

As. 91.068

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-045865- -00007-0000

Fecha: 2009-12-29 09:52:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 181

Señora

JEFE DE DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E.

S.

D.

REF: Expediente No. 03 045 865 – solicitud de patente de invención a favor de ASTRAZENECA AB.

Respuesta al oficio No. 9663 del 21 de agosto de 2009

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO, portador de la tarjeta profesional No. 57.492 del C.S.J., obrando como apoderado de la sociedad ASTRAZENECA AB, según lo acredita el documento de poder presentado ante esa División y me permito dar respuesta a las observaciones de carácter técnico y jurídico, relacionadas con la patentabilidad, para la concesión de la patente de acuerdo con la Decisión 486 según el concepto técnico No. 1180 notificado por fijación en lista de fecha 21 de agosto de 2009 cuyo término fue prorrogado el 9 de noviembre de 2009.

En primer lugar, adjuntamos un nuevo capítulo reivindicatorio de 1-7 reivindicaciones que subsana las objeciones realizadas por el Señor Examinador. Este capítulo no amplía la materia inicialmente reclamada y encuentra entero sustento en la descripción. También adjuntamos las modificaciones correspondientes a la descripción para subsanar las objeciones de claridad realizadas por el Señor Examinador.

Por otro lado, respetuosamente discrepamos de la opinión del Señor Examinador en cuanto a la carencia de nivel inventivo de la presente solicitud

frente a los documentos D2 (US6051568), y D3 (US5744487) para lo que presentamos los siguientes argumentos.

En particular, los compuestos que hacen parte de la presente solicitud de acuerdo al nuevo capítulo reivindicatorio presentado, son los contenidos en los ejemplos 12, 2 y 3 de la descripción. De esta manera, el compuesto del ejemplo 12 (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)) constituye un profármaco que se metaboliza en el cuerpo en el compuesto del ejemplo 2 (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)) y este último asimismo se metaboliza en el compuesto del ejemplo 3 (Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab) que es en sí mismo el agente activo inhibidor de trombina cuyos valores de actividad pueden encontrarse en los ejemplos 46 y 47. De acuerdo con la descripción de la invención, al tratarse de un problema persistente en el estado de la técnica, es fundamental el diseño y desarrollo de compuestos activos inhibidores de trombina que funcionen como profármacos, debido a que el componente activo solo comienza su acción una vez metabolizado el compuesto inicial, lo cual soluciona varios problemas presentados hasta el momento con los inhibidores de trombina conocidos en el arte y proporciona ventajas a los compuestos de la presente solicitud. Específicamente, es importante el desarrollo de estos profármacos debido a que, en el caso de inhibidores de trombina, si se proporciona directamente el agente activo oralmente en humanos, la acidez del tracto gastrointestinal protona los grupos funcionales del agente activo, y la carga positiva adquirida impide el paso de estos agentes a través de membranas biológicas y asimismo su paso al torrente sanguíneo que es donde finalmente la actividad es requerida.

De esta forma, consideramos que al tratarse de un problema persistente en el estado de la técnica, las mejoras realizadas a los inhibidores de trombina constituyen toda una línea de investigación que genera un aporte fundamental al estado de la técnica y por ende resultan inventivas.

De acuerdo con lo anterior, una característica y ventaja fundamental de la presente invención sobre el arte previo es que el profármaco del ejemplo 12

es capaz de superar estas barreras y atravesar las membranas biológicas para ser metabolizado después de haber llegado al torrente sanguíneo en órganos como el hígado, convirtiéndose en el potente inhibidor de trombina expuesto en el ejemplo 3. Esto le confiere ventajas fundamentales sobre el arte previo a la presente invención, incluyendo la eficiencia en el tratamiento y la mejora en las cantidades de producción necesarias a nivel industrial para lograr el efecto terapéutico deseado. Por esta razón, consideramos que la presente solicitud es inventiva frente a los documentos citados por el Señor Examinador.

Con el fin de dar un mayor soporte a esta afirmación, se hace un análisis de nivel inventivo frente a D2 y D3, concluyendo con datos experimentales que comparan la actividad de los compuestos de la presente solicitud con los del arte previo.

En primer lugar, consideramos que no existe ninguna motivación o sugerencia en ninguno de estos documentos, individualmente o en combinación, que permita a un técnico entrenado en la materia preparar inhibidores de trombina que presenten las sustituciones específicas y en consecuencia las propiedades de los compuestos de la presente solicitud.

Por un lado, D2 muestra una gran cantidad de compuestos inhibidores de trombina donde el anillo central puede ser Pro, Pic o Aze. Además, en estos compuestos el anillo de la derecha de los compuestos puede ser también Dig, Hig, Pig o Pab.

Por otra parte, D3 muestra una gran cantidad de compuestos que en su mayoría comprenden compuestos de tipo prolilo y piperidina. Dado este hecho, consideramos que un técnico entrenado en el arte no hallaría motivación alguna a partir de las enseñanzas de D2 y D3 en combinación para escoger específicamente compuestos con el anillo central Aze y la estructura tridimensional exacta a la de los tres compuestos reivindicados con sus sustituyentes específicos. Mas aún, basado en las enseñanzas de estos documentos, un técnico entrenado en la materia escogería el camino

de diseñar compuestos de amidina libre, es decir compuestos activos directamente, y no compuestos activos que tengan además la permeabilidad apropiada como los de los ejemplos 2 y 3 de la presente solicitud para formar profármacos como el expuesto en el ejemplo 12, que logra cruzar las membranas biológicas y asimismo una mejor actividad terapéutica.

Por estas razones, consideramos que el técnico con experiencia en la materia requeriría de la una escogencia y análisis minucioso y selectivo de los documentos D2 y D3 para llegar a la presente solicitud, lo cual infiere habilidad inventiva.

Ahora en cuanto a la afirmación del Señor Examinador que los compuestos de la presente solicitud no conceden un efecto técnico inesperado a partir de sus sustituyentes diferenciales sobre D2, se presentan a continuación datos comparativos entre los compuestos de la presente invención y D2 para las pruebas A, B, E, F y G definidas en la descripción.

Vale la pena resaltar que, para realizar una comparación adecuada y puntual en términos experimentales, se tomó solamente uno de los compuestos del ejemplo 59 de D2 que corresponde al diasteroisómero (R) de ácido mandélico y su profármaco OMe correspondiente, aún cuando estos dos compuestos no están específicamente indicados en D2 ya que en este ejemplo solo se enseña la mezcla racémica y en ningún momento la formulación del profármaco.

Compuestos de la presente invención					
Ejemplo	Prueba A	Prueba B	Prueba F	Prueba G	Prueba G
	(TT nM)	(IC50 nM)	(mL/min/kg)	(% en ratas)	(% en humanos)
3 (amidina libre)	14	7,9	38	-	-
12 (compuesto Ome)	-	-	-	87	68

Diasteroisómero R y su profármaco de ejemplo 59 de D2					
Ejemplo	Prueba A	Prueba B	Prueba F	Prueba G	Prueba G
	(TT nM)	(IC50 nM)	(mL/min/kg)	(% en ratas)	(% en humanos)
59 (Diasteroisómero R)	8	2,5	58	-	-
59 (Profármaco Ome)	-	-	-	72	10

De estos datos experimentales se puede evidenciar que:

De acuerdo al tiempo de coagulación y la inhibición de trombina (pruebas A y B respectivamente) tanto las amidinas libres de la presente invención como el diastereoisómero (R) son buenos inhibidores de trombina. Sin embargo, de acuerdo a la depuración del plasma en la rata (prueba F) se observa que el diastereoisómero (R) sale del sistema de las ratas mucho más rápido que la amidina libre de la presente invención. De esto se puede concluir que el compuesto del ejemplo 3 de la presente solicitud produce un mayor y sostenido efecto terapéutico ya que no se elimina tan rápido de la corriente sanguínea, lo cual al traducirse a humanos implicaría una dosificación menor lo que confiere unas ventajas técnicas importantes a este compuesto.

De acuerdo a la determinación del tiempo a la estabilidad in vitro células de hígado humano y de rata (prueba G), se mide el porcentaje de conversión de el profármaco en el compuesto activo correspondiente y se observa que el compuesto de la presente solicitud es mucho más eficiente. En ratas el 72% del profármaco asociado a D2 se convierte en el agente activo mientras que en la presente solicitud se logra un 82% de conversión. Mas aún, en humanos la anterioridad solo logra un 10% de conversión frente al 68% alcanzado en la presente invención en el mismo periodo de tiempo del experimento. Entonces, estos porcentajes obtenidos son únicamente el resultado del proceso de investigación y selección precisa de los inventores para llegar a los compuestos reivindicados.

En conclusión, el profármaco de la presente invención logra metabolizarse rápidamente después de su administración oral, y llevar de igual forma a la una concentración efectiva en sangre del compuesto de amidina libre. En contraste, la anterioridad no logra este mecanismo eficiente por lo que en general se requeriría una dosis mayor que trae ciertas desventajas como altos niveles de exposición, dificultades en su formulación e incluso dificultades económicas en su producción.

Por estas razones, y teniendo en cuenta todos los argumentos presentados anteriormente, consideramos que la presente solicitud tiene nivel inventivo por si misma y además presenta una ventaja técnica demostrada frente al arte previo citado por el Señor Examinador. Además, nos permitimos afirmar que las moléculas tal como se reivindican se encuentran actualmente bajo pruebas clínicas para prevención de derrames cerebrales en pacientes humanos, lo cual es una prueba mas de las propiedades de las mismas ya que muy pocas moléculas llegan a tener todas las características necesarias para ser ensayadas en pacientes humanos.

En vista de lo anteriormente expuesto, respetuosamente solicitamos el retiro de las objeciones de la presente solicitud y la concesión del privilegio solicitado, ya que en opinión del solicitante cumple con todos los requisitos establecidos en la decisión 486.

De la señora Jefe,



JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

C.C. No. 80.410.337 de Usaquén

T.P. No. 57492 del C.S.J.

Calle 70A No. 4-41

Bogotá, 28 de diciembre de 2009

MXB/NFA

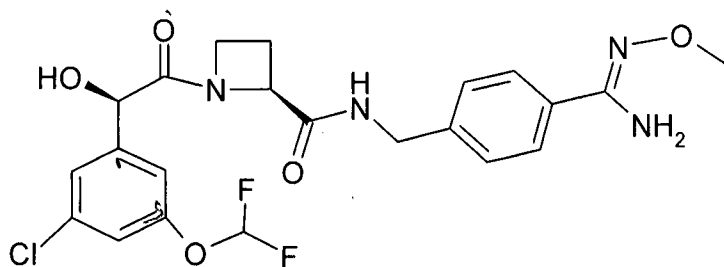
Anexo

4. Una formulación farmacéutica como se reivindica en la reivindicación 3, que comprende el compuesto de la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.
5. Una formulación farmacéutica como se reivindica en las reivindicaciones 3 o 4, en donde el adyuvante, diluyente y/o portador dan lugar a un compuesto de liberación modificada.
6. Una formulación farmacéutica como se reivindica en las reivindicaciones 3 o 4, la cual es adaptada para administración oral.
7. Una formulación farmacéutica como se reivindica en las reivindicaciones 5 o 6, la cual está en la forma de sistema de liberación modificada de matriz gelificante, que comprende un componente gelificante hidrofílico y un ingrediente activo.

REIVINDICACIONES

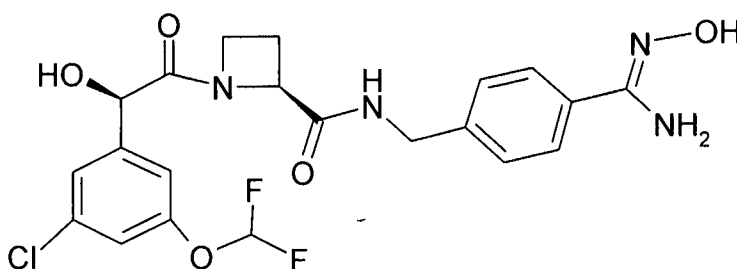
1. Un compuesto seleccionado de:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) de fórmula



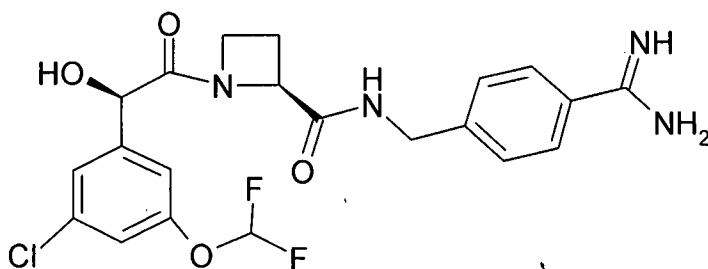
12

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH) de fórmula



9.1

ó Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab de fórmula



9.3

o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de estos

2. El compuesto Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
3. Una formulación farmacéutica que comprende cualquiera de los compuestos como se definen en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en combinación con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

364

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, entrecruza 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.

365
10

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 *et al.*, (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 escisión de la cadena A α 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 (por ejemplo, cualquiera de las dos 3- ó 4-aminometil-1-amidino-piperidina) en la posición P1 se conocen de las 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 (por ejemplo, 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 -tricotocompuestos, 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, análogos 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,

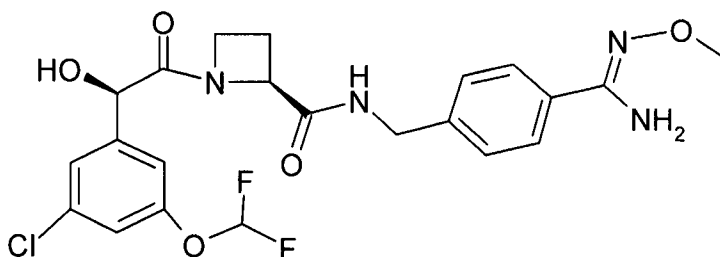
WO 96/03374, WO 98/06740, WO 97/49404, WO 98/57932, WO 99/29664, WO 00/35869 y WO 00/42059.

En particular, WO 97/02284 y WO 00/42059 divulgan inhibidores de trombina con ácidos mandélicos sustituidos en la posición P3.

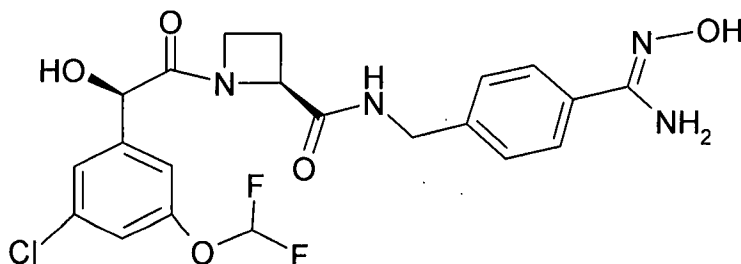
No obstante, subsiste una necesidad de inhibidores efectivos de serina proteasas análogas a tripsina, tales como trombina. Existe además una necesidad de compuestos que tengan un perfil fármaco-cinético favorable y que sean selectivos en inhibir trombina sobre otras serina proteasas, en particular aquellos 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 seleccionado de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$ de fórmula

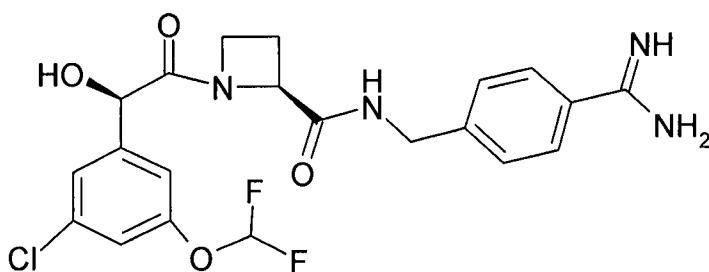


$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)}$ de fórmula



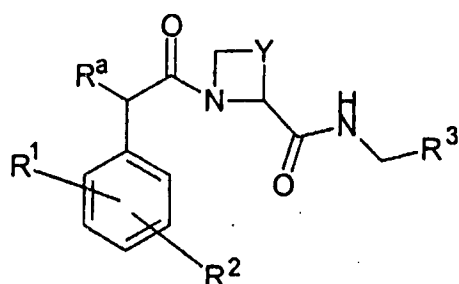
368
73

ó Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab de fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de estos

Se provee un compuesto de fórmula I:



en donde:

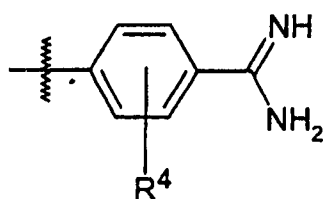
R^a representa -OH ó -CH₂OH;

R¹ representa por lo menos un sustituyente halo;

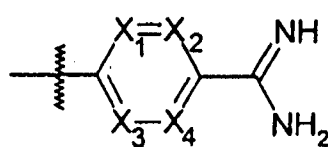
R² representa uno o dos sustituyentes C₁₋₃ alcoxi, las partes alquilo de cuyos sustituyentes se sustituyen ellas mismas con uno o más sustituyentes fluoro (es decir, R² representa uno o dos grupos fluoroalcoxi(C₁₋₃);

Y representa -CH₂- ó -(CH₂)₂-; y

R³ 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 (por ejemplo, sales de adición de ácido).

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 se observan las reglas de valencia) 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 -NHCH₂-)).

Cuando R^3 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 -OCHF₂, -OCF₃, -OCH₂CF₃, -OCH₂CHF₂, -OCH₂CH₂F, o -OCH(CH₂F)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 -OCF₃, preferiblemente -OCH₂CHF₂, o más preferiblemente -OCHF₂, o -OCH₂CH₂F.

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

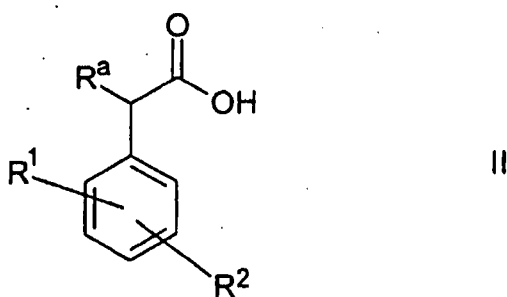
R^2 representa uno o dos sustituyentes C_3 alcoxi, las partes alquilo de cuyos

sustituyentes se sustituyen ellas mismas con uno o más sustituyentes fluoro.

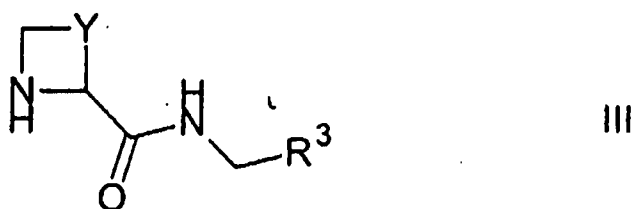
Compuestos de fórmula I pueden elaborarse de acuerdo con técnicas bien conocidas por personas expertas en el arte, por ejemplo como se describe más adelante.

De acuerdo con un aspecto adicional, se provee un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I, que comprende:

- (i) el acoplamiento de un compuesto de fórmula II,

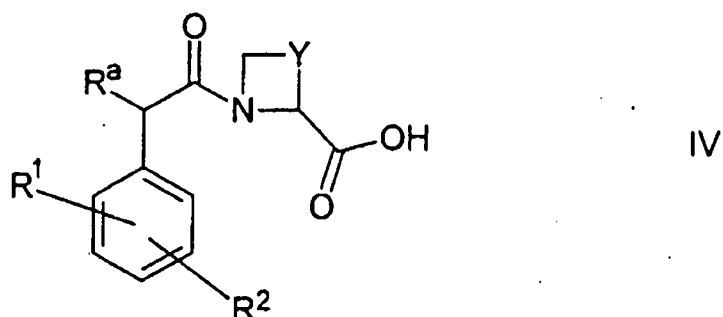


en donde R^a, R¹ y R² son como se definen en los sucesivo con un compuesto de fórmula III,



en donde Y y R³ son como se definen más arriba en el texto, por ejemplo en presencia de un agente de acoplamiento (por ejemplo, cloruro de oxalilo en DMF, EDC, DCC, HBTU, HATU, PyBOP o TBTU), una base apropiada (por ejemplo, piridina, DMAP, TEA, 2,4,6-colidina o DIPEA) y un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo, EtOAc o DMF);

- (ii) el acoplamiento de un compuesto de fórmula 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,



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;

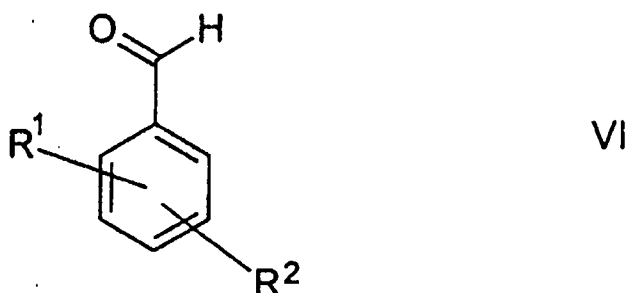
(iii) para compuestos de fórmula I en la cual R^1 no está presente, reducción de un compuesto correspondiente de fórmula Ia, como se define más adelante, en la cual R^5 representa OR^6 , en donde R^5 y R^6 son como se definen más adelante, por ejemplo mediante hidrogenación en presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo, un catalizador con soporte de metal tal como Pd/C (por ejemplo, 10% (p/p) Pd/C)) y un disolvente apropiado (por ejemplo, un alcohol de alquilo (por ejemplo, C_{1-6}) inferior tal como etanol), y opcionalmente en presencia de un ácido adecuado (por ejemplo, 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 (por ejemplo, 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 (por ejemplo, 1 a 30 equivalentes de *N*-acetil cisteína) y un disolvente apropiado (por ejemplo, un alcohol de alquilo (por ejemplo, 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,



en donde R^1 y R^2 son como se define más arriba en el texto con:

(a) un compuesto de fórmula VII,



VII

en donde R'' representa H o $(CH_3)_3Si$, por ejemplo a temperatura ambiente, o elevada (por ejemplo, por debajo de $100^\circ C$) en presencia de un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, cloroformo o cloruro de metileno) y, si es necesario, en presencia de una base apropiada (por ejemplo, TEA) y/o un

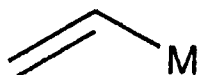
37A
19

sistema catalizador apropiado (por ejemplo, cloruro de bencilamonio o yoduro de zinc, o usando un catalizador quirral, 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 (por ejemplo, como se describe más adelante);

(b) NaCN o KCN, por ejemplo en presencia de NaHSO₃ y agua, seguido por hidrólisis;

(c) cloroformo, por ejemplo a temperatura elevada (por ejemplo, por encima de la temperatura ambiente pero por debajo de 100°C) en presencia de un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, el cloroformo) y, si es necesario, en presencia de un sistema catalizador apropiado (por ejemplo, cloruro de bencilamonio) seguido por hidrólisis;

(d) un compuesto de fórmula VIII,

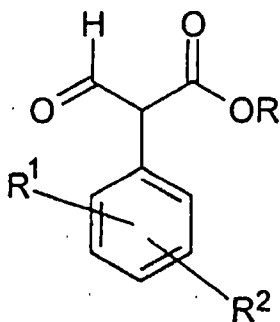


VIII

en donde M representa Mg o Li, seguido por seccionamiento oxidativo (por ejemplo, ozonólisis o catalizado por osmio o rutenio) bajo condiciones que son bien conocidas por personas expertas en el arte, o

(e) tris(metililo)metano bajo condiciones que son bien conocidas por personas expertas en el arte, seguido por hidrólisis en presencia de por ejemplo, HgO y HBF₄.

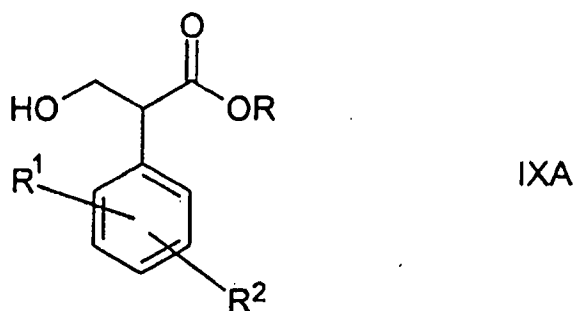
Compuestos de fórmula II en la cual R^a representa -CH₂OH pueden prepararse por reducción de un compuesto de fórmula IX,



IX

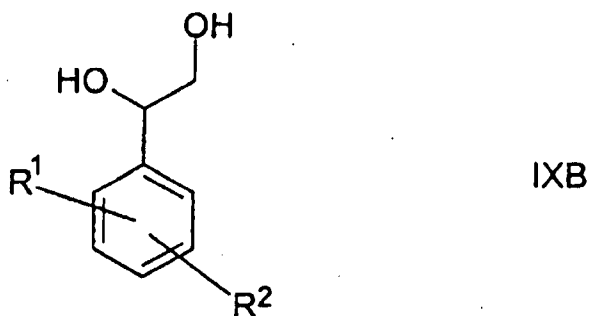
375
80

en donde R representa C₁₋₆ alquilo o C₁₋₃ alquilfenilo y R¹ y R² 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 (por ejemplo, borohidruro de sodio) y un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, metanol, etanol, THF o sus mezclas), seguido por hidrólisis del intermedio éster de ácido trópico resultante de fórmula IXA,



en donde R, R¹, y R² 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 ("*one pot procedure*"), 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,



376
28

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 (por ejemplo, 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 disolvente adecuado (por ejemplo, agua, acetona o una mezcla de ambas), una sal apropiada (por ejemplo, halogenuro de metal alcalino tal como bromuro de potasio) y una base idónea (por ejemplo, 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 $-\text{OH}$ (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 $\alpha\text{-OH}$ a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo (por ejemplo, a entre 45 y 65°C) en presencia de una enzima adecuada (por ejemplo, Lipasa PS Amano), un éster apropiado (por ejemplo, acetato de vinilo) y un disolvente adecuado (por ejemplo, éter metil *terc*-butílico). El isómero derivado puede separarse entonces del isómero sin reaccionar mediante técnicas de separación convencionales (por ejemplo, cromatografía).

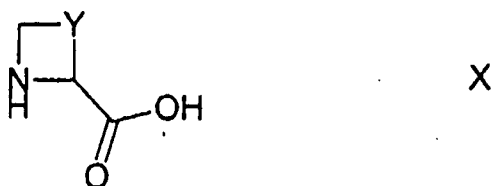
Grupos agregados a compuestos de fórmula II en dicho paso de derivación pueden retirarse bien sea antes de cualesquiera reacciones adicionales o bien sea en cualquier etapa posterior en la síntesis de compuestos de fórmula I. Los grupos adicionales pueden retirarse usando técnicas convencionales (por ejemplo, para ésteres del grupo $\alpha\text{-OH}$, hidrólisis bajo

377
22

condiciones conocidas por las personas expertas en el arte (por ejemplo, a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo en presencia de una base adecuada (por ejemplo, NaOH) y un disolvente apropiado (por ejemplo, MeOH, agua o sus mezclas))).

Las formas enantioméricas del compuesto de fórmula II en la cual R^a representa -CH₂OH pueden separarse mediante técnicas cromatográficas quirales (por ejemplo, HPLC quiral).

Compuestos de fórmula III pueden prepararse acoplando un compuesto de fórmula X,



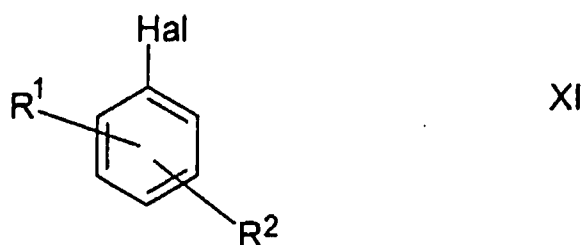
en donde Y es como se define más arriba en el texto, a un compuesto de fórmula V, como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas aquí para la preparación de compuestos de fórmula I.

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:

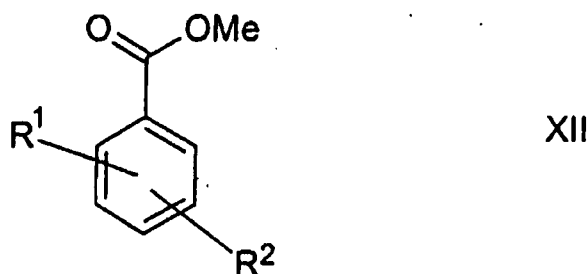
(i) metalación (en donde el metal puede ser, por ejemplo, un metal alcalino tal como Li o, preferiblemente, un metal divalente tal como Mg) de

un compuesto de fórmula XI,



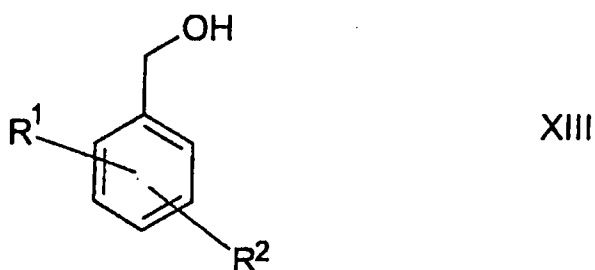
en donde Hal representa un átomo de halógeno seleccionado de Cl, Br e I y R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto, seguida por la reacción con una fuente apropiada del grupo formilo (tal como *N,N*-dimetilformamida), por ejemplo bajo condiciones descritas más adelante;

(ii) reducción de un compuesto de fórmula XII,



en donde R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto en presencia de un agente reductor adecuado (por ejemplo, DIBAL-H); o

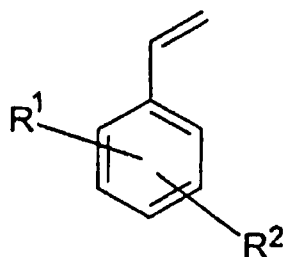
(iii) oxidación de un compuesto de fórmula XIII,



en donde R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto en presencia de un agente oxidante apropiado (por ejemplo, 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 XIII A



XIII A

en donde R^1 y R^2 son como se definen más arriba en el texto, en presencia de un agente deshidroxilante adecuado (por ejemplo, un reactivo o mezcla de reactivos que proporcione 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 $-10^\circ C$ y temperatura ambiente en presencia de un disolvente apropiado (e.g agua, *terc*-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.

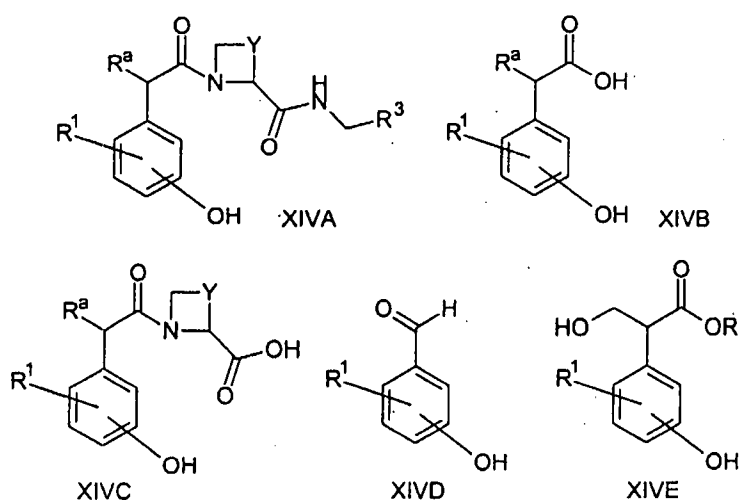
Compuestos de fórmula XIII A pueden prepararse por reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XI, como se define más arriba en el texto, con una fuente adecuada de anión de vinilo (por ejemplo, tributil(vinil)tina) bajo condiciones conocidas por personas expertas en el

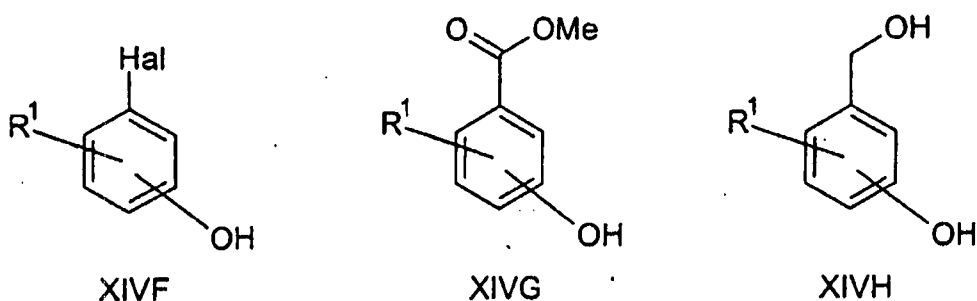
arte, por ejemplo a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo (por ejemplo, 50°C) en presencia de un disolvente apropiado (por ejemplo, tolueno), un agente acoplante adecuado (por ejemplo, un complejo de coordinación de paladio(0) tal como tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)) y opcionalmente en presencia de un catalizador apropiado (por ejemplo, 2,6-di-*terc*-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 XIII A pueden introducirse y/o interconvertirse usando técnicas bien conocidas por aquellas personas expertas en el arte mediante interconversiones de grupos funcionales estándar, de materiales de partida de fácil obtención usando reactivos 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,



381
26

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 (por ejemplo, un cloroalcano correspondiente), por ejemplo, a temperatura ambiente o por encima de ella (por ejemplo, a reflujo) en presencia de una base apropiada (por ejemplo, *tert*-butóxido de potasio, KOH o NaOH, por ejemplo en solución acuosa) y un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, THF, cloroformo o *i*-propanol); o
- (b) mediante reacción con un compuesto de fórmula 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 (por ejemplo, K_2CO_3) y un disolvente apropiado (por ejemplo, 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

382
27

(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, de materiales de partida 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 *terc*-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 (por ejemplo, 1-Br, 3-Cl, 5-F-benceno, mediante sustitución del átomo de fluór con un grupo metoxi (por ejemplo, mediante reacción con NaOMe en 1-metil-2-pirrolidinona/metanol a temperatura elevada), reemplazo del grupo bromo con un grupo formilo (por ejemplo, como se describe más arriba en el texto para la preparación de compuestos de fórmula VI), y luego desmetilación (por ejemplo, mediante el empleo de PhSH en 1-metil-2-pirrolidinona en presencia de K_2CO_3)).

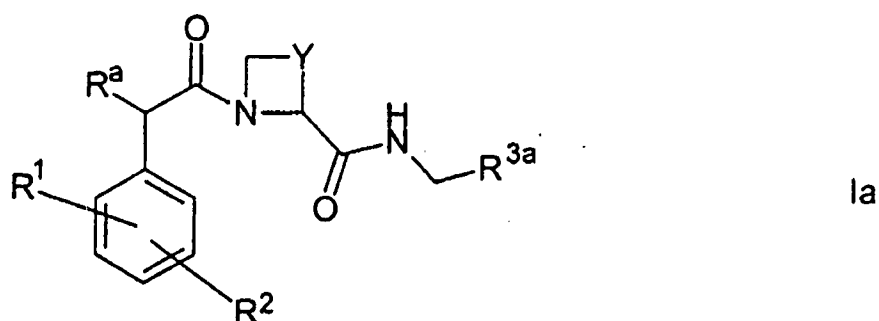
Igualmente, compuestos de fórmula I en la cual R^1 está ausente pueden prepararse de los compuestos correspondientes de fórmula I (o *mediante* sus precursores apropiados) en la cual R^1 representa halo (tal como cloro), por ejemplo por hidrogenación bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte.

Compuestos de fórmula I pueden aislarse de sus mezclas de reacción usando técnicas convencionales.

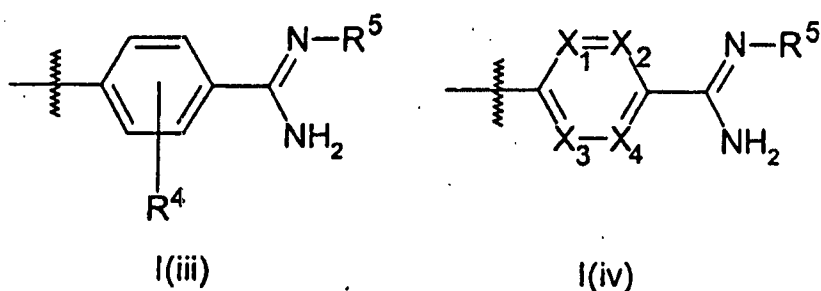
383
28

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,



en donde R^{3a} representa un fragmento estructural de fórmula I(iii) ó 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} alquiloarilo (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} alquiloarilo (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 (por ejemplo, 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 alquiloarilo 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 alquiloarilo se enlazan al resto de la molécula *con* 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 alquiloarilo 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} (por ejemplo, C_{1-6}) alquilo no sustituido, lineal, ramificado o cíclico, tal como C_{1-3} alquilo lineal (por ejemplo, etilo o, particularmente, metilo), C_{3-8} alquilo ramificado (por ejemplo, *i*-propilo, *i*-butilo o 4-heptilo) o C_{4-7} alquilo cíclico (es decir, C_{4-7} cicloalquilo, por ejemplo, ciclobutilo o ciclohexilo);
- (c) C_{1-3} alquiloxifenilo (por ejemplo, C_2 alquiloxifenilo), el cual grupo fenilo se sustituye opcionalmente por uno o más sustituyentes como se indica más arriba en el texto (por ejemplo, trifluorometilo);
- (d) C_{1-2} alquilarilo (por ejemplo, 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 (por ejemplo, metoxi, metilo, bromo y/o cloro).

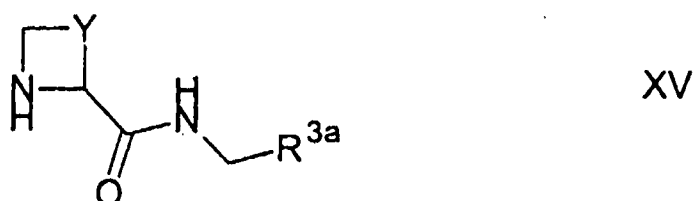
Compuestos preferidos de fórmula Ia incluyen aquellos en los cuales R^5 representa OR^6 y R^6 representa C_{1-6} (por ejemplo, C_{1-4}) alquilo lineal, ramificado (según lo apropiado), o cíclico (según lo apropiado), C_{1-6} (por

386
37

ejemplo, C₁₋₄) 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,



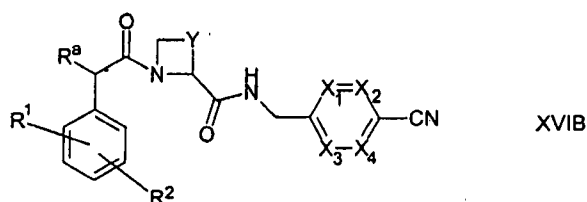
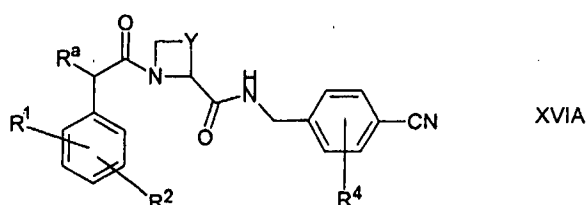
en donde Y y R^{3a} son como se define más arriba en el texto, por ejemplo bajo condiciones similares a las descritas más arriba en el texto para síntesis de compuestos de fórmula I;

(b) reacción de un compuesto correspondiente de fórmula IV como se define más arriba en el texto con un compuesto de fórmula XVI,



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;

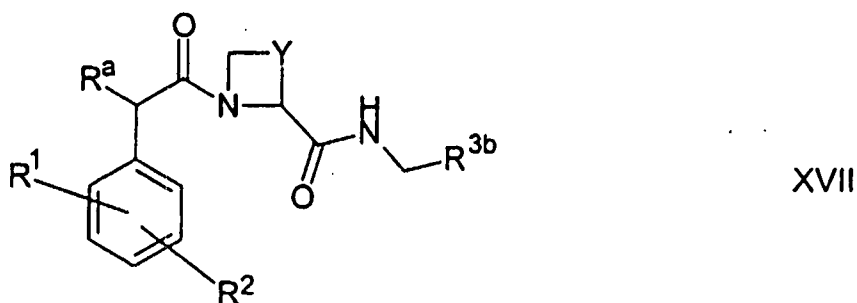
(c) para compuestos de fórmula Ia en la cual R⁵ representa OH, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula XVIA o XVIB,



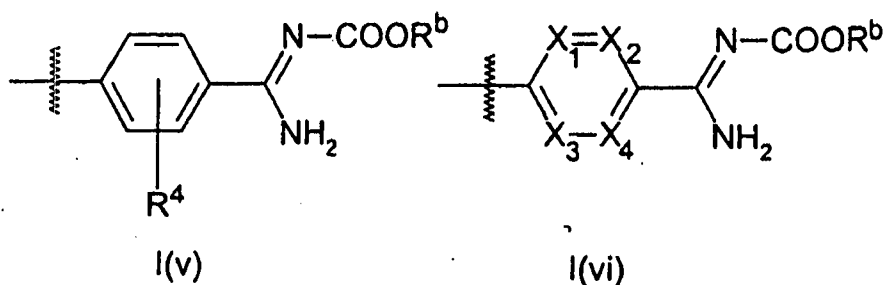
387
JZ

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,



en donde R^{3b} representa un fragmento estructural de fórmula I(v) o 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,



en donde R^6 es como se define más arriba en el texto, o su sal de adición

388

ácida, por ejemplo a entre temperatura ambiente y temperatura de reflujo en presencia de un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, THF, CH₃CN, DMF o DMSO), seguido por retiro del grupo -C(O)OR^b bajo condiciones conocidas por personas expertas en el arte (por ejemplo, haciendo reaccionar con QF o TFA (por ejemplo, como se describe más adelante));

(e) para compuestos de fórmula Ia en la cual R⁵ 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 R⁵ representa COOR⁷, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula I como se define más arriba en el texto con un compuesto de fórmula XIX,



XIX

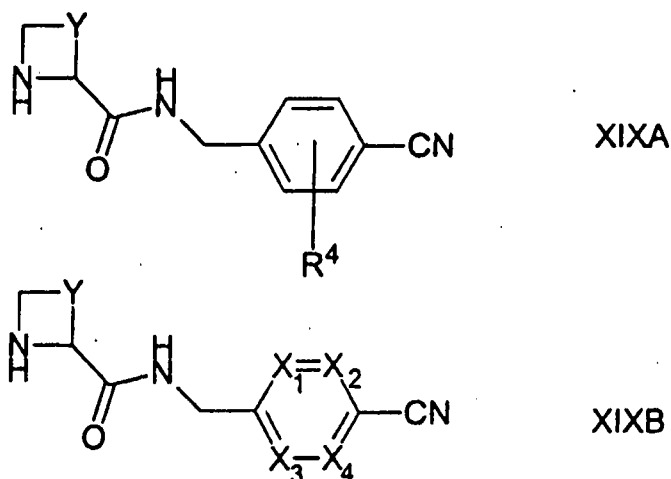
en donde L¹ representa un grupo saliente adecuado, tal como halo o nitrofenilo (por ejemplo, 4-nitrofenilo), y R⁷ es como se define más arriba en el texto, por ejemplo a o alrededor de temperatura ambiente en presencia de una base adecuada (por ejemplo, NaOH, por ejemplo en solución acuosa) y un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, cloruro de metileno); o

(g) para compuestos de fórmula Ia en la cual R⁵ representa OCH₃ o OCH₂CH₃, reacción de un compuesto correspondiente de fórmula Ia en la cual R⁵ representa OH con dimetilsulfato o dietilsulfatoe, respectivamente, por ejemplo en presencia de una base adecuada (por ejemplo, un hidróxido de metal alcalino tal como KOH (por ejemplo en solución acuosa a por ejemplo, 50 % en peso)) y un catalizador apropiado (por ejemplo, un

halogenuro de amonio cuaternario tal como cloruro de benciltrimetilammonio (por ejemplo en CH_2Cl_2 o solución de THF a por ejemplo, 10 % en peso)).

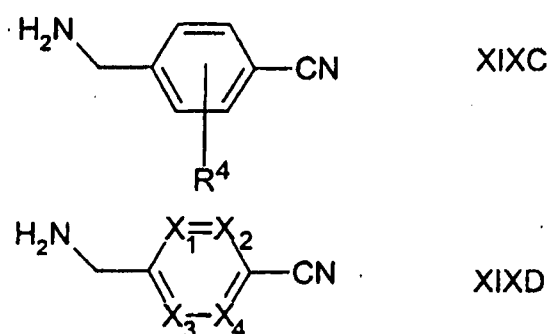
Las líneas onduladas en los enlaces en los fragmentos de fórmulas I(v) y I(vi) significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

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,



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.

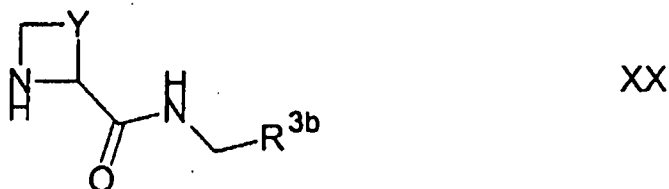
Compuestos de fórmulas XVIA y XVIB pueden prepararse alternativamente mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula IV, como se define más arriba en el texto, con un compuesto de fórmula XIXC o XIXD,



390
35

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.

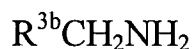
Compuestos de fórmula XVII pueden prepararse mediante reacción de un compuesto correspondiente de fórmula II, como se define más arriba en el texto, con un compuesto de fórmula XX,



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,



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".

Compuestos preferidos incluyen por lo tanto los compuestos de los ejemplos descritos más adelante. A este respecto, compuestos que pueden mencionarse incluyen:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentilo);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

392
31

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂-3-(5-Me-isoxazol));
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂-3-piridina);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O*i*Bu);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(ONb);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcHexilo);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu);
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂CH₂OPh(3-CF₃));
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(ONb(4-Cl));
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(ONb(3-MeO));
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(ONb(2-Br));
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(ONb(4-Me));
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-4-heptilo);
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);

393
T38

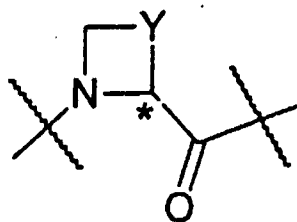
Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
Ph(3-Cl, 5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
Ph(3-Cl, 5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Pro-Pab;
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(OMe);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((2-amidino)-5-piridinilo);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((2-metoxiamidino)-5-piridinilo);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-amidino)-2-pirimidinilo);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-metoxiamidino)-2-pirimidinilo);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe);
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF); y
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(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 el ámbito 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 R⁵.

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, por ejemplo, cromatografía. Los diferentes

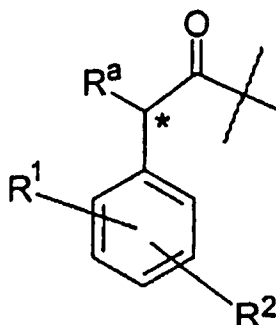
estereoisómeros pueden aislarse por separación de una mezcla racémica, u otra, de los compuestos empleando técnicas convencionales, por ejemplo, HPLC. Alternativamente, los isómeros ópticos deseados pueden elaborarse por reacción de los materiales base de acción óptica apropiados bajo condiciones que no causarán racemización o epimerización, o por derivatización, por ejemplo con un ácido homoquiral seguido por separación de los derivados diastereoméricos por medios convencionales (por ejemplo, HPLC, cromatografía sobre sílice).

Se prefieren compuestos en los cuales el



fragmento se encuentra en la configuración *S*.

Compuestos preferidos incluyen aquellos en los cuales el fragmento estructural



Se encuentra en la configuración *R* cuando R^a representa $-OH$ o se encuentra en la configuración *S* cuando R^a representa $-CH_2OH$.

395
40

Las líneas onduladas en los enlaces en los dos fragmentos anteriores significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

Compuestos que pueden mencionarse incluyen $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$ (en donde, en esta ocasión, Aze simboliza azetidina-2-carboxilatoe (es decir, 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, $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$, $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)}$, $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr)}$ o $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr)}$). Compuestos 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 hidroxilo, amino y ácido carboxílico. Grupos protectores apropiados para hidroxilo incluyen grupos alquilo opcionalmente sustituidos y/o insaturados (por ejemplo, metilo, alilo, bencilo o *tert*-butilo), grupos trialkilsililo o dialkylalkilsililo (por ejemplo, *t*-butyldimethylsililo, *t*-butyldiphenylsililo o trimethylsililo) y tetrahydropyranyl. Grupos protectores apropiados para ácido carboxílico incluyen C_{1-6} alquilo o ésteres bencílicos. Grupos protectores apropiados para amino y amidino incluyen *t*-butoxycarbonyl, bencyloxycarbonyl o 2-trimethylsilyloxycarbonyl (Teoc). Nitrógenos amidino pueden protegerse igualmente por grupos hidroxilo o alcoxi, 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 (por ejemplo, hidrogenación). La persona experta apreciará además que ciertos compuestos de fórmula Ia pueden designarse igualmente

397
42

como siendo "derivados protegidos" de compuestos de fórmula I.

Uso médico y farmacéutico

Compuestos de la invención pueden poseer actividad farmacológica como tal.

No obstante, otros compuestos de la invención 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. 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 (por ejemplo, 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 (por ejemplo, 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), homocisteínemia, trombocitopenia inducida por heparina y defectos en fibrinólisis, así como síndromes de coagulación (por ejemplo, coagulación intravascular diseminada (DIC)) y lesión vascular en general (por ejemplo, debida a cirugía).

El tratamiento de condiciones donde hay un exceso indeseable 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 (por ejemplo, DVT) y embolismo pulmonar, trombosis arterial (por ejemplo, en infarto del miocardio, angina inestable, infarto debido a en trombosis y trombosis arterial periférica), y embolismo sistémico usualmente del atrio durante fibrilación atrial (por ejemplo, fibrilación atrial no valvular) o del ventrículo izquierdo luego de infarto transmural del miocardio, o causado por falla cardíaca congestiva; profilaxis de re-oclusión (es decir, 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, aterosclerosis 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.

Normalmente los compuestos de la invención se administrarán oralmente, intravenosamente, subcutáneamente, bucalmente, rectalmente, dérmicamente, nasalmente, traquealmente, bronquialmente, por cualquier otra ruta parenteral o *con* 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) Boca Raton, 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 hidrófilo 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 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/cm³.

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 ≥ 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 de 8 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 3^a 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 plasminógeno 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 provee 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 (por ejemplo, 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 amortiguador, 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 (TT₀) con respecto a TT con inhibidor (TT₁). 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 pocillos (Costar, Cambridge, MA, USA; Cat. No. 3690). Soluciones patrón concentradas de sustancia de prueba en DMSO (72 μ L), 0.1-1 mmol/L, se diluyen en serie 1:3 (24 + 48 μ L) con DMSO para obtener diez diferentes concentraciones, las cuales se analizan como muestras en el ensayo. 2 μ L de muestra de prueba se diluyen con 124 μ L de tampon de ensayo, 12 μ L de solución de sustrato cromogénico (S-2366, Cromogenix, Mölndal, Sweden) en amortiguador de ensayo y, finalmente, se agregan 12 μ L de solución de α -trombina (α -trombina humana, Sigma Chemical Co. ó Hematologic Technologies) en amortiguador de ensayo, y se mezclan las muestras. Las concentraciones del ensayo final son: sustancia de prueba 0.00068 - 13.3 μ mol/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 μ L; normalmente en amortiguador o solución salina que contiene BSA 10 g/L) se mezclan con 200 μ L de α -trombina humana (Sigma Chemical Co) en amortiguador 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 μ L, junto con 20 μ L de agua, a 320 μ L del sustrato S-2238 (Cromogenix AB, Mölndal, Suecia) en amortiguador de ensayo, y se monitorea la variación de la absorción ($\Delta A/\text{min}$). Las concentraciones finales de S-2238 son 16, 24 y 50 μ mol/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. $1/(\Delta A/\text{min})$. Para inhibidores competitivos, reversibles, los puntos de los datos por 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 humano normal agrupado, tratado con citrato, con el reactivo PTT Automated 5 fabricándolo por Stago. Los inhibidores se agregan al plasma (10 μ L solución inhibidora a 90 μ L 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 (APTT₀) 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 IC₅₀ = 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).

IC₅₀APTT 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

409
\$4

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 calcula la depuración del plasma en ratas macho Sprague Dawley. El compuesto se disuelve en agua y se administra como un inyección subcutánea rápida en 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

$$CL = \text{Dosis} / \text{AUC}$$

Los valores se reportan en mL/min/kg.

Prueba G

Determinación de la Estabilidad *in vitro*

Microsomas del hígado 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 total de proteína de microsoma de 3 mg/mL en un amortiguador 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 (FeCl₃) tópicamente a la arteria carótida. Se anestesian las ratas con una inyección intraperitoneal 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, ¹²⁵I-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 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 trifluoroacético 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,

412
SF

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 ^1H NMR usando tetrametilsilano como el estándar interno. Se registraron espectros ^{13}C NMR usando los solventes deuterados listados como el estándar interno.

Los ejemplos adicionales a los ejemplos 2, 3 y 12 son provistos como referencia.

Ejemplo 1

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu)

(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 repartió en porciones 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 instantánea (2x) en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) proporcionó el compuesto del sub-título (38.9 g, 54%) como un aceite amarillo.

^1H 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 instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) proporcionó el compuesto del sub-título (5.2 g, 25%).

^1H 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 instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) proporcionó el compuesto del sub-título (4.6 g, 46%).

^1H 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, $J_{\text{H-F}} = 71.1$ Hz, 1H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 purificación posterior o caracterización.

(v) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 purificación posterior o caracterización.

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 H₂SO₄ (400 mL) y la reacción se agitó a 40°C durante 65 horas, se enfrió y luego se concentró parcialmente *in vacuo* para retirar la mayor parte del THF. La mezcla de reacción se extrajo luego con Et₂O (3 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del sub-título como un sólido, el cual se empleó en paso (vii) sin purificación posterior o caracterización.

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 H₂SO₄, se extrajo con Et₂O (3 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄) y se concentró *in vacuo* para producir un sólido. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con

415
60

$\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ concentrado (6:3:1) proporcionó 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)).

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

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (a) y $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (b)

Una mezcla de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (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 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ 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)

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

(ix) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (1.1 g, 4.4

416
61

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 instantánea en gel de sílice (3 x), fluyendo primero con CHCl₃:EtOH (9:1), luego con EtOAc:EtOH (20:1) y finalmente eluyendo con CH₂Cl₂:CH₃OH (95:5) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.0 g, 37%) como un sólido blanco.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu,Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 repartió en porciones 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 (Na₂SO₄), filtró y evaporó. Rendimiento: 0.054 g (95%).

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): 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),

417
62

1.78 (m, 1H). 1.62 (m, 1H), 0.96 (m, 2H), 0.01 (s, 9H)

(xi) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 CH₂Cl₂ 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)⁺

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): 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) ¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD) (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.4, 172.3, 171.9, 171.4, 152.3

Ejemplo 2

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0.148 g, 0.24 mmol; véase Ejemplo 1(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 purificación posterior.

418
63(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 CH₂Cl₂ 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)⁺

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD): 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)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.4, 172.3, 172.0, 171.4 152.3, 152.1

Ejemplo 3Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) 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),

419
64

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 ($\text{M} - 1$)⁻, 467 ($\text{M} + 1$)⁺

Ejemplo 4

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOcPentilo)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 ($\text{M} + 1$)⁺

^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-OCHF₂)-(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-OCHF₂)-(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)⁺

^1H NMR (400MHz; CD₃OD): 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-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA(i) Ácido 2-Nitro-5-trifluorometoxibenzoico

A una solución de ácido 3-trifluorometoxibenzoico (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 H₂O (1x), salmuera (2x), H₂O (1x) y salmuera (1x), se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 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-trifluorometoxibenzoico

A una solución de ácido 2-nitro-5-trifluorometoxibenzoico (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 H₂ 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7.66 (m, 1H), 7.17 (d, 1H, *J* = 8 Hz), 6.77 (d, 1H, *J* = 8 Hz)

422
67(iii) Ácido 2-Amino-3-cloro-5-trifluorometoxibenzoico

A una solución de ácido 2-amino-5-trifluorometoxibenzoico (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 Et₂O (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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7.72 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.22 (s, intercambiables)

(iv) Ácido 3-Cloro-5-trifluorometoxibenzoico

A una solución de ácido 2-amino-3-cloro-5-trifluorometoxibenzoico (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 desprendieron en forma de aceite de la solución ("*some organics oiled out of solution*"). 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 H₂O (250 mL) se agregó durante 15 minutos con 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 H₂O, 291.2 g, 2.20 mol) a través de 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 Et₂O (4x). Los orgánicos combinados se extrajeron con NaHCO₃ acuoso (3x). La capa acuosa básica se acidificó cuidadosamente con 6N HCl y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x). Los extractos CH₂Cl₂ se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (26.5 g, 46% de ácido 3-trifluorometoxibenzoico) como un sólido que se usó en el paso siguiente sin purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): 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-trifluorometoxibenzoico (22.5 g, 93.5 mmol; véase paso (iv) más arriba) en THF anhidro (1200 mL) bajo una atmósfera N₂ a temperatura ambiente se agregó una solución de complejo BH₃•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 H₂O 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 (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo* para producir el compuesto crudo del sub-título (21.2 g, 100%) como un aceite se usó sin purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 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 CH₂Cl₂ anhidro (300 mL) se enfrió a -78°C. Se agregó lentamente cloruro de oxalilo (13.1 g, 103.0 mmol) *con* 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 CH₂Cl₂ (200 mL) se agregó *con* 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) a través de un embudo adicional durante 10 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 sub-título (19.9 g, 95%) el cual se empleó en el paso siguiente sin purificación posterior.

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

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$

A una solución de 3-cloro-5-trifluorometoxibenzaldehído (19.9 g, 88.6 mmol; véase paso (vi) más arriba) en 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 purificación posterior.

^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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

425
20

Una suspensión de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (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 purificación posterior.

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

(ix) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (a) y $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (b)

Una mezcla de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (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*.

426
71

Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ concentrado (6:3:1) proporcionó 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 *con* cromatografía en gel de sílice eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ 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)

^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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

Una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (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

427
72

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 instantánea en gel de sílice (2x) eluyendo con EtOAc:MeOH (30:1) luego CH_2Cl_2 :MeOH (93:7) proporcionó el compuesto del sub-título (0.73 g, 43%) como una espuma comprimible.

^1H 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-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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 ($M + 1$)⁺

^1H 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,

428
73

rotámetros): δ 173.7, 173.4, 173.0, 172.8, 168.1

Ejemplo 7

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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; CD₃OD): 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)

¹³C NMR (125 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina): δ 171.8, 169.9, 156.8

Ejemplo 8

Síntesis Paralela de Alcoxiamidinas

Esta síntesis se realizó en un bloque Robbins de in a 96 pocillos. A los pocillos que contenían una cantidad apropiada de hidroxilamina O-sustituida (especificada más adelante; todas las cuales se obtuvieron en el

429
24

comercio o se prepararon usando procedimientos bien conocidos de la literatura) se agregó una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(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 repartió en porciones 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 trifluoroacético (0.3 mL). Luego de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, los solventes se retiraron *in vacuo*. El residuo se repartió en porciones 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 pocillos 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-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂-3-(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 + 1)⁺);

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂-3-piridina) (de 3-[(aminooxi)metil]piridina x 2 HCl (19 mg; 96 μmol). Rendimiento: 5.14 mg (50%) (MS (m/z) 592 (M + 1)⁺);

430
78

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OⁱBu)

(de *O*-isobutil hidroxilamina x HCl (17 mg; 140 μmol). Rendimiento: 4.4 mg (45%). MS (m/z) 557 (M + 1)⁺;

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcHexilo)

(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-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu)

(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-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂CH₂OPh(3-CF₃))

(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-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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-OCF₃)-(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-OCHF₂)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) Ácido 3-Cloro-5-metoxibenzoico

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 tetrahydrofurano (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.

¹H-NMR (500 MHz; acetona-d₆): δ 7.57 (m, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.23 (m, 1H), 3.91 (s, 3H)

(ii) Ácido 3-Cloro-5-hidroxibenzoico

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-metoxibenzoico (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.

$^1\text{H-NMR}$ (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-difluorometoxibenzoico

Ácido 3-Cloro-5-hidroxibenzoico (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.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; acetona- d_6): δ 7.87 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.19 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}$ 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.

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

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

(vi) Éster metílico de ácido 3-Cloro-5-difluorometoxifenilacético

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 montmorillonita (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.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; CDCl_3): δ 7.14 (m, 1H), 7.06 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 6.50 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}$ 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-difluorometoxifenilacético (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.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J_{\text{F-H}}$ 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.

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

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(S)CH(CH₂OH)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 trifluoroacético (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), amortiguador: 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 ($\text{M} + 1$)⁺

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J_{\text{F-H}}$ 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)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.3, 171.9, 167.2

436
80Ejemplo 10Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)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 CH₂Cl₂ (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 H₂O. Los orgánicos se separaron y luego se lavaron con H₂O (1x), 1N HCl (1x), H₂O (1x) y NaHCO₃ acuoso (1x) y seguidamente se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron para proporcionar el compuesto del sub-título (8.2 g, 99%) como un aceite.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 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 repartió en porciones entre Et₂O y H₂O. Los orgánicos se lavaron con H₂O (2x) y salmuera (2x). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con Et₂O (1x). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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 CH₂Cl₂ (2x) y se descartaron los lavados. La fase acuosa básica se acidificó con 2N HCl y se extrajo con CH₂Cl₂ (3x). Los extractos CH₂Cl₂ se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 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 NaHCO₃ sólido y el EtOH se retiró *in vacuo*. El residuo se diluyó con EtOAc luego se lavó con H₂O (1x), NaHCO₃ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCF₃)-(R,R)CH(CHO)C(O)OEt

A una solución de 3-cloro-5-trifluorometoxifenilacetato de etilo (4.5 g, 15.9

438
82

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 Et₂O y se extrajo con H₂O (1x) y 0.5M NaOH (3x). Los extractos acuosos se acidificaron con 2N HCl y se extrajeron con CH₂Cl₂ (3x). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título (3.9 g). Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) proporcionó el compuesto del sub-título (3.0 g, 61%) como un aceite.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 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-OCF₃)-(R,S)CH(CH₂OH)C(O)OEt

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)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 H₂O (1x), NaHCO₃ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (5:1) proporcionó el compuesto del sub-título (2.0 g, 66%) como un aceite.

439
83

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)OH}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)OEt}$ (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 instantánea en gel de sílice eluyendo con $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:NH}_4\text{OH}$ concentrado (gradiente de 7.0:2.5:0.5 a 6:3:1) proporcionó la sal de amonio del compuesto del sub-título (1.1 g). La sal de amonio se repartió en porciones 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%).

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (a) y $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (b)

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)OH}$ (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

440
84

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), NaHCO₃ acuoso (1x) y salmuera (1x). Los orgánicos se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto crudo del sub-título (2.1 g) como una mezcla de diastereómeros. Cromatografía instantánea (3x) en gel de sílice fluyendo primero con EtOAc:MeOH (95:5) luego con CH₂Cl₂:MeOH (97:3) y, por último, con CH₂Cl₂:MeOH (95:5) proporcionó 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)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)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 de 10 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)⁺

¹H-NMR(400 MHz; D₂O) 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,

44/
88

rotámetro), 4.83 (m, 1H, rotámetro), 4.57 (m, 2H, rotámetro), 4.38 (m, 2H, rotámetro), 4.3-3.7 (m, 5H), 2.77 (m, 1H, rotámetro), 2.55 (m, 1H, rotámetro), 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

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(OMe,Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (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 ($\text{CH}_3\text{CN}/0.1 \text{ M NH}_4\text{OAc}$ (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.

^1H -NMR(400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.5-7.4 (m, 3H), 7.35-7.2 (m, 4H), 5.15 (m, 1H, rotámetro menor), 4.74 (m, 1H, rotámetro 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, rotámetro menor), 2.50 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.3-2.1 (m, 1H), 0.95 (m, 2H), 0.02 (s, 9H, rotámetro mayor), 0.01 (s, 9H, rotámetro menor)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(S)CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)}$, (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

442
86

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 ($\text{M} - 1$)⁻; 531 ($\text{M} + 1$)⁺

^1H -NMR(500 MHz; CD_3OD) rotámetros: δ 7.65-7.55 (m, 3H, rotámetros), 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, rotámetros) δ 174.0, 173.2, 172.7, 172.6, 155.1

Ejemplo 12

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe.Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (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 repartió en porciones 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%).

443
87

$^1\text{H-NMR}$ (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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)}$ (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 repartió en porciones 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%).

$^1\text{H-NMR}$ (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).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz; CDCl_3): (carbonilo y/o carbonos de amidina, rotámeros) δ 172.9, 170.8, 152.7, 152.6

MS (m/z) 495 ($\text{M} - 1$)⁻, 497 ($\text{M} + 1$)⁺

Ejemplo 13

$\text{Ph}(3\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$ (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

444
84

apropiadasse secaron por congelamiento para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco: 8.5 mg (66%).

^1H -NMR(400 MHz; CD_3OD) rotámetros: 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, $J_{\text{HF}} = 74\text{Hz}$, 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, rotámetros) δ 173.7, 172.9, 168.3.

MS (m/z) 433 ($\text{M}+1$)⁺ ; 431 ($\text{M}-1$)⁻

Ejemplo 14

Ph(3-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(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.

^1H -NMR(400 MHz; CD_3OD) rotámetros: 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,

445
89

rotámeros) δ 174.1, 173.9, 173.5, 172.9, 168.2.

$^{19}\text{-F}$ 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 ($\text{M}+1$)⁺

Ejemplo 15

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(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.

^1H 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-OCH₂CF₃)-(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 *con* 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

446
90

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 purificación posterior.

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

(iii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

Ácido clorhídrico concentrado (170 mL) se agregó a $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (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 purificación posterior.

^1H 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, $J=8\text{ Hz}$, 2H)

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (a) y $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (b)

Una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (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 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:Et}_3\text{N}$ (92:6:2) proporcionó 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

447
9/1

disolvió en H₂O (150 mL), se acidificó con 2 N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), 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

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.18 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.58 (q, *J* = 8Hz, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) 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)

[α]_D²⁵ = -81.5° (c = 1.0, MeOH)

APCI-MS: (M - 1)⁺ = 283 m/z

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(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 CHCl₃: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

448
92

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

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (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.

^1H -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

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (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),

449
93

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 CHCl₃: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 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCH₂CHF₂)-(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 CH₂Cl₂ (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 CH₂Cl₂ (50 mL), y se lavó con 2 N HCl (50 mL). La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (30 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-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 (Na₂SO₄), 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.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCH₂CHF₂)-(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 CH₂Cl₂ (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 H₂O (50 mL). La capa orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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)

451
98(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (60 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(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 Et₂O (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 (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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-OCH₂CHF₂)-(S)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(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 CHCl₃:MeOH:Et₃N (92:6:2), proporcionó 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 H₂O (100 mL), se acidificó con 2 N HCl y se extrajo con EtOAc (2 x 75 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del sub-título (b) (1.00 g) como un sólido blancuzco.

452
96

Datos para el compuesto del sub-título (b):

mp: 103-106°C

R_f = 0.39 (90:8:2 CHCl₃:MeOH:Et₃N)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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).

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) 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)

[α]_D²⁵ = -84.0° (c = 0.85 MeOH) .

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

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0.35 g, 1.3 mmol; véase paso (v) más arriba (compuesto (b))) en DMF (18 mL) bajo 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 CHCl₃-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 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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

453
97

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(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.

¹H-NMR (300 MHz; CD₃OD) 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).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (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-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(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 CHCl₃:EtOH (10:1), luego con EtOAc:EtOH (10:1), y, finalmente, con CHCl₃:MeOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (0.47 g, 81%) como una espuma blanca triturable.

mp: 65-75°C

454
9/8

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

^1H 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-OCH₂F)-(R,S)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 purificación posterior.

$R_f = 0.42$ (3:1 Hex:EtOAc)

^1H 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

455
99

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 purificación posterior.

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

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

(iii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (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 repartió en porciones 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 purificación posterior.

$R_f = 0.62$ (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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$ (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

456
200

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 repartió en porciones H₂O (20 mL) y Et₂O (3 x 50 mL). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (2 x 50 mL), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (gradiente de 9:1 a 3:1) proporcionó 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, CDCl₃) 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-OCH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OEt (1.8 g, 6.8 mmol; véase paso (iv) más arriba) en H₂O: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 repartió en porciones H₂O (5 mL) y Et₂O (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 (Na₂SO₄), 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 CHCl₃:MeOH:Et₃N)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(S)CH(OAc)C(O)OH (b)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(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 instantánea un gel de sílice eluyendo con CHCl₃:MeOH:Et₃N (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 CHCl₃:MeOH:Et₃N)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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).

Datos para el compuesto del sub-título (b)

R_f = 0.33 (15:1:0.5 CHCl₃:MeOH:Et₃N)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de la sal trietilamina de Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(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,

458
102

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 rápidamente dos veces en gel de sílice, eluyendo primero con $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (9:1) y segundo con $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (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 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H 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, $J_{\text{H-F}} = 51$ 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 ($M + 1$)=593m/z

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(\text{Teoc})$ (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 $\text{CH}_3\text{CN}:\text{0.1M NH}_4\text{OAc}$ 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%.

^1H -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-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de la sal trietilamina de Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(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 rápidamente 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)

^1H 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, $J_{\text{H-F}}$ = 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.

460
107

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

Ejemplo 21

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(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 CH₂Cl₂ (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 CH₂Cl₂ (100 mL) y se lavó con 2N HCl (100 mL). La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (50 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (75 mL), se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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 (Na₂SO₄), 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

461
104

aceite amarillo.

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$

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 purificación posterior o caracterización.

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

Ácido clorhídrico concentrado (100 mL) se agregó a $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (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 purificación posterior.

$R_f = 0.28$ (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-OCH₂CH₂F)-(S)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(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 CHCl₃:MeOH:Et₃N (90:8:2) proporcionó 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 H₂O (250 mL), se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), 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 CHCl₃:MeOH:NH₄OH concentrado)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(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

105
463

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 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) y segundo con $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (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 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (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.

^1H -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

464
100

172.8, 172.1, 167.4.

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

Ejemplo 22Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(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 CHCl₃: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 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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).

¹³C-NMR (150 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.3, 170.8, 152.5.

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

Ejemplo 23Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA(i) 1,3-Difluoroisopropil metanosulfonato

A una solución agitada magnéticamente de 1,3-difluoro-2-propanol (7.0 g, 72.8 mmol) en CH₂Cl₂ (100 mL) bajo nitrógeno a 0°C se agregó

465
107

triethylamina (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 CH₂Cl₂ (200 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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(CH₂F)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 (Na₂SO₄), 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.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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(CH₂F)₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)₂)CHO (4.4 g, 18.7 mmol; véase paso (ii) más arriba) y yoduro de zinc (1.5 g, 4.67 mmol) en CH₂Cl₂ (200 mL) a 0°C bajo nitrógeno se agregó cianuro de trimetilsililo (3.7 g, 37.3

466
JOS

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 H₂O (200 mL). La capa orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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(CH₂F)₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Ácido clorhídrico concentrado (50 mL) se agregó a Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)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 Et₂O (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 (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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(CH₂F)₂)-(S)CH(OAc)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (b)

Una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)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

467
109

se lavó con EtOAc y el filtrado se concentró *in vacuo*. Cromatografía en gel de sílice eluyendo con CHCl_3 :MeOH:Et₃N (90:8:2) proporcionó 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 H₂O (100 mL), se acidificó con 2N HCl y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), 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):

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)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)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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.

468
H10

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)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.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) 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 CD₃OH), 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).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (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(CH₂F)₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCH(CH₂F)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 CHCl₃:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc:EtOH (20:1) para proporcionar el compuesto del título (370 mg, 39%) como una espuma blanca triturable.

469
X

Mp: 58-63°C

R_f = 0.66 (10:1 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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).

¹³C-NMR (150 MHz; CD₃OD): (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-OCHF₂)-(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 (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

R_f = 0.47 (Hex)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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).

470
H2(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 purificación posterior.

Mp: 33-35°C

 $R_f = 0.25(\text{CHCl}_3)$

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

471
H3

proporcionar un aceite incoloro. La capa acuosa se extrajo con Et₂O (3 x 30 mL). El aceite crudo y los extractos orgánicos combinados se lavaron con 2N NaOH (3 x 30 mL) y H₂O (3 x 30 mL). A continuación los orgánicos se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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 Et₂O (3 x 70 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 2N NaOH (2 x 40 mL) y H₂O (40 mL) luego se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con hexano proporcionó el compuesto del sub-título (2.2 g, 57%) como un aceite incoloro.

R_f = 0.47 (Hex)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)CH₂OH

2-Metil-2-propanol (140 mL), H₂O (140 mL), y AD-mix- β (39.2 g) se

472
H4

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 Et₂O (3 x 120 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:EtOAc (3:2) proporcionó el compuesto del sub-título (5.8 g, 98%) como un aceite incoloro.

R_f = 0.41 (3:2 CHCl₃:EtOAc)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)CH₂OTBS

Una solución de Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)CH₂OH (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 CH₂Cl₂ anhidro (100 mL) se enfrió a 0°C. Una solución 1.0 M de cloruro de *tert*-butildimetilsililo en CH₂Cl₂ (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 H₂O (2 x 35 mL) luego se secó (Na₂SO₄), se filtró y concentró *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:Hex (3:1) proporcionó el compuesto del sub-título (7.9 g, 85%) como un aceite

473
Hf

amarillo.

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

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.95-6.98 (m, 2H), 6.76-6.79 (m, 1H), 6.51 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ 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) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OTBS}$ (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-metoxietoximetil 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 secó (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 purificación posterior.

$R_f = 0.41$ (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, $J_{\text{H-F}} = 73$ 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) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$ (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).

474
H6

La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (1:1) proporcionó el compuesto del sub-título (4.2 g, 62%) como un aceite amarillo.

$R_f = 0.42$ (1:1 Hex:EtOAc)

^1NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.91-6.95 (m, 2H), 6.75-6.81 (m, 1H), 6.51 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ 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-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)C(O)OH

Una solución de Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)CH₂OH (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 purificación posterior.

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

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, acetona- d_6) δ 7.16-7.18 (m, 2H), 7.16 (t, $J_{\text{H-F}} = 89$ Hz, 1H), 7.00-7.03 (m, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.88 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 7$

435
117

Hz, 1H), 3.54-3.75 (m, 2H), 3.46-3.49 (m, 2H), 3.28 (s, 3H).

(x) Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(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 CHCl₃: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 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Una mezcla de Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(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 repartió en porciones con H₂O (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 (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:EtOH (15:1) proporcionó el compuesto del sub-título (60 mg, 12%) como una espuma blanca triturable.

476
118

$R_f = 0.46$ (15:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H 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, $J_{\text{H-F}} = 73$ 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) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(\text{Teoc})$ (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.

$^1\text{H-NMR}$ (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).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 172.8, 172.0, 167.0.

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

Ejemplo 26

$\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

477
119

A una solución de Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(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 CHCl₃:EtOH (15:1) y segundo con EtOAc para proporcionar el compuesto del sub-título (1.5 g, 79%) como una espuma blanca triturable.

R_f=0.24 (EtOAc)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Una mezcla de Ph(3-F)(5-OCHF₂)-(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 repartió en porciones con H₂O (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 (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:EtOH (15:1) proporcionó el compuesto del título (520 mg, 74%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 73-81°C

R_f = 0.43 (15:1 CHCl₃:EtOH)

478
170

^1H 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, $J_{\text{H-F}} = 73$ 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-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(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 repartió en porciones 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 instantánea en gel de sílice eluyendo con hexanos proporcionó el compuesto del sub-título (101.3 g, 75%) como un aceite amarillo.

^1H 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.

121

Después de 30 minutos, la mezcla se repartió en porciones con 1N HCl (300 mL) y EtOAc (5 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ saturado (150 mL) y salmuera (150 mL), luego se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (9:1) proporcionó el compuesto del sub-título (6.1 g, 82%) como un sólido blanco.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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, tarado, que contenía una suspensión de 3,5-dibromofenol (10.0 g, 39.7 mmol; véase paso (ii) más arriba) y Cs₂CO₃ (20.7 g, 63.5 mmol) en DMF (150 mL) a -78°C se agregó clorofluorometano haciéndolo borbotear 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 calentar 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 cuidadosamente la presión y el contenido se diluyó con agua (100 mL). La capa acuosa se extrajo con Et₂O (3 x 200 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con hexanos proporcionó el compuesto del sub-título (7.9 g, 71%) como un sólido blanco.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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

439
132

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-*terc*-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 CH₂Cl₂ (3 x 300 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con hexanos proporcionó el compuesto del sub-título (4.3 g, 57%) como un aceite incoloro.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCH₂F)-(R)CH(OH)CH₂OH

2-Metil-2-propanol (100 mL), H₂O (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 (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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).

480
173

(vi) Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OMEM)CH₂OTBS

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)CH₂OH (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 CH₂Cl₂ anhidro (200 mL) se agregó gota a gota a 1.0 M solución de cloruro de *terc*-butildimetilsililo en CH₂Cl₂ (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 H₂O (100 mL), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 200 mL), luego las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (5:1) proporcionó el compuesto del sub-título (4.8 g, 55%) como un aceite incoloro.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCH₂F)-(R)CH(OMEM)CH₂OH

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OMEM)CH₂OTBS (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 tetrabutylamonio en THF (13.1 mL, 13.1 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó 1 hora. La mezcla se repartió en porciones con H₂O (100 mL) y EtOAc (3 x 100 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.22 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 5.71 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ 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-OCH₂F)-(R)CH(OMEM)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OMEM)CH₂OH (2.1 g, 6.0 mmol; véase paso (vii) más arriba) en acetona (40 mL) se agregó a una solución al 5% de NaHCO₃ 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 NaHCO₃ (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 NaHCO₃ (30 mL) y se lavó con Et₂O (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 H₂O (3 x 50 mL) y salmuera (50 mL), luego se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 5.76 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ 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-OCH₂F)-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(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

482
175

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 CHCl₃: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.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) Una mezcla de Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(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 mmol) en 2-propanol (10 mL) se hizo refluir durante 1.5 horas. La mezcla se concentró *in vacuo*, luego se repartió en porciones con H₂O (20 mL) y EtOAc (3 x 30 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:EtOH (15:1) proporcionó el compuesto del sub-título (59 mg, 19%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 81-87°C

R_f = 0.58 (9:1 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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

483
976

(xi) Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(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 CH₃CN:0.1M NH₄OAc (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.

¹H-NMR (300 MHz; CD₃OD) rotámetros: δ 7.8-7.7 (m, 2H), 7.54 (m, 2H), 7.37 (s, 1H, rotámetro mayor), 7.33 (s, 1H, rotámetro menor), 7.25-7.1 (m, 2H), 5.75 (d, 2H), 5.22 (m, 1H, rotámetro menor), 5.18 (s, 1H, rotámetro mayor), 5.11 (s, 1H, rotámetro menor), 4.80 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.37 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.16 (m, 1H, rotámetro mayor), 4.1-3.9 (m, 2H, two signals de rotámetro menor), 2.70 (m, 1H, rotámetro menor), 2.52 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.30 (m, 1H, rotámetro mayor), 2.15 (m, 1H, rotámetro menor), 1.89 (s, 3H).

ESI-MS+: (M+1) = 493/495 (m/z)

Ejemplo 28

Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(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, tarado, 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 *con* 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,

484.
127

se liberó cuidadosamente la presión y el contenido se diluyó con H₂O (200 mL). La capa acuosa se extrajo con CHCl₃ (2 x 150 mL), luego se secaron los orgánicos combinados (Na₂SO₄), 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.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.55 (s, 1H), 7.26 (s, 2H), 6.52 (t, *J*_{H-F} = 68 Hz, 1H).

(ii) 1-Bromo-3-diilfuorometoxi-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-*terc*-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 CH₂Cl₂ (3 x 300 mL), luego los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con hexanos proporcionó el compuesto del sub-título (5.1 g, 68%) como un aceite incoloro.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)CH₂OH

2-Metil-2-propanol (150 mL), H₂O (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

485
PCT

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 purificación posterior.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.43 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.86 (t, $J_{\text{H-F}} = 75$ 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) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$

A una solución de $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OH}$ (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 *terc*-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 instantánea en gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) proporcionó el compuesto del sub-título (4.3 g, 51%) como un aceite incoloro.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.40 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.58

486
129

(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-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)CH₂OH

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)CH₂OTBS (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 repartió en porciones con agua (150 mL) y EtOAc (2 x 120 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del subtítulo (2.5 g, 98%) como un aceite amarillo el cual se usó sin purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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), 3.40-3.80 (m, 6H), 3.26 (s, 3H).

(vi) Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)C(O)OH

Una solución de Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)CH₂OH (3.0 g, 8.1 mmol; véase paso (v) más arriba) en acetona (60 mL) se agregó a una solución al 5% de NaHCO₃ 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 NaHCO₃ (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 NaHCO₃ (30 mL) y se lavó con Et₂O (3 x 20 mL). La capa acuosa

487
830

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 H₂O (3 x 50 mL) y salmuera (50 mL), y a continuación se secaron (Na₂SO₄), 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 purificación posterior.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(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 CHCl₃:EtOH (15:1) para proporcionar el compuesto del sub-título (1.1 g, 59%) como una espuma blanca triturable.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Una mezcla de Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(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 repartió en

488
731

porciones con H₂O (15 mL) y EtOAc (5 x 20 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:EtOH (15:1) proporcionó el compuesto del sub-título (134 mg, 41%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 92-98°C

R_f = 0.37 (9:1 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(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 CH₃CN:0.1M NH₄OAc (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.

¹H-NMR (300 MHz; CD₃OD) 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, two signals 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 ($\text{M} + 1$)⁺

Ejemplo 29

Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A una solución de Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(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.

^1H 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, $J_{\text{H-F}} = 73$ 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Una mezcla de Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(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

490
753

repartió en porciones con H₂O (50 mL) y EtOAc (5 x 25 mL). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron *in vacuo*. Cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con CHCl₃:EtOH (15:1) proporcionó el compuesto del título (460 mg, 50%) como una espuma blanca triturable.

Mp: 71-75°C

R_f = 0.63 (9:1 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, 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).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (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-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(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-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (50 mg, 0.188 mmol; véase Ejemplo 17(v) más arriba), PyBOP (109 mg, 0.209 mmol) y finalmente diisopropil etil 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 (Na₂SO₄) y evaporó. El producto crudo se cromatografió rápidamente en gel de sílice con EtOAc:MeOH (9:1). Rendimiento: 100 mg (87%).

491
134

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)}$

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 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)}$ (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%.

^1H 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: $(\text{M} + 1)^+ = 497/499 \text{ m/z}$

Ejemplo 31

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)}$

492
Bf(i) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(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-OCH₂CH₂F)-(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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió rápidamente en gel de sílice con EtOAc/MeOH = 95/5. Rendimiento: 119 mg (79%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 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-OCH₂CH₂F)-(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-OCH₂CH₂F)-(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 CH₃CN:0.1M NH₄OAc (30:70). Rendimiento: 72 mg (78%). Pureza: 100%.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD 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: $(M + 1) = 479/481 \text{ m/z}$

Ejemplo 32

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 purificación posterior. 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 rápidamente en gel de sílice usando cloruro de metileno:acetona (4:1). Rendimiento: 9.8 g (69 %).

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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

494
137

durante 10 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se mezcló con Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió rápidamente en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5). Rendimiento: 89 mg (72%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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%.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, 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).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (carbonilo y/o carbonos de amidina) δ 173.6, 171.1, 167.0.

APCI-MS: (M + 1) = 481/483 m/z

495
1338Ejemplo 33Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)(i) 4-Azidometil-N-metoxi-benzamidina

4-Azidometilbenzonitrilo (17.3 g, 0.109 mol; Nishiyama *et al.*; *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 (Na₂SO₄) 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 repartió en porciones entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, bicarbonato de sodio acuoso, se secó (MgSO₄) y se evaporó.

496
139

El producto crudo se cromatografió rápidamente 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 solidificado. 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%).

^1H 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 rápidamente en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5). Rendimiento: 37 mg (36%). Pureza: 98%.

^1H 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

497
140

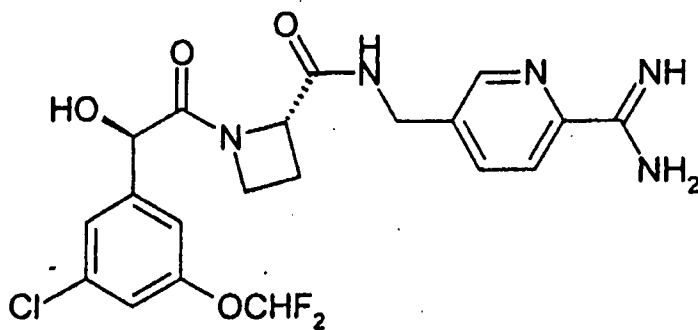
mayor), 5.21 (s, 1H, rotámero menor), 4.72 (m, 1H, rotámero menor), 4.5-4.35 (m, 1H y 2H, rotámero mayor), 4.3-4.25 (m, 2H, rotámero menor), 3.814 (s, 3H, rotámero mayor), 3.807 (s, 3H, rotámero menor), 3.75-3.5 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.2-1.8(m,4H)

^{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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((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 recrystalizaron a partir de agua para producir 12 g (22%) del producto.

(ii) 5-(Hidroximetil)piridin-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 Et₃N (12.4 mL, 0.0892 mol) seguido

458
JH

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)piridin-2-carbonitrilo

5-(Hidroximetil)piridin-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-(*terc*-Butoxicarbonilaminometil)piridin-2-carbonitrilo

A una solución de 5-(azidometil)piridin-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 repartió en porciones 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.

^1H 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)piridin-2-carbonitrilo x 2 HCl

5-(*terc*-Butoxicarbonilaminometil)piridin-2-carbonitrilo (0.200 g, 0.86

499
12/2

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.

^1H 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-CH₂-5-Py(2-CN)

A una mezcla de 5-(aminometil)piridin-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%).

^1H 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-CH₂-5-Py(2-CN) x 2 HCl

Boc-Aze-NH-CH₂-5-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.

^1H 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)

502
12/17

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH₂-5-Py(2-CN)

A una mezcla de H-Aze-NH-CH₂-5-Py(2-CN) x 2 HCl (0.206 g, 0.713 mmol; véase paso (vii) más arriba), Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0.180 g, 0.713 mmol; véase Ejemplo I(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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo que se cromatografió rápidamente en gel de sílice con EtOAc arrojó un producto puro. Rendimiento: 0.197 g (61%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH₂-((2-amidino)-5-piridinilo) x HOAc

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH₂-5-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 preparative con CH₃CN:0.1M NH₄OAc (30:79) y corriendo las fracciones apropiadas nuevamente con CH₃CN:0.1M NH₄OAc (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%.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, mezcla de rotámeros) δ 8.68 (s, 1H, rotámero

501
24/4

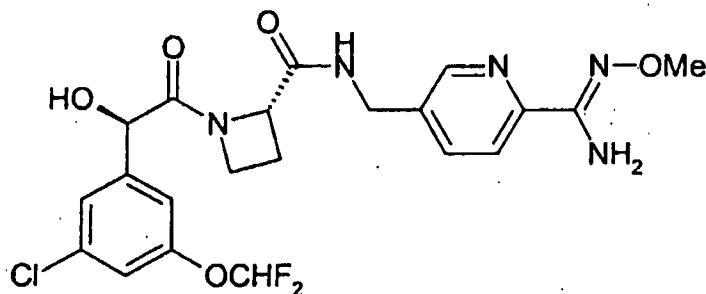
mayor), 8.62 (s, 1H, rotámero menor), 8.05-7.9 (m, 2H), 7.33 (m, 1H, rotámero), 7.27 (m, 1H, rotámero), 7.22 (m, 1H, rotámero), 7.17 (m, 1H, rotámero), 7.01 (m, 1H, rotámero), 6.84 (t, 1H), 5.32 (s, 1H, rotámero mayor). 5.20 (m, 1H, rotámero menor), 5.13 (s, 1H, rotámero menor), 4.88 (m, 1H, rotámero 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: $(\text{M} + 1) = 468/470 \text{ m/z}$

Ejemplo 35

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂((2-metoxiamidino)-5-piridinilo)



(i) Boc-NH-CH₂-[(2-(amino(hidroxilimino)metil))-5-piridinilo]

5-(*tert*-Butoxicarbonilaminometil)piridin-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 repartió en porciones 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%).

502
129

^1H 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-CH₂-(2-(amidino)-5-piridinilo) x HOAc

Esta reacción se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito en Judkins *et al.*, *Synth. Comm.* (1998) 4351. Una suspensión de Boc-NH-CH₂-[(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.

^1H NMR (500 MHz, CD₃OD) 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-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)

A una suspensión de Boc-NH-CH₂-(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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin purificación posterior.

^1H NMR (500 MHz, CDCl₃) 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,

503
9246

2H), 1.46 (s, 9H), 1.14 (m, 2H), 0.07 (s, 9H)

(iv) H₂N-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) x 2 HCl
Boc-NH-CH₂-(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 purificación posterior. Rendimiento: 0.21 g (98%).

¹H NMR (500 MHz, D₂O) 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-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)
A una solución de H₂N-CH₂-(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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió rápidamente en gel de sílice con EtOAc para producir 170 mg (56%) del producto deseado.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) 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-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) x 2 HCl

Boc-Aze-NH-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) (170 mg, 0.356 mmol; véase paso (v) más arriba) se disolvió en 25 mL de EtOAc

504
10/17

saturado con HCl(g) y se agitó durante 30 minutos. El solvente se evaporó y el producto se usó sin purificación posterior. Rendimiento: 160 mg (100%).

^1H 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)

A una solución de H-Aze-NH-CH₂-(2-(amino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo) x 2 HCl (160 mg, 0.462 mmol; véase paso (vi) más arriba), Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 rápidamente en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5) para producir 148 mg (52%) del producto deseado.

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-(2-(metoxiamino(trimetilsililetilimino)metil)-5-piridinilo)

Una suspensión de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH₂-(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 repartió en porciones 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 rápidamente en gel de sílice con EtOAc:MeOH (95:5) para producir 44 mg

505
148

(28%) de material puro.

^1H 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)

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((2-metoxi-amidino)-5-piridinilo)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-(2-(metoxiamino(trimetilsililetilimino)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 repartió en porciones 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%.

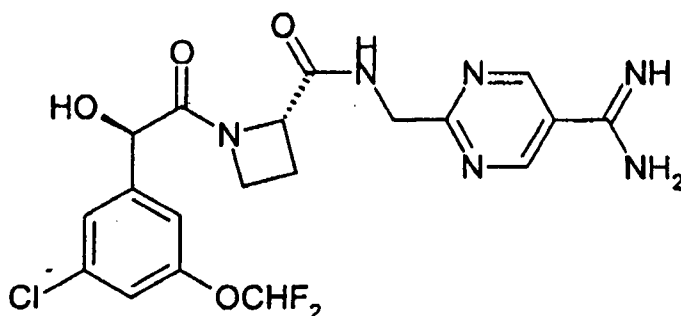
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.44 (m, 1H), 8.03 (bt, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.19 (m, 1H); 7.13 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 5.6-5.45 (amplio, 2H), 4.90 (s, 1H), 4.89 (m, 1H), 4.55-4.4 (m, 2H), 4.27 (amplio, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.92 (s, 3 H), 2.68 (m, 1H), 2.41 (m, 1H)

^{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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-amidino)-2-pirimidinilo)



506
149(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.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 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

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (s, 2H), 3.59 (s, 6H), 3.51 (s, 6H)

527
1810(iii) Boc-NH-CH₂-(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 instantánea 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)

¹H 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).

¹³C 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-CH₂-((5-ciano)-2-pirimidinil)

Boc-NH-CH₂-(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 CH₃CN:0.1M NH₄OAc (40:60). El acetonitrilo se

508
781

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%).

^1H 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-CH₂-((5-amidino)-2-pirimidinilo) x HOAc

Una solución de Boc-Aze-NH-CH₂-((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 to 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-CH₂-[(5-(amino(trimetilsililetilimino)metil))-2-pirimidinilo]

A una suspensión de Boc-Aze-NH-CH₂-((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 repartió en porciones 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 rápidamente en gel de sílice con heptano:EtOAc (1:1). Rendimiento: 1.04 g (90%).

509
182

^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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-r}(5\text{-(amino(trimetilsililetilimino)metil))}\text{-2-pirimidinilo}$

Boc-Aze-NH-CH₂-[(5-(amino(trimetilsililetilimino)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 durante 15 minutos. El solvente se evaporó y el residuo se disolvió en 4 mL de DMF. Se agregaron $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (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 $\text{CH}_3\text{CN}:\text{0.1M NH}_4\text{OAc}$ (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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-((5-amidino)-2-pirimidinilo)}$ x TFA

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-[(5-(amino(trimetil-$

510
183

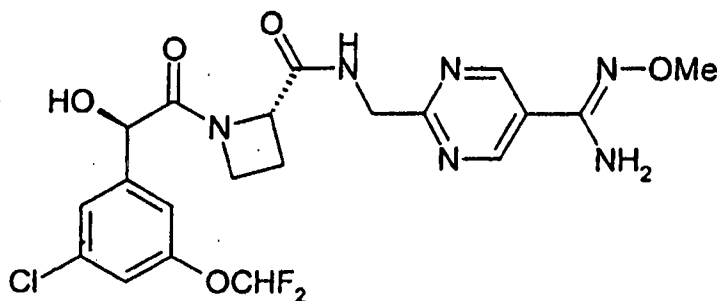
sililetilimino)metil))-2-pirimidinilo] (21 mg, 0.034 mmol; véase paso (vii) más arriba) se disolvió en 0.5 mL de cloruro de metileno y se enfrió en un baño helado. TFA (2 mL) se agregó y la mezcla se agitó durante 60 minutos y luego se concentró. El producto se secó por congelamiento a partir de agua 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: $(M + 1) = 469/471 \text{ m/z}$

Ejemplo 37

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-}[(5\text{-metoxiamidino})\text{-}2\text{-pirimidinilo}]$



(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-}[(5\text{-(metoxiamino-(trimetilsililetilimino)metil))}\text{-}2\text{-pirimidinilo}]$

Una suspensión de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-}[(5\text{-(amino(trimetilsililetilimino)metil))}\text{-}2\text{-pirimidinilo}]$ (40 mg, 0.065 mmol; véase Ejemplo 36(vii) más arriba) y O-metilhidroxil amina (33 mg, 0.40

511
254

mmol) en 3 mL de acetonitrilo se calentó a 70°C durante 3 horas. La mezcla se repartió en porciones entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. Rendimiento: 33 mg (79%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 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)

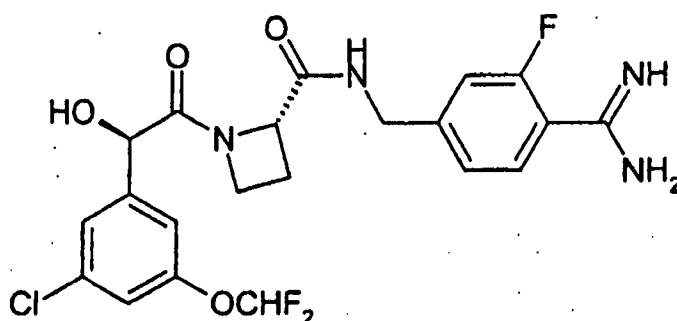
(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-metoxi-amidino)-2-pirimidinilo)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-[(5-(metoxiamino-(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%.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, 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)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (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

512
188Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 tetrakis(trifenil)fosfina (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 rápidamente en gel de sílice con heptano:CH₂Cl₂ (1:1) a CH₂Cl₂ puro. Se obtuvo un aceite incoloro que se cristalizó. Rendimiento: 3.0 g (82%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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 CH₂Cl₂ y 5 mL de metanol se borbotó ozono (50 L/h, 29 g/m³) 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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto crudo se cristalizó. Rendimiento: 1.1 g (81%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.59 (m, 1H), 7.3-7.2 (m, 2H), 4.79 (d, 2H),

513
186

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%).

^1H 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 etérea combinada se lavó cinco veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El aceite crudo incoloro pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 1.2g (87%).

^1H 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

514
157

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 ácida 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.

^1H 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-NHCH₂-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.

^1H 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NHCH₂-Ph(3-F,4-CN)

Boc-Aze-NHCH₂-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

515
158

agregó a una solución helada de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (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 $\text{CH}_3\text{CN}:\text{0.1M NH}_4\text{OAc}$ (50:50). El secamiento por congelamiento produjo 0.130 g (77%) del compuesto deseado del sub-título.

^1H 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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(3\text{-F})$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NHCH}_2\text{-Ph}(3\text{-F}, 4\text{-CN})$ (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 $\text{NH}_3\text{(g)}$. 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.

^1H 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

576
159

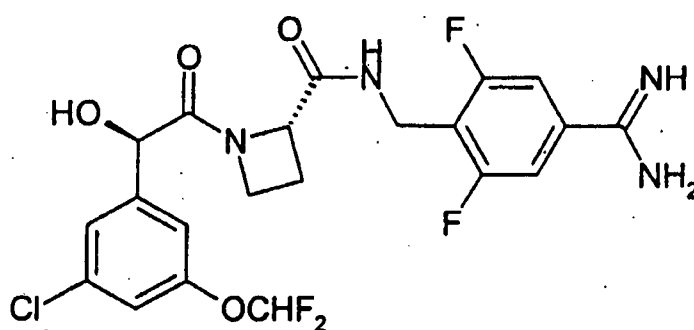
menor), 2.56 (m, 1H, rotámero mayor), 2.28 (m, 1H, rotámero mayor), 2.14 (m, 1H, rotámero menor), 1.90 (s, 3H)

^{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: $(M + 1) = 485/487 \text{ m/z}$

Ejemplo 39

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 butyl 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 etérea combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Rendimiento: 2.0 g (30%).

^1H 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

16517

(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 etérea 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 patron 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.

^1H 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 repartió en porciones entre éter dietílico y bicarbonato de sodio acuoso. La capa etérea se lavó con más bicarbonato de sodio acuoso y salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo cristalizó soon y pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 1.24 g (90%).

^1H 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 (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 1.61 g (89%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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 etérea combinada se lavó cinco veces con agua, se secó (Na₂SO₄) 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 HPLC analítica.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 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

519
161

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%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.20 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.51 (amplio, 2H)

(vii) 2,6-Difluoro-4-*terc*-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-*terc*-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 repartió en porciones 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 purificación posterior. Rendimiento: 1.38 g (99%).

^1H 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-*terc*-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 repartió en porciones 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 purificación posterior.

520
162

Rendimiento: 1.43 g (92%).

^1H 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 *et al.*, *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 purificación posterior. Rendimiento: 0.1.49 g (99%).

^1H 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 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 repartió en porciones 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 instantánea en gel de sílice con heptano/EtOAc = 2/1 produjo 1.71 g (73%) de compuesto puro.

521
16

^1H 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 instantánea en gel de sílice con heptano:EtOAc (1:3) produjo 1.097 g (96%) del compuesto deseado.

^1H 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-OCHF₂)-(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-OCHF₂)-(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 with EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Cromatografía instantánea en gel de sílice con EtOAc produjo 0.184 g (60%) del compuesto deseado del subtítulo.

522
164

^1H 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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%.

^1H 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

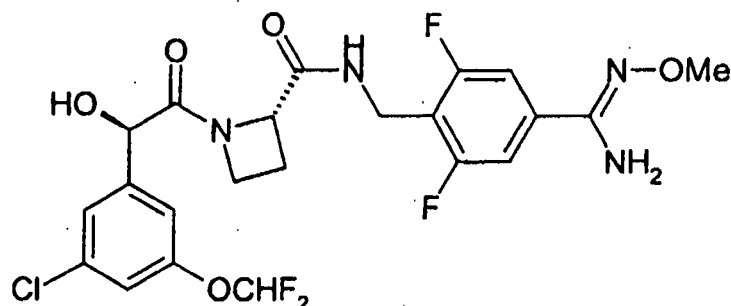
523
168

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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe,Teoc)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 repartió en porciones entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 58 mg (87%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 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)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 durante 2 horas. El TFA se evaporó y el residuo se disolvió en EtOAc. La capa orgánica se lavó dos

524
166

veces con 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%.

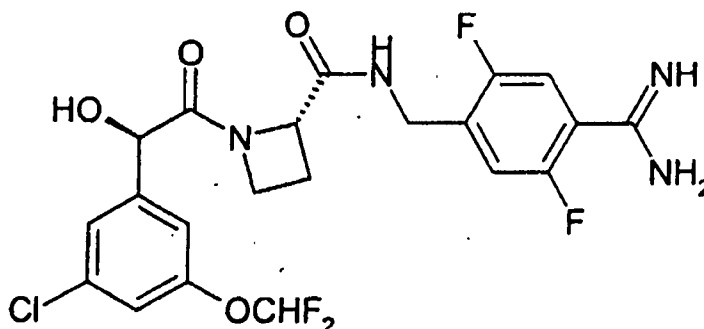
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.95 (bt, 1H), 7.2-7.1 (m, 4H), 6.99 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.85-4.75 (m, 3H), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.29 (amplio, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.85 (amplio, 1H)

^{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-OCHF₂)-(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-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

525
167

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%).

^1H 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 etérea combinada se lavó varias veces con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo se cromatografió rápidamente 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. Las 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.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10.36 (d, 1H), 7.72 (dd, 1H), 7.54 (dd, 1H)

(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

526
H68

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 ácido. La mezcla se extrajo tres veces con éter dietílico, y la fase etérea combinada se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto crudo cristalizó pronto y pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 3.1 g (85%).

^1H 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 purificación posterior. Rendimiento: 4.5 g (99%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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 etérea 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

527
169

HPLC analítica.

^1H 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 step (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%).

^1H 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-*terc*-butoxicarbonilaminometilbenzonitrilo

Una solución de 4-aminometil-2,5-difluorobenzonitrilo (0.46 g, 2.7 mmol; véase paso (vi) más arriba) y di-*terc*-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 repartió en porciones entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. El producto pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 0.71 g (97%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.2 (m, 2H), 5.11 (triplete amplio, 1H), 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 repartió en porciones 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 purificación posterior. Rendimiento: 0.72 g (92%).

^1H 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 *et al.*, *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 purificación posterior en el siguiente paso. Rendimiento: 0.80 g (100%).

^1H 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

529
171

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 repartió en porciones 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 instantánea en gel de sílice con heptano:EtOAc (2:1) produjo 0.72 g (72%) de compuesto puro.

^1H 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.

^1H 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 instantánea en gel de sílice con heptano:EtOAc (3:7) produjo un compuesto suficientemente puro. Rendimiento: 0.25 g (48%).

530
177

^1H 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 purificación posterior. Rendimiento: 0.23 g (97%).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.59 (dd, 1H), 7.47 (dd, 1H), $\square$ 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

A una solución de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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 instantánea 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%).

^1H 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)

531
173

(xv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)

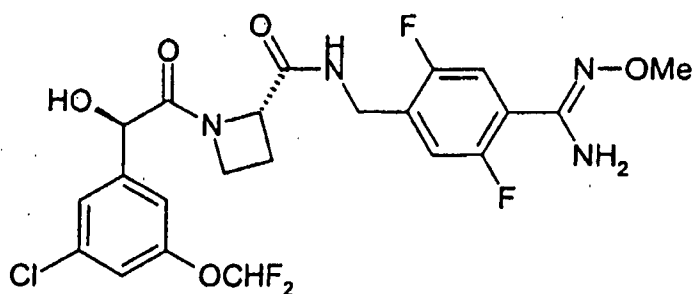
Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (60 mg (0.093 mmol) de la fracción pura de paso (xiv) más arriba) se disolvió en 3 mL de TFA y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 hora. El TFA se evaporó y el residuo se secó por congelamiento a partir de agua y acetonitrilo para producir 55 mg (96%) del compuesto del título como su sal de TFA, pureza: >99%.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD 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) ¹³C-NMR (75 MHz; CD₃OD): (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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-AzePab(2,5-diF)(OMe,Teoc)

Una mezcla de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (40 mg, 0.062 mmol; véase Ejemplo 41(xiv) más arriba) y O-

532
174

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 repartió en porciones entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto pudo usarse sin purificación posterior. Rendimiento: 35 mg (84%).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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%.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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)

¹³C-NMR (75 MHz; CDCl₃): (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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc)

533
178

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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.

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃) : 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)

A una solución helada de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) 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)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (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

534
176Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr)(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr,Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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.

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃) : 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-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr)

A una solución helada de Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(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.

¹H-NMR (500 MHz; CD₃OD) 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,

535
177

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 ($\text{M} - 1$) $^-$, 525 ($\text{M} + 1$) $^+$

Ejemplo 45

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(\text{Teoc})$ (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.

^1H -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) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr)}$

A una solución helada de $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(\text{OiPr, Teoc})$ (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.

^1H -NMR (400 MHz; CD_3OD) rotámeros: δ 7.59 (d, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.32

536
178

(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, rotámeros) δ 171.9, 171.4, 153.6.

MS (m/z) 523 ($\text{M} - 1$) $^-$, 525 ($\text{M} + 1$) $^+$.

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 halló 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 $\text{IC}_{50}\text{APTT}$ 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

537
179

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.

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	=	<i>terc</i> -butiloxycarbonilo
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	=	Isopropiletilamina
DMAP	=	4-(N,N-dimetil amino) piridina
DMF	=	dimetilformamida

538
180

DMSO	=	Dimetilsulfóxido
DVT	=	Trombosis de vena profunda
EDC	=	Clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropilo)-3-etilcarbodiimida
e.e.	=	Exceso enantiomérico
Et	=	Etilo
éter	=	Éter dietílico
EtOAc	=	Acetato de etilo
EtOH	=	Etanol
Et ₂ O	=	Éter dietílico
h	=	Hora(s)
HATU	=	Hexafluorofosfato de <i>O</i> -(azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HBTU	=	Hexafluorofosfato de [<i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -(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 <i>terc</i> -butílico
NADH	=	Nicotinamida adenina dinucleótido, forma reducida
NADPH	=	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, forma reducida
NIH	=	Instituto Nacional de la Salud (US)

539
181

NIHU	=	Unidades del Instituto Nacional de la Salud
NMR	=	Resonancia magnética nuclear
OAc	=	Acetato
Pab	=	<i>para</i> -amidinobencilamino
H-Pab	=	<i>para</i> -amidinobencilamina
Ph	=	Fenilo
Pr	=	Propilo
Pro	=	(<i>S</i>)-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 <i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -(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

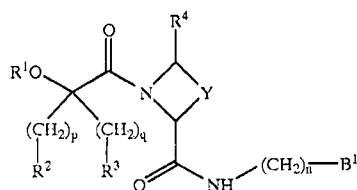
Los prefijos *n*, *s*, *i* y *t* tienen sus significados usuales: normal, secundario, iso y terciario. El prefijo *c* significa ciclo.

an N—Protected amino acid is used the acyl group may be added after coupling and deprotection of the nitrogen atom may then be effected using standard methods thereafter.

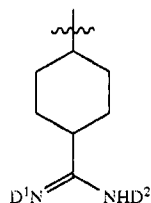
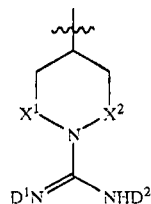
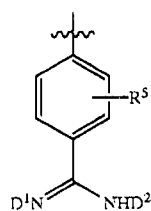
Protecting groups may be removed in accordance with techniques which are well known to those skilled in the art and as described hereinafter.

Certain protected intermediates of formula 1, in which the amidino and guanidino nitrogens in B are protected, and which may be made prior to a final deprotection stage to form compounds of the invention, are novel.

According to a further aspect of the invention there is provided a compound of formula XIV,



wherein B¹ represents a structural fragment of formula IVd, IVe or IVf



D¹ and D² independently represent H or benzyloxycarbonyl and p, q, R¹, R², R³, R⁴, Y, n, R⁵, X¹ and X² are as hereinbefore defined, provided that D¹ and D² do not both represent H.

The wavy lines on the carbon atom in the fragments of formulae IVd, IVe or IVf signify the bond position of the fragment.

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", 2nd edition, T W Greene & P G M Wutz, Wiley-Interscience (1991).

It will also be appreciated by those skilled in the art that, although such protected derivatives of compounds of for-

mula I may not possess pharmacological activity as such, they may be administered parenterally or orally and thereafter metabolised in the body to form compounds of the invention which are pharmacologically active. Such derivatives may therefore be described as "prodrugs". All prodrugs of compounds of formula I are included within the scope of the invention.

Protected derivatives of compounds of formula I which are particularly useful as prodrugs include compounds of formula XIV.

Medical and pharmaceutical use

The compounds of the invention are useful because they possess pharmacological activity. They 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, the compounds of the invention are potent inhibitors of thrombin, for example as demonstrated in the tests described below.

The compounds of the invention are thus expected to be useful in those conditions where inhibition of thrombin is required.

The compounds of the invention are thus indicated in the treatment or prophylaxis of thrombosis and hypercoagulability in blood and tissues of animals including man.

The compounds of the invention are further indicated in 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 treatment of and/or prophylaxis of venous thrombosis 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 arterial fibrillation or from the left ventricle after transmural myocardial infarction.

Moreover, the compounds of the invention are expected to have utility in prophylaxis of re-occlusion (i.e. thrombosis) after thrombolysis, percutaneous trans-luminal angioplasty (PTCA), coronary bypass operations, microsurgery and vascular surgery in general.

Further indications include the treatment and prophylaxis 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.

In addition to its effects on the coagulation process, thrombin is known to activate a large number of cells (such as neutrophils, fibroblasts, endothelial cells and smooth muscle cells). Therefore, the compounds of the present invention may also be useful for the treatment or prophylaxis 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, cerebral arterial disease, peripheral arterial disease, reperfusion damage, and restenosis after percutaneous trans-luminal angioplasty (PTCA).

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

541
D3

5,744,487

123

124

TABLE 1-continued

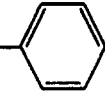
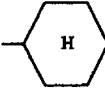
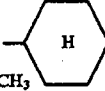
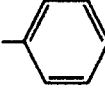
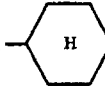
$\begin{array}{c} \text{(CH}_2\text{)}_n \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{C=O} \\ \\ \text{R}^1 \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CNCH}_2 \\ \\ \text{R}^2 \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{A-R}^3 \\ \\ \text{---} \end{array}$			
Compound No.	$\text{---R}^1 \left(\begin{array}{c} \text{---D---(CH)}_m\text{---E---R}^4 \\ \\ \text{R}^5 \end{array} \right)$	---R^2	---R^3	n	A	Broken line	
604	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	Single bond	
605	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	Single bond	
606	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	Single bond	
607	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \text{C}_6\text{H}_{11} \text{H} \\ \\ \text{NHCOOC(CH}_3\text{)}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	—	
608	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \text{C}_6\text{H}_{11} \text{H} \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	—	
609	$\begin{array}{c} \text{---CH---} \text{C}_6\text{H}_{11} \text{H} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	—	
610	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	—	
611	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	—	
612	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NCOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	—	
613	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \text{C}_6\text{H}_{11} \text{H} \\ \\ \text{NHCOOC(CH}_3\text{)}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	Single bond	
614	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \text{C}_6\text{H}_{11} \text{H} \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	$\begin{array}{c} \text{NOCH}_3 \\ \\ \text{---C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	1	C	Single bond	

5,744,487

125

126

TABLE 1-continued

$\begin{array}{c} \text{---R}^1 \left(\begin{array}{c} \text{---D---(CH)}_m\text{---E---R}^4 \\ \\ \text{R}^5 \end{array} \right) \\ \text{Compound No.} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{(CH}_2\text{)}_m \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{C=O} \\ \\ \text{R}^1 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CNCH}_2\text{---} \\ \\ \text{R}^2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{---A---R}^3 \\ \\ \text{---} \end{array}$	n	A	Broken line
615	$\begin{array}{c} \text{---CH---} \\ \\ \text{OH} \end{array}$ 				1	C	Single bond
616	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$ 				1	C	Single bond
617	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$				1	C	Single bond
618	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$				1	C	Single bond
619	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \\ \\ \text{NHCOOC(CH}_3\text{)}_3 \end{array}$ 				1	C	—
620	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$ 				1	C	—
621	$\begin{array}{c} \text{---CH---} \\ \\ \text{OH} \end{array}$ 				1	C	—
622	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$ 				1	C	—
623	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHCOOC}_2\text{H}_5 \end{array}$				1	C	—
624	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{C(CH}_3\text{)}_3 \\ \\ \text{NHSO}_2\text{CH}_3 \end{array}$				1	C	—
625	$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{---} \\ \\ \text{NHCOOC(CH}_3\text{)}_3 \end{array}$ 				1	C	Single bond

1

PROLINEAMIDE DERIVATIVES

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to novel proline derivatives. More particularly, it relates to proline derivatives having a protease inhibition activity or pharmaceutically acceptable salts thereof and protease inhibitors containing the same as an active ingredient.

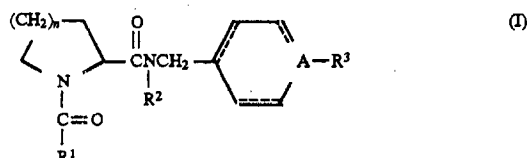
BACKGROUND OF THE INVENTION

It has been known that various proteases are present in the living body, for example, a group of serine proteases such as thrombin, factor Xa, factor IXa, factor VIIa, trypsin, plasmin, tissue plasminogen activator, kallikrein, C3/C5 convertase in the complement system, tryptase, etc. is known. Further, it is also known that these proteases cause various diseases when they are activated abnormally by some reason. Accordingly, substances which inhibit the activity of these proteases are useful as a clinical remedy. For example, antithrombin agents, anti-factor Xa agents and anti-factor VIIa agents are useful for treating thrombosis, antitrypsin agents are useful for treating pancreatitis, antiplasmin agents are useful as hemostatics, antiallergic agents and antiinflammatory agents, antikallikrein agents are useful as a remedy for inflammation and ulcer, and anticomplementary agents are useful as a remedy for nephritis and rheumatoid arthritis. Protease inhibitors having these actions have hitherto been developed, but they are not necessarily sufficient for practical use in view of protease inhibition activity, stability in the living body and the like. For example, tripeptide derivatives consist of arginine derivatives are known as protease inhibitors. That is, D-phenylalanyl-L-prolyl-L-arginal is known as a thrombin inhibitor (e.g. Folia Haematol., 109, 22 (1982)) but is fairly unstable in the living body (J. Med. Chem., 33, 1729 (1990)). Further, arginal derivatives (Japanese Laid-open Patent Publication No. 4-89498) or amidinophenylalanine derivatives (Thromb. Res., 17, 425 (1980)) are reported as protease inhibitors but their inhibition activity is low.

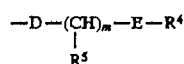
Under these circumstances, the present inventors have studied to develop structurally novel drugs having enzyme inhibition activity and stability in vivo, which are sufficient for practical use. As a result, it has been found that certain prolineamide derivatives can attain the desired object, thus the present invention has been established.

SUMMARY OF THE INVENTION

That is, the present invention provides a prolineamide derivative represented by the formula (I):



wherein A is a carbon atom or a nitrogen atom; n is an integer of 0 to 2; a broken line is absent or a single bond; R¹ is



{wherein D and E independently indicate a single bond or an optionally branched C₁-C₆ alkylene group;

2

R⁴ is a C₁-C₆ alkyl group, —OR⁶ (R⁶ is a hydrogen atom, a C₁-C₆ alkyl group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyl group), —SR⁷ (R⁷ is a C₁-C₆ alkyl group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyl group), —SOR⁸ (R⁸ is an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group or an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group), —SO₂R⁹ (R⁹ is an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group or an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group), —COR¹⁰ (R¹⁰ is a hydroxyl group, a C₁-C₆ alkoxy group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group or an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group), —NHR¹¹ (R¹¹ is a C₁-C₆ alkyl group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyl group), —NHCOR¹² (R¹² is a C₁-C₆ alkoxy group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyloxy group), —NHSO₂R¹³ (R¹³ is a C₁-C₆ alkyl group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group, an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyl group, an optionally substituted 5- to 10-membered heterocyclic group), an optionally substituted C₆-C₁ aryl group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group, an optionally substituted 5- to 10-membered heterocyclic group or —SiR¹⁴R¹⁵R¹⁶ (R¹⁴, R¹⁵, and R¹⁶ independently indicate a C₁-C₆ alkyl group);

R⁵ is a —OR¹⁷ (R¹⁷ is a hydrogen atom, —SiR²²R²³R²⁴ (R²², R²³, and R²⁴ independently indicate a C₁-C₆ alkyl group), a C₁-C₆ alkyl group or an optionally substituted 5- to 10-membered heterocyclic group)), —OCOR¹⁸ (R¹⁸ is a hydrogen atom, a C₁-C₆ alkyl group, a C₁-C₆ alkoxy group, an amino group, a C₁-C₆ alkylamino group, a C₂-C₁₂ dialkylamino group or a C₂-C₇ alkenylamino group), —NHR¹⁹ (R¹⁹ is a hydrogen atom, a C₁-C₆ alkyl group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyl group), —NHCOR²⁰ (R²⁰ is a hydrogen atom, a C₁-C₆ alkyl group, a C₁-C₆ haloalkyl group, a C₁-C₆ alkoxy group, an optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl group, a C₂-C₇ carboxyalkyloxy group, a C₂-C₇ alkenyloxy group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryloxy group, a C₃-C₉ alkoxycarbonylalkoxy group, a C₂-C₁₂ dialkylamino group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyloxy group) or —NHSO₂R²¹ (R²¹ is a C₁-C₆ alkyl group, a C₁-C₆ haloalkyl group, a C₂-C₇ carboxyalkyl group, an optionally substituted C₆-C₁₀ aryl group, a C₃-C₉ alkoxycarbonylalkyl group or an optionally substituted C₇-C₁₂ aralkyl group); and m is 0 or 1;

R² is a hydrogen atom or a C₁-C₆ alkyl group; and R³ is —C(=NR²⁵)NH₂ (R²⁵ is a hydrogen atom, a C₁-C₆ alkyl group, a C₂-C₇ acyl group, a C₂-C₇ acyloxy group, a C₁-C₆ alkoxy group, a C₂-C₇ alkoxycarbonyl group, a C₂-C₇ alkoxycarbonyloxy group, a hydroxyl group or a C₂-C₇ hydroxyalkylcarbonyloxy group), —NH—C(=NR²⁵)NH₂ (R²⁵ is as defined above) or —NHR²⁶ (R²⁶ is a hydrogen atom, a C₁-C₆ alkyl group, a C₂-C₇ acyl group, a C₂-C₇ alkoxycarbonyl group or a 5-C₁-C₃ alkyl-1,3-dioxol-2-on-4-ylmethyl group; provided that R³ is —C(=NR²⁵)NH₂ when A is a nitrogen atom or a salt and pharmaceutical use thereof.

5,744,487

81

82

TABLE 1-continued

Compound No.	$-R^1 \left(-D-(CH_2)_m-E-R^4 \right)$	$-R^2$	$-R^3$	n	A	Broken line
375		-H		1	C	Single bond
376		-H		1	C	Single bond
377		-H		1	C	Single bond
378		-H		1	C	Single bond
379		-H		1	C	Single bond
380	$-CH_2SC_2H_5$	-H		1	C	Single bond
381	$-(CH_2)_4COOH$	-H		1	C	Single bond
382		-H		1	C	Single bond
383		-H		1	C	Single bond
384		-H		1	C	Single bond