 mmol) gota a gota a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 0°C durante 3 horas y a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con H_2O (300 mL), la capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (10.6 g, 94%) como un aceite marrón que se usó sin más purificación o caracterización.

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (100 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OTMS)CN (10.6 g, 5.8 mmol; véase paso (iii) más arriba) y la solución se agitó a 100°C durante 3 horas. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se enfrió aún más a 0°C, se basificó lentamente con 3N NaOH (~300 mL) y se lavó con Et_2O (3 x 200 mL). La capa acuosa se acidificó con 2N HCl (80 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x

300 mL). Los extractos EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (8.6 g, 98%) como un sólido amarillo pálido que se usó sin más purificación.

R_f = 0.28 (90:8:2 $CHCl_3$:MeOH: NH_4OH concentrado)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m, 1H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R,S*)CH(OH)C(O)OH (8.6 g, 34.5 mmol; véase paso (iv) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (4.0 g) en acetato de vinilo (250 mL) y MTBE (250 mL) se calentó a 70°C bajo nitrógeno durante 3 días. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y la enzima se retiró por filtración a través de Celite®. La torta de filtro se lavó con EtOAc y el filtrado se concentró *in vacuo*. Cromatografía en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (90:8:2) prodividió en partes la sal trietilamina del compuesto del sub-título (a) como un aceite amarillo. Adicionalmente se obtuvo la sal trietilamina del compuesto del sub-título (b) (4.0 g). La sal de compuesto del sub-título (b) se disolvió en H_2O (250 mL), se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del sub-título (b) (2.8 g, 32%) como un aceite amarillo.

Datos para el compuesto del sub-título (b):

R_f= 0.28 (90:8:2 $CHCl_3$:MeOH:NH_4OH concentrado)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.77-4.81 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.15-4.18 (m. 1H).

228

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (940 mg, 3.78 mmol; véase paso (v) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(Teoc)-HCl (2.21 g, 4.91 mmol), PyBOP (2.16 g. 4.15 mmol), y DIPEA (1.22 g, 9.45 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (450 mg, 20%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 80-88°C

R_f= 0.60 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.79 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8 Hz, 2H). 7.05-7.08 (m, 1H), 6.93-6.99 (m, 2H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.75-4.80 (m, 2H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.95-4.55 (m, 8H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 607 m/z.

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.357 g, 0.589 mmol; véase paso (vi) más arriba), se disolvió en 10 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 40 minutos. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 0.33 g (93%) del compuesto del título como su sal de TFA.

^{1}H-NMR (600 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (d, 2H), 7.08 (s, 1H, rotámero mayor), 7.04 (s, 1H, rotámero menor), 6.99 (s, 1H, rotámero mayor), 6.95 (s, 1H), 6.92 (s, 1H, rotámero menor), 5.18 (m, 1H, rotámero menor), 5.14 (s, 1H, rotámero mayor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.73 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.6-4.4

(m, 2H), 4.35 (m, 1H, rotámero mayor), 4.21 (doblete de multipletes, 2H), 4.12 (m, 1H, rotámero mayor), 4.06 (m, 1H, rotámero menor), 3.99 (m, 1H, rotámero menor), 2.69 (m, 1H, rotámero menor), 2.53 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.8, 172.1, 167.4.

ESI-MS+: (M+l) = 463 (m/z)

Ejemplo 22

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (818 mg, 3.29 mmol; véase Ejemplo 21(v) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(OMe)•2HCl (1.43 g, 4.27 mmol), PyBOP (1.89 g, 3.68 mmol), y DIPEA (1.06 g, 8.23 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (880 mg, 54%) como una espuma blanca triturable.

Mp:65-72°C

R_f = 0.60 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.58-7.60 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 7 Hz, 2H), 7.05-7.08 (m, 2H), 6.95-6.99 (m, 1H), 5.08-5.13 (m, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.60-4.68 (m, 1H), 3.99-4.51 (m, 7H), 3.82 (s. 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.3, 170.8, 152.5.

APCI-MS: (M + 1) = 493 m/z.

Ejemplo 23

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

230

(i) 1,3-Difluoroisopropil metanosulfonato

A una solución agitada magnéticamente de 1,3-difluoro-2-propanol (7.0 g, 72.8 mmol) en CH_2Cl_2 (100 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó trietilamina (22.1 g, 219 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (10.0 g, 87.4 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 3 horas. La mezcla se lavó con 2N HCl (150 mL) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (200 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (11.5 g, 91%) como un aceite amarillo el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4.97-5.08 (m, 1H), 4.75-4.77 (m, 2H), 4.59-4.61 (m,2H), 3.12 (s, 3H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)CHO

A una solución de 3-cloro-5-hidroxibenzaldehído (8.0 g, 50.7 mmol; véase Ejemplo 1(ii) más arriba) y carbonato de potasio (9.1 g, 66.0 mmol) en DMF (75 mL) bajo nitrógeno se agregó una solución de 1,3-difluoroisopropil metanosulfonato (11.5 g, 66.0 mmol; véase paso (i) más arriba) en DMF (75 mL) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 110°C durante 18 horas. La reacción se enfrió a 0°C, se vertió en 2N HCl helado (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 250 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. El aceite marrón se cromatografió en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (4.4 g, 37%) como un aceite amarillo.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.92 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.26 (s. 1H), 4.70-4.89 (m, 3H), 4.63-4.68 (m, 2H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(R,S)CH(OTMS)CN

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)CHO (4.4 g, 18.7 mmol; véase paso (ii) más arriba) y yoduro de zinc (1.5 g, 4.67 mmol) en CH_2Cl_2 (200 mL) a 0°C bajo nitrógeno se agregó cianuro de trimetilsililo (3.7 g, 37.3 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a 0°C durante 3 horas y durante la noche a temperatura ambiente, luego se diluyó con H_2O (200 mL). La capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (5.5 g, 87%) como un aceite marrón que se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.12 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 5.42 (s, 1H), 4.70-4.80 (m, 3H), 4.59-4.64 (m, 2H), 0.26 (s, 9H).

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (50 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(R,S)CH(OTMS)CN (5.5 g, 16.3 mmol; véase paso (iii) más arriba) y la solución se agitó a 100°C durante 1.5 horas. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se enfrió aún más a 0°C, se basificó lentamente con 3N NaOH (~200 mL) y se lavó con Et_2O (3 x 200 mL). La capa acuosa se acidificó con 2N HCl (75 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (4.6 g, 100%) como un aceite marrón que se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.70-4.90 (m, 3H), 4.52-4.67 (m, 2H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (4.6 g, 16.4 mmol; véase paso (iv) más arriba) y Lipasa PS "Amano" (3.0 g) en acetato de vinilo (150 mL) y MTBE (150 mL) se calentó a 70°C bajo nitrógeno durante 2.5 días. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, la

enzima se retiró mediante filtración a través de Celite®. La torta de filtro se lavó con EtOAc y el filtrado se concentró *in vacuo*. Cromatografía en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:MeOH:Et_3N (90:8:2) prodividió en partes la sal trietilamina del compuesto del sub-título (a) como un aceite amarillo. Adicionalmente se obtuvo la sal trietilamina del compuesto del sub-título (b) (2.2 g) y la sal se disolvió en H_2O (100 mL), se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del sub-título (b) (1.4 g, 29%) como un aceite amarillo.

Datos para el compuesto del sub-título (b):

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.70-4.90 (m, 3H), 4.52-4.67 (m, 2H).

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH($CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (824 mg, 2.94 mmol; véase paso (v) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(Teoc)•HCl (1.71 g, 3.81 mmol), PyBOP (1.68 g, 3.23 mmol), y DIPEA (949 mg, 7.34 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1), y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (720 mg, 38%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 78-84°C

R_f = 0.62(10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD. mezcla compleja de rotámeros) δ 7.79 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.00-7.12 (m, 3H), 5.08-5.20 (m, 1H), 3.97-4.80 (m, 12H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS:(M + 1) = 639 m/z.

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.129 g, 0.202 mmol; véase paso (vi) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 20 minutos. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 0.123 g (100%) del compuesto del título como su sal de TFA.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.2-7.0 (m, 3H), 5.18 (m, 1H, rotámero menor), 5.15 (s, 1H, rotámetro mayor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor parcialmente oscurecido por el pico CD_3OH), 4.75-4.4 (m, 7H), 4.38 (m, 1H, rotámero mayor), 4.15 (m, 1H, rotámero mayor), 4.1-3.9 (m, 2H, 2 señales de rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.53 (m, 1H, rotámero mayor), 2.30 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.9, 172.6, 172.2, 171.7, 167.1.

ESI-MS+: (M+1) = 495 (m/z)

Ejemplo 24

Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH_2F)$_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (513 mg, 1.83 mmol; véase Ejemplo 23(v) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(OMe)•2HCl (797 mg, 2.38 mmol), PyBOP (1.04 g, 2.01 mmol), y DIPEA (591 mg, 4.57 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (370 mg, 39%) como una espuma blanca triturable.

Mp:58-63°C

234

R_f= 0.66 (10:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.58-7.60 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.00-7.12 (m, 3H), 5.08-5.20 (m, 1H), 4.65-4.82 (m, 3H), 4.28-4.65 (m, 5H), 3.92-4.18 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.75 (m,2H).

^{13}C-NMR (150 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.2,

170.8, 152.5.

APCI-MS: (M + 1) = 525 m/z.

Ejemplo 25

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1-Bromo-3-fluoro-5-benciloxibenceno

Hidruro de sodio (60% dispersión en aceite, 24.0 g, 0.48 mol) se agregó en porciones a una solución agitada de alcohol bencílico anhidro (64.5 g, 0.60 mol) en THF (1.0 L). Después que la mezcla se agitó durante 1 hora, se agregó gota a gota una solución de 1-bromo-3,5-difluorobenceno (76.8 g, 0.40 mmol) en THF (100 mL) durante un período de 1 hora. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Se agregó agua (400 mL) y el THF se retiró *in vacuo*. La capa acuosa se extrajo con hexano (3 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 2N NaOH (2 x 100 mL) luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (110.7 g, 98%) como un aceite amarillo claro que se usó sin más purificación.

R_f = 0.47 (Hex)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36-7.41 (m, 5H), 6.94 (bs, 1H), 6.87 (d, J_{H-F} = 8 Hz, 1H), 6.63 (d, J_{H-F} = 10 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H).

(ii) 3-Bromo-5-fluorofenol

A una solución de 1-bromo-3-fluoro-5-benciloxibenceno (110.0 g, 0.39

mol; véase paso (i) más arriba) y *N,N*-dimetilanilina (474.0 g, 3.92 mol) en CH_2Cl_2 anhidro (1.0 L) a 0°C se agregó cloruro de aluminio (156.0 g, 1.17 mol). Después de 10 minutos, el baño helado se retiró y la agitación se continuó durante 2 horas. La reacción se extinguió mediante la adición cuidadosa de 3N HCl (600 mL). Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 2N HCl (250 mL) y H_2O (3 x 250 mL). A la capa orgánica se agregó 15% KOH (500 mL), y las capas se separaron. La capa orgánica se extrajo adicionalmente con 2 N KOH (2 x 70 mL). Las capas acuosas combinadas se lavaron con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL) y luego se acidificaron con 4N HCl. La capa acuosa se extrajo con Et_2O (3 x 125 mL), seguidamente los extractos Et_2O combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (69.0 g, 92%) como un aceite marrón que se usó sin más purificación.

Mp: 33-35°C

R_f =0.25($CHCl_3$)

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.38 (s, 1H), 6.90 (dd, J_{H-F} = 11 Hz, J= 2 Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.59 (dt, J_{H-F} = 11 Hz, J=2 Hz, 1H).

APCI-MS:(M-1) = 189 m/z

(iii) 1-Bromo-3-fluoro-5-difluorometoxibenceno

Una mezcla de 3-bromo-5-fluorofenol (6.1 g, 31.0 mmol; véase paso (ii) más arriba) y clorodifluorometano (13.0 g, 150.0 mmol) in *i*-PrOH (100 mL) y 30% KOH (80 mL) se calentó en un matraz sellado durante 18 horas a 80-85°C. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y las capas se separaron. La capa orgánica se concentró *in vacuo* para proporcionar un aceite incoloro. La capa acuosa se extrajo con Et_2O (3 x 30 mL). El aceite crudo y los extractos orgánicos combinados se lavaron con 2N NaOH (3 x 30 mL) y H_2O (3 x 30 mL). A continuación los orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron a través de un pequeño tapón de gel de sílice,

y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (6.1 g, 79%) como un aceite incoloro que se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.11-7.14 (m, 2H), 6.84 (dt, *J*= 9 Hz, *J*= 2 Hz, 1H), 6.50 (t, J_{H-F} = 72 Hz, 1H).

(iv) 1-Fluoro-3-difluorometoxi-5-vinilbenceno

Tri(butil)vinilestanano (7.0 g, 22.2 mmol) se agregó a una suspensión de 1-bromo-3-fluoro-5-difluorometoxibenceno (4.9 g, 20.2 mmol; véase paso (iii) más arriba), diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II) (1.42 g, 2.02 mmol) y cloruro de litio anhidro (0.90 g, 20.2 mmol) en THF (40 mL) bajo nitrógeno a 65°C y la mezcla se agitó durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se agregó 1N NaOH (90 mL). La mezcla bifásica se agitó vigorosamente durante 1 hora, seguidamente las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con Et_2O (3 x 70 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 2N NaOH (2 x 40 mL) y H_2O (40 mL) luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con hexano prodividió en partes el compuesto del sub-título (2.2 g, 57%) como un aceite incoloro.

R_f = 0.47 (Hex)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.93-6.99 (m, 2H), 6.73-6.78 (m, 1H), 6.67 (dd, *J* = 18 Hz, *J* = 11 Hz, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.77 (d, *J*= 18 Hz, 1H), 5.36 (d, *J*= 11 Hz, 1H).

(v) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH

2-Metil-2-propanol (140 mL), H_2O (140 mL), y AD-mix- β (39.2 g) se combinaron juntos y se enfriaron a 0°C. 1-Fluoro-3-difluorometoxi-5-vinilbenceno (5.0 g, 26.4 mmol; véase paso (iv) más arriba) disuelto en una pequeña cantidad de 2-metil-2-propanol se agregó de una sola vez, y la lechada heterogénea se agitó vigorosamente a 0°C hasta que el TLC reveló la ausencia del material inicial. La reacción se extinguió a 0°C mediante la

adición de sulfito de sodio (42.0 g) y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 60 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con Et_2O (3 x 120 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOAc (3:2) prodividió en partes el compuesto del sub-título (5.8 g, 98%) como un aceite incoloro.

R_f = 0.41 (3:2 $CHCl_3$:EtOAc)
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.96-6.99 (m, 2H), 6.77-6.82 (m, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.79-4.85 (m, 1H), 3.76-3.84 (m, 1H), 3.58-3.66 (m, 1H), 2.66 (d. J = 3 Hz, 1H), 2.00 (t, J = 6 Hz, 1H).
Análisis HPLC: 89.2%, >99% ee, Columna ChiralPak AD (95:5 Hex:EtOH fase móvil).

(vi) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OTBS
Una solución de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH (5.5 g, 24.7 mmol; véase paso (v) más arriba), 4-(dimetilamino)piridina (121 mg, 1.0 mmol) y trietilamina (3.0 g, 29.6 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (100 mL) se enfrió a 0°C. Una solución 1.0 M de cloruro de *tert*-butildimetilsililo en CH_2Cl_2 (26.0 mL, 26.0 mmol) se agregó gota a gota, y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se agregó solución de cloruro de amonio saturado (60 mL), y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con solución de cloruro de amonio saturado (60 mL) y H_2O (2 x 35 mL) luego se secón (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:Hex (3:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (7.9 g, 85%) como un aceite amarillo.

R_f = 0.47 (3:1 $CHCl_3$:Hex)
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.95-6.98 (m, 2H), 6.76-6.79 (m, 1H), 6.51 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.71-4.74 (m, 1H), 3.75-3.80 (m, 1H), 3.48-3.54 (m,, 1H), 2.99 (bs, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.05 (s, 3H), 0.00 (s, 3H).

(vii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS

A una solución de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OTBS (7.9 g, 0.51 mmol; véase paso (vi) más arriba) y DIPEA (4.9 g, 48.1 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (50 mL) a 0°C bajo nitrógeno se agregó gota a gota 2-metoxietoxi metil cloruro (6.6 g, 48.1 mmol). La mezcla se agitó durante 24 horas. Se agregó solución de cloruro de amonio saturado (70 mL), y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con solución de cloruro de amonio saturado (70 mL) y H_2O (3 x 60 mL) luego se secón (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (8.8 g, 99%) como un aceite amarillo que se usó sin más purificación.

R_f= 0.41 (4:1 $CHCl_3$:EtOAc)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.50 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.79-4.81 (m, 1H), 4.66-4.68 (m, 2H), 3.47-3.82 (m, 6H), 3.36 (s, 3H), 0.85 (s, 9H), 0.01 (s, 3H), 0.00 (s, 3H).

(viii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH

A una solución de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS (9.3 g, 21.9 mmol; véase paso (vii) más arriba) en THF (60 mL) a temperatura ambiente se agregó una 1.0 M solución de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (70.0 mL, 70.0 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche bajo nitrógeno. La reacción se concentró *in vacuo*. El residuo amarillo se disolvió en Et_2O (100 mL) y hexano (100 mL) y se lavó sucesivamente con solución de cloruro de amonio saturado (2 x 150 mL) y H_2O (3 x 70 mL). La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (1:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (4.2 g, 62%) como un aceite amarillo.

R_f= 0.42 (1:1 Hex:EtOAc)

^{1} NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.91-6.95 (m. 2H), 6.75-6.81 (m, 1H), 6.51 (t,

J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.80-4.82 (m, 1H), 4.70-4.74 (m, 2H), 3.88-3.93 (m, 1H), 3.67-3.71 (m, 3H), 3.53-3.56 (m, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.96-2.99 (m, 1H).

(ix) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH

Una solución de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH (4.2 g, 13.4 mmol; véase paso (viii) más arriba) en acetona (100 mL) se agregó a una solución al 5% de $NaHCO_3$ acuoso (35 mL). Esta mezcla heterogénea agitada magnéticamente se enfrió a 0°C y se agregaron bromuro de potasio (159 mg, 1.3 mmol) y 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi, radical libre (2.2 g, 14.1 mmol). Seguidamente se agregó hipoclorito de sodio (5.25%, 30 mL) gota a gota durante un período de 20 minutos mientras la mezcla se agitaba vigorosamente y se mantenía a 0°C. Luego de 1 hora se agregó más hipoclorito de sodio (30 mL) y solución de $NaHCO_3$ al 5% (35 mL) y la agitación se continuó a 0°C durante 2 horas. La acetona se retiró *in vacuo*. La capa acuosa se lavó con Et_2O (4 x 40 mL). La capa acuosa se acidificó a pH 3.5 con ácido cítrico al 10% y se extrajo con EtOAc (4 x 50 mL). Los extractos EtOAc combinados se lavaron sucesivamente con H_2O (4 x 30 mL) y salmuera (60 mL), luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (4.3 g, 98%) como un aceite incoloro el cual se empleó sin más purificación.

R_f = 0.74 (8.0:1.5:0.5 $CHCl_3$:MeOH:Et_3N)

^{1}H NMR (300 MHz, acetona-d_6) δ 7.16-7.18 (m, 2H), 7.16 (t, J_{H-F} = 89 Hz, 1H), 7.00-7.03 (m, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.88 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 7 Hz, 1H), 3.54-3.75 (m, 2H), 3.46-3.49 (m, 2H), 3.28 (s. 3H).

(x) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.1 g, 3.4 mmol; véase paso (ix) más arriba) en DMF (20 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(Teoc)•HCl (2.0 g, 4.4 mmol), PyBOP (1.9 g, 3.7 mmol), y DIPEA (1.1 g, 8.4 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in*

vacuo y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc.-EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.3 g, 56%) como una espuma blanca triturable.

R_f= 0.65 (15:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.80-7.84 (m, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H), 6.95-7.16 (m, 3H), 6.92 y 6.88 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.28 y 5.08 (s, 1H), 5.18-5.22 y 4.70-4.78 (m, 1H), 4.50-4.75 (m, 1H), 4.30-4.49 (m, 2H), 4.21-4.26 (m, 3H), 3.97-4.08 (m, 1H), 3.35-3.72 (m, 6H), 3.30 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

(xi) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Una mezcla de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (590 mg, 0.87 mmol; véase paso (x) más arriba) y tetrabromuro de carbono (287 mg, 0.87 mmol) en 2-propanol (20 mL) se hizo refluir durante 1.5 horas. La mezcla se concentró *in vacuo*, luego se dividió en partes con H_2O (50 mL) y EtOAc (3 x 50 mL). La capa acuosa se extrajo con más EtOAc (2 x 10 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (30 mL), luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOH (15:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (60 mg, 12%) como una espuma blanca triturable.

R_f= 0.46 (15:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.74 (d, *J*= 8 Hz, 2H). 7.35-7.37 (m, 2H), 6.97-7.07 (m, 2H), 6.80-6.84 (m, 1H), 6.82 y 6.80 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.10 y 5.06 (s, 1H), 4.68-4.70 (m, 1H), 3.97-4.60 (m, 6H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 595 m/z

(xii) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.053 g, 0.089 mmol; véase paso (xi) más arriba), se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 80 minutos mientras se enfriaba en un baño helado. TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 0.042 g (80%) del compuesto del título como su sal de TFA.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.7-7.6-Cm, 2H), 7.5-7.4 (m, 2H), 7.1-6.6 (m, 4H), 5.2-5.0 (m, 1H más rotámero menor de 1H), aprox. 4.8 (rotámero mayor de señal previa oscurecida por la señal CD_3OH), 4.6-4.3 (m, 2H), 4.26 (m, 1H, rotámero mayor), 4.10 (m, 1H, rotámero mayor), 3.96 (m, 1H, rotámero menor), 3.89 (m, 1H, rotámero menor), 2.60 (m, 1H, rotámero menor), 2.44 (m, 1H, rotámero mayor), 2.19 (m, 1H, rotámero mayor), 2.05 (m, 1H, rotámero menor).
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.8, 172.0, 167.0.
ESI-MS+: (M+l) = 451 (m/z)

Ejemplo 26

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.0 g, 3.1 mmol; véase Ejemplo 25(ix) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(OMe)•2HCl (1.4 g, 4.1 mmol), PyBOP (1.8 g. 3.4 mmol), y DIPEA (1.0 g, 7.8 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc para proporcionar el compuesto del sub-título (1.5 g, 79%) como una espuma blanca triturable.

242

R_f=0.24 (EtOAc)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.58-7.62 (m, 2H), 7.32-7.38 (m, 2H), 7.03-7.16 (m, 3H), 6.92 y 6.88 (d, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.27 y 5.08 (s, 1H), 5.22-5.15 y 4.75-4.80 (m, 1H), 4.38-4.65 (m, 5H), 3.92-4.27 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.43-3.68 (m, 4H), 3.29 (s, 3H), 2.28-2.85 (m, 2H).

(ii)Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Una mezcla de Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe) (828 mg, 2.33 mmol; véase paso (i) más arriba) y tetrabromuro de carbono (525 mg, 2.33 mmol) en 2-propanol (20 mL) se hizo refluir durante 8 horas y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se dividió en partes con H_2O (70 mL) y EtOAc (50 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 25 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (35 mL), luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOH (15:1) prodividió en partes el compuesto del título (520 mg, 74%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 73-81°C

R_f= 0.43 (15:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.59 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7.32-7.37 (m, 2H), 7.05-7.14 (m, 2H), 6.87-6.92 (m, 1H), 6.90 y 6.86 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.13-5.18 y 4.75-4.85 (m, 2H), 4.15-4.45 (m, 4H), 3.81 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.0, 171.4, 153.9.

APCI-MS:(M + 1) = 481 m/z

Ejemplo 27

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

293

(i) 1,3-Dibromo-5-benciloxibenceno

Hidruro de sodio (9.9 g, 0.414 mol, 95% seco) se agregó en porciones a una solución agitada de alcohol bencílico (41.0 g, 0.394 mol) en THF (1.0 L) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 1 hora. A esta solución se agregó gota a gota 1,3-dibromo-5-fluorobenceno (100.0 g, 0.394 mol). Después de agitar durante la noche, la mezcla se dividió en partes con H_2O (600 mL) y EtOAc (4 x 600 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con hexanos prodividió en partes el compuesto del sub-título (101.3 g, 75%) como un aceite amarillo.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30-7.48 (m, 5H), 7.18 (s, 1H), 7.06 (s, 2H), 4.99 (s, 2H).

(ii) 3,5-Dibromofenol

Cloruro de aluminio (11.7 g, 87.6 mmol) se agregó en porciones a una solución de 1,3-dibromo-5-benciloxibenceno (10.0 g, 29.2 mmol; véase paso (i) más arriba) y *N,N*-dimetilanilina (35.4 g, 292 mmol) en CH_2Cl_2 (100 mL) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 30 minutos, la mezcla se dividió en partes con 1N HCl (300 mL) y EtOAc (5 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con $NaHCO_3$ saturado (150 mL) y salmuera (150 mL), luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (9:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (6.1 g, 82%) como un sólido blanco.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (s, 1H), 6.97 (s, 2H), 5.88 (bs, 1H).

(iii) 1,3-Dibromo-5-monofluorometoxibenceno

A un matraz a presión de base redonda, de 350 mL sellado, cuyo peso vacío

se determinó previamente, que contenía una suspensión de 3,5-dibromofenol (10.0 g, 39.7 mmol; véase paso (ii) más arriba) y Cs_2CO_3 (20.7 g, 63.5 mmol) en DMF (150 mL) a -78°C se agregó clorofluorometano vía borboteo durante 5 minutos a través del tabique. El tabique se reemplazó con un tapón de teflón y el matraz se selló seguidamente y se dejó calendar a temperatura ambiente cuando el matraz se pesó y se determinó que contenía 9.0 g (131 mmol) de clorofluorometano. La solución se calentó en un baño de aceite ajustado a 70°C durante la noche. El matraz se enfrió a temperatura ambiente, se liberó cautelosamente la presión y el contenido se diluyó con agua (100 mL). La capa acuosa se extrajo con Et_2O (3 x 200 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con hexanos prodividió en partes el compuesto del sub-título (7.9 g, 71%) como un sólido blanco.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40 (s, 1H), 7.18 (s, 2H), 5.67 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H).

(iv) 1 -Bromo-3-monofluorometoxi-5-vinilbenceno

Tri(butil)viniltina (10.0 g, 31.4 mmol) se agregó gota a gota a una solución de 1,3-dibromo-5-monofluorometoxibenceno (8.5 g, 29.9 mmol; véase paso (iii) más arriba), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (690 mg, 0.599 mmol), y 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (punta de la espátula) en tolueno (100 mL) bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 70°C durante 8 horas. La mezcla se enfrió a 0°C y se agregó 1N NaOH (70 mL). Tras 1 hora, la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con hexanos prodividió en partes el compuesto del sub-título (4.3 g, 57%) como un aceite incoloro.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.60 (dd, J = 6 Hz, J= 11 Hz, 1H), 5.74 (d, J= 16 Hz, 1H), 5.67 (d, J_{H-F} = 53 Hz,

2H), 5.32 (d, J=8Hz, 1H).

(v) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)CH_2OH

2-Metil-2-propanol (100 mL), H_2O (100 mL), y AD-mix-β (27.5 g) se combinaron juntos y se enfriaron a 0°C. 1-Bromo-3-monofluorometoxi-5-vinilbenceno (4.3 g, 17.3 mmol; véase paso (iv) más arriba) se agregó de una vez, y la lechada heterogénea se agitó vigorosamente a 0°C hasta que TLC reveló la ausencia del material inicial. La reacción se extinguió a 0°C mediante adición de sulfito de sodio saturado (200 mL) y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 60 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (3 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (4.9 g, 100%) como un aceite incoloro que se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.30 (s, 1H), 7.15 (s, 1H). 7.11 (s, 1H), 5.70 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 4.62-4.70 (m, 1H), 3.52-3.70 (m, 2H).
Análisis HPLC: 92.1%, 96.9% ee, Columna ChiralPak AD (95:5 Hex:EtOH fase móvil).

(vi) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)CH_2OH (4.9 g, 18,6 mmol; véase paso (v) más arriba), 4-(dimetilamino)piridina (453 mg, 3.71 mmol), y DIPEA (8.9 g, 93.0 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (200 mL) se agregó gota a gota a 1.0 M solución de cloruro de *tert*-butildimetilsililo en CH_2Cl_2 (22.3 mL, 22.3 mmol). La mezcla de reacción se agitó 10 horas a temperatura ambiente. A la mezcla se agregó DIPEA (8.9 g, 93.0 mmol) y cloruro de 2-metoxietoximetilo (13.9 g. 111 mmol) gota a gota. Tras 16 horas, se agregó más cloruro de 2-metoxietoximetilo (2.2 g) y la reacción se agitó durante la noche. La mezcla se diluyó con H_2O (100 mL), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 200 mL), luego las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y

concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (5:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (4.8 g, 55%) como un aceite incoloro.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 5.74 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 4.84 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.70-4.74 (m, 2H), 3.50-3.91 (m, 6H), 3.42 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.05 (s, 3H), 0.01 (s. 3H).

(vii) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS (4.7 g, 10.1 mmol; véase paso (vi) más arriba) en THF (100 mL) se agregó a 1.0 M solución de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (13.1 mL, 13.1 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó 1 hora. La mezcla se dividió en partes con H_2O (100 mL) y EtOAc (3 x 100 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (3.3 g, 92%) como un aceite incoloro que se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.22 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 5.71 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 4.80-4.82 (m, 1H), 4.58-4.66 (m, 2H), 3.71-3.77 (m, 1H), 3.39-3.65 (m, 5H), 3.27 (s, 3H).

(viii) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH (2.1 g, 6.0 mmol; véase paso (vii) más arriba) en acetona (40 mL) se agregó a una solución al 5% de $NaHCO_3$ acuoso (15 mL). Esta mezcla heterogénea agitada magnéticamente se enfrió a 0°C y se agregaron bromuro de potasio (70 mg, 0.60 mmol) y 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi, radical libre (976 mg, 5.8 mmol. Seguidamente se agregó hipoclorito de sodio (5.25%, 15 mL) gota a gota durante un período de 10 minutos mientras la mezcla se agitaba vigorosamente y se mantenía a 0°C. Después de 1 hora, se agregó más hipoclorito de sodio (10 mL) y solución de $NaHCO_3$ (20 mL) y se

continuó la agitación a 0°C durante 4 horas más. La acetona se retiró en un evaporador rotatorio. La capa acuosa se diluyó con solución al 10% de $NaHCO_3$ (30 mL) y se lavó con Et_2O (3 x 20 mL). La capa acuosa se acidificó a pH 3.5 con ácido cítrico al 10% y se extrajo con EtOAc (3 x 40 mL). Los extractos EtOAc combinados se lavaron con H_2O (3 x 50 mL) y salmuera (50 mL), luego se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (1.7 g, 78%) como un aceite incoloro el cual se empleó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 5.76 (d, J_{H-F} = 53 Hz. 2H), 5.21 (s, 1H), 4.83 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.75 (d, J= 7 Hz, 1H), 3.62-3.78 (m, 2H), 3.48-3.52 (m, 2H), 3.32 (s, 3H).

(ix) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)
A una solución de Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.0 g, 2.72 mmol; véase paso (viii) más arriba) en DMF (20 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(Teoc)-HCl (1.6 g, 3.5 mmol), PyBOP (1.6 g, 3.0 mmol), y DIPEA (880 mg, 6.81 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.2 g, 62%) como una espuma blanca triturable.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.80-7.84 (m, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H), 7.13-7.32 (m, 3H), 5.84-5.87 (m, 1H), 5.67-5.69 (m, 1H), 5.25 y 5.07 (s, 1H), 5.18-5.23 y 4.80-4.88 (m, 1H), 3.97-4.79 (m, 8H), 3.60-3.71 (m, 2H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

(x) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) Una mezcla de Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (347 mg, 0.478

mmol; véase paso (ix) más arriba) y tetrabromuro de carbono (159 mg, 0.478 mm l) en 2-propanol (10 mL) se hizo refluir durante 1.5 horas. La mezcla se concentró *in vacuo*, luego se dividió en partes con H_2O (20 mL) y EtOAc (3 x 30 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOH (15:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (59 mg, 19%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 81-87°C

R_f= 0.58 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.84 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7.40-7.48 (m, 2H) 7.18-7.30 (m, 3H), 5.80 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 5.21 y 5.15 (s, 1H), 5.18-5.24 y 4.80-4.88 (m, 1H), 3.98-4.54 (m, 6H), 2.10-2.70 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 637 m/z

(xi) Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.073 g, 0.11 mmol; véase paso (x) más arriba), se disolvió en 5 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 90 minutos enfriando al mismo tiempo en un baño helado. TFA se evaporó y el residuo se purificó por RPLC preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:70). Las fracciones pertinentes se evaporaron y secaron por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo para producir 49 mg (77%) del compuesto del título como su sal de acetato.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (m, 2H), 7.37 (s, 1H, rotámero mayor), 7.33 (s, 1H, rotámero menor), 7.25-7.1 (m, 2H), 5.75 (d, 2H), 5.22 (m, 1H, rotámero menor), 5.18 (s, 1H, rotámero mayor), 5.11 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.37 (m, 1H, rotámero mayor), 4.16 (m, 1H, rotámero mayor), 4.1-3.9 (m, 2H, dos señales de rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.52 (m, 1H, rotámero mayor), 2.30 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15

(m, 1H, rotámero menor), 1.89 (s, 3H).
ESI-MS+: (M+1) = 493/495 (m/z)

Ejemplo 28

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1,3-Dibromo-5-difluorometoxibenceno

A un matraz a presión de base redonda, de 350 mL, sellado, cuyo peso vacío se determinó previamente, que contenía una solución de 3,5-dibromofenol (10.0 g, 39.7 mmol; véase Ejemplo 27(ii) más arriba) en 2-propanol (100 mL) y 30% KOH (80 mL) a -78°C se agregó clorodifluorometano *vía* borboteo durante 15 minutos a través del tabique. El tabique se reemplazó con un tapón de teflón y el matraz se selló entonces y se dejó calentar a temperatura ambiente cuando el matraz se pesó y se determinó que contenía 12.0 g (138 mmol) de clorodifluorometano. La solución se hizo refluir durante la noche en un baño de aceite ajustado a 80°C. El matraz se enfrió a temperatura ambiente, se liberó cuidadosamente la presión y el contenido se diluyó con H_2O (200 mL). La capa acuosa se extrajo con $CHCl_3$ (2 x 150 mL), luego se secaron los orgánicos combinados (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante destilación de Kugelrohr a 80°C a 0.2 mm Hg para proporcionar el compuesto del sub-título (9.6 g, 80%) como un líquido claro.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.55 (s, 1H), 7.26 (s, 2H). 6.52 (t, J_{H-F} = 68 Hz, 1H).

(ii) 1-Bromo-3-diiluorometoxi-5-vinilbenceno

Tri(butilo)viniltina (10.5 g, 33.1 mmol) se agregó gota a gota a una solución de 1,3-dibromo-5-difluorometoxibenceno (9.1 g, 30.1 mmol; véase paso (i) más arriba), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (700 mg, 0.60 mmol), y 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (punta de la espátula) en tolueno (125 mL) bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 50°C durante la noche. La mezcla se enfrió

a 0°C y se agregó 1N NaOH (70 mL). Después de 1 hora, la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con hexanos prodividió en partes el compuesto del sub-título (5.1 g, 68%) como un aceite incoloro.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.53 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.60 (dd, J=6 Hz, J=11 Hz, 1H), 6.57 (t, J_{H-F} = 68 Hz, 1H), 5.77 (d, J = 11 Hz, 1H), 5.36 (d, J=8Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH

2-Metil-2-propanol (150 mL), H_2O (150 mL), y AD-mix-β (27.8 g) se combinaron juntos y se enfriaron a 0°C. Se agregó 1-bromo-3-difluorometoxi-5-vinilbenceno (4.6 g, 18.6 mmol; véase paso (ii) más arriba) de una sola vez, y la lechada heterogénea se agitó vigorosamente a 0°C hasta que TLC indicó la ausencia del material inicial, seguidamente la solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se extinguió a 0°C mediante adición de sulfito de sodio saturado (300 mL) y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 60 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (5.0 g, 95%) como un aceite incoloro el cual se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.43 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.86 (t, J_{H-F} = 75 Hz, 1H), 4.64-4.67 (m, 1H), 3.54-3.59 (m, 2H).
Análisis HPLC: 88.6%, 96.3% ee, Columna ChiralPak AD (95:5 Hex:EtOH fase móvil).

(iv) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS

A una solución de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)CH_2OH (4.9 g, 17.3 mmol; véase paso (iii) más arriba), 4-(dimetilamino)piridina (420 mg, 3.5

mmol), y DIPEA (11.2 g, 86.3 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (250 mL) se agregó gota a gota una solución 1.0 M de cloruro de *tert*-butildimetilsililo en CH_2Cl_2 (20.7 mL, 20.7 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. A la mezcla se agregó DIPEA (11.2 g, 86.3 mmol) y cloruro de 2-metoxietoximetilo (12.9 g, 104 mmol) gota a gota. Tras 3 días, se agregó más cloruro de 2-metoxietoximetilo (3.3 g) y la reacción se agitó durante la noche. La mezcla se diluyó con agua (250 mL), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 250 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (4.3 g, 51%) como un aceite incoloro.

251

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.58 (t, J_{H-F} = 75 Hz, 1H), 4.84 (d, J= 7 Hz, 1H), 4.70-4.74 (m, 2H), 3.50-3.91 (m, 6H), 3.42 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.12 (s, 3H), 0.05 (s, 3H).

(v) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH

A una solución de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OTBS (3.3 g, 6.9 mmol; véase paso (iv) más arriba) en THF (60 mL) se agregó una solución 1.0 M de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (9.0 mL, 9.0 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 45 minutos, a continuación la mezcla se dividió en partes con agua (150 mL) y EtOAc (2 x 120 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (2.5 g, 98%) como un aceite amarillo el cual se usó sin más purificación.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.35 (s, 1H), 7.21 (s. 1H), 7.08 (s, 1H). 6.83 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 4.73 (d, J= 7 Hz, 1H), 4.59-4.68 (m, 2H), 3.40-380 (m, 6H), 3.26 (s, 3H).

(vi) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH

252

Una solución de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)CH_2OH (3.0 g, 8.1 mmol; véase paso (v) más arriba) in acetona (60 mL) se agregó a una solución al 5% de $NaHCO_3$ acuoso (25 mL). Esta mezcla homogénea magnéticamente agitada se enfrió a 0°C, luego se agregaron bromuro de potasio (100 mg, 0.81 mmol) y 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi, radical libre (1.3 g, 8.5 mmol). Seguidamente se agregó hipoclorito de sodio (5.25%, 19 mL) gota a gota durante un período de 10 minutos mientras la mezcla se agitaba vigorosamente y se mantenía a 0°C. Después de 1 hora, se agregaron más hipoclorito de sodio (17 mL) y solución de $NaHCO_3$ (34 mL) y se continuó la agitación 0°C durante 4 horas más. La acetona se retiró en un evaporador rotatorio. La capa acuosa se diluyó con solución al 10% de $NaHCO_3$ (30 mL) y se lavó con Et_2O (3 x 20 mL). La capa acuosa se acidificó a pH 3.5 con ácido cítrico al 10% y se extrajo con EtOAc (3 x 40 mL). Las capas combinadas EtOAc se lavaron con H_2O (3 x 50 mL) y salmuera (50 mL), y a continuación se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título (2.1 g, 66%) como un aceite incoloro el cual se empleó sin más purificación.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.51 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.88 (t. J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.84 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.76 (d, J = 7 Hz, 1H), 3.62-3.80 (m, 2H), 3.48-3.52 (m, 2H), 3.32 (s, 3H).

(vii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (1.0 g, 2.62, mmol; véase paso (vi) más arriba) en DMF (50 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(Teoc)•HCl (1.5 g, 3.38 mmol), PyBOP (1.5 g, 2.9 mmol), y DIPEA (840 mg, 6.50 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOH (15:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.1 g, 59%) como una espuma blanca triturable.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.79-7.83 (m, 2H), 7.26-7.52 (m, 5H), 6.94 y 6.91 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.27 y 5.07 (s. 1H), 5.20-5.23 y 4.80-4.88 (m, 1H), 4.01-4.79 (m. 8H), 3.60-3.71 (m, 2H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

(viii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Una mezcla de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (369 mg, 0.496 mmol; véase paso (vii) más arriba) y tetrabromuro de carbono (165 mg, 0.496 mmol) en 2-propanol (10 mL) se hizo refluir durante 12 horas. La mezcla se concentró *in vacuo*, luego se dividió en partes con H_2O (15 mL) y EtOAc (5 x 20 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOH (15:1) prodividió en partes el compuesto del sub-título (134 mg, 41%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 92-98°C

R_f= 0.37 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.80-7.86 (m, 2H), 7.40-7.48 (m, 2H) 7.10-7.33 (m, 3H), 6.92 y 6.88 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.18 y 5.11 (s, 1H), 5.18-5.24 y 4.76-4.80 (m, 1H), 3.98-4.54 (m, 6H), 2.10-2.70 (m,2H), 1.05-1.11 (m, 2H), 0.08 (s, 9H).

APCI-MS: (M + 1) = 655 m/z

(ix) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.081 g, 0.124 mmol; véase paso (viii) más arriba), se disolvió en 5 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 80 minutos enfriando al mismo tiempo en un baño helado. TFA se evaporó y el residuo se purificó mediante RPLC preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:70). Las fracciones pertinentes se evaporaron y secaron por congelamiento a partir de agua/acetonitrilo

para producir 59 mg (83%) del compuesto del título como su sal de acetato.

^{1}H-NMR (300 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.6-7.4 (m, 3H), 7.3-7.2 (m, 2H), 6.89 (t, 1H, rotámero mayor), 6.87 (t, 1H, rotámero menor), 5.23 (m, 1H, rotámero menor), 5.21 (s, 1H, rotámero mayor), 5.13 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.38 (m, 1H, rotámero mayor), 4.20 (m, 1H, rotámero mayor), 4.1-3.9 (m, 2H, dos señales de rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.54 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor), 1.89 (s, 3H).

^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.0, 171.7, 167.0.
MS (m/z) 511/513 $(M + 1)^+$

Ejemplo 29
Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)
A una solución de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)OH (957 mg, 2.48 mmol; véase Ejemplo 28(vi) más arriba) en DMF (30 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó HAze-Pab(OMe)•2HCl (1.1 g, 3.2 mmol), PyBOP (1.4 g, 2.7 mmol), y DIPEA (804 mg, 6.2 mmol). La reacción se agitó a 0°C durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se cromatografió dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $CHCl_3$:EtOH (9:1) y segundo con EtOAc:EtOH (15:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.1 g, 72%) como una espuma blanca triturable.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.59-7.65 (m, 2H), 7.20-7.55 (m. 5H), 6.95 y 6.91 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.27 y 5.07 (s, 1H), 5.18-5.23 y 4.75-4.84 (m, 1H), 3.87-4.89 (m, 6H), 3.84 (s, 3H), 3.60-

3.71 (m, 2H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.10-2.75 (m, 2H).

(ii) Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Una mezcla de Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe) (1.1 g, 1.8 mmol; véase paso (i) más arriba) y tetrabromuro de carbono (583 mg, 1.8 mmol) en 2-propanol (30 mL) se hizo refluir durante 2.5 días. Durante este tiempo, se agregó más tetrabromuro de carbono (5 porciones de 50 mg a intervalos para un 0.90 mmol adicional) para garantizar la conclusión de la reacción. La mezcla se concentró *in vacuo,* luego se dividió en partes con H_2O (50 mL) y EtOAc (5 x 25 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron *in vacuo.* Cromatografía de destello en gel de sílice eluyendo con $CHCl_3$:EtOH (15:1) prodividió en partes el compuesto del título (460 mg, 50%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 71-75°C

R_f= 0.63 (9:1 $CHCl_3$:EtOH)

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla compleja de rotámeros) δ 7.59 (d. *J*= 8 Hz, 2H), 7.20-7.54 (m, 5H), 6.90 y 6.87 (t, J_{H-F} = 73 Hz, 1H), 5.18, y 5.11 (s, 1H), 4.76-4.80 (m, 1H), 3.98-4.54 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 2.10-2.70 (m,2H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.5, 172.1, 171.6, 154.1.

APCI-MS: (M + 1) = 542 m/z

Ejemplo 30

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (véase Solicitud de Patente Internacional WO 97/02284, 92 mg, 0.197 mmol) se disolvió en 10 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante 10 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se mezcló con Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.188

256

mmol; véase Ejemplo 17(v) más arriba), PyBOP (109 mg, 0.209 mmol) y finalmente diisopropiletil amina (96 mg, 0.75 mmol) en 2 mL de DMF. La mezcla se agitó durante 2 horas y luego se vertió en 50 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc:MeOH (9:1). Rendimiento: 100 mg (87%).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros) δ 7.85-7.75 (m, 2H), 7.45-7.25 (m, 7H), 7.11 (m, 1H, rotámero mayor), 7.08 (m, 1H, rotámero menor), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.13 (bt, 1H), 5.25-5.05 (m, 3H), 4.77 (m, 1H. parcialmente oculto por la señal CD_3OH), 4.5-3.9 (m, 7H), 2.64 (m, 1H, rotámero menor), 2.47 (m, 1H, rotámero mayor), 2.25 (m, 1H, rotámero mayor), 2.13 (m, 1H, rotámero menor)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Clorhidrato de hidroxilamina (65 mg, 0.94 mmol) y trietilamina (0.319 g, 3.16 mmol) se mezclaron en 8 mL de THF y sonicaron durante 1 hora a 40°C. Se agregó Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0.156 mmol; véase paso (i) más arriba) con 8 mL más de THF. La mezcla se agitó a 40°C durante 4.5 días. El solvente se evaporó y el producto crudo se purificó mediante RPLC preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAC (40:60). Rendimiento: 30 mg (38%). Pureza: 99%.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros) δ 7.6-7.55 (m, 2H), 7.35-7.3 (m, 2H), 7.12 (m, 1H, rotámero mayor), 7.09 (m, 1H, rotámero menor), 7.05-6.9 (m, 2H), 6.15 (triplete de multipletes, 1H), 5.15 (m, 1H, rotámero menor), 5.13 (s, 1H, rotámero mayor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 4.77 (m, 1H, rotámero mayor), 4.5-4.2 (m, 5H), 4.08 (m, 1H, rotámero mayor), 3.97 (m, 1H, rotámero menor), 2.66 (m, 1H, rotámero menor), 2.50 (m, 1H rotámero mayor), 2.27 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 172.8, 172.2, 171.4, 159.1, 158.9, 154.2.
APCI-MS: (M + 1)$^+$ 497/499 m/z

Ejemplo 31

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (130 mg, 0.279 mmol) se disolvió en 15 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante 10 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se mezcló con Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)-C(O)OH (63 mg, 0.188 mmol; véase Ejemplo 21(v) más arriba) en 3 mL de DMF, PyBOP (147 mg, 0.279 mmol) y finalmente diisopropiletil amina (134 mg, 1.03 mmol). La mezcla se agitó durante 130 minutos y luego se vertió en 75 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc/MeOH = 95/5. Rendimiento: 119 mg (79%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (bt, 1H), 7.67 (d, 2H), 7.45-7.25 (m, 5H), 7.18 (d, 2H), 6.89 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.76 (m. 1H), 5.16 (s, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.66 (doblete de multipletes, 2H), 4.4-4.3 (m, 2H), 4.10 (doblete de multipletes, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.28 (m, 1H).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Clorhidrato de hidroxilamina (80 mg, 1.16 mmol) y trietilamina (0.392 g, 3.87 mmol) se mezclaron en 9 mL de THF y se sonicaron durante 1 hora a 40°C. Se agregó Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0.156 mmol; véase paso (i) más arriba) con 9 mL más de THF. La mezcla se agitó a 40°C durante 48 horas y 3 días a temperatura ambiente. El solvente se evaporó y el producto crudo se purificó mediante RPLC

preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:70). Rendimiento: 72 mg (78%). Pureza: 100%.

258

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD mezcla de rotámeros) δ 7.6-7.55 (m, 2H), 7.35-7.25 (m, 4H), 7.07 (m, 1H, rotámero mayor), 7.04 (m, 1H, rotámero menor), 7.0-6.9 (M, 2h), 5.12 (m, 1H, rotámero menor), 5.08 (s, 1H, rotámero menor), 5.04 (s, 1H), 4.78 (m, 1H, rotámero mayor), 4.68 (doblete de multipletes, 2H), 4.5-4.25 (m, 3H), 4.20 (doblete de multipletes, 2H) 4.06 (m, 1H, rotámero mayor), 3.97 (m, 1H, rotámero menor), 2.65 (m, 1H, rotámero menor), 2.48 (m, 1H rotámero mayor), 2.27 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 172.3, 171.5, 159.8, 154.3
APCI-MS: (M + 1) = 479/481 m/z

Ejemplo 32

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab

(i) Boc-Pro-Pab(Teoc)

Boc-Pro-Pab(Z) (véase Solicitud de Patente Internacional WO 97/02284, 15.0 g, 0.0321 mol) se disolvió en 150 mL de etanol y se agregó 200 mg 10% Pd/C (50% humedad). La mezcla se agitó e hidrogenó a presión atmosférica durante 2 horas, se filtró a través de Hyflo y se concentró.

El producto se usó sin más purificación. De este producto se tomaron 10 g (0.029 mol), que se disolvieron en 300 mL de THF. Se agregó carbonato de Teoc-*p*-nitrofenilo (10 g, 0.035 mol). Se agregó una solución de carbonato de potasio (5.2 g, 0.038 mol) en 50 mL de agua durante 3 minutos y la solución resultante se agitó durante 3 días, se concentró y el residuo se extrajo con EtOAc tres veces. La capa orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice usando cloruro de metileno:acetona (4:1).

Rendimiento: 9.8 g (69 %).

259

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(Teoc)

Boc-Pro-Pab(Teoc) (107 mg, 0.218 mmol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 10 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante 10 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se mezcló con Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.198 mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba) en 3 mL de DMF, PyBOP (115 mg, 0.218 mmol) y finalmente diisopropiletil amina (104 mg, 0.80 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas y luego se vertió en 75 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5). Rendimiento: 89 mg (72%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.54 (bt, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.12 (m, 1H), 7.08 (d, 2H), 7.02 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 6.50 (t, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.35-4.15 (m, 3H), 3.59 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 2.1-1.7 (m, 4H), 1.06 (m, 2H), 0.04 (s, 9H).

(iii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(Teoc) (85 mg, 0.136 mmol; véase paso (ii) más arriba) se disolvió en 1 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. Se agregó TFA (4 mL) y la reacción se agitó durante 90 minutos. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo. Rendimiento: 79 mg (92%). Pureza: 94%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros) δ 7.85-7.7 (m, 2H), 7.58 (d, 2H, rotámero mayor), 7.47 (d, 2H, rotámero menor), 7.35 (m, 1H, rotámero mayor), 7.27 (m, 1H, rotámero menor), 7.2.7.1 (m, 2H), 6.88 (t, 1H), 5.38 (s, 1H, rotámero mayor), 5.22 (s, 1H, rotámero menor), 4.58 (d, 1H). 4.5-4.2 (m, 2H), 3.8-3.5 (m, 1H). 3.35 (m, 1H), 2.2-1.8 (m, 4H).

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.6, 171.1, 167.0.

APCI-MS: (M + 1) = 481/483 m/z

Ejemplo 33

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)

(i) 4-Azidometil-N-metoxi-benzamidina

4-Azidometilbenzonitrilo (17.3 g, 0.109 mol; Nishiyama *y colaboradores; Chem. Lett.* (1982) 1477) se disolvió en 500 mL de tolueno y 200 mL de etanol absoluto. La solución se enfrió a -10°C y HCl(g) se borbotó a través de ella hasta saturación. La mezcla se guardó en el refrigerador durante 2 días cuando la mayoría de los solventes se evaporaron. Se agregó éter dietílico y se decantó. El producto se re-disolvió en una solución de O-metilhidroxil amina (10.5 g, 0.125 mol) y trietil amina (56 mL) en 200 mL de metanol. La mezcla se dejó reposar durante 3 días de donde se evaporó el metanol con adición de EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, HOAc diluido y bicarbonato de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4) y diluyó con más EtOAc a un volumen total de 500 mL. Una muestra de 25 mL se evaporó a sequedad. El residuo fue 932 mg. Rendimiento total: 18.6 g (83%).

(ii) 4-Aminometil-N-metoxi-benzamidina

A una solución de 4-azidometil-N-metoxi-benzamidina (11.3 g, 0.055 mol; véase paso (i) más arriba) en 200 mL de etanol se agregaron 200 mg de PtO. La mezcla se hidrogenó con borboteo constante de hidrógeno durante 4 horas y, posteriormente, se filtró a través de Celite® y se evaporó. Rendimiento: 7.34 g (74%).

(iii) Boc-Pro-Pab(OMe)

A una suspensión de Boc-Pro-OH (9.7 g, 0.045 mol), 4-aminometil-N-metoxi-benzamidina (7.34 g, 0.041 mol; véase paso (ii) más arriba) y

dimetilaminopiridina (7.8 g, 0.064 mol) en 300 mL de acetonitrilo se agregó base EDC (11.7 mL, 0.068 mol). La mezcla se agitó durante 18 horas, se concentró y dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, bicarbonato de sodio acuoso, se secó ($MgSO_4$) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc. Rendimiento: 9.73 g (63%).

(iv) H-Pro-Pab(OMe) x 2 HCl

Boc-Pro-Pab(OMe) (9.7 g, 0.026 mol; véase paso (iii) más arriba) se disolvió en 250 mL de EtOAc. La solución helada se saturó con HCl(g) por borboteo durante 5 minutos. El producto se precipitó inmediatamente y se agregaron 125 mL de etanol absoluto. La mezcla se sonicó hasta que la mayor parte del material se hubiera solificado. Se agregó éter dietílico (200 mL) y se filtró la suspensión. Unos cuantos terrones que no se habían solidificado se trataron nuevamente con etanol absoluto y éter dietílico. El sólido se secó. Rendimiento: 7.57 g (86%).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.74 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.38 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.45-3.3 (m, 2H), 2.50 (m, 1H), 2.15-2.0 (m, 3H)

(v) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)

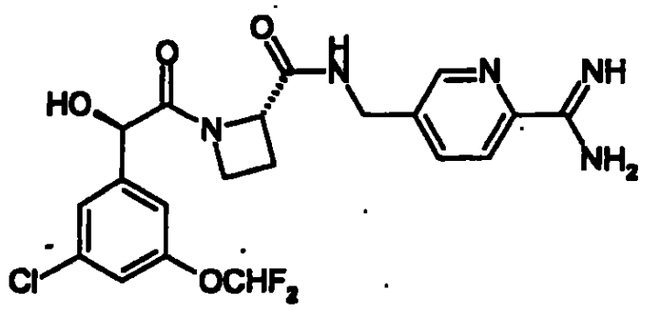
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.198 mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba), H-Pro-Pab(OMe) (76 mg, 0.218 mmol, véase paso (iv) más arriba) y PyBOP (115 mg, 0.218 mmol) se disolvieron en 2 mL de DMF. Se agregó diisopropiletil amina (104 mg, 0.80 mmol) y la mezcla se agitó durante 2.5 horas. La mezcla se vertió en 50 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El residuo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5). Rendimiento: 37 mg (36%). Pureza: 98%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD mezcla de rotámeros) δ 7.60 (d, 2H, rotámero mayor), 7.57 (d, 2H, rotámero menor), 7.4-7.1 (m, 5H), 6.89 (t, 1H, rotámero mayor), 6.87 (t, 1H, rotámero menor), 5.35 (s, 1H, rotámero mayor), 5.21 (s, 1H, rotámero menor), 4.72 (m, 1H, rotámero menor), 4.5-4.35 (m, 1H y 2H, rotámero mayor), 4.3-4.25 (m, 2H, rotámero menor), 3.814 (s, 3H, rotámero mayor), 3.807 (s, 3H, rotámero menor), 3.75-3.5 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.2-1.8(m,4H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 173.3, 173.2, 171.3, 171.0, 153.9, 152.4
APCI-MS:(M + 1)= 511/513 m/z

Ejemplo 34

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-piridinilo)



(i) Ácido 6-Cianonicotínico

A una solución de N-óxido de ácido nicotínico (51 g, 0.37 mol) en 1.2 L de DMF, se agregó NaCN (54 g, 1.1 mol), seguido por trietilamina (255 mL, 1.83 mol) y TMSCl (185 mL). La mezcla de reacción se agitó a 110°C durante 10 horas, se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en 100 mL de 2N HCl y se extrajo con cloruro de metileno. Las capas orgánicas se combinaron, se concentraron y recristalizaron a partir de agua para producir 12 g (22%) del producto.

(ii) 5-(Hidroximetil)piridina-2-carbonitrilo

A una solución de ácido 6-cianonicotínico (12g, 0.081 mol; véase paso (i)

más arriba) en THF a 0°C, se agregó Et_3N (12.4 mL, 0.0892 mol) seguido por cloroformato de etilo (8.53 mL, 0.0892 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos y se agregó $NaBH_4$ (6.14 g, 0.162 mol). Seguidamente la mezcla se agitó a RT durante la noche, se extinguió con agua y se extrajo con cloruro de metileno. La capa orgánica se concentró y purificó por cromatografía de columna para producir 4g (20%) del alcohol.

(iii) 5-(Azidometil)piridina-2-carbonitrilo

5-(Hidroximetil)piridina-2-carbonitrilo (4 g, 0.03 mol; véase paso (ii) más arriba) se disolvió en 25 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. Se agregaron gota a gota cloruro de mesilo (2.32 mL, 0.0300 mol) y luego trietilamina (4.6 mL, 0.033 mol). La mezcla de reacción se agitó y luego de un desarrollo el mesilato crudo y se trató con NaN_3 (7.35 g,,0.113 mol) en 20 mL de DMF. La mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 2 horas, se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se concentró para producir 3.95g (83%) de la azida cruda.

(iv) 5-(*tert*-Butoxicarbonilaminometil)piridina-2-carbonitrilo

A una solución de 5-(azidometil)piridina-2-carbonitrilo (3.95 g, 0.0248 mol; véase paso (iii) más arriba) en 30 mL de THF y 10 mL de agua, se agregó trifenil fosfina (7.8 g, 0.0298 mol) y el resultante se agitó durante 24 horas. A continuación, se agregó trietilamina (3.8 mL, 0.027 mol), seguido por anhídrido Boc (5.4 g, 0.025 mol) y agitación durante 2 horas. La mezcla de reacción se dividió en partes entre agua y acetato de etilo. La capa orgánica se concentró y purificó por cromatografía de columna para producir 2.1 g (36%) del compuesto del sub-título.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.6 (s, 1H), 8.0 (d, 1H), 8.9 (d, 1H), 4.1 (m, 2H), 1.4 (s, 9H)

(v) 5-(Aminometil)piridina-2-carbonitrilo x 2 HCl

5-(*tert*-Butoxicarbonilaminometil)piridina-2-carbonitrilo (0.200 g, 0.86

mmol, véase paso (iv) más arriba) se disolvió en 10 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se agitó durante 30 minutos. El solvente se evaporó y se obtuvo 0.175 g (99%) del compuesto del sub-título como su sal diclorhidrato.

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.79 (s, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.05 (d, 1H), 4.38 (s, 2H)

(vi) Boc-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN)

A una mezcla de 5-(aminometil)piridina-2-carbonitrilo x 2 HCl (0.175 g, 0.85 mmol; véase paso (v) más arriba), Boc-Aze-OH (0.201 g, 1.00 mmol) y TBTU (0.321 g, 1.00 mmol) en 5 mL de DMF se agregó dimetilaminopiridina (0.367 g, 3.00 mmol). La mezcla se agitó durante la noche y, posteriormente, se vertió en agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con bicarbonato de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo empezó a cristalizar y se empleó como tal en el siguiente paso. Rendimiento: 0.23 g (73%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.66 (s, 1H), 8.2-7.8 (amplio, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.67 (d, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.65-4.5 (m, 2H), 3.94 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 2.6.2.35 (m, 2H), 1.8 (amplio, 1H), 1.45 (s, 9H)

(vii) H-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) x 2 HCl

Boc-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) (0.23 g, 0.73 mmol; véase paso (vi) más arriba) se disolvió en 10 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se agitó durante 30 minutos. El solvente se evaporó y se obtuvo 0.21 g (100%) del compuesto del sub-título como su sal de diclorhidrato.

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.64 (s, 1H), 8.0-7.9 (m, 2H), 5.19 (m, 1H), 4.65-4.55 (m, 2H), 4.20 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.64 (m, 1H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN)

A una mezcla de H-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) x 2 HCl (0.206 g, 0.713 mmol; véase paso (vii) más arriba), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.180 g, 0.713 mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba) y PyBOP (0.408 g, 0.784 mmol) en 5 mL de DMF se agregó dimetilaminopiridina (0.367 g, 3.00 mmol). La mezcla se agitó durante la noche y, posteriormente, se vertió en agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con bicarbonato de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo que se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc arrojó un producto puro. Rendimiento: 0.197 g (61%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.63 (m, 1H), 8.22 (bt, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.67 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 6.56 (t, 1H), 4.97 (bd, 1H), 4.92 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.40 (bd, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 1.92 (s, 1H) APCI-MS: (M + 1) = 451/453 m/z

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-piridinilo) x HOAc

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-5-Py(2-CN) (0.200 g, 0.444 mmol; véase paso (viii) más arriba), acetato de amonio (1.00 g, 0.0130 mol) y N-acetilcisteína (2.00 g, 0.0122 mol) en 10 mL de metanol se calentó a 50°C durante 2 días. RPLC preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (30:79) y corriendo las fracciones apropiadas nuevamente con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (5:95 - 40:60) produjo 60 mg (26%) del compuesto puro del título como su sal de acetato luego de secar por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo. Pureza: 100%.

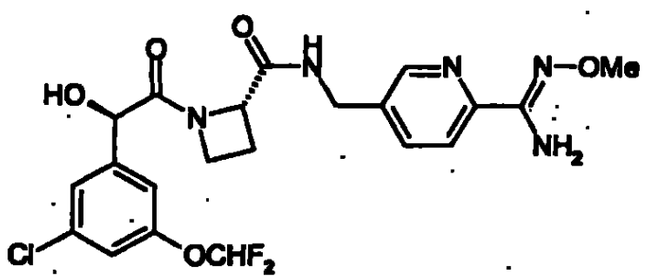
^{1}H NMR (500 MHz, D_2O, mezcla de rotámeros) δ 8.68 (s, 1H, rotámero mayor), 8.62 (s, 1H, rotámero menor), 8.05-7.9 (m, 2H), 7.33 (m, 1H, rotámero), 7.27 (m, 1H, rotámero), 7.22 (m, 1H, rotámero), 7.17 (m, 1H,

rotámero), 7.01 (m, 1H, rotámero), 6.84 (t, 1H), 5.32 (s, 1H, rotámero mayor). 5.20 (m, 1H, rotámero menor), 5.13 (s, 1H, rotámero menor), 4.88 (m, 1H, rotámero mayor), 4.65-4.55 (m, 2H, rotámero mayor), 4.45-4.35 (m, 1H, rotámero más 1H, rotámero menor), 4.31 (d, 1H, rotámero menor), 4.2-4.05 (m, 1H más 1H, rotámero), 2.80 (m, 1H, rotámero menor), 2.61 (m, 1H, rotámero mayor), 2.33 (m, 1H, rotámero mayor), 2.24 (m, 1H, rotámero menor), 1.93 (s, 3H)

^{13}C-NMR (100 MHz; D_2O): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 181.6, 173.3, 172.7, 172.6, 172.3, 162.6, 162.3
APCI-MS: (M + 1) = 468/470 m/z

Ejemplo 35

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2((2-metoxiamidino)-5-piridinilo)



(i) Boc-NH-CH_2-[(2-(amino(hidroxilimino)metil))-5-piridinilo]

5-(*tert*-Butoxicarbonilaminometil)piridina-2-carbonitrilo (1.00 g, 4.29 mmol; véase Ejemplo 34(iv) más arriba) se disolvió en 10 mL de etanol y se agregaron clorhidrato de hidroxilamina (0.894 g, 0.0129 mol) y trietil amina (1.30 g, 0.0129 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 días. La mezcla se dividió en partes entre agua y cloruro de metileno. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 0.96 g (84%).

^{1}H NMR (400 MHz, acetona-d_6) δ 9.01 (bs, 1H), 8.50 (bs, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.70 (m, 1H), 6.58 (amplio, 1H), 5.70 (amplio, 2H), 4.31 (d, 2H), 1.41

(s, 9H)

(ii) Boc-Aze-NH-CH_2-(2-(amidino)-5-piridinilo) x HOAc

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito en Judkins *y colaboradores, Synth. Comm.* (1998) 4351. Una suspensión de Boc-NH-CH_2-[(2-(amino(hidroxilimino)metil))-5-piridinilo] (0.910 g, 3.42 mmol; véase paso (i) más arriba), anhídrido acético (0.35 mL, 3.7 mmol) y 0.35 g de 10% Pd/C (50% humedad) en 100 mL de ácido acético se hidrogenó a una presión de 5 atmósferas durante 5 horas. La mezcla se filtró a través de Celita y se concentró. El residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo para producir 0.97 g (92%) del compuesto del sub-título.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.74 (s, 1H), 8.12 (d. 1H). 7.98 (d, 1H), 4.38 (s, 2H), 1.92 (s. 3H), 1.46 (s, 9H)

(iii) Boc-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)

A una suspensión de Boc-NH-CH_2-(2-(amidino)-5-piridinilo) x HOAc (0.96 g, 3.1 mmol; véase paso (ii) más arriba) en 75 mL de THF se agregó una solución de carbonato de potasio (1.07 g, 7.7 mmol) y carbonato de Teoc-*p*-nitrofenilo (1.14g, 4.02 mmol) en 15 mL de agua. La mezcla se agitó durante la noche. Se agregó un exceso de glicina y carbonato de potasio, y la reacción se continuó durante 2 horas. El THF se evaporó y el residuo se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.31 (amplio, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.41 (d, 1H), 8.35 (amplio, 1H), 7.74 (d, 1H), 4.97 (amplio, 1H), 4.39 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.14 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(iv) H_2N-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) x 2 HCl

Boc-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) (0.23 g,

0.58 mmol; véase paso (iii) más arriba) se disolvió en 25 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se agitó durante 30 minutos. El solvente se evaporó y el producto se usó sin más purificación. Rendimiento: 0.21 g (98%).

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.89 (s, 1H), 8.25 (s, 2H), 4.55 (m, 2H), 4.42 (s, 2H), 1.20 (m, 2H), 0.09 (s, 9H)

(v) Boc-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)
A una solución de H_2N-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) x 2 HCl (0.21 g, 0.57 mmol; véase paso (iv) más arriba), Boc-Aze-OH (0.127 g, 0.631 mmol), y TBTU (233 mg. 0.726 mmol) en 5 mL de DMF se agregó dimetilaminopiridina (269 mg, 2.20 mmol). La mezcla se agitó durante la noche, se vertió en 100 mL de agua y se extrajo con EtOAc, tres veces. La fase orgánica combinada se lavó con bicarbonato de sodio acuoso y agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc para producir 170 mg (56%) del producto deseado.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.33 (amplio, 1H). 8.54 (s, 1H). 8.41 (d, 1H), 8.36 (amplio, 1H), 7.75 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 4.56 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 3.93 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 2.6-2.4 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.14 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(vi) H-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) x 2 HCl
Boc-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) (170 mg, 0.356 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en 25 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se agitó durante 30 minutos. El solvente se evaporó y el producto se usó sin más purificación. Rendimiento: 160 mg (100%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 9.00 (m, 1H), 8.84 (m, 1H), 8.23 (d, 2H), 8.10 (m, 1H), 5.09 (m, 1H), 4.7-4.6 (m, 2H), 4.51 (m, 2H), 4.14 (m, 1H),

3.97 (m, lH),2.86(m, 1H), 2.58 (m, 1H), 1.22 (m, 2H), 0.11 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)

A una solución de H-Aze-NH-CH_2-(2-(amino(trimetilsililetilimino)-metil)-5-piridinilo) x 2 HCl (160 mg, 0.462 mmol; véase paso (vi) más arriba), Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (131 mg, 0.462 mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba) y PyBOP (263 mg, 0.505 mmol) en 5 mL de DMF se agregó diisopropiletil amina (0.30 mL, 1.71 mmol). La mezcla se agitó durante la noche, se vertió en 100 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con bicarbonato de sodio acuoso y agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5) para producir 148 mg (52%) del producto deseado.

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(metoxi-amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)

Una suspensión de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(metoxiamino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) (148 mg, 0.242 mmol; véase paso (vii) más arriba) y O-metilhidroxil amina (202 mg, 2.42 mmol) en 10 mL de acetonitrilo se calentó a 70°C durante 3 horas. La mezcla se dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El material crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5) para producir 44 mg (28%) de material puro.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.55 (m, 1H), 8.05 (bt, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.50 (t, 1H), 4.92 (s. 1H), 4.89 (m, 1H), 4.55-4.45 (m, 2H), 4.38 (amplio, 1H), 4.2-4.1 (m, 3H), 4.00 (s, 3H), 3.73 (m. 1H), 2.69 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 0.97 (m, 2H). 0.02 (s, 9H)

270

(ix) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-metoxi-amidino)-5-piridinilo)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-(2-(metoxiamino(tri-metilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) (44 mg, 0.069 mmol; véase paso (viii) más arriba) se disolvió en 2 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 1 hora. El TFA se evaporó y el residuo se dividió en partes entre EtOAc y bicarbonato de sodio acuoso. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 30 mg (88%). Pureza: >95%.

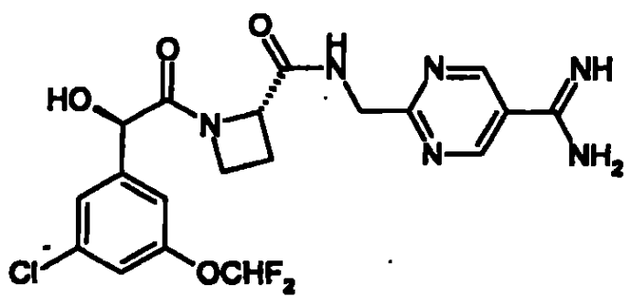
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.44 (m, 1H), 8.03 (bt, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.19 (m, 1H);7.13 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 5.6-5.45 (amplio, 2H), 4.90 (s, 1H), 4.89 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.27 (amplio, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.92 (s, 3 H), 2.68 (m, 1H), 2.41 (m, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; $CDCl_3$): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.0, 170.9, 152.6

APCI-MS: (M + 1) = 498/500 m/z

Ejemplo 36

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pirimidinilo)



(i) 2-Amino-2-iminoetilcarbamato•AcOH

N-Boc-aminoacetonitrilo (40.2 g, 257.4 mmol) y *N*-acetilcisteína (42.0 g, 257.4 mmol) se disolvieron en metanol (300 mL) a 60°C y se hizo pasar amonio a través de ellos durante 18 horas. El solvente se retiró *in vacuo*.

Después de cromatografía de intercambio de iones (Amberlite IRA-400 (AcOH)) y recristalización a partir de acetona, se obtuvieron 28.4 g (53%) del compuesto del sub-título como un sólido blanco.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 4.41 (t. J = 4.9 Hz, 1H), 4.01 (s, 2H), 2.91 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 2.01 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)

(ii) Perclorato de 1,3-Bis(dimetilamino)-2-cianotrimetinio

Una solución de 3-dimetilaminoacrilonitrilo (25.0 g, 260.0 mmol) en cloroformo (75 mL) se agregó gota a gota a una solución de cloruro de (clorometileno)dimetilamonio (50.0 g, 390.1 mmol) en cloroformo (175 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó 2 horas más a 0°C, luego se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche, posteriormente se calentó durante 8 horas bajo reflujo. El solvente se retiró *in vacuo*. El residuo se agregó a una mezcla de perclorato de sodio (110 g, 0.898 mmol) en agua (150 mL) y etanol (300 mL). La mezcla se calentó bajo reflujo durante 15 minutos, luego se enfrió y se dejó reposar durante la noche en un refrigerador. El precipitado se recogió y se recristalizó a partir de etanol para producir 23.8 g (52%) del compuesto del sub-título como agujas incoloras.

mp: 140-141°C

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.24 (s, 2H), 3.59 (s, 6H), 3.51 (s, 6H)

(iii) Boc-NH-CH_2-(5-ciano)-2-pirimidina

Una mezcla de *t*-butil 2-amino-2-iminoetilcarbamato•AcOH (5.0 g, 23.8 mmol; véase paso (i) más arriba) y perclorato de 1,3-bis(dimetilamino)-2-cianotrimetinio (6.0 g, 23.8 mmol; véase paso (ii) más arriba) en piridina (300 mL) se agitó bajo nitrógeno a 70-75 °C durante 16 horas y luego se calentó bajo reflujo durante 6 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el solvente se retiró *in vacuo*. El residuo se extrajo con una mezcla caliente (1:1) de acetato de etilo y cloroformo, se filtró a través de

una pequeña almohadilla de sílice, y se concentró para producir el producto crudo. Cromatografía de destello en sílice eluyendo con cloroformo produjo 4.0 g (71%) del compuesto del título como un aceite incoloro, que se solidificó al reposar.

mp: 86-87 °C

R_f= 0.77 (sílice, 3:2 Acetato de etilo/Cloroformo)

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 9.25 (s, 2H), 7.39 (bt. 1H), 4.39 (d, J = 6 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H).

^{13}C NMR (750 MHz, DMSO-d_6) δ 170.4, 160.3, 155.8, 115.2, 106.9, 80.0, 46.3, 28.1

APCI-MS: (M + 1) = 235 m/z

(iv) Boc-Aze-NH-CH_2-((5-ciano)-2-pirimidinil)

Boc-NH-CH_2-(5-ciano)-2-pirimidina (1.14 g, 4.87 mmol; véase paso (iii) más arriba) se disolvió en 50 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante 1 hora y se concentró. El residuo se disolvió en 20 mL de DMF y se enfrió en un baño helado. Se agregaron diisopropiletil amina (3.5 mL, 0.020 mol), Boc-Aze-OH (1.08 g, 5.37 mmol) y HATU (2.80 g, 5.38 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó y el producto se purificó mediante RPLC preparativa usando CH_3CN:0.1M NH_4OAc (40:60). El acetonitrilo se evaporó y la capa acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se secó ($MgSO_4$) y se evaporó. Rendimiento: 1.12 g (72%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.95 (s, 2H), 4.82 (d, 2H), 4.74 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 2.6-2.4 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)

(v) Boc-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pirimidinilo) x HOAc

Una solución de Boc-Aze-NH-CH_2-((5-ciano)-2-pirimidinilo) (0.83 g, 2.6 mmol; véase paso (iv) más arriba), N-acetilcisteína (0.43 g, 2.6 mmol) y

acetato de amonio (0.60 g, 7.8 mmol) en 10 mL de metanol se calentó a 60°C bajo nitrógeno durante 2 días. El solvente se evaporó y el material crudo se purificó mediante RPLC preparativa usando una gradiente de CH_3CN:0.1M NH_4OAc (5:95 a 100:0). Las fracciones de interés se secaron por congelamiento para producir 1.0 g (93%) del material deseado.

^1H NMR (300 MHz, D_2O, señales oscurecidas por la señal HDO) δ 9. 17 (s, 2H), 4.1-3.9 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.29 (m, 1H), 1.93 (s, 3H), 1.44 (s, 9H)

(vi) Boc-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimetilsililetilimino)metil))-2-pirimidinilo]

A una suspensión de Boc-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pirimidinilo) x HOAc (0.95 g, 2.41 mmol; véase paso (v) más arriba) en 50 mL de THF se agregó una solución de carbonato de Teoc-*p*-nitrofenilo (0.85 g, 3.0 mmol) y carbonato de potasio (1.0 g, 7.2 mmol) en 10 mL de agua. La mezcla se agitó durante 24 horas, se concentró y dividió en partes entre agua y cloruro de metileno. La capa orgánica se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso saturado, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice con heptano:EtOAc (1:1). Rendimiento: 1.04 g (90%).

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.16 (s, 2H), 4.80 (d, 2H), 4.73 (m, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.0-3.8 (m, 2H), 2.6-2.4 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.12 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-r(5-(amino(trimetilsililetilimino)metil))-2-pirimidinilo]

Boc-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimetilsililetilimmo)metil))-2-pirimidinilo] (0.209 g, 0.437 mmol; véase paso (vi) más arriba) se disolvió en 25 mL de EtOAc saturado con HCl(g) y se dejó reaccionar durante15 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se disolvió en 4 mL de DMF. Se agregaron

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.100 g, 0.396 mmol; véase Ejemplo I(viii) más arriba), PyBOP (0.231 g, 0.444 mmol) y diisopropiletil amina (0.208 g, 1.61 mmol), y la mezcla se agitó durante 80 minutos. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se purificó mediante RPLC preparativa usando CH_3CN:0.1M NH_4OAc (1:1). Rendimiento: 63 mg (26%).

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$. mezcla de rotámeros) δ 9.3 (amplio, 1H), 9.03 (s, 2H, rotámero menor), 9.00 (s, 2H, rotámero mayor), 8.25 (m, 1H, rotámero mayor), 7.9 (amplio, 1H), 7.80 (m, 1H, rotámero menor), 7.2-6.9 (m, 3H), 6.50 (t, 1H), 5.14 (s, 1H, rotámero menor), 5.08 (m, 1H, rotámero menor), 4.94 (s, 1H, rotámero mayor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.7-4.4 (m, 2H), 4.3-3.9 (m, 3H), 3.74 (m, 1H, rotámero mayor), 2.7-2.1 (m, 2H), 1.03 (m, 2H), 0.01(s,9H)

(viii) <u>Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pirimidinilo) x TFA</u>

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimetil-sililetilimino)metil))-2-pirimidinilo] (21 mg, 0.034 mmol; véase paso (vii) más arriba) se disolvió en 0.5 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. TFA (2 mL) se agregó y la mezcla se agitó durante 60 minutos y luego se concentró. El producto se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo. Rendimiento: 20 mg (100%). Pureza: 100%.

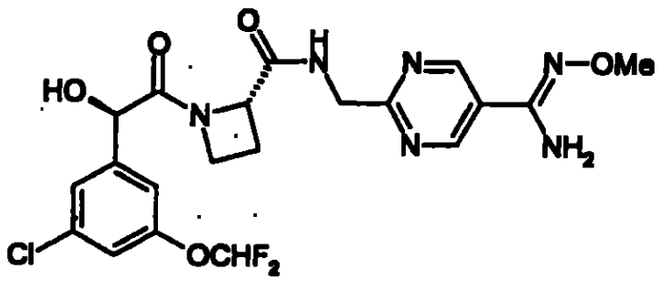
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros, señales oscurecidas por la señal HDO) δ 9.08 (s, 2H), 7.4-7.1 (m, 3H), 6.88 (t, 1H, rotámero mayor), 6.85 (t, 1H, rotámero menor), 5.30 (m, 1H, rotámero menor), 5.22 (s, 1H, rotámero menor), 5.20 (s, 1H, rotámero mayor), 4.73 (m, 1H, rotámero mayor), 4.34 (m, 1H, rotámero), 4.21 (m, 1H. rotámero), 4.15-3.95 (m, 2H, rotámeros), 2.73 (m, 1H, rotámero), 2.57 (m, 1H, rotámero),

2.45-2.25 (m, 2H, rotámeros) ^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 173.0, 172.6, 172.1, 171.0, 163.4.

APCI-MS: (M + 1) = 469/471 m/z

Ejemplo 37

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-metoxiamidino)-2-pirimidinilo)



(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(metoxiamino-(trimetilsililetilimino)metil))-2-pirimidinilo]

Una suspensión de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(amino(trimetilsililetilimino)metil))-2-pirimidinilo] (40 mg, 0.065 mmol; véase Ejemplo 36(vii) más arriba) y O-metilhidroxil amina (33 mg, 0.40 mmol) en 3 mL de acetonitrilo se calentó a 70°C durante 3 horas. La mezcla se dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 33 mg (79%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, mezcla de rotámeros) δ 8.76 (s 2H, rotámero mayor), 8.70 (s, 2H, rotámero), 8.18 (m, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.4-6.9 (m, 4H), 6.50 (bt, 1H), 5.3-4.5 (m, 4H), 4.2-4.05 (m, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 2.8-2.2 (m, 2H), 2.1 (amplio, 1H), 0.96 (m, 2H), 0.01 (s. 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-metoxi-amidino)-2-pirimidinilo)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-[(5-(metoxiamino-

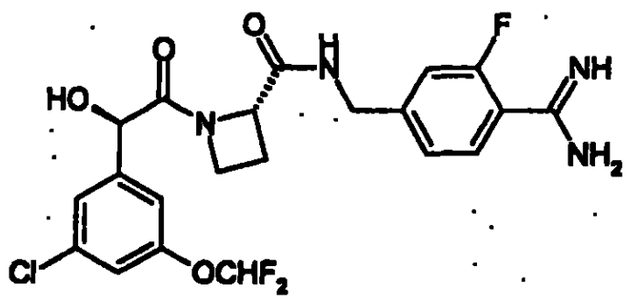
276

(trimetilsililetilimino)metil))-2-pirimidinilo] (33 mg, 0.052 mmol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 0.5 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. TFA (2 mL) se agregó y la mezcla se agitó durante 2 horas y luego se concentró. El producto se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo. Rendimiento: 31 mg (81%). Pureza: 100%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros, señales oscurecidas por la señal HDO) δ 8.96 (s, 2H, rotámero), 8.94 (s, 2H, rotámero), 7.4-7.3 (m, 1H), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.88 (t, 1H, rotámero), 6.85 (t, 1H, rotámero), 5.29 (m, 1H, rotámero), 5.24 (s, 1H, rotámero), 5.20 (s, 1H, rotámero), 4.75-4.55 (m, 2H), 4.33 (m, 1H, rotámero), 4.19 (m, 1H, rotámero), 4.15-3.95 (m, 2H, rotámeros), 3.88 (s, 3H, rotámero), 3.86 (s, 3H, rotámero), 2.72 (m, 1H, rotámero), 2.56 (m, 1H, rotámero), 2.45-2.25 (m, 2H, rotámeros)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 172.8, 172.6, 172.1, 171.8, 167.8, 167.7, 155.1, 152.3, 152.1 APCI-MS: (M + 1) = 499/501 m/z

Ejemplo 38

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F)



(i) 2-Fluoro-4-vinilbenzonitrilo

Una solución de 4-bromo-2-fluorobenzonitrilo (4.92 g, 0.0246 mol), viniltributiltina (0.78 g, 0.246 mol), y tetrakistrifenilfosfina (0.67 g, 0.58 mmol) en 250 mL de tolueno se hizo refluir bajo nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó y el residuo se cromatografió por destello en gel de sílice con heptano:CH_2Cl_2 (1:1) a CH_2Cl_2 puro. Se obtuvo un aceite

incoloro que se cristalizó. Rendimiento: 3.0 g (82%).

^{1}H NMR (300 MHz. $CDCl_3$) δ 7.56 (m, 1H), 7.3-7.2 (m, 2H), 6.69 (m, 1H), 5.89 (d, 1H), 5.51 (d, 1H)

(ii) 2-Fluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo

En una solución enfriada (-78°C) de 2-fluoro-4-vinilbenzonitrilo (1.3 g, 8.8 mmol; véase paso (i) más arriba) en 40 mL de CH_2Cl_2 y 5 mL de metanol se borbotó ozono (50 L/h, 29 g/m^3) durante 30 minutos. Posteriormente se borbotó argón a través para retirar el exceso de ozono. Se agregó borohidruro de sodio (0.67 g, 0.018 mol) y el baño de enfriamiento se retiró. La mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante 1 hora. La mezcla se evaporó y se agregó 2M HCl. La mezcla se extrajo dos veces con éter dietílico y la fracción combinada de éter se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cristalizó. Rendimiento: 1.1 g (81%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.59 (m, 1H). 7.3-7.2 (m, 2H), 4.79 (d, 2H), 2.26 (t, 1H)

(iii) 4-Ciano-3-fluorobencil metanosulfonato

2-Fluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo (1.3 g, 8.6 mmol; véase paso (ii) más arriba) se disolvió en 50 mL de CH_2Cl_2 y se enfrió en un baño helado. Se agregaron trietilamina (0.87 g, 8.6 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0.99 g, 8.7 mmol). Después de agitar durante 1.5 horas, la mezcla de reacción se lavó con 1M HCl. La fase orgánica se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin purificación. Rendimiento de un aceite incoloro: 1.8 g (92%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.66 (m, 1H), 7.35-7.3 (m, 2H), 5.26 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(iv) 4-Azidometil-2-fluorobenzonitrilo

A una solución helada de 4-ciano-3-fluorobencil metanosulfonato (1.8 g, 7.9 mmol; véase paso (iii) más arriba) se agregó azida de sodio (0.80 g, 0.012 mol). La mezcla se agitó durante la noche y luego se vertió en 200 mL de agua y se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase de éter combinada se lavó cinco veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El aceite crudo incoloro pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.2g (87%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.64 (m, 1H). 7.25-7.18 (m, 2H), 4.47 (s, 2H)

(v) 4-Aminometil-2-fluorobenzonitrilo

A una suspensión de dihidrato de cloruro estanoso (0.45 g, 2.4 mmol) en 20 mL de acetonitrilo bajo agitación se agregó tiofenol (1.07 g, 9.7 mmol) y trietilamina (0.72 g, 7.17 mmol). Posteriormente se agregó una solución de 4-azidometil-2-fluorobenzonitrilo (0.279 g, 1.58 mmol; véase paso (iv) más arriba) en unos cuantos mLs de acetonitrilo. Después de 1.5 horas, la azida se consumió y el solvente se evaporó. El residuo se disolvió en cloruro de metileno y se lavó tres veces con 2M NaOH. La fase orgánica se extrajo dos veces con 1M HCl. La fase acuosa acídica combinada se lavó con cloruro de metileno y luego se hizo alcalina con 2M NaOH y se extrajo tres veces con cloruro de metileno. La fase orgánica se secó (Na_2SO_4) y se evaporó para producir 0.172 g (72%) del compuesto deseado del sub-título el cual pudo usarse sin purificación.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.58 (m, 1H), 7.3-7.2 (m, 2H), 3.98 (s, 2H), 1.55-1.35 (amplio, 2H)

(vi) Boc-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN)

A una solución helada de Boc-Aze-OH (0.194 g, 0.96 mmol) en 5 mL de DMF se agregó TBTU (0.50 g, 9.6 mmol). Tras 30 minutos se agregó otra solución, que comprendía 4-aminometil-2-fluorobenzonitrilo (0.17 g, 0.81

mmol; véase paso (v) más arriba) y diisopropiletil amina (0.326 g, 2.53 mmol) en 7 mL de DMF. La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El solvente se evaporó y el producto se purificó mediante RPLC preparativa usando CH_3CN:0.1M NH_4OAc (50:50). El secamiento por congelamiento produjo 0.237 g (74%) del compuesto deseado del sub-título.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.70 (m, 1H), 7.35-7.25 (m, 2H), 4.65-4.35 (m, 3H), 4.0-3.85 (m, 2H), 2.51 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 1.40 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F,4-CN)

Boc-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN) (0.118 g, 0.354 mmol de paso (vi) más arriba) se disolvió en 30 mL de EtOAc saturado con HCl(g). La reacción se agitó durante 20 minutos y se evaporó. El diclorhidrato resultante y HATU (0.152 g, 0.400 mmol) se disolvieron en 5 mL de DMF. Esa solución se agregó a una solución helada de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.101 g, 0.400 mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba) en 5 mL de DMF. La reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El solvente se evaporó y el producto se purificó mediante RPLC preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (50:50). El secamiento por congelamiento produjo 0.130 g (77%) del compuesto deseado del sub-título.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD mezcla de rotámeros) δ 7.7-7.6 (m. 1H), 7.35-7.1 (m, 5H), 6.88 (t, 1H, rotámero), 6.86 (t, 1H, rotámero). 5.25-5.1 (m, 1H más rotámero menor del siguiente protón), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.36 (m, 1H, rotámero mayor), 4.18 (m, 1H, rotámero mayor), 4.07 (m, 1H, rotámero menor), 3.98 (m, 1H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.53 (m, 1H, rotámero mayor), 2.29 (m, 1H, rotámero mayor), 2.16 (m, .1H, rotámero menor)

(viii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F)

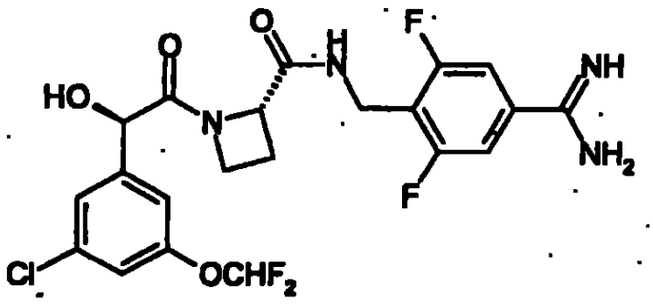
Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-$NHCH_2$-Ph(3-F, 4-CN) (0.130

g, 0.278 mmol; véase paso (vii) más arriba) se disolvió en 80 mL de etanol saturado con HCl(g). La mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó y el residuo se re-disolvió en 100 mL de etanol saturado con NH_3(g). Se dejó avanzar la reacción lentamente a temperatura ambiente durante dos días. Se aumentó la temperatura a 50°C y la reacción continuó durante otros 3 días. El material inicial se consumió y el solvente se evaporó. El producto se purificó mediante RPLC preparativa y se secó por congelamiento para producir 17 mg (13%) del compuesto del título como su sal de HOAc.

^{1}H NMR (600 MHz. CD_3OD mezcla de rotámeros) δ 7.65-7.6 (m, 1H), 7.4-7.3 (m, 3H), 7.25-7.1 (m, 2H), 7.15-6.7 (m, 1H), 5.25-5.1 (m, 1H más rotámero menor del siguiente protón), 4.8 (m, 1H, rotámero mayor parcialmente oculto por CD_3OH), 4.6-3.95 (m. 4H), 2.69 (m, 1H, rotámero menor), 2.56 (m, 1H, rotámero mayor), 2.28 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor), 1.90 (s, 3H)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 180.6, 173.4, 173.1, 172.9, 164.5, 162.3, 159.8
APCI-MS: (M + 1) = 485/487 m/z

Ejemplo 39

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)



(i) 2,6-Difluoro-4[(metilsulfinil)(metiltio)metil]benzonitrilo

(Metilsulfinil)(metiltio)metano (7.26g, 0.0584 mol) se disolvió en 100 mL de THF seco bajo argón y se enfrió a -78°C. Se agregó gota a gota butil litio en hexano (16 mL 1.6M, 0.0256 mol) con agitación. La mezcla se

agitó durante 15 minutos. Mientras tanto, una solución de 3,4,5-trifluorobenzonitrilo (4.0 g, 0.025 mmol) en 100 mL de THF seco se enfrió a -78°C bajo argón y la primera solución se agregó a través de una cánula a la última solución durante un período de 35 minutos. Transcurridos 30 minutos, el baño de enfriamiento se retiró y cuando la reacción había alcanzado la temperatura ambiente se vertió en 400 mL de agua. El THF se evaporó y la capa acuosa restante se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase de éter combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 2.0 g (30%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.4-7.25 (m, 2H), 5.01 (s, 1H, diasterómero), 4.91 (s, 1H, diasterómero). 2.88 (s, 3H, diasterómero), 2.52 (s, 3H, diasterómero), 2.49 (s, 3H, diasterómero), 2.34 (s, 3H, diasterómero), 1.72 (amplio, 1H)

(ii) 2,6-Difluoro-4-formilbenzonitrilo

2,6-Difluoro-4[(metilsulfinilo)(metiltio)metil]benzonitrilo (2.17 g, 8.32 mmol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 90 mL de THF y se agregaron 3.5 mL ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 3 días y, posteriormente, se vertió en 450 mL de agua. Siguió extracción tres veces con EtOAc y la fase de éter combinada se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso y con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 1.36 g (98%). La posición del grupo formilo se estableció por ^{13}C NMR. La señal de los carbonos fluorinados en 162.7 ppm exhibió el patrón de acoplamiento esperado con dos constantes de acoplamiento en el orden de 260 Hz y 6.3 Hz respectivamente, correspondientes a un acoplamiento *ipso* y a un acoplamiento *meta* de los átomos de flúor.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.35 (s, 1H), 7.33 (m, 2H)

(iii) 2,6-Difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo

2,6-Difluoro-4-formilbenzonitrilo (1.36 g, 8.13 mmol; véase paso (ii) más arriba) se disolvió en 25 mL de metanol y se enfrió en un baño helado. Se agregó borohidruro de sodio (0.307 g, 8.12 mmol) en porciones con agitación y la reacción puso a reposar durante 65 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se dividió en partes entre éter dietílico y bicarbonato de sodio acuoso. La capa de éter se lavó con más bicarbonato de sodio acuoso y salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo cristalizó pronto y pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.24 g (90%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.24 (m, 2H), 4.81 (s. 2H), 2.10 (amplio, 1H)

(iv) 4-Ciano-2,6-difluorobencil metanosulfonato

A una solución helada de 2,6-difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo (1.24 g, 7.32 mmol; véase paso (iii) más arriba) y cloruro de metanosulfonilo (0.93 g, 8.1 mmol) en 60 mL de cloruro de metileno se agregó trietilamina (0.81 g, 8.1 mmol) con agitación. Transcurridas 3 horas a 0°C, la mezcla se lavó dos veces con 1M HCl y una vez con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.61 g (89%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (m, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

(v) 4-Azidometil-2,6-difluorobenzonitrilo

Una mezcla de 4-ciano-2,6-difluorobencil metanosulfonato (1.61 g, 6.51 mmol; véase paso (iv) más arriba) y azida de sodio (0.72 g, 0.0111 mol) en 10 mL de agua y 20 mL de DMF se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El resultante se vertió posteriormente en 200 mL de agua y se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase de éter combinada se lavó cinco veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Se evaporó una pequeña muestra para efectos de NMR y el producto se cristalizó. El resto se evaporó cuidadosamente pero no hasta sequedad completa. Rendimiento (teóricamente 1.26 g) se asumió que era casi cuantitativo basado en NMR y

283

HPLC analítica.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (m, 2H), 4.46 (s, 2H)

(vi) 4-Aminometil-2,6-difluorobenzonitrilo

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. A una suspensión de 520 mg de 10% Pd/C (50% humedad) en 20 mL de agua se agregó una solución de borohidruro de sodio (0.834 g, 0.0221 mol) en 20 mL de agua. Resultó alguna evolución de gas. 4-Azidometil-2,6-difluorobenzonitrilo (1.26 g, 6.49 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en 50 mL de THF y se agregó a la mezcla acuosa en un baño helado durante 15 minutos. La mezcla se agitó durante 4 horas, tras lo cual se agregaron 20 mL de 2M HCl y la mezcla se filtró a través de Celita. La Celita se enjuagó con más agua y la fase acuosa combinada se lavó con EtOAc y posteriormente se hizo alcalina con 2M NaOH. Siguió extracción tres veces con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 0.87 g (80%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.51 (amplio, 2H)

(vii) 2,6-Difluoro-4-*tert*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo

Una solución de 4-aminometil-2,6-difluorobenzonitrilo (0.876 g, 5.21 mmol; véase paso (vi) más arriba) se disolvió en 50 mL de THF y se agregó di-*tert*-butil dicarbonato (1.14 g , 5.22 mmol) en 10 mL de THF. La mezcla se agitó durante 3.5 horas. El THF se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó tres veces con 0.5 M HCl y agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.38 g (99%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (m, 2H), 4.95 (amplio, 1H), 4.43 (amplio, 2H), 1.52 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,6-diF)(OH)

Una mezcla de 2,6-difluoro-4-*tert*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo (1.38 g, 5.16 mmol; véase paso (vii) más arriba), clorhidrato de hidroxilamina (1.08 g, 0.0155 mol) y trietilamina (1.57 g, 0.0155 mol) en 20 mL de etanol se agitó a temperatura ambiente durante 36 horas. El solvente se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y cloruro de metileno. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 1.43 g (92%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (m, 2H), 4.97 (amplio, 1H), 4.84 (amplio, 2H), 4.40 (amplio, 2H). 1.43 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito por Judkins *y colaboradores, Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,6-diF)(OH) (1.32 g, 4.37 mmol; véase paso (viii) más arriba), anhídrido acético (0.477 g, 4.68 mmol) y 442 mg de 10% Pd/C (50% humedad) en 100 mL de ácido acético se hidrogenó a 5 atmósferas de presión durante 3.5 horas. La mezcla se filtró a través de Celita, se enjuagó con etanol y se evaporó. El residuo se secó por congelamiento a partir de acetonitrilo y agua y unas cuantas gotas de etanol. El producto del sub-título pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 0.1.49 g (99%).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (m, 2H), 4.34 (s, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc)

A una solución de Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc (1.56 g, 5.49 mmol; véase paso (ix) más arriba) en 100 mL de THF y 1 mL de agua se agregó 2-(trimetilsililo)etil p-nitrofenil carbonato (1.67 g, 5.89 mmol). Se agregó

285

una solución de carbonato de potasio (1.57 g, 0.0114 mol) en 20 mL de agua gota a gota durante 5 minutos. La mezcla se agitó durante la noche. El THF se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y cloruro de metileno. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con heptano/EtOAc = 2/1 produjo 1.71 g (73%) de compuesto puro.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 (m, 2H), 4.97 (amplio, 1H), 4.41 (amplio, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

(xi) Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1.009 g, 2.35 mmol; véase paso (x) más arriba) se disolvió en 50 mL de EtOAc saturado con HCl(g). La mezcla se dejó reposar durante 10 minutos, se evaporó y disolvió en 18 mL de DMF, y luego se enfrió en un baño helado. Se agregaron Boc-Aze-OH (0.450 g, 2.24 mmol), PyBOP (1.24 g, 2.35 mmol) y, por último, diisopropiletil amina (1.158 g, 8.96 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas y seguidamente se vertió en 350 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con heptano:EtOAc (1:3) produjo 1.097 g (96%) del compuesto deseado.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.46 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 4.23 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.10 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

(xii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Aze-Pab(2.6-diF)(Teoc) (0.256 g, 0.500 mmol; véase paso (xi) más arriba) se disolvió en 20 mL de EtOAc saturado con HCl(g). La mezcla se dejó reposar durante 10 minutos y se evaporó y disolvió en 5 mL de DMF. Se agregaron Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.120 g, 0.475

mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba), PyBOP (0.263 g, 0.498 mmol) y, por último, diisopropiletil amina (0.245 g, 1.89 mmol. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas y luego se vertió en 350 mL de agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con EtOAc produjo 0.184 g (60%) del compuesto deseado del subtítulo.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mezcla de rotámeros) δ 7.55-7.45 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, rotámero mayor), 7.27 (m, 1H, rotámero menor), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, 1H, rotámero menor), 5.15 (s, 1H,rotámero mayor), 5.12 (m, 1H, rotámero menor), 5.06 (s, 1H, rotámero menor), 4.72 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámero mayor), 4.24 (m, 2H), 4.13 (m, 1H, rotámero mayor), 4.04 (m, 1H, rotámero menor), 3.95 (m, 1H, rotámero menor), 2.62 (m, 1H, rotámero menor), 2.48 (m, 1H, rotámero mayor), 2.22 (m, 1H, rotámero mayor), 2.10 (m, 1H, rotámero menor), 1.07 (m, 2H), 0.07 (m, 9H)

(xiii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81 mg, 0.127 mmol; véase paso (xii) más arriba) se disolvió en 0.5 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. TFA (3 mL) se agregó y la reacción se dejó reposar durante 75 minutos. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo. El producto crudo se purificó mediante RPLC preparativa con CH_3CN:0.1M NH_4OAc (35:65) para producir 39 mg (55%) del compuesto del título como su sal HOAc, pureza: 99%.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD mezcla de rotámeros) δ 7.5-7.4 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, rotámero mayor), 7.28 (m, 1H, rotámero menor), 7.2-7.1 (m, 3H) 6.90 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, rotámero menor), 5.15 (s, 1H, rotámero mayor), 5.14 (m, 1H, rotámero menor), 5.07 (s, 1H, rotámero

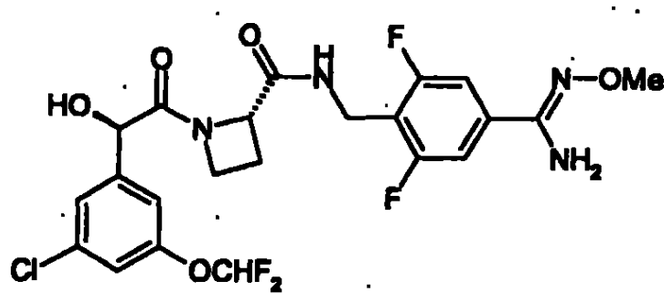
menor), 4.72 (m, 1H, rotámero mayor), 4.65-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, rotámero mayor), 4.16 (m, 1H, rotámero mayor), 4.03 (m, 1H, rotámero menor), 3.95 (m, 1H, rotámero menor), 2.63 (m, 1H, rotámero menor), 2.48 (m, 1H, rotámero mayor), 2.21 (m, 1H, rotámero mayor), 2.07 (m, 1H, rotámero menor), 1.89 (s, 3H)

^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 171.9, 171.2, 165.0, 162.8, 160.4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

Ejemplo 40

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe,Teoc)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (64 mg, 0.099 mmol; véase Ejemplo 39(xii) más arriba) y 0-metil clorhidrato de hidroxilamina (50 mg, 0.60 mmol) en 4 mL de acetonitrilo se calentó a 70°C durante 3 horas. El solvente se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 58 mg (87%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.90 (bt, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.25-6.95 (m, 5H), 6.51, t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.4-3.9 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.63 (m, 1H), 2.67 (m. 1H), 2.38 (m, 1H), 1.87 (amplio, 1H), 0.98 (m, 2H). 0.01, s, 9H)

288

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe,Teoc) (58 mg, 0.086 mmol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 3 mL de TFA, se enfrió en un baño de hielo y se dejó reaccionar durante2 horas. El TFA se evaporó y el residuo se disolvió en EtOAc. La capa orgánica se lavó dos veces con carbonato de sodio acuoso y agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo para producir 42 mg (92%) del compuesto del título. Pureza: 94%.

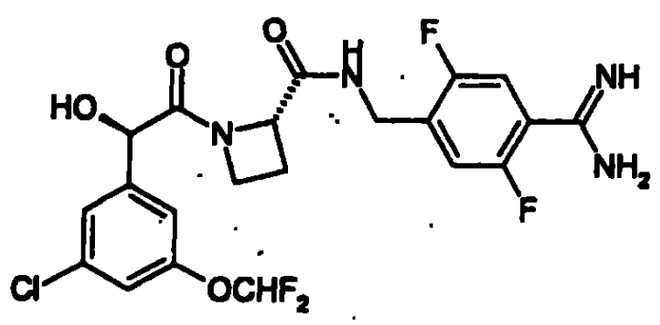
^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.95 (bt, 1H), 7.2-7.1 (m, 4H), 6.99 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.85-4.75 (m, 3H), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.29 (amplio, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.85 (amplio. 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; $CDCl_3$): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.1, 169.8, 151.9

APCI-MS: (M + 1) = 533/535 m/z

Ejemplo 41

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)



(i) 2,5-Difluoro-4[(metilsulfinil)(metiltio)metil]benzonitrilo

(Metilsulfinil)(metiltio)metano (3.16 g, 0.0255 mol) se disolvió en 50 mL de THF seco bajo argón y se enfrió a continuación a -78°C. Se agregó gota a gota butil litio en hexano (16 mL 1.6M, 0.0256 mol) con agitación. La mezcla se agitó durante 15 minutos. Mientras tanto, una solución de 2,4,5-

289

trifluorobenzonitrilo (2.0 g; 0.013 mol) en 50 mL de THF seco se enfrió a -78°C bajo argón y la primera solución se agregó a través de una cánula a la última solución durante un período de 3-5 minutos. Transcurridos 30 minutos, el baño de enfriamiento se retiró y cuando la reacción había alcanzado la temperatura ambiente se vertió en 200 mL de agua. El THF se evaporó y la capa acuosa restante se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase éter combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo comenzó a cristalizar y pudo usarse como tal en el siguiente paso. Rendimiento: 2.8 g (84%).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.51-7.44 (m, 2H, diastereómero mayor), 7.39 (dd, 1H, diastereómero menor), 5.00 (s, 1H, diastereómero menor), 4.92 (s, 1H, diastereómero mayor), 2.59 (s, 3H, diastereómero menor), 2.56 (s, 1H, diastereómero mayor), 2.46 (s, 1H, diastereómero menor), 2.40 (s, 1H, diastereómero mayor)

(ii) 2,5-Difluoro-4-formilbenzonitrilo

2,5-Difluoro-4[(metilsulfinil)(metiltio)metil]benzonitrilo (2.8 g, 0.0107 mol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 100 mL de THF y se agregaron 6.5 g de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 6 días y, posteriormente, se vertió en 500 mL de agua. Siguió extracción tres veces con éter dietílico y la fase de éter combinada se lavó varias veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió por destello en gel de sílice usando heptano:EtOAc (8:2). Rendimiento: 1.2 g (67%). La posición del grupo formilo se estableció mediante el empleo de ^{13}C NMR. La señales de carbono de los carbonos fluorinados a 160.1 y 158.4 respectivamente, fueron dobletes y no cuartetos, que habrían sido si el grupo formilo hubiera estado en la posición 2.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10.36 (d, 1H), 7.72 (dd, 1H), 7.54 (dd, 1H)

290

(iii) 2,5 -Difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo

2,5-Difluoro-4-formilbenzonitrilo (3.60 g, 0.0215 mol; véase paso (ii) más arriba) se disolvió en 50 mL de metanol y se enfrió en un baño helado. Se agregó en porciones borohidruro de sodio (0.815 g, 0.0215 mol) con agitación y la reacción se dejó reposar durante 45 minutos. Se agregó agua (300 mL) y, a partir de entonces, se agregó cuidadosamente 2M HCl hasta obtener un pH acídico. La mezcla se extrajo tres veces con éter dietílico, y la fase de éter combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo cristalizó pronto y pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 3.1 g (85%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.45 (dd, 1H), 7.30 (dd, 1H), 4.85 (s, 2H), 2.10 (amplio, 1H)

(iv) 4-Ciano-2,5-difluorobencil metanosulfonato

A una solución helada de 2,5-difluoro-4-hidroximetilbenzonitrilo (3.10 g, 0.0183 mol; véase paso (iii) más arriba) y cloruro de metanosulfonilo (2.21 g, 0.0192 mol) en 60 mL de cloruro de metileno se agregó trietil amina (1.95 g, 0.0192 mol) con agitación. Luego de 1.5 horas a 0°C la mezcla se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 4.5 g (99%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) 8 7.45-7.35 (m, 2H), 5.32 (s, 2H), 3.13 (s, 3H)

(v) 4-Azidometil-2,5-difluorobenzonitrilo

Una mezcla de 4-ciano-2,5-difluorobencil metanosulfonato (4.5 g, 0.0182 mol; véase paso (iv) más arriba) y azida de sodio (2.0 g, 0.031 mol) en 20 mL de agua y 40 mL de DMF se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Seguidamente se vertió en 300 mL de agua y se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase de éter combinada se lavó varias veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Una pequeña muestra se evaporó para efectos de NMR y el producto cristalizó. El resto se evaporó

cautelosamente pero no hasta sequedad completa. Rendimiento (teóricamente 3.5 g) se asume que es casi cuantitativo, basado en NMR y HPLC analítica.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ .38 (dd, 1H). 7.32 (dd, 1H), 4.54 (s, 2H)

(vi) 4-Aminometil-2,5-difluorobenzonitrilo

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en *J. Chem. Res. (M)* (1992) 3128. A una suspensión de 300 mg de 10% Pd/C (50% humedad) en 20 mL de agua se agregó una solución de borohidruro de sodio (0.779 g, 0.0206 mol) en 20 mL de agua. Resultó alguna evolución de gas. 4-Azidometil-2,5-difluorobenzonitrilo (1.00 g, 5.15 mmol; de paso (v) más arriba) se disolvió en 60 mL de THF y se agregó a la mezcla acuosa en baño helado. La mezcla se agitó durante 1.5 horas tras lo cual se agregaron 10 mL de 2M HCl y la mezcla se filtró a través de Celita. La Celita se enjuagó con más agua y la fase acuosa combinada se lavó con EtOAc y posteriormente se hizo alcalina con 2M NaOH. Siguió extracción tres veces con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 0.47 g (54%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39 (dd, 1H), 7.29 (dd. 1H), 3.99 (s, 2H), 1.45 (amplio, 2H)

(vii) 2,5-Difluoro-4-*tert*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo

Una solución de 4-aminometil-2,5-difluorobenzonitrilo (0.46 g, 2.7 mmol; véase paso (vi) más arriba) y di-*tert*-butil dicarbonato (0.60 g , 2.7 mmol) en 10 mL de THF se agitó durante la noche. El THF se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 0.71 g (97%).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35-7.2 (m, 2H), 5.11 (triplete amplio, 1H),

292

4.38 (d, 2H), 1.45 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,5-diF)(OH)

Una mezcla de 2,5-difluoro-4-*tert*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo (0.70 g, 2.6 mmol; véase paso (vii) más arriba), clorhidrato de hidroxilamina (0.54 g, 7.8 mmol) y trietilamina (0.79 g, 7.8 mmol) en 10 mL de etanol se agitó a temperatura ambiente durante 6 días. Seguidamente se dividió en partes entre agua y cloruro de metileno. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 0.72 g (92%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.27 (dd, 1H), 7.12 (dd. 1H), 4.29 (s, 2H), 1.47 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,5-diF) x HOAc

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito por Judkins *y colaboradores, Synth. Comm.* (1998) 4351. Boc-Pab(2,5-diF)(OH) (0.70 g, 2.3 mmol; véase paso (viii) más arriba), anhídrido acético (0.25 g, 2.4 mmol) y 230 mg de 10% Pd/C (50% humedad) en 70 mL de ácido acético se hidrogenó a 5 atmósferas de presión durante 2.5 horas. La mezcla se filtró a través de Celita y se evaporó. El residuo se secó por congelamiento a partir de acetonitrilo y agua. El producto pudo usarse sin más purificación en el siguiente paso. Rendimiento: 0.80 g (100%).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.49 (dd, 1H), 7.31 (dd, 1H), 4.33 (s, 2H), 1.91 (s, 3H), 1.46 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,5-diF)(Teoc)

A una suspensión de Boc-Pab(2,5-diF) x HOAc (0.80 g, 2.3 mmol; véase paso (ix) más arriba) en 50 mL de THF se agregó 2-(trimetilsililo)etil p-nitrofenil carbonato (0.85 g, 3.0 mmol). Una solución de carbonato de

293

potasio (0.80 g, 5.8 mmol) en 10 mL de agua se agregó gota a gota. La mezcla se agitó durante la noche. El exceso de reactivo Teoc se destruyó mediante adición de glicina (0.100 g) y carbonato de potasio (0.75 g) a la solución, dejándola reaccionar durante 2 horas más. El THF se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y cloruro de metileno. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con heptano:EtOAc (2:1) produjo 0.72 g (72%) de compuesto puro.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00 (dd, 1H), 7.15 (dd, 1H). 4.98 (amplio, 1H). 4.36 (bd, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.12 (m. 2H), 0.07 (s, 9H)

(xi) H-Pab(2.5-diF)(Teoc) x 2 HCl

Boc-Pab(2,5-diF)(Teoc) (0.38 g, 0.88 mmol; véase paso (x) más arriba) se disolvió en 50 mL de EtOAc saturado con HCl(g). La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos y se evaporó.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.75-7.6 (m, 2H). 4.46 (m, 2H), 4.3 (s, 2H), 1.15 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(xii) Boc-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

A una solución agitada de Boc-Aze-OH (0.189 g, 0.94 mmol), H-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl (0.36 g, 0.89 mmol; véase paso (xi) más arriba) y PyBOP (0.54 g, 1.03 mmol) en 5 mL de DMF se agregó diisopropiletil amina (0.49 g, 3.8 mmol) y la mezcla se dejó reaccionar durante la noche. El resultante se vertió entonces en bicarbonato de sodio acuoso y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con heptano:EtOAc (3:7) produjo un compuesto suficientemente puro. Rendimiento: 0.25 g (48%).

294

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98 (dd, 1H), 7.13 (dd, 1H), 4.69 (m, 1H), 4.53 (m, 2H), 4.22 (m, 2H), 3.92 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 2.55-2.35 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

(xiii) H-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl

Boc-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (0.25 g, 0.49 mmol; véase paso (xii) más arriba) se disolvió en 50 mL de EtOAc saturado con HCl(g). La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos y se evaporó. El producto se usó en el siguiente paso sin más purificación. Rendimiento: 0.23 g (97%).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.59 (dd, 1H), 7.47 (dd, 1H), □5.14 (m, 1H), 4.54 (m, 2H), 4.48 (m, 2H), 4.15 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.56 (m, 1H), 1.17 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

(xiv) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (0.12 g, 0.47 mmol; véase Ejemplo 1(viii) más arriba), H-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl (0.23 g, 0.47 mmol; véase paso (xiii) más arriba) y PyBOP (0.27 g, 0.52 mmol) en 10 mL de DMF se agregó diisopropiletil amina (0.245 g, 1.90 mmol), y la mezcla se agitó durante la noche. El resultante se vertió en agua y se extrajo tres veces con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía de destello en gel de sílice con EtOAc produjo 100 mg de una fracción pura y 30 mg de una fracción 90% pura. Rendimiento total: 0.13 g (41%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.80 (amplio, 1H), 8.05 (bt, 1H), 7.94 (dd, 1H),7.20 (m, 1H), 7.2-7.1 (m, 2H), 7.02 (m, 1H), 6.54 (t, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.91 (m, 1H), 4.51 (m, 2H), 4.28 (amplio. 1H), 4.23 (m, 2H), 4.13 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.73 (amplio, 1H), 1.11 (m, 2H), 1.11 (s, 9H)

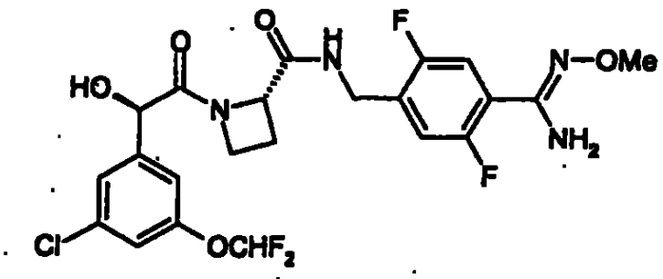
(xv) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2.5-diF)(Teoc) (60 mg (0.093 mmol) de la fracción pura de paso (xiv) más arriba) se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 hora. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo para producir 55 mg (96%) del compuesto del título como su sal de TFA, pureza: >99%.

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD mezcla de rotámeros) δ 7.55-7.3 (m, 3H), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.88 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, 1H, rotámero menor), 5.22 (m, 1H, rotámero menor), 5.20 (s, 1H, rotámero mayor), 5.13 (s, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.36 (m, 1H, rotámero mayor), 4.19 (m, 1H, rotámero mayor), 4.07 (m, 1H, rotámero menor), 3.98 (m, 1H, rotámero menor), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.54 (m, 1H, rotámero mayor). 2.28 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor) ^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, mezcla de rotámeros) δ 173.0, 172.6, 172.1, 172.0, 162.4
APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

Ejemplo 42

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-AzePab(2,5-diF)(OMe,Teoc)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (40 mg, 0.062 mmol; véase Ejemplo 41(xiv) más arriba) y O-metil clorhidrato de hidroxilamina (58 mg, 0.70 mmol) en 5 mL de acetonitrilo se calentó a 70°C durante 2 horas. El solvente se evaporó y el residuo se dividió en partes entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo

con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin más purificación. Rendimiento: 35 mg (84%).

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99 (bt, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.20 (m, 1H) 7.15-7.1 (m, 1H), 7.07 (dd, 1H). 7.01 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.88 m, 1H), 4.48 (m, 2H), 4.2-4.1 (m, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 0.97 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe,Teoc) (35 mg, 0.052 mmol; véase paso (i) más arriba) se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reaccionar durante 30 minutos. La TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo para producir 29 mg (99%) del compuesto del título. Pureza: 97%.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.01 (bt, 1H), 7.45 (dd, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.15 (m, 1H), 7.09 (dd, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.54 (t, 1H), 5.2-5.0 (m, 2H), 4.95-4.85 (m, 2H), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.25 (amplio, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.71 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.43 (m, 1H)

^{13}C-NMR (75 MHz; $CDCl_3$): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.0, 170.9, 152.6

APC1-MS: (M +1) = 533/535 m/z.

Ejemplo 43

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (55 mg, 0.090 mmol; véase Ejemplo 1(ix) más arriba) y clorhidrato de *O*-etilhidroxil amina (53 mg, 0.54 mmol) se disolvieron en 4 mL de THF. La mezcla se agitó a 60°C durante 5 horas. El solvente se evaporó. El residuo se cromatografió en gel

de sílice, eluyendo con cloruro de metileno:metanol (95:5) para proporcionar 55 mg (93%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.84 (bt, 1H), 7.59 (bs, 1H), 7.47 (bd, 1H), 7.29 (bd, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.90 (s, 1H). 4.86 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.25-4.1 (m, 5H), 3.69 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.33 (t, 3H), 0.98 (m, 2H), 0.02 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

A una solución helada de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc) (55 mg, 0.084 mmol; véase paso (i) más arriba) en 0.5 mL de cloruro de metileno se agregaron 3 mL de TFA. La mezcla se agitó (baño helado) durante 160 minutos. El material se purificó usando HPLC preparativa. Las fracciones de interés se agruparon y se secaron por congelamiento (2x), produciendo 20 mg (47%) del compuesto del título.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.59 (bd, 2H), 7.35 (m, 1H). 7.32 (bd, 2H), 7.25-7.1 (m, 2H), 6.89 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, 1H, rotámero menor), 5.18 (s, 1H, rotámero mayor), 5.18 (m, 1H, rotámero menor), 5.11 (s, 1H, rotámero menor), 4.77 (m, 1H), 4.5-4.3 (m, 3H), 4.2-3.9 (m, 3H), 2.67 (m, 1H, rotámero menor), 2.52 (m, 1H, rotámero mayor), 2.28 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor), 1.28 (t, 3H)
^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.4, 171.9, 171.4, 153.8, 152.3
MS (m/z) 509 $(M - 1)^-$, 511 $(M + 1)^+$

Ejemplo 44

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr,Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (53 mg, 0.087 mmol; véase Ejemplo 1(ix) más arriba) y clorhidrato de *O*-*n*-propilhidroxil amina,

58 mg (0.52 mmol) se disolvieron en 4 mL de THF. La mezcla se agitó a 60°C durante 5 horas. El solvente se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con cloruro de metileno:metanol (95:5) para proporcionar 51 mg (88%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.84 (m, 1H), 7.59 (bs, 1H), 7.47 (bd, 2H), 7.28 (bd, 2H), 7.21 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.53 (t, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.2-4.05 (m, 5H), 3.69 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.74 (m, 2H), 1.05-0.95 (m, 5H), 0.03 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr)

A una solución helada de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr, Teoc) (51 mg, 0.078 mmol; véase paso (i) más arriba) en 0.5 mL de cloruro de metileno se agregaron 3 mL de TFA. La mezcla se agitó (baño helado) durante 110 minutos. El material se purificó usando HPLC preparativa. La fracción de interés se evaporó y secó por congelamiento, produciendo 20 mg (47%) del compuesto del título.

^{1}H-NMR (500 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.61 (bd, 2H), 7.38 (m, 1H), 7.35, (bd, 2H), 7.22 (m, 1H, rotámero mayor), 7.18 (m, 1H), 7.15 (m, 1H, rotámero menor), 6.92 (t, 1H, rotámero mayor), 6.89 (t, 1H, rotámero menor), 5.20 (s, 1H, rotámero mayor), 5.20 (m, 1H, rotámero menor), 4.80 (m, 1H, rotámero mayor), 4.5-4.4 (m, 2H, incluyendo el rotámero menor correspondiente al mayor a 4.37), 4.37 (m, 1H, rotámero mayor), 4.18 (m, 1H, rotámero mayor), 4.09 (m, 1H, rotámero menor), 3.99 (m, 2H), 2.70 (m, 1H, rotámero menor), 2.54 (m, 1H, rotámero mayor), 2.30 (m, 1H, rotámero mayor), 2.18 (m, 1H, rotámero menor), 1.73 (m, 2H), 1.01 (t, 3H)
^{13}C-NMR (125 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 171.4, 153.8, 152.3
MS (m/z) 523 $(M - 1)^-$, 525 $(M + 1)^+$

Ejemplo 45

299

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr)

(i) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (50 mg, 0.082 mmol; véase Ejemplo 1(ix) más arriba) y clorhidrato de *O-i*-propilhidroxil amina, 55 mg (0.49 mmol) se disolvieron en 4 mL de THF. La mezcla se agitó a 60°C durante 5 horas. El solvente se evaporó. El residuo se cromatografió en gel de sílice, eluyendo con cloruro de metileno:metanol (95:5) para proporcionar 46 mg (84%) del compuesto del sub-título.

^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$) : δ 7.84 (m, 1H), 7.57 (bs, 1H), 7.48 (bd, 2H), 7.29 (bd, 2H), 7.21 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 1H). 6.53 (t, 1H), 4.91 (s, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.55-4.45 (m, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.2-4.1 (m, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 1.30 (d, 6H), 0.98 (m, 2H), 0.02 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr)

A una solución helada de Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr, Teoc) (46 mg, 0.069 mmol; véase paso (i) más arriba) en 0.5 mL de cloruro de metileno se agregaron 3 mL de TFA. La mezcla se agitó (baño helado) durante 150 minutos. El material se purificó usando HPLC preparativa. La fracción de interés se evaporó y se secó por congelamiento (2x), produciendo 22 mg (58%) del compuesto del título.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.59 (d, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.32 (d, 2H), 7.19 (m, 1H, rotámero mayor), 7.15 (m, 1H), 7.12 (m, 1H, rotámero menor), 6.89 (t, 1H, rotámero mayor), 6.86 (t, 1H, rotámero menor), 5.18 (s, 1H, rotámero mayor), 5.18 (m, 1H, rotámero menor), 5.12 (s, 1H, rotámero menor), 4.78 (m, 1H, rotámero mayor), 4.5-3.9 (m, 5H), 2.67 (m, 1H, rotámero menor), 2.52 (m, 1H, rotámero mayor), 2.28 (m, 1H, rotámero mayor), 2.15 (m, 1H, rotámero menor), 1.26 (d, 6H)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina,

300

rotámeros) δ 171.9, 171.4, 153.6.
MS (m/z) 523 $(M - 1)^-$, 525 $(M + 1)^+$.

Ejemplo 46

Los compuestos del título de Ejemplos 3, 6, 9, 10, 13 a 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 32, 34, 36, 38, 39 y 41 se ensayaron en Prueba A más arriba y se encontró que exhibían valores IC_{50}TT de menos de 3.5 μM. Se hallo que aquellos de los Ejemplos 3, 6, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 27, 32, 34 y 39 exhibían valores de menos de 0.02 μM; aquellos de Ejemplos 25 y 28 menos de 0.03 μM, los de Ejemplo 14 menos de 0.04 μM; y aquellos de los 38 y 41 menos de 0.15 μM.

Ejemplo 47

Los compuestos del título de Ejemplos 3, 6, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 32 y 34 se ensayaron en Prueba D más arriba y se encontró que exhibían un valor IC_{50} APTT de menos de 1 μM.

Ejemplo 48

Los compuestos del título de Ejemplos 1,2, 4, 5, 7, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 30, 33 y 43 a 45 se ensayaron en Prueba E más arriba y se halló que exhibían biodisponibilidad oral y/o parenteral en la rata como el correspondiente inhibidor activo (amidina libre).

Ejemplo 49

Los compuestos de Ejemplos 1, 2, 7, 8, 11, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 33, 37, 40, 43 y 45 se ensayaron en Prueba G más arriba y se encontró que se convirtieron en el correspondiente inhibidor activo (amidina libre) en microsomas de hígado de humanos y de ratas.

301

Abreviaturas

Ac	=	Acetilo
AcOH	=	Ácido acético
Apci	=	Ionización química a presión atmosférica (en relación con MS)
Api	=	Ionización a presión atmosférica (en relación con MS)
Aq.	=	Acuoso
AUC	=	Área bajo la curva
Aze	=	(*S*)-azetidina-2-carboxilato (a menos que se especifique lo contrario)
AzeOH	=	Ácido azetidina-2- carboxílico
Bn	=	Bencilo
Boc	=	tert-butiloxicarbonilo
BSA	=	Albúmina de suero bovino
Bu	=	Butilo
Bzl	=	Bencilo
CI	=	Ionización química (en relación con MS)
D	=	Día(s)
DCC	=	Diciclohexil carbodiimida
DIBAL-H	=	Hidruro de di-isobutilaluminio
DIPEA	=	Iisopropiletilamina
DMAP	=	4-(N,N-dimetil amino) piridina
DMF	=	dimetilformamida
DMSO	=	Dimetilsulfóxido
DVT	=	Trombosis de vena profunda
EDC	=	Clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropilo)-3-etilcarbodiimida
e.e.	=	Exceso enantiomérico
Et	=	Etilo
éter	=	Éter dietílico

302

EtOAc	=	Acetato de etilo
EtOH	=	Etanol
Et_2O	=	Éter dietílico
h	=	Hora(s)
HATU	=	Hexafluorofosfato de *O*-(azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio
HBTU	=	Hexafluorofosfato de [*N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(benzotriazol-1-il)uronio]
HCl	=	Ácido clorhídrico, gas de cloruro de hidrógeno o sal clorhidrato (dependiendo del contexto)
Hex	=	Hexanos
HOAc	=	Ácido acético
HPLC	=	Cromatografía líquida de alto rendimiento
LC	=	Cromatografía líquida
Me	=	Metilo
MEM	=	Metoxietoximetilo
MeOH	=	Metanol
min	=	Minuto(s)
MS	=	Espectroscopia de masa
MTBE	=	Éter metil *tert*-butílico
NADH	=	Nicotinamida adenina dinucleótido, forma reducida
NADPH	=	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, forma reducida
NIH	=	Instituto Nacional de la Salud (US)
NIHU	=	Unidades del Instituto Nacional de la Salud
NMR	=	Resonancia magnética nuclear
OAc	=	Acetato
Pab	=	*para*-amidinobencilamino
H-Pab	=	*para*-amidinobencilamina
Ph	=	Fenilo
Pr	=	Propilo

303

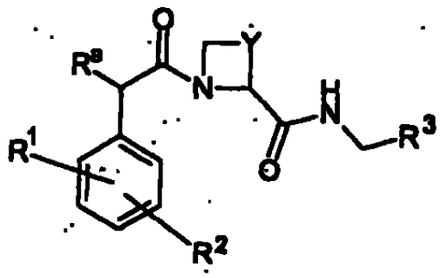
Pro	=	(*S*)-prolinilo
PyBOP	=	Hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
QF	=	Fluoruro de tetrabutilamonio
RedAl	=	Hidruro de bis(2-metoxietoxi)aluminio de sodio
RPLC	=	Cromatografía líquida de alto rendimiento de fase reversa
rt/RT	=	temperatura ambiente
SOPs	=	Procedimientos operativos estándar
TBTU	=	[Tetrafluoroborato de *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(benzotriazol-1-il)uronio]
TEA	=	Trietilamina
Teoc	=	2-(trimetilsililo)etoxicarbonilo
TEMPO	=	Radical libre de 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi
TFA	=	Ácido trifluoroacético
THF	=	Tetrahidrofurano
THP	=	Tetrahidropiranilo
TLC	=	Cromatografía de capa delgada
TMSCl	=	Cloruro de trimetilsililo
TMSCN	=	Cianuro de trimetilsililo
UV	=	Ultravioleta
Z	=	Benciloxicarbonilo

Los prefijos *n, s, i* y *t* tienen sus significados usuales: normal, secundario, iso y terciario. El prefijo *c* significa ciclo.

304

Reivindicaciones

1. Un compuesto de fórmula I



I

en donde

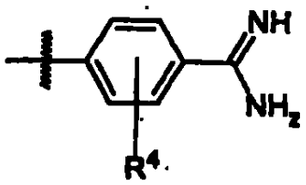
R^a representa -OH ó $-CH_2OH$;

R^1 representa uno o más sustituyente halo opcionales;

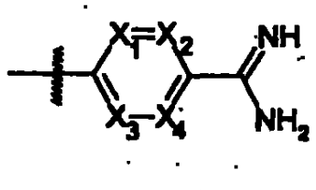
R^2 representa uno o dos sustituyentes C_{1-3} alkoxi, las partes alquilo de los cuales sustituyentes se sustituyen ellas mismas por uno o más de sustituyentes fluoro;

Y representa $-CH_2-$ ó $-(CH_2)_2-$; y

R^3 representa un fragmento estructural de fórmula I(i) ó I(ii):



I(i)



I(ii)

en donde

R^4 representa H o uno o más sustituyentes fluoro; y

Uno o dos de X_1, X_2, X_3 y X_4 representa -N- y los otros representan -CH-,

o su derivado de aceptación farmacéutica.

2. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 1 en donde R^1 representa un sustituyente único fluoro, cloro o bromo.

3. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 2 en donde R^1

305

representa cloro.

4. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R^2 representa $-OCHF_2$, $-OCF_3$, $-OCH_2CF_3$, $-OCH_2CHF_2$, $-OCH_2CH_2F$ ó $-OCH(CH_2F)_2$.

5. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 4 en donde R^2 representa $-OCHF_2$, $-OCH_2CHF_2$ ó $-OCH_2CH_2F$.

6. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R^3 representa un fragmento estructural de fórmula I(i).

7. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 6 en donde R^4 representa H.

8. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 6 en donde, cuando R^4 representa uno o más sustituyentes fluoro, él representa un sustituyente único fluoro en la posición 2 ó 3, o dos sustituyentes Fluoro en una cualquiera de las dos posiciones 2 y 5 ó las posiciones 2 y 6.

9. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 8 en donde R^4 representa un sustituyente Fluoro único en la posición 2 ó dos sustituyentes fluoro en las posiciones 2 y 6.

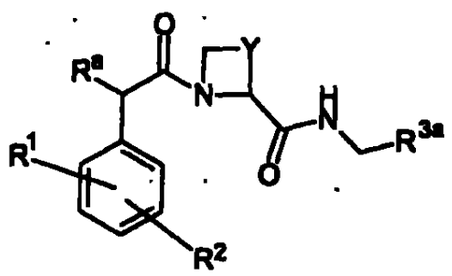
10. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R^a representa OH.

11. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde los puntos de sustitución de R^1 y R^2 en el grupo denilo relevante del compuesto de fórmula I es uno o ambos de las dos posiciones *meta*, relativos al punto de unión de ese grupo fenilo al

306

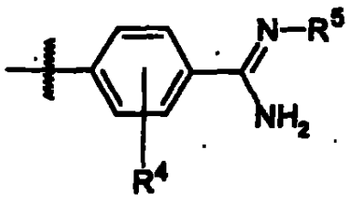
resto de la molécula.

12. Un derivado de aceptación farmacéutica de un compuesto de fórmula I como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, el cual compuesto derivado es un compuesto de fórmula Ia,

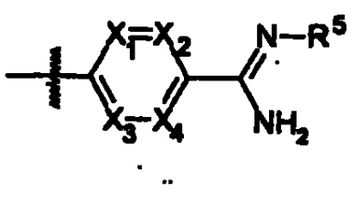


Ia

en donde R^{3a} representa un fragmento estructural de fórmula I(iii) ó I(iv):



I(iii)



I(iv)

en donde R^5 representa OR^6 ó $C(O)OR^7$;

R^6 representa H, C_{1-10} alquilo, C_{1-3} alquilarilo o C_{1-3} alquiloxiarilo (las partes alquilo de los cuales dos últimos grupos se interrumpen opcionalmente por uno o más átomos de oxígeno, y las partes arilo de los cuales dos últimos grupos se sustituyen opcionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados de halo, fenilo, metilo o metoxi, los cuales últimos tres grupos se sustituyen también opcionalmente por uno o más sustituyentes halo);

R^7 representa C_{1-10} alquilo (el cual ultimo grupo se interrumpe opcionalmente por uno o más átomos de oxígeno), o C_{1-3} alquilarilo o C_{1-3} alquiloxiarilo (las partes alquilo de los cuales dos últimos grupos se interrumpen opcionalmente por uno o más átomo de oxígeno, y las partes arilo de los cuales dos últimos grupos se sustituyen opcionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados de halo, fenilo, metilo o metoxi, los

307

cuales últimos tres grupos se sustituyen también opcionalmente por uno o más sustituyentes halo); y
R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se definen en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11 (según lo apropiado),
o su derivado de aceptación farmacéutica.

13. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 12 en donde R^5 representa OR^6.

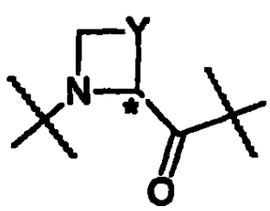
14. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 13 en donde R^6 representa H ó C_{1-8} alquilo no sustituido, lineal, ramificado o cíclico.

15. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 14 en donde R^6 representa H ó C_{1-6} alquilo.

16. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 14 en donde R^6 representa C_{1-3} alquilo lineal, C_{3-8} alquilo ramificado o C_{4-7} alquilo cíclico.

17. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 15 ó Reivindicación 16 en donde R^6 representa metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo o ciclobutilo.

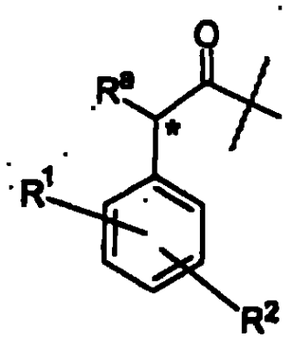
18. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 17, en donde el fragmento



es en la configuración *S*.

19. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las

Reivindicaciones 1 a 18, en donde el fragmento



es en la configuración *R* cuando R^a representa -OH ó es en la configuración *S* cuando R^a representa $-CH_2OH$.

20. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 1 que es:

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)-CO-Aze-Pab;

Ph(3-OCF_3)-(*R*)CH(OH)-CO-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab;

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-amidino)-5-piridinilo);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-amidino)-2-pirimidinilo);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F);

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF);

309

Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF).

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*n*Pr);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Pr);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentilo);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-(5-Me-isoxazol));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH_2-3-piridina);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Hexilo);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*c*Bu);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab($OCH_2CH_2OPh(3\text{-}CF_3)$);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Cl));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(3-MeO));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(2-Br));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OBn(4-Me));

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(0-4-heptilo);

Ph(3-Cl)(5-OCF_3)-(*S*)CH(CH_2OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CF_3)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl)(5-$OCH(CH_2F)_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-F)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Br)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

Ph(3-Cl, 5-OCH_2CHF_2)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);

310

Ph(3-Cl, 5-OCH_2CH_2F)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(OMe);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((2-metoxi-amidino)-5-piridinilo);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH_2-((5-metoxi-amidino)-2-pirimidinilo);
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); o
Ph(3-Cl, 5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe).

21. Una formulación farmacéutica que incluye un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, en mezcla con un adyuvante, diluyente o transportador de aceptación farmacéutica.

22. Una formulación como se reivindica en Reivindicación 21, en donde el adyuvante, diluyente y/o transportador ocasiona una liberación modificada del compuesto.

23. Una formulación como se reivindica en Reivindicación 21 o Reivindicación 22, que se adapta para administración oral.

24. Una formulación como se reivindica en Reivindicación 22 o Reivindicación 23, que es en la forma de un sistema de liberación modificada de matriz gelatinizante que comprende un componente gelatinizante hidrofílico e ingrediente activo.

25. Un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, para uso como un farmacéutico.

26. Un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, para uso

en el tratamiento de una condición en donde se requiere la inhibición de trombina.

27. Un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, para uso en el tratamiento de una condición donde se indica terapia anticoagulante.

28. Un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, para uso en el tratamiento de trombosis.

29. Un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, para uso como un anticoagulante.

30. El uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, como un ingrediente activo para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de una condición en donde se requiere inhibición de trombina.

31. El uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, como un ingrediente activo para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de una condición en donde se indica terapia anticoagulante.

32. El uso como se reivindica en Reivindicación 30 ó Reivindicación 31, en donde la condición es trombosis.

33. El uso como se reivindica en Reivindicación 30 ó Reivindicación 31, en donde la condición es hipercoagulabilidad en la sangre y/o tejidos.

34. El uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las

312

Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, como un ingrediente activo para la manufactura de un anticoagulante.

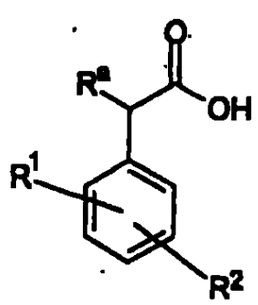
35. Un método de tratamiento de una condición en donde se requiere inhibición de trombina, método que comprende administración de una cantidad de efecto terapéutico de un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, a una persona que sufre de, o susceptible a, dicha condición.

36. Un método de tratamiento de una condición en donde se indica terapia anticoagulante, el cual método comprende administración de una cantidad de efecto terapéutico de un compuesto como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o su derivado de aceptación farmacéutica, a una persona que sufre de, o susceptible a, dicha condición.

37. Un método como se reivindica en Reivindicación 35 o Reivindicación 36, en donde la condición es trombosis.

38. Un método como se reivindica en Reivindicación 35 o Reivindicación 36, en donde la condición es hipercoagulabilidad en la sangre y/o tejidos.

39. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I como se define en Reivindicación 1, que comprende:
(i) el acoplamiento de un compuesto de fórmula II,

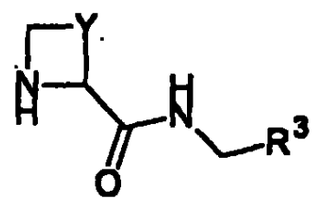


II

en donde R^a, R^1 y R^2 son como se define en Reivindicación 1 con un

313

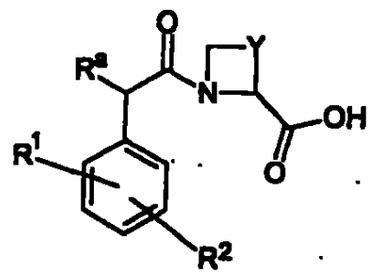
compuesto de fórmula III,



III

en donde Y y R^3 son como se define en Reivindicación 1;

(ii) el acoplamiento de un compuesto de fórmula IV,



IV

en donde R^a, R^1, R^2 y Y son como se define en Reivindicación 1 con un compuesto de fórmula V,

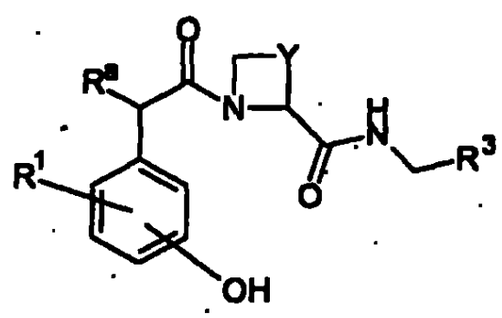
$$R^3CH_2NH_2 \qquad V$$

en donde R^3 es como se define en Reivindicación 1;

(iii) para compuestos de fórmula I en la cual R^1 no representa no o más grupos halo, reducción de un compuesto correspondiente de fórmula Ia, como se define en Reivindicación 12, en la cual R^5 representa OR^6, en donde R^5 y R^6 son como se define en reivindicación 12;

(iv) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XVIA ó XVIB, como se define en Reivindicación 47, con una fuente de amoníaco;

(v) reacción de un compuesto de fórmula XIVA,



XIVA

en donde R^a, R^1, R^3 y Y son como se define en Reivindicación 1 con:

(a) un haloalcano fluorinado correspondiente; o

(b) para compuestos de fórmula I en la cual R^2 representa $-OCH_2CF_3$, $-OCH_2CHF_2$, $-OCH_2CH_2F$ ó $-OCH(CH_2F)_2$, un compuesto de fórmula XIVJ,

$$R^xS(O)_2OR^y \qquad \text{XIVJ}$$

en donde R^x representa C_{1-4} alquilo, C_{1-4} perfluoroalquilo o fenilo (opcionalmente sustituidos por metilo, nitro o halo) y R^y representa $-CH_2CF_3$, $-CH_2CHF_2$, $-CH_2CH_2F$ ó $-CH(CH_2F)_2$;

(vi) para compuestos de fórmula I en la cual R^1 no representa uno o más grupos halo, hidrogenación de un compuesto correspondiente de fórmula I en el cual R^1 representa uno o más grupos halo; o

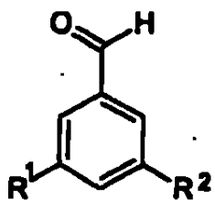
(vii) desprotección de un derivado protegido de un compuesto como se reivindica en Reivindicación 1.

40. Un compuesto de fórmula II como se define en Reivindicación 39 o su derivado protegido.

41. Un compuesto como se reivindica en Reivindicación 40, en donde el compuesto es en la configuración *R* (alrededor del átomo de carbono al cual se une R^a) cuando R^a representa -OH, o es en la configuración *S* en la cual R^a representa $-CH_2OH$.

42. Un compuesto de fórmula IV como se define en Reivindicación 39 o su derivado protegido.

43. Un compuesto de fórmula VI^a,

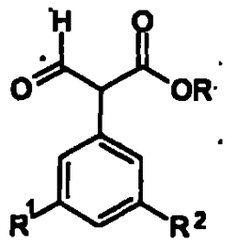


VI^a

315

en donde R^1 representa halo y R^2 como se define en Reivindicación 1, o su derivado protegido.

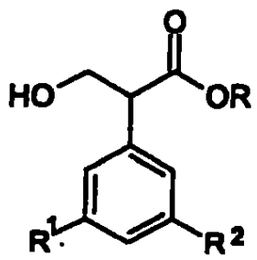
44. Un compuesto de fórmula IX^a,



IX^a

en donde R representa C_{1-6} alquilo o C_{1-3} alquilfenilo, R^1 representa halo y R_2 como se define en Reivindicación 1, o su derivado protegido.

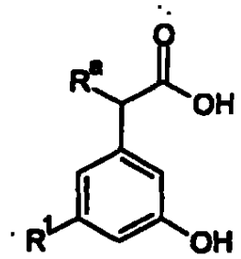
45. Un compuesto de fórmula IXA^a,



IXA^a

en donde R como se define en Reivindicación 44, R^1 representa halo y R^2 es como se define en Reivindicación 1, o su derivado protegido.

46. Un compuesto de fórmula $XIVB^a$,



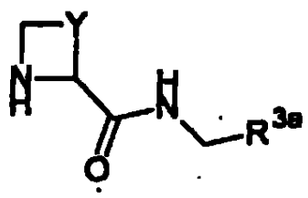
$XIVB^a$

o su derivado *O*-protegido de fenol, en donde R^1 representa halo y R^a es como se define en Reivindicación 1.

316

47. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula Ia como se define en Reivindicación 12, el cual comprende:

(a) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula II como se define en Reivindicación 39 con un compuesto de fórmula XV,



XV

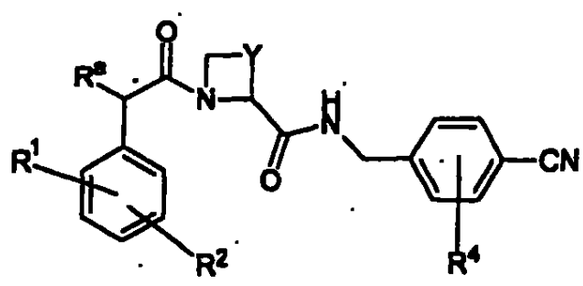
en donde Y es como se define en Reivindicación 1 y R^{3a} es como se define en Reivindicación 12;

(b) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula IV como se define en Reivindicación 39 con un compuesto de fórmula XVI,

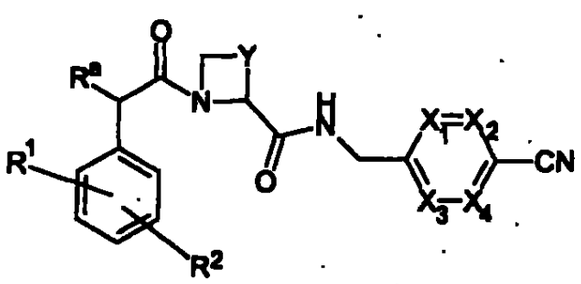
$$R^{3a}CH_2NH_2 \qquad XVI$$

en donde R^{3a} es como se define en Reivindicación 12;

(c) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OH, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XVIA ó XVIB,



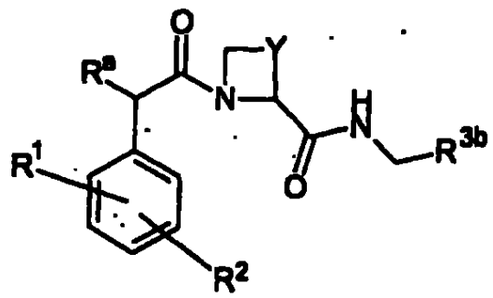
XVIA



XVIB

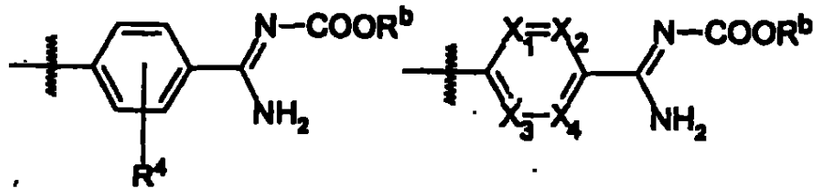
en donde R^a, R^1, R^2, R^4, Y, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se define en Reivindicación 1, con hidroxilamina;

(d) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OR^6, reacción de un compuesto de fórmula XVII,



XVII

en donde R^{3b} representa un fragmento estructural de fórmula I(v) ó I(vi):



I(v) I(vi)

en donde R^6 representa $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ o bencilo, o su tautómero, y R^a, R^1, R^2, Y, R^4, X_1, X_2, X_3 y X_4 son como se define en Reivindicación 1 con un compuesto de fórmula XVIII,

$$R^6ONH_2 \qquad \text{XVIII}$$

en donde R^6 es como se define en Reivindicación 12, o su sal de adición ácida, seguido por retiro del grupo $-C(O)OR^b$;

(e) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OH, reacción de un compuesto de fórmula XVII, como define más arriba, en la cual R^b representa bencilo con hidroxilamina, o su sal de adición ácida;

(f) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa $COOR^7$, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula I como se define en Reivindicación 1 con un compuesto de fórmula XIX,

$$L^1COOR^7 \qquad \text{XIX}$$

en donde L^1 representa un grupo saliente y R^7 es como se define en Reivindicación 12; o (g) para compuestos de fórmula Ia en la cual R^5 representa OCH_3 ó OCH_2CH_3, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula Ia en la cual R^5 representa OH con dimetilsulfato o dietilsulfato, respectivamente.

48. Un compuesto de fórmula XVIA ó XVIB como se define en

318

Reivindicación 47, o su derivado protegido.

49. Un compuesto de fórmula XVII como se define en Reivindicación 47, o su derivado protegido.

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

319

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCIÓN ✓ MODELO DE UTILIDAD	( )	( )
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	✓	( )
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	✓	( )
- Descripción de la invención.	✓	( )
- Dibujos de ser estos pertinentes.	✓	( )
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.		( )
COMPLETA ( )	INCOMPLETA ( )	( )
DISEÑO INDUSTRIAL ( )		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	( )	( )
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta	( )	( )
- la solicitud.		
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	( )	( )
Comprobante de pago de las tasas establecidas	( )	( )
COMPLETA ( )	INCOMPLETA ( )	( )
ESQUEMA DE TRAZADO ( )		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	( )	( )
- Datos de identificación del solcitante o de la persona que presenta La solicitud.	( )	( )
Representación gráfica del esquema de trazado	( )	( )
Comprobante de pago de las tasas establecidas.	( )	( )
COMPLETA ( )	INCOMPLETA ( )	( )

Firma Responsable: ANDREA ROSSE

Fecha:

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

320

Folio 320

2020
Bogotá DC

Doctor(a)
RAMIRO CASTRO DUQUE
Apoderado(a)

REFERENCIA:	Radicación No.	03-45865
	Solicitud Internacional	PCT/SE2001/02657
	Fecha inicio fase nacional	01/07/2003
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No.	1227
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Unica de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, 03 OCT. 2005

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202057