



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

04-108099

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO "6-ALQUILIDEN-PENEMS BICICLICOS COMO INHIBIDORES DE β -LACTAMASAS"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07D 519/00 // A61K31/431

71. SOLICITANTE WYETH

DOMICILIO MADISON, ESTADO DE NEW JERSEY, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLORED A RICAURTE

T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 27 OCT 2004

PETITORIO



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicación : 04100099 00000000 Folios: 106
 Fecha (MS): 2004-10-27 16:09:36
 Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTIN
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

① **SOLICITUD DE:**
☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☐ Capítulo I. ☒ Capítulo II.

② **SOLICITANTE (71)**
 Nombre: **WYETH**
 Dirección: Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940-0874, Estados Unidos de América.
 Nacionalidad o Domicilio: Madison, Estado de New Jersey, Estados Unidos de América.
 Lugar de Constitución:
 Teléfono: 3264270 Fax: 6069701
 E-mail: jllico@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION
 C.C. ☐ NIT ☐
 C.E. ☐ Otro ☐
 Cual _____
 Número _____

③ **REPRESENTANTE O APODERADO**
 Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
 Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º, Bogotá- Colombia
 Teléfono: 3264270 Fax: 6069701
 E-mail: jllico@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
 C.E. ☐ Otro ☐
 Cual _____
 Número 39.690.713 TP 53.215

④ **INVENTOR(ES) (72)**
 Nombre: **VENKATESAN, Aranapakam, Mudumbai; MANSOUR, Tarek, Suhayl; ABE, Takao; YAMAMURA, Itsuki; TAKASAKI, Tsuyoshi; AGARWAL, Atul; SANTOS, Osvaldo dos; SUM, Fuk-Wah y LIN, Yang-I.**
 Dirección: 97-07 63 rd Road #9K, Rego Park, NY 11374; 5 Overlook Road, New City, NY10956; 26-17, Naka-cho, Sakado-shi, Saitama; 14-23, Hon-Cho, Wako-shi, Saitama; 1-25-17, Mihara, Asaka-shi Saitama; 75 Nicholas Court, Hamden, CT 06518; 149-40 Melbourne Ave., Apt. 390 A, Kew Garden, New York 11367; 18 Chamberlain Court, Pomona, NY 10970 y 35 constitution Drive, Tappan, NY 10983.
 Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América y Japon

PCT (86)

⑤ Solicitud Internacional No. PCT/US03/13428 Fecha: 30/04/03
 Publicación Internacional No. WO 03/093279 A1 Fecha: 13/11/03

⑥ **Título (54) 6-ALQUILIDEN-PENEMS BICICLICOS COMO INHIBIDORES DE β -LACTAMASAS**

⑦ **Clasificación Internacional (51) C07D 519/00 / A61K31/431**

⑧ Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen US	(32) Fecha 01/05/02	(31) Número de Solicitud 60/377,052
--	---------------------------	------------------------	--

⑨ **Comprobante de Pago No. 04-81,712** Fecha: Octubre 15, 2004

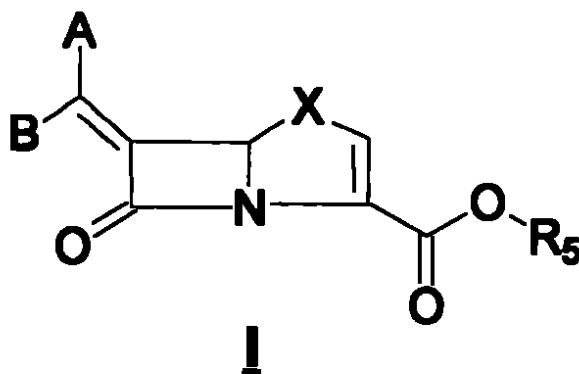
10

ANEX S

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☒ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☒ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda internacional con su traducción, Publicación con su traducción, Opinión Escrita con su Traducción y Notificación Registro de un Cambio con su traducción

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

Alicia Lloreda Ricaurte

C.C. 39.690.713 Usaquén T.P. 53.215

2

Superintendencia de Industria y Comercio
Radiación : 04100099 00000000 Folios: 106
Fecha (ADM): 2004-10-27 16:09:36
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FISE INCI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176989-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 81,712
FECHA : OCTUBRE 15 DE 2004

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	28713711	15/10/2004	5,208,000.00

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

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
		TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

1

Expediente No		0410 8099	No de Folia
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA X	1	2
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS:		

Observaciones:

sobre vacio

4

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente AM100862	PARA FUTURAS ACCIONES ver Notificación o Transmisión del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/220) así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.	
Solicitud internacional No. PCT/US 03/13428	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 30/04/2003	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 01/05/2002
Solicitante WYETH		
Este Reporte de Búsqueda Internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante Según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional. Este Reporte de Búsqueda Internacional consta de un total de 5 hojas. ☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte.		
1. Bases del reporte a. Respecto al lenguaje, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo en este ítem. ☐ la búsqueda internacional se llevó a cabo según la traducción de la solicitud internacional proporcionada a esta Autoridad (Regla 23.1(b)). b. Respecto a una secuencia de ácido nucleótico y/o amino revelado en la solicitud internacional, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la lista de la secuencia: ☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita. ☐ presentada junto con la solicitud internacional en forma legible por computador. ☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad en forma escrita. ☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad en forma legible por computador. ☐ se ha proporcionado la afirmación de que el listado de secuencias escrito proporcionado subsiguientemente no va más allá de la revelación en la solicitud internacional según se presentó. ☐ se ha proporcionado la afirmación de que la información registrada en forma legible por computador es idéntica al listado de la secuencia escrita. 2. ☒ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Casilla I). 3. ☐ Falta unidad de invención (ver Casilla II). 4. Respecto al título, ☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante. ☐ Esta Autoridad ha establecido que el texto se lee así: 5. Respecto al resumen, ☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante. ☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Norma 38.2(b), según aparece en el Recuadro III. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad. 6. La figura de los dibujos que se publicará con el resumen es la Figura No. ☐ como lo sugirió el solicitante. ☐ porque el solicitante no sugirió una figura. ☐ porque esta figura caracteriza mejor a la invención. ☒ Ninguna de las figuras.		

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/US 03/13428

A. CLASIFICACION DE MATERIA

IPC 7 C07D519/00 C07D499/88 A61K31/431 A61P31/04 C07D503/00
///(C07D519/00, 513:00, 499:00), (C07D519/00, 499:00, 495:00),
(C07D519/00,499:00,487:00), (C07D519/00,499:00, 471:00).

Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

Interno-EPO, Dato WPI, PAJ, Dato CHEM ABS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	WO 87 00525 A (BEECHAM GROUP PLC) 29 de enero de 1987 (1987-01-29) citado en la solicitud página 10-página 12; reivindicaciones; ejemplos	1-4,22, 33-35
X	WO 94 10178 A (SMITHKLINE BEECHAM PLC ; BROOM NIGEL JOHN PERRYMAN (GB); HARRINGTON) 11 de mayo de 1994 (1994-05-11) citado en la solicitud página 8-página 9; reivindicaciones; ejemplos	1-4,22, 33-35
A	EP 0 167 050 A (BEECHAM GROUP PLC) 8 de enero de 1986 (1986-01-08) reivindicaciones	1,33-35

☐ En el recuadro C se enumeran más documentos.

☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.

* Categorías especiales de documentos citados:

'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular

'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional

'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)

'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios

'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada

'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención

'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se trata solo

'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica

'Z' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional

25 de julio de 2003

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

04/08/2003

Nombre y dirección de correo de ISA/US

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

Chouly, J

**Solicitud Internacional No.
PCT/US 03/13428**

6

A. CLASIFICACION DE MATERIA IPC 7 (C07D519/00,499:00,498:00) Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI		
B. CAMPOS BUSCADOS		
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)		
Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados		
Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
☐ En el recuadro C se enumeran más documentos.	☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.	
* Categorías especiales de documentos citados:		
'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular	'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención	
'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional	'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo	
'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)	'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica	
'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios	'Z' documento miembro de la misma familia de patentes	
'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada		
Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional	Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional	
25 de julio de 2003		
Nombre y dirección de correo de ISA/US European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Funcionario autorizado Chouly, J	

~~8~~

2

Casilla I Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 1 de la primera hoja)

Este reporte de búsqueda internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

1. ☒ Reivindicaciones Nos.:

Aunque las reivindicaciones 24-32 se ocupan de un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda se llevó a cabo y se basó en los efectos de compuesto/composición.

2. ☐ Reivindicaciones Nos.:

porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:

3. ☐ Reivindicaciones No.:

porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla II Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 2 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.

2. ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.

3. ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:

4. ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.:

Comentario sobre Protesta

☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.

☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

7

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
Informe sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/US 03/13428

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda			Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes			Fecha de publicación
WO	8700525	A	29-01-1987	EP	0231244	A1	12-08-1987
				WO	8700525	A1	29-01-1987
WO	9410178	A	11-05-1994	AP	438	A	24-11-1995
				AT	191914	T	15-05-2000
				AU	687365	B2	26-02-1998
				AU	5335594	A	24-05-1994
				BR	1100542	A3	02-04-2002
				CA	2147755	A1	11-05-1994
				CN	1289766	A	04-04-2001
				CN	1089267	A,B	13-07-1994
				CN	1227842	A,B	08-09-1999
				CZ	9501053	A3	17-04-1996
				DE	69328436	D1	25-05-2000
				DE	69328436	T2	19-10-2000
				DK	666862	T3	11-09-2000
				WO	9410178	A1	11-05-1994
				EP	0666862	A1	16-08-1995
				ES	2145064	T3	01-07-2000
				FI	952063	A	27-06-1995
				GR	3033448	T3	29-09-2000
				HK	1012375	A1	12-01-2001
				HU	71467	A2	28-11-1995
				IL	107431	A	09-05-1999
				JP	8502504	T	19-03-1996
				MX	9306679	A1	29-04-1994
				NO	951634	A	28-04-1995
				NZ	257109	A	29-01-1997
				PL	308643	A1	21-08-1995
				PT	666862	T	31-08-2000
				RU	2133750	C1	27-07-1999
				SI	9300574	A	30-06-1994
				SK	54095	A3	13-09-1995
				TW	400332	B	01-08-2000
				US	5602250	A	11-02-1997
				US	6037469	A	14-03-2000
				ZA	9307993	A	22-03-1995
EP		A	08-01-1986	EP	0167050	A1	08-01-1986
				JP	61017585	A	25-01-1986

P si
9

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
OR THE DECLARATION

To:
WYETH
Patent Law Department
Attn. Calnan, William H.
Five Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940
UNITED STATES OF AMERICA

RECEIVED
AUG 1 2 2003

(PCT Rule 41.1)
RECEIVED
AUG 1 5 2003

Date of mailing
(day/month/year) 04/08/2003 by J.W. HOGAN

Applicant's or agent's file reference
AM100862

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.
PCT/US 03/13428

International filing date
(day/month/year) 30/04/2003

Applicant
WYETH

1. ☒ The applicant is hereby notified that the International Search Report has been established and is transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 48):

When? The time limit for filing such amendments is normally 2 months from the date of transmittal of the International Search Report; however, for more details, see the notes on the accompanying sheet.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

DOCKETED
DUE DATE 10/4/03
BY: MPR/15/03

2. ☐ The applicant is hereby notified that no International Search Report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect is transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Office.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Further action(s): The applicant is reminded of the following:

Shortly after 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

Within 19 months from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later).

Within 30 months from the priority date, the applicant must perform the prescribed acts for entry into the national phase before all designated Offices which have not been elected in the demand or in a later election within 19 months from the priority date or could not be elected because they are not bound by Chapter II.

Name and mailing address of the International Searching Authority



European Patent Office, P.B. 5818 Patentkan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Marthe Oldendorf

CC: WFLOW CC: PEARL RIVER
CC: PEARL RIVER

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the PCT Applicant's Guide, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only.

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 18 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 48.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 48.2).

Where a demand for international preliminary examination has been filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more of the claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/ may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

1)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added," or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 18(1)" (Rule 62.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 18(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 18(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. References to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequences if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments under Article 18, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the same time of filing the amendments with the International Bureau, also file a copy of such amendments with the International Preliminary Examining Authority (see Rule 62.2(a), first sentence).

Consequences with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, where upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 18 may have to be furnished to the designated/selected Office, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/selected Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

PCT

12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference AM100862	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US 03/13428	International filing date (day/month/year) 30/04/2003	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 01/05/2002
Applicant WYETH		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing :

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Int. Application No.

PCT/US 03/13428

13

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D519/00 C07D499/88 A61K31/431 A61P31/04 C07D503/00
//(C07D519/00,513:00,499:00),(C07D519/00,499:00,495:00),
(C07D519/00,499:00,487:00),(C07D519/00,499:00,471:00),

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, MPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 87 00525 A (BEECHAM GROUP PLC) 29 January 1987 (1987-01-29) cited in the application page 10 -page 12; claims; examples	1-4,22, 33-35
X	WO 94 10178 A (SMITHKLINE BEECHAM PLC ;BROOM NIGEL JOHN PERRYMAN (GB); HARRINGTON) 11 May 1994 (1994-05-11) cited in the application page 8 -page 9; claims; examples	1-4,22, 33-35
A	EP 0 167 050 A (BEECHAM GROUP PLC) 8 January 1986 (1986-01-08) claims	1,33-35

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (see specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 July 2003

Date of mailing of the international search report

04/08/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. Box 5516 Patentplan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-3040, Tx. 31 651 apo nl,
Fax. (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chouly, J

2

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 03/13428

14

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 (C07D519/00, 499:00, 498:00)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 July 2003

Date of mailing of the international search report

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. 5816 Patentplan 2
NL - 2280 HW Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-6040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Chouly, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 03/13428

15

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 24-32 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inform. on patent family members

Inter. Appl. No.

PCT/US 03/13428

16

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 8700525	A	29-01-1987	EP WO	0231244 A1 8700525 A1	12-08-1987 29-01-1987
WO 9410178	A	11-05-1994	AP AT AU AU BR CA CN CN CN CZ DE DE DK WO EP ES FI GR HK HU IL JP MX NO NZ PL PT RU SI SK TW US US ZA	438 A 191914 T 687365 B2 5335594 A 1100542 A3 2147755 A1 1289766 A 1089267 A ,B 1227842 A ,B 9501053 A3 69328436 D1 69328436 T2 666862 T3 9410178 A1 0666862 A1 2145064 T3 952063 A 3033448 T3 1012375 A1 71467 A2 107431 A 8502504 T 9306679 A1 951634 A 257109 A 308643 A1 666862 T 2133750 C1 9300574 A 54095 A3 400332 B 5602250 A 6037469 A 9307993 A	24-11-1995 15-05-2000 26-02-1998 24-05-1994 02-04-2002 11-05-1994 04-04-2001 13-07-1994 08-09-1999 17-04-1996 25-05-2000 19-10-2000 11-09-2000 11-05-1994 16-08-1995 01-07-2000 27-06-1995 29-09-2000 12-01-2001 28-11-1995 09-05-1999 19-03-1996 29-04-1994 28-04-1995 29-01-1997 21-08-1995 31-08-2000 27-07-1999 30-06-1994 13-09-1995 01-08-2000 11-02-1997 14-03-2000 22-03-1995
EP 0167050	A	08-01-1986	EP JP	0167050 A1 61017585 A	08-01-1986 25-01-1986

16

SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
13 de noviembre de 2003 (13.11.2003)

(10) Número de publicación internacional
WO 03/093279 A1

PCT

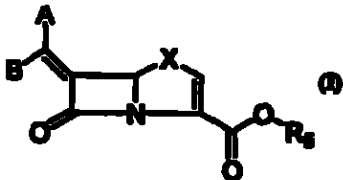
- (51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C07D 519/00, 499/88, A61K 31/431, A61P 31/04, C07D 503/00 // (C07D 519/00, 513:00, 499:00) (C07D 519/00, 499:00, 495:00) (C07D 519/00, 499:00, 487:00) (C07D 519/00, 499:00, 471:00) (C07D 519/00, 499:00, 498:00)
- (21) Número de solicitud internacional: PCT/US03/13428
- (22) Fecha de Registro internacional: 30 de abril de 2003 (30.04.2003)
- (25) Idioma del Registro: Inglés
- (26) Idioma de la publicación: Inglés
- (30) Información de la prioridad:
60/377.052 1 de mayo de 2002 (01.05.2002) U.S.
- (71) Solicitante (para todos los Estados designados, excepto US): WYETH [US/US]; Five Giralda Farma, Madison, NJ 07940 (U.S.).
- (72) Inventor; e
- (75) Inventor/Solicitante (para US solamente): VENKATESAN, Aranapakam, Mudumbal [US/US]; 97-07 63 rd Road # 9K, Rego Park, NY 11374 (US). MANSOUR, Tarek, Suhayl [CA/US]; 5 Overlook Road, New City, NY 10956 (US). ABE, Takao [JP/JP]; 26-17, Naka-cho, Sakado-shi, Saitama (JP). YAMAMURA, Itsuki [JP/JP]; 14-23, Hon-Cho, Wako-Shi, Saitama (JP). TAKASAKI, Tsuyoshi [JP/JP]; 1-25-17, Mihara, Asaka-shi, Saitama (JP). AGARWAL, Atul [IN/US]; 75 Nicholas Court, Hamden, CT 06518 (US). SANTOS, Osvaldo dos [US/US]; 149-40 Melbourne Ave., Apt. 390 A, Kew Garden, New York 11367 (US). SUM, Fuk-Wah [CA/US]; 16 Chamberlain Court, Pomona, NY 10970 (US). LIN, Yang-I [US/US]; 35 constitution Drive, Tappan, NY 10983 (US).

- (74) Agentes: CALNAN, William, H.; Wyeth, Patent Law Department, Five Giralda Farma, Madison, NJ 07940 et al (US).
- (81) Estados designados (nacionales): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Estados designados (regionales): Patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Publicada:
— con Reporte de búsqueda internacional

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Gulas sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT..

(54) Título: 6-ALQUILIDEN-PENEMS BICÍCLICOS COMO INHIBIDORES DE β-LACTAMASAS.



(57) Resumen: La presente invención proporciona un compuestos de fórmula (I), composiciones farmacéuticas y el uso de los mismos para el tratamiento de una infección bacteriana o una enfermedad en un paciente con necesidad del mismo.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 November 2003 (13.11.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/093279 A1

(51) International Patent Classification: C07D 519/00,
499/88, A61K 31/431, A61P 31/04, C07D 503/00 //
(C07D 519/00, 513:00, 499:00) (C07D 519/00, 499:00,
495:00) (C07D 519/00, 499:00, 487:00) (C07D 519/00,
499:00, 471:00) (C07D 519/00, 499:00, 498:00)

Melbourne Ave., Apt. 390A, Kew Garden, New York
11367 (US). SUM, Fuk-Wah [CA/US]; 16 Chamberlain
Court, Pomona, NY 10970 (US). LIN, Yang-I [US/US];
35 constitution Drive, Tappan, NY 10983 (US).

(21) International Application Number: PCT/US03/13428

(74) Agents: CALNAN, William, H.; Wyeth, Patent Law De-
partment, Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 et al
(US).

(22) International Filing Date: 30 April 2003 (30.04.2003)

(25) Filing Language: English

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

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/377,052 1 May 2002 (01.05.2002) US

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH
[US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

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

(72) Inventors; and

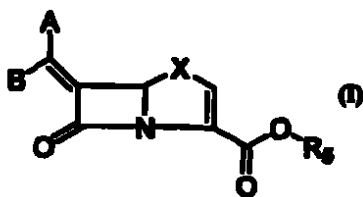
(75) Inventors/Applicants (for US only): VENKATESAN,
Arasapalam, Madambai [US/US]; 97-07 63rd Road
#9K, Rego Park, NY 11374 (US). MANSOUR, Tarek,
Sahayt [CA/US]; 5 Overlook Road, New City, NY 10956
(US). ABE, Takao [JP/JP]; 26-17, Naka-cho, Sakado-shi,
Saitama (JP). YAMAMURA, Itsuki [JP/JP]; 14-23,
Hon-cho, Wako-shi, Saitama (JP). TAKASAKI, Tetsuyoshi
[JP/JP]; 1-25-17, Mihara, Asaka-shi, Saitama (JP). AGAR-
WAL, Atul [IN/US]; 75 Nicholas Court, Hamden, CT
06518 (US). SANTOS, Osvaldo dos [US/US]; 149-40

Published:

— with international search report

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

(54) Title: BICYCLIC 6-ALKYLIDENE-PENEMS AS β -LACTAMASES INHIBITORS



(57) Abstract: The present invention provides a compound of Formula (I), pharmaceu-
tical compositions and the use thereof for the treatment of bacterial infection or disease
in a patient in need thereof.

TRATAD DE C OPERACION DE PATENTES

19

PCT

De la OFICINA INTERNACIONAL

NOTIFICACION DE REGISTRO DE UN CAMBIO

(Regla 92 bis. 1 del PCT e Instrucciones Administrativas, Sección 422)

Para:

CALNAN, William, H.
Wyeth
Patent Law Department
Five Giralda Farms
Madison, NJ 07940
Estados Unidos de América

Fecha de envío por correo (día/mes/año)
18 de noviembre de 2003 (18.11.03)

Archivo de referencia del solicitante o agente
AM100862

NOTIFICACION IMPORTANTE

Solicitud Internacional No.

Fecha de registro internacional (día/mes/año)
30 de abril de 2003 (30.04.2003)

PCT/US03/13428

1. Las siguientes indicaciones aparecieron en el registro en relación con:

☒ el solicitante ☒ el inventor ☐ el agente ☐ el representante común

Nombre y Dirección

AGARWAL, Atul
75 Nicholas Court
Hamden, CT 06518
Estados Unidos de América

País de Nacionalidad
IN

País de Residencia
US

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

2. La Oficina Internacional por el presente notifica al solicitante que el siguiente cambio se ha registrado en relación con:

☐ la persona ☐ el nombre ☐ la dirección ☒ la nacionalidad ☐ la residencia

Nombre y Dirección

AGARWAL, Atul
75 Nicholas Court
Hamden, CT 06518
Estados Unidos de América

País de Nacionalidad
US

País de Residencia
US

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

3. Otras observaciones, si fuese necesario:

La persona en la casilla 2 ha sido registrada como solicitante para todos los estados designados excepto U.S
DHALLAN, Ravinder, S. permanece como inventor para todos los estados designados y solicitante únicamente para U.S

4. Se ha enviado una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina que recibe ☒ las Oficinas designadas relacionadas
☐ la Autoridad de Búsqueda Internacional ☐ las Oficinas seleccionadas relacionadas
☐ la Autoridad de Examen Preliminar Internacional ☐ otros:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Funcionario autorizado
Brigitte WYSS

Facsímile No. (41-22) 338.7080

Teléfono No. (41-22) 338 8366

21

PATENT COOPERATION TREATY

20

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

DEC 04 2003

CALNAN, William, H.
Wyeth
Patent Law Department
Five Giralda Farms
Madison, NJ 07940
United States of America

Date of mailing (day/month/year)

18 November 2003 (18.11.03)

Applicant's or agent's file reference

AM100862

International application No.

PCT/US03/13428

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)

30 April 2003 (30.04.03)

1. The following indications appeared on record concerning:



the applicant



the inventor



the agent



the common representative

Name and Address

AGARWAL, Atul
75 Nicholas Court
Hamden, CT 06518
United States of America

State of Nationality

IN

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:



the person



the name



the address



the nationality



the residence

Name and Address

AGARWAL, Atul
75 Nicholas Court
Hamden, CT 06518
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:



the receiving Office



the International Searching Authority



the International Preliminary Examining Authority



the designated Offices concerned



the elected Offices concerned



other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338-7080

Authorized officer

Brightie WYSS

Telephone No. (41-22) 338 8386

22

CC: TAPLOW

CC: PEARL RIVER

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

21

(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Registro de referencia del solicitante o agente AM100862	PARA FUTURAS ACCIONES Ver Notificación o Transmisión del Reporte de Examen Preliminar Internacional (Formato PCT/IPEA/416)	
Solicitud Internacional No. PCT/US 03/13428	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 30.04.2003	Fecha de prioridad (día/mes/año) 01.05.2002
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC C07D519/00		
Solicitante WYETH et. al.		
1. Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional y se transmite al solicitante de conformidad con el Artículo 36. 2. Este REPORTE consta de un total de <u>5</u> páginas, incluyendo la carátula. ☐ Este reporte también está acompañado de ANEXOS, es decir, páginas de descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido modificados y son la base de este informe y/o páginas que contienen rectificaciones hechas ante esta Autoridad (ver Regla 70.16 y la Sección 607 de las Instrucciones Administrativas de conformidad con el PCT). Estos anexos constan de un total de _____ páginas. 3. Este informe contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: - I ☒ Bases del Reporte - II ☐ Prioridad - III ☒ No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. - IV ☐ Falta de unidad de invención - V ☒ Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación. - VI ☐ Ciertos documentos citados - VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional - VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional		
Fecha de presentación de la demanda 20.11.2003	Fecha de terminación de este reporte 28.07.2004	
Nombre y dirección de IPEA European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399-0 Tx: 523656 epmu d Fax +49 89 2399-4465	Funcionario autorizado Ousset, J-B Teléfono No.+49 89 2399-8271	

Forma PCT/IPEA/409 (carátula) (Enero 1994)

23

I. Bases del Reporte

1. Respecto a los elementos de la solicitud internacional: (Carátulas de remplazo que han sido suministradas a la oficina receptora en respuesta a una invitación bajo el artículo 14 están referenciados en este reporte como "presentados originalmente" y no están anexos a este reporte dado que no contienen modificaciones (Reglas 70.16 y 70.17):

Descripción, Páginas:

1-144 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, Números.:

1-35 como se presentaron originalmente

2. Respecto al idioma, todos los elementos marcados anteriormente estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el idioma en el cual la solicitud internacional fue presentada, a menos que se indique lo contrario bajo este ítem.

Estos elementos estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el idioma, el cual es:

- ☐ el idioma de una traducción suministrada para una búsqueda internacional (según la Regla 23.1 (b)).
- ☐ el idioma de una publicación de la solicitud internacional (según la Regla 48.3 (b)).
- ☐ el idioma de la traducción suministrada para el examen preliminar internacional (según las Reglas 55.2 y/o 55.3).

3. Respecto al nucleótido y/o secuencia amino ácida revelado en la solicitud internacional, se llevó a cabo el examen preliminar internacional según el listado de secuencia:

- ☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita.
- ☐ registrado junto con la solicitud internacional en forma legible por computador.
- ☐ proporcionado subsiguientemente a esta Autoridad en forma escrita.
- ☐ proporcionado subsiguientemente a esta Autoridad en forma legible por computador.
- ☐ Se ha proporcionado la afirmación respecto a la cual el listado de secuencia escrito proporcionado subsiguientemente no va más allá de la revelación en la solicitud internacional según se presentó.
- ☐ Se ha proporcionado la afirmación respecto a la cual la información presentada en forma legible por computador es idéntica al listado de secuencia escrita.

4. Las modificaciones han resultado en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas:
- ☐ las reivindicaciones, Nos.:
- ☐ los dibujos, Hojas:

5. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (algunas) de las modificaciones no se hubiesen hecho, ya que se ha considerado que van más allá de la revelación según se presentó, como se indicó en Casilla Suplementaria (Regla 70.2 (c)):
(Cualquier hoja de remplazo que contenga tales modificaciones debe ser referida bajo el ítem 1 y anexada a este reporte.)

6. Observaciones adicionales, si son necesarias:

III. No-establecimiento de opinión respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

1. Las preguntas como quiera que la invención reivindicada parezca ser novedosa, para comprender un nivel inventivo (para no ser obvio), o para ser aplicable industrialmente no se han examinado en relación con:

- ☐
 toda la solicitud internacional.
- ☒
 las reivindicaciones Nos. 24-32

Porque:

- ☒
 dicha solicitud internacional, o dichas reivindicación No. 24-32 se relaciona con el siguiente asunto/materia que no requiere examen preliminar Internacional (especificar):

ver hoja separada

- ☐
 la descripción, reivindicaciones o dibujos (indican elementos particulares a continuación) o dichas reivindicaciones Nos. Son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (especifique):
- ☐
 las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa.
- ☐
 no se ha establecido un informe de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos.

2. Un examen internacional significativo no puede llevarse a cabo debido a la falla del nucleótido y/o listado de secuencia amino ácida para cumplir con el estándar preparado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas:

- ☐
 el formulario escrito no ha sido proporcionado o no cumple con el estándar.
- ☐
 la forma legible por computador no ha sido proporcionado o no cumple con el estándar.

V. Afirmación razonada bajo el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación

Novedad (N)	Sí:	Reivindicaciones
	No:	Reivindicaciones 1-23,33-35

Nivel inventivo (IS)	Sí:	Reivindicaciones
	No:	Reivindicaciones 1-23,33-35

Aplicabilidad industrial (IA)	Sí:	Reivindicaciones 1-23, 33-35
	No:	Reivindicaciones

2. Citas y explicaciones

ver hoja separada

SECCION III

1). Las reivindicaciones 24-32 se relacionan con el tratamiento de cuerpos humanos y/o animales. De acuerdo con la Regla 67(1)(iv) no se requiere un examen para dichas reivindicaciones.

SECCION V

2). La técnica anterior relevante está representada por:

D1: WO 87 00525 A (BEECH AM GROUP PLC) 29 de enero de 1987 (1987-01-29) citado en la solicitud

D2: WO 94 10178 A (SMITH KLINE BEECH AM PLC; BROOM NIGEL JOHN PERRY MAN (GB); HARRINGTON) 11 de mayo de 1994 (1994-05-11) citado en la solicitud

D3: EP-A-0 167 050 (BEECH AM GROUP PLC) 8 de enero de 1986 (1986-01-08)

3). La materia reivindicada no es novedosa en vista de las revelaciones de D1 (ver reivindicaciones y ejemplos). Esta objeción también es válida en vista de la revelación de D2 (ver reivindicaciones y ejemplos).

No se reconoce novedad.

4). D1 representa la técnica anterior más cercana, puesto que revela compuestos idénticos a los reivindicados en la presente solicitud y que tienen las mismas propiedades farmacéuticas.

Por lo tanto, la persona experta no necesita ninguna habilidad inventiva para reproducir el contenido de este documento para llegar a los compuestos reivindicados.

Además, la redacción de las reivindicaciones contiene varias expresiones ilimitadas como "sustituido opcionalmente", "arilo", "heteroarilo" y derivados de ellos que llevan inherentemente a un número ilimitado de compuestos que inherentemente no pueden resolver el problema dado.

No se reconoce nivel inventivo.

5). Para la evaluación de las presentes reivindicaciones 24-32 sobre la pregunta de si son aplicables industrialmente, no existen criterios unificados en los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como aplicable industrialmente la materia objeto de las reivindicaciones

25

al uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en el tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un tratamiento médico nuevo.

~~29~~

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)

26

Applicant's or agent's file reference AM100862		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEA/16)	
International application No. PCT/US 03/13428	International filing date (day/month/year) 30.04.2003	Priority date (day/month/year) 01.05.2002	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC C07D519/00			
Applicant WYETH et al.			
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 38. 2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of sheets.			
3. This report contains indications relating to the following items: I ☒ Basis of the opinion II ☐ Priority III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Rule 66.2(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 20.11.2003		Date of completion of this report 28.07.2004	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2369 - 0 Tlx 523656 epmu d Fax +49 89 2369 - 4485		Authorized Officer Ousset, J-B Telephone No. +49 89 2369-8271 	

27

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/US 03/13428**

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17):*

Description, Pages

1-144 as originally filed

Claims, Numbers

1-35 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

26

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/US 03/13428**

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application,
- ☒ claims Nos. 24-32

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 24-32 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
- ☐ no international search report has been established for the said claims Nos.

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the Standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the Standard.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-23,33-35
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-23,33-35
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-23,33-35
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

30

SECTION III

1). Claims 24-32 relate to the treatment of human and/or animal bodies. According to Rule 67(1)(iv) an examination is not required for such claims.

SECTION V

2). Relevant prior art is represented by:

D1: WO 87 00525 A (BEECH AM GROUP PLC) 29 January 1987 (1987-01-29) cited in the application

D2: WO 94 10178 A (SMITH KLINE BEECH AM PLC ;BROOM NIGEL JOHN PERRY MAN (GB); HARRINGTON) 11 May 1994 (1994-05-11) cited in the application

D3: EP-A-0 167 050 (BEECH AM GROUP PLC) 8 January 1986 (1986-01-08)

3). The claimed matter is not novel in view of the disclosures of D1 (see claims and examples). This objection is also valid in view of the disclosure of D2 (see claims and examples).

Novelty is not acknowledged.

4). D1 represents the closest prior art, since it discloses identical compounds to the ones claimed in the present application and which have the same pharmaceutical properties.

Therefore, the skilled person does not need any inventive skills to reproduce the content of this document to arrive at the claimed compounds.

Furthermore, the wording of the claims contains several unlimited expressions like "optionally substituted", "aryl", "heteroaryl" and derivatives thereof which inherently lead to an unlimited number of compounds which cannot inherently solve the given problem.

Inventive step is not acknowledged.

5). For the assessment of the present claims 24-32 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to

30

INTERNATIONAL PRELIMINARY

International application No. PCT/US 03/13428

EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET

the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

42

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

31

De la
AUTORIDAD EXAMINADORA PRELIMINAR INTERNACIONAL

Para: CONNELLY, Michael WYETH LABORATORIES Huntercombe Lane South Taplow, Maidenhead BERKS SL06 OPH		OPINION ESCRITA (PCT Regla 66) Fecha de envío (día/mes/año) 16.02.2004	
Registro de referencia del solicitante o agente AM100862		RESPUESTA VENCE Dentro de 3 meses/días desde la fecha anterior de envío	
Solicitud Internacional No. PCT/US03/13428	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 30.04.2003	Fecha de prioridad (día/mes/año) 01.05.2002	
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC : C07D519/00			
Solicitante WYETH et al.			
1. Esta opinión escrita la redacta <u>primero</u> (primero, etc.) la Autoridad Examinadora Preliminar Internacional. 2. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: - I ☒ Bases de opinión - II ☐ Prioridad - III ☒ No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. - IV ☐ Falta de unidad de invención - V ☒ declaración razonada de según la regla 66.2(a)(ii) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad Industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación. - VI ☐ Ciertos documentos citados - VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional - VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional 3. El solicitante por el presente está invitado a contestar a esta opinión. ¿Cuándo? Ver el límite de tiempo indicado anteriormente. El solicitante puede, antes de la expiración del límite de tiempo, solicitar a esta Autoridad que otorgue una extensión, ver Regla 66.2(d). ¿Cómo? Presentando una respuesta escrita, acompañada de, cuando sea apropiado, de enmiendas, según Regla 66.3. Para el formulario y el idioma de las enmiendas, ver las Reglas 66.8 y 66.9 También Para una oportunidad adicional de presentar enmiendas, ver Regla 66.4. Para la obligación del examinador de considerar las enmiendas y/o argumentos, ver Norma 66.4bis. Para una comunicación informal con el examinador, ver Regla 66.6. Si no se registra una respuesta, el informe del examen preliminar internacional se establecerá según esta opinión. 4. La fecha final por medio de la cual se debe establecer el reporte del examen preliminar internacional según la Regla 69.2 es: <u>01.09.2004</u>			
Nombre y dirección de correo de IPEA European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399-0 Tx:523656 epmu d Fax: +49 89 2399-4465		Funcionario autorizado Ousset, J-B Funcionario Formal (inc. extensión de los límites) Hebert, W Teléfono No.+49 89 2000 2152	

I. Bases de la Opinión

1. Respecto a los elementos de la solicitud internacional: (Carátulas de remplazo que han sido suministradas a la oficina receptora en respuesta a una invitación bajo el artículo 14 están referenciados en esta opinión como "presentados originalmente"):

Descripción, Páginas:

1-144 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, No.:

1-35 como se presentaron originalmente

2. Respecto al idioma, todos los elementos marcados anteriormente estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el idioma en el cual la solicitud internacional fue presentada, a menos que se indique lo contrario bajo este ítem.

Estos elementos estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el idioma, el cual es:

- ☐ el idioma de una traducción suministrada para una búsqueda internacional (según la Regla 23.1 (b)).
- ☐ el idioma de una publicación de la solicitud internacional (según la Regla 48.3 (b)).
- ☐ el idioma de la traducción suministrada para el examen preliminar internacional (según las Reglas 55.2 y/o 55.3).

3. Respecto al nucleótido y/o secuencia amino ácida revelado en la solicitud internacional, se llevó a cabo el examen preliminar internacional según el listado de secuencia:

- ☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita.
- ☐ registrado junto con la solicitud internacional en forma legible por computador.
- ☐ proporcionado subsiguientemente a esta Autoridad en forma escrita.
- ☐ proporcionado subsiguientemente a esta Autoridad en forma legible por computador.
- ☐ Se ha proporcionado la afirmación respecto a la cual el listado de secuencia escrito proporcionado subsiguientemente no va más allá de la revelación en la solicitud internacional según se presentó.
- ☐ Se ha proporcionado la afirmación respecto a la cual la información presentada en forma legible por computador es idéntica al listado de secuencia escrita.

4. Las modificaciones han resultado en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, páginas

5. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (algunas) de las modificaciones no se hubiesen hecho, ya que se ha considerado que van más allá de la revelación según se presentó, como se indicó en Casilla Suplementaria (Regla 70.2 (c)):

(Cualquier hoja de remplazo que contenga tales modificaciones debe ser referida bajo el ítem 1 y anexada a este reporte.)

6. Observaciones adicionales, si son necesarias:

III. No-establecimiento de opinión respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

1. Las preguntas como quiera que la invención reivindicada parezca ser novedosa, para comprender un nivel inventivo (para no ser obvio), o para ser aplicable industrialmente no se han examinado en relación con:

- ☐ toda la solicitud internacional.
- ☒ las reivindicaciones Nos. 24-32

Porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicación No. 21-31 se relaciona con el siguiente asunto/materia que no requiere examen preliminar Internacional (especificar):

ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (indican elementos particulares a continuación) o dichas reivindicaciones Nos. Son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (especifique):
- ☐ las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa.
- ☐ no se ha establecido un informe de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos.

2. Un opinión escrita no puede llevarse a cabo debido a la falla del nucleótido y/o listado de secuencia amino ácida para cumplir con el estándar preparado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas:

- ☐ el formulario escrito no ha sido proporcionado o no cumple con el estándar.
- ☐ la forma legible por computador no ha sido proporcionado o no cumple con el estándar.

V. Afirmación razonada bajo la regla 66.2 (a) (ii) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación

Novedad (N)	Reivindicaciones	1-23,33-35
Nivel inventivo (IS)	Reivindicaciones	1-23,33-35
Aplicabilidad industrial (IA)	Reivindicaciones	

2. Citas y explicaciones
ver hoja separada

SECCION III

1). Las reivindicaciones 24-32 se relacionan con el tratamiento de cuerpos humanos y/o animales. De acuerdo con la Regla 67(1)(iv) no se requiere un examen para dichas reivindicaciones.

SECCION V

2). La técnica anterior relevante está representada por:

D1: WO 87 00525 A (BEECH AM GROUP PLC) 29 de enero de 1987 (1987-01-29) citado en la solicitud

D2: WO 94 10178 A (SMITH KLINE BEECH AM PLC; BROOM NIGEL JOHN PERRY MAN (GB); HARRINGTON) 11 de mayo de 1994 (1994-05-11) citado en la solicitud

D3: EP-A-0 167 050 (BEECH AM GROUP PLC) 8 de enero de 1986 (1986-01-08)

3). La materia reivindicada no es novedosa en vista de las revelaciones de D1 (ver reivindicaciones y ejemplos). Esta objeción también es válida en vista de la revelación de D2 (ver reivindicaciones y ejemplos).

No se reconoce novedad.

4). D1 representa la técnica anterior más cercana, puesto que revela compuestos idénticos a los reivindicados en la presente solicitud y que tienen las mismas propiedades farmacéuticas.

Por lo tanto, la persona experta no necesita ninguna habilidad inventiva para reproducir el contenido de este documento para llegar a los compuestos reivindicados.

Además, la redacción de las reivindicaciones contiene varias expresiones ilimitadas como "sustituido opcionalmente", "arilo", "heteroarilo" y derivados de ellos que llevan inherentemente a un número ilimitado de compuestos que inherentemente no pueden resolver el problema dado.

No se reconoce nivel inventivo.

5). Para la evaluación de las presentes reivindicaciones 24-32 sobre la pregunta de si son aplicables industrialmente, no existen criterios unificados en los Estados Contratantes del PCT. La

patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como aplicable industrialmente la materia objeto de las reivindicaciones al uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en el tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un tratamiento médico nuevo.

PATENT COOPERATION TREATY

JWH
 Docketed
 18 FEB 2004

31
 36

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

WRITTEN OPINION
 (PCT Rule 66)

To: CONNELLY, Michael WYETH LABORATORIES Huntercombe Lane South Taplow Maidenhead BERKS SL6 0PH		RECEIVED N2 18 FEB 2004 PATENTS DEPT.	
Applicant's or agent's file reference AM100862		Date of mailing (day/month/year) 18.02.2004	
International application No. PCT/US 03/13428		International filing date (day/month/year) 30.04.2003	Priority date (day/month/year) 01.05.2002
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC C07D519/00			
Applicant WYETH et al.			

1. This written opinion is the first drawn up by this International Preliminary Examining Authority.
2. This opinion contains indications relating to the following items:

I	☒	Basis of the opinion
II	☐	Priority
III	☒	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV	☐	Lack of unity of invention
V	☒	Reasoned statement under Rule 66.2(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI	☐	Certain documents cited
VII	☐	Certain defects in the international application
VIII	☐	Certain observations on the international application
3. The applicant is hereby invited to reply to this opinion.

When? See the time limit indicated above. The applicant may, before the expiration of that time limit, request this Authority to grant an extension, see Rule 66.2(d).

How? By submitting a written reply, accompanied, where appropriate, by amendments, according to Rule 66.3. For the form and the language of the amendments, see Rules 66.5 and 66.6.

Also: For an additional opportunity to submit amendments, see Rule 66.4. For the examiner's obligation to consider amendments and/or arguments, see Rule 66.4 bis. For an informal communication with the examiner, see Rule 66.8.

If no reply is filed, the international preliminary examination report will be established on the basis of this opinion.
4. The final date by which the international preliminary examination report must be established according to Rule 66.2 is: 01.09.2004

Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: 523855 apmu d Fac: +49 89 2399 - 4465	Authorized Officer Ousset, J-B Formalities officer (incl. extension of time limits) Hebert, W Telephone No. +49 89 2399 2182	
--	--	---

36

WRITTEN OPINIONInternational application No. **PCT/US 03/3428****I. Basis of the opinion**

1. With regard to the elements of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this opinion as "originally filed"*):

Description, Pages

1-144 as originally filed

Claims, Numbers

1-35 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
☐ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:
☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This opinion has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

6. Additional observations, if necessary:

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been and will not be examined in respect of:

WRITTEN OPINIONInternational application No. **PCT/US 03/13428**☐ the entire international application,☒ claims Nos. 24-32

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 24-32 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.☐ no international search report has been established for the said claims Nos.

2. A written opinion cannot be drawn due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the Standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the Standard.☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the Standard.**V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-23,33-35
Inventive step (IS)	Claims	1-23,33-35
Industrial applicability (IA)	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION
SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/US03/13428

SECTION III

1). Claims 24-32 relate to the treatment of human and/or animal bodies. According to Rule 67(1)(iv) an examination is not required for such claims.

SECTION V

2). Relevant prior art is represented by:

D1: WO 87 00525 A (BEECH AM GROUP PLC) 29 January 1987 (1987-01-29)
cited in the application

D2: WO 94 10178 A (SMITH KLINE BEECH AM PLC ;BROOM NIGEL JOHN
PERRY MAN (GB); HARRINGTON) 11 May 1994 (1994-05-11) cited in the
application

D3: EP-A-0 167 050 (BEECH AM GROUP PLC) 8 January 1986 (1986-01-08)

3). The claimed matter is not novel in view of the disclosures of D1 (see claims and examples). This objection is also valid in view of the disclosure of D2 (see claims and examples).

Novelty is not acknowledged.

4). D1 represents the closest prior art, since it discloses identical compounds to the ones claimed in the present application and which have the same pharmaceutical properties.

Therefore, the skilled person does not need any inventive skills to reproduce the content of this document to arrive at the claimed compounds.

Furthermore, the wording of the claims contains several unlimited expressions like "optionally substituted", "aryl", "heteroaryl" and derivatives thereof which inherently lead to an unlimited number of compounds which cannot inherently solve the given problem.

Inventive step is not acknowledged.

5). For the assessment of the present claims 24-32 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The

40

patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

41

6-ALQUILIDEN-PENEMS BICÍCLICOS COMO INHIBIDORES DE β -LACTAMASAS

RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), composiciones farmacéuticas y el uso de las mismas para el tratamiento de una infección bacteriana o una enfermedad en un paciente con necesidad del mismo.

6-ALQUILIDEN-PENEMS BICÍCLICOS COMO INHIBIDORES DE β -LACTAMASAS

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a ciertos 6-alquilden-penems bicíclicos que actúan como inhibidores de β -lactamasa de amplio espectro. Las β -lactamasas hidrolizan antibióticos β -lactam, y como tales, sirven como la causa primaria de resistencia bacteriana. Cuando se combinan con antibióticos β -lactam, los compuestos de la presente invención proveerán un tratamiento efectivo contra infecciones bacterianas que amenacen la vida.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

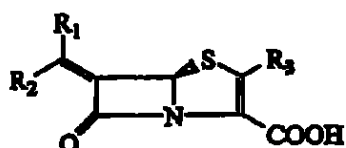
Penicilinas y cefalosporinas son los antibióticos β -lactam utilizados más ampliamente y con mayor frecuencia en la práctica clínica. Sin embargo, el desarrollo de la resistencia a antibióticos β -lactam por diferentes patógenos ha tenido un efecto nocivo para mantener el tratamiento efectivo de infecciones bacterianas. (Coleman, K. *Expert Opin. Invest. Drugs* 1995,, 4, 693; Sutherland, R. *Infection* 1995, 23 (4) 191; Bush, *Cur. Pharm. Design* 1999, 5, 839-845). El mecanismo conocido más importante relacionado con el desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos β -lactam es la producción de β -lactamasas de serina clase A, clase B y clase C. Estas enzimas degradan los antibióticos β -lactam, resultando en pérdida de la actividad antibacteriana. Preferiblemente, las enzimas de Clase A hidrolizan penicilinas, mientras que las lactamasas de Clase C tienen un perfil de sustrato que favorece la hidrólisis de cefalosporina. (Bush, K; Jacoby, G.A.; Medeiros, A.A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995 39, 1211). Hasta la fecha se han reportado más de 250 β -lactamasas diferentes (Payne, D.J; Du, W y Bateson, J-

.H. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 2000, 247) y existe la necesidad de una nueva generación de inhibidores de β -lactamasa de espectro amplio. La resistencia bacteriana a estos antibióticos podría reducirse enormemente mediante la administración del antibiótico β -lactam en combinación con un compuesto que inhiba estas enzimas.

Los inhibidores de β -lactamasa comerciales tales como ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam son efectivos contra patógenos productores de clase A. El ácido clavulánico se usa clínicamente en combinación con amoxicilina y ticarcilina; igualmente, sulbactam con ampicilina y tazobactam con piperacilina. Sin

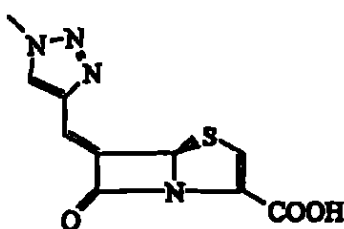
embargo, estos compuestos son ineficaces contra organismos productores de clase C. Se ha aclarado el mecanismo de inactivación de β -lactamasas de clase A (tales como PCI y TEM-1). (Bush, J.; *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993, 37, 851; Yang Y.; Janota, K.; Tabei, K.; Huang N.; Seigal, M.M.; Lin, Y.I.; Rasmussen, B.A. y Shales, D.M. *J. Bio. Chem.* 2000, 35, 26674-26682).

En 1981, el grupo Beecham divulgó 6-alquildin penems de la estructura general 1 como inhibidores de β -lactamasas. [N.F. Osborne, Patente U.S. 4,485,110 (1984); N.F. Osborne .Sol. Pat. Eur. 81 301683.9, 1981]



1

R_1 y R_2 son independientemente hidrógeno o un grupo hidrocarbónico C_{1-10} o mono heterocíclico, y R_3 representa un hidrógeno o un grupo orgánico. Posteriormente, el mismo grupo divulgó compuestos de la fórmula general 1, en donde R_1 comprende un medio 1,2,3-triazol. [N.F. Osborne, Solic. de Pat. Eur. 84301255.01]. El siguiente año, el mismo grupo presentó 3 patentes de la estructura 1, en donde R_1 es un sistema de anillo mono aromático de seis o cinco miembros sustituido opcionalmente. [NF. Osborne Solic. de Pat. Eur. 85100520.7; Solic. de Pat. Eur. 85100521.5; Solic. de Pat. Eur. 85300456-2]. La solicitud de Patente europea No. 86305585-1 divulga la síntesis y la utilidad de (Z)-6-(1-metil-1,2,3-triazol-4-ilmetil)-penem-3-carboxilato 2 como un inhibidor de β -lactamasa de clase A y clase C.



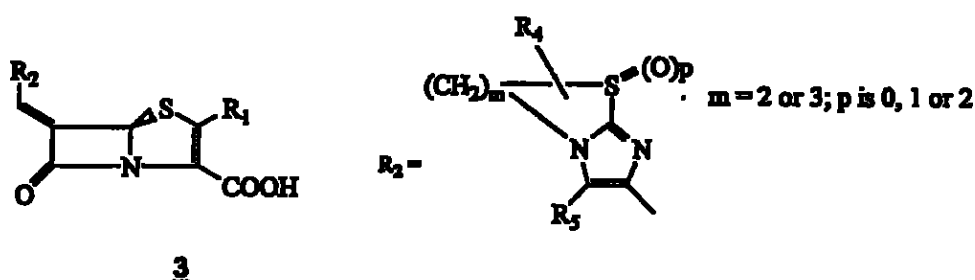
2

La Solic. de Pat. Eur. 86305584-4 divulga la preparación de compuestos de la fórmula general 1, en donde R_1 = grupo heterocíclico no aromático y se publicó una solicitud PCT [N.J. Broom, P.D. Edwards, N.F. Osborne y S. Coulton, PCT WO 87/00525] que divulgaba R_1 = un grupo heteroaromático bicíclico fusionado. Igualmente, las solicitudes de patente [N.J. Broom; G. Brooks; S. Coulton, Solic.

de Pat. Eur. 88311786.3; N.-J. Broom; G. Brooks, B.P. Clarke, Solic. de Pat. Eur. 88311787.1) describieron la preparación y uso de compuestos de la estructura general 1, en donde R_1 es un anillo heteroaromático sustituido de cinco miembros. Un proceso para la preparación de compuestos de la fórmula general 1, ha sido descrito por Coulton y otros; J.B. Harbridge; N.F. Osborne y G. Walter Solic. de Pat. Eur. 87300193.7]

En 1993, Beecham divulgó [A.V. Stachulski y R. Walter, PCT WO 93/03042] la preparación y uso de los compuestos de la fórmula general 1, en la cual R_1 =alquil(C_{1-16}) y R_2 = CH_2X ó COY , en donde X = halógeno o $CONR_2$.

Durante la última década, Beecham ha presentado tres patentes que describen compuestos de la fórmula general 3. [N.J. Broom; F.P. Harington, PCT WO 94/10178; K. Coleman; J.E. Neale PCT WO 95/28935; K. Coleman; J.E. Neale PCT WO 95/17184), en donde R_1 = hidrógeno o un grupo orgánico y R_4 y R_5 pueden ser tanto hidrógeno o uno o más sustituyentes que reemplacen átomos de hidrógeno en el siguiente sistema de anillo:

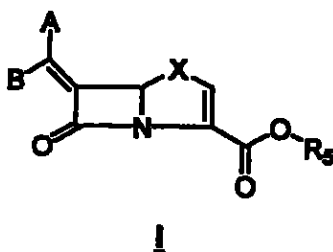


DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

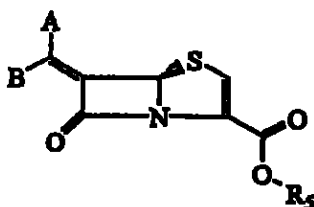
La presente invención se refiere a compuestos novedosos β -lactam de amplio espectro y peso molecular bajo, y en particular, a una clase de 6-alkiliden penems bicíclicos sustituidos por heteroarilo, que tienen propiedades inhibitorias y antibacterianas de β -lactamasa. Por lo tanto, los compuestos son útiles para el tratamiento de infecciones antibacterianas en seres humanos o en animales, bien sea solos o en combinación con otros antibióticos.

Según la presente invención, se proveen compuestos de la fórmula general I o una sal farmacéuticamente aceptable o éster R_5 hidrolizable *in vivo* de lo mismo

45



y compuestos preferidos de la fórmula:



en donde:

uno de A y B denota hidrógeno y el otro un grupo heteroarilo bicíclico fusionado sustituido opcionalmente. La expresión 'grupo heteroarilo bicíclico fusionado' se utiliza en la descripción y en las reivindicaciones para significar:

Un grupo que comprende dos anillos fusionados en el cual uno tiene carácter aromático [es decir, la regla Huckel ($4n+2$) y el otro anillo es no aromático.

El grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene uno a seis heteroátomos seleccionados del grupo O, S, N y N-R₁;

El grupo heteroarilo bicíclico fusionado está pegado al resto de la molécula mediante un átomo de carbono en el anillo aromático, tal como se muestra en la fórmula I;

El anillo aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene cinco o seis átomos de anillo (incluidos átomos de cabeza de puente) seleccionados de CR₂, N, O, S o N-R₁. El anillo aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene 0 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo O, S, N y N-R₁;

El anillo no aromático del grupo heteroarilo bicíclico fusionado contiene de cinco a ocho átomos de anillo (incluidos átomos de cabeza de puente) seleccionados de CR₄R₄, N, N-R₁, O S(O)_n, en donde $n=0-2$. El anillo no aromático del grupo heteroaril bicíclico fusionado contiene 0 a 4 heteroátomos seleccionados de N, N-R₁, O o S(O)_n, en donde $n=0$ a 2.

R₅ es H, un éster hidrolizable *in vivo* tal como alquil C1-C6, cicloalquil C5-C6, CHR₃OCOC1-C6 o sales tales como Na, K, Ca; preferiblemente R₅ es H o una sal.

43

R_1 es H, alquil-C1-C6 sustituido opcionalmente, -arilo sustituido opcionalmente, -heteroaril sustituido opcionalmente o heterocíclicos saturados mono o bicíclicos, cicloalquil -C3-C7 sustituido opcionalmente, alquenil-C3C6 sustituido opcionalmente, alquinil C3-C6 sustituido opcionalmente con la condición de que tanto el enlace doble como el enlace triple no deben estar presentes en el átomo de carbono que está enlazado directamente a N; per fluoroalquil-C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil o aril sustituido opcionalmente por $-S(O)_p$, donde p es 2, C=O heteroaril sustituido opcionalmente, C=O aril sustituido opcionalmente, C=O alquil (C1-C6) sustituido opcionalmente, -C=O cicloalquil (C3-C6) sustituido opcionalmente, -C=O heterociclos saturados mono o bicíclicos sustituidos opcionalmente, alquil aril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil heteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil C1-C6 aril sustituido opcionalmente, alquil-C1-C6 heteroaril sustituido opcionalmente, heterociclos saturados mono o bicíclicos alquil C1-C6 sustituidos opcionalmente, arilalquenil sustituido opcionalmente de 8 a 16 átomos de carbono, $-CONR_6R_7$, $-SO_2NR_6R_7$, alrilalquiloxialquil sustituido opcionalmente, -alquil-O-alquil-aril sustituido opcionalmente, -alquil-O-alquil-heteroaril sustituido opcionalmente, ariloxialquil sustituido opcionalmente, heteroariloxialquil sustituido opcionalmente, ariloxiaril sustituido opcionalmente, ariloxiheteroaril sustituido opcionalmente, alquil ariloxiaril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil ariloxiheteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil ariloxi alquilaminas sustituidas opcionalmente, alcóxicarbonil sustituido opcionalmente, ariloxi carbonil sustituido opcionalmente, heteroariloxi carbonil sustituido opcionalmente. Grupos R_1 preferidos son H, alquil sustituido opcionalmente, aril sustituido opcionalmente, -C=O alquil(C1-C6), alquenil C3-C6, alquinil C3-C6, cicloalquil sustituido opcionalmente, SO_2 alquil, SO_2 aril, heterociclos sustituidos opcionalmente, $-CONR_6R_7$ y heteroaril sustituido opcionalmente.

R_2 es hidrógeno, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, alquenil C2-C6 sustituido opcionalmente que tiene de 1 a 2 enlaces dobles, alquinil C2-C6 sustituido opcionalmente que tiene de 1 a 2 enlaces triples, ciano, $N-R_6R_7$, alcoxi C1-C6 sustituido opcionalmente, hidroxil; aril sustituido opcionalmente, heteroaril sustituido opcionalmente, $COOR_6$, alquil ariloxi alquilaminas sustituidas opcionalmente, ariloxi sustituido opcionalmente, heteroariloxi sustituido opcionalmente, alqueniloxi C3-C6 sustituido opcionalmente, alquiniloxi C3-C6 sustituido opcionalmente, alquilamino-C1-C6-alcoxi-C1-C6, alquilen dioxi, ariloxi alquil amina C1-C6 sustituida opcionalmente, perfluoro alquil C1-C6, $S(O)_q$ -alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, $S(O)_q$ -aril sustituido opcionalmente, donde q es 0, 1 ó 2, $CONR_6R_7$, guanidino o guanidino cíclico, alquilaril C1-C6 sustituido opcionalmente, arilalquil sustituido opcionalmente, alquilheteroaril C1-C6 sustituido

47

opcionalmente, heteroail-alquil-C1-C6 sustituido opcionalmente, heterociclos saturados mono o bicíclicos alquil C1-C6 sustituidos opcionalmente, arilalquenil de 8 a 16 átomos de carbono sustituido opcionalmente, $\text{SO}_2\text{NR}_6\text{R}_7$, arilalquioxialquil sustituido opcionalmente, ariloxialquil sustituido opcionalmente, heteroariloxialquil sustituido opcionalmente, ariloxiaril sustituido opcionalmente, heteroariloxialquil sustituido opcionalmente, ariloxiaril sustituido opcionalmente, ariloxiheteroaril sustituido opcionalmente, heteroariloxiaril sustituido opcionalmente, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, alquilariloxiheteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, ariloxialquil sustituido opcionalmente, heteroariloxialquil sustituido opcionalmente, alquilariloxialquilaminas sustituidas opcionalmente. Grupos R_2 preferidos son H, alquil sustituido opcionalmente, alcoxi sustituido opcionalmente, heteroaril sustituido opcionalmente, halógeno, CN, hidroxí, heterociclo sustituido opcionalmente, $-\text{CONR}_6\text{R}_7$, COOR_6 , aril sustituido opcionalmente, $\text{S}(\text{O})_q$ -alquil, y $\text{S}(\text{O})_q$ -aril.

R_3 es hidrógeno, alquil C1-C6, cicloalquil C5-C6, aril sustituido opcionalmente, heteroaril sustituido opcionalmente; grupos R_3 preferidos son H o alquil C1-C6.

R_4 es H, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, uno de R_4 es OH, alcoxi C1-C6, -S-alquil C1-C6, COOR_6 , $-\text{NR}_6\text{R}_7$, $-\text{CONR}_6\text{R}_7$; o R_4R_4 juntos pueden ser $=\text{O}$ o R_4R_4 junto con el carbono al que están enlazados pueden formar un sistema espiro de cinco a ocho miembros, con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados N, O, $\text{S}(\text{O})_n$, (donde $n=0$ a 2); $\text{N}-\text{R}_1$; grupos preferidos R_4 son H, alquil C1-C6, NR_6R_7 , o R_4R_4 junto con el carbono al que están enlazados pueden formar un sistema espiro de cinco a ocho miembros, con o sin la presencia de heteroátomos, ej: uno o dos de oxígeno, nitrógeno y sulfuro.

R_6 y R_7 son independientemente H, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, aril sustituido opcionalmente, heteroaril sustituido opcionalmente, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, arilalquil sustituido opcionalmente, heteroarilalquil sustituido opcionalmente, alquil heteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, R_6 y R_7 pueden estar juntos para formar un sistema de anillo saturado de 3 a 7 miembros, que tenga opcionalmente uno o dos heteroátomos tales como $\text{N}-\text{R}_1$, O, $\text{S}(\text{O})_n$, $n=0-2$. Grupos R_6 y R_7 preferidos son H, alquil C1-C6, arilalquil, heteroarilalquil o R_6 y R_7 juntos forman un sistema de anillo saturado de 3 a 7 miembros, opcionalmente con uno o dos heteroátomos.

69

Definiciones químicas

El término **alquil** significa medios de alquilo de cadena recta o ramificada de 1 a 12 carbonos, preferiblemente, de 1 a 6 átomos de carbono.

El término **alquenil** significa medios de alquenilo, tanto rectos como ramificados, de 2 a 8 átomos de carbono que tienen al menos un enlace doble y ningún enlace triple; preferiblemente, el medio de alquenilo tiene 1 o dos enlaces dobles. Estos medios de alquenilo pueden existir en las conformaciones E o Z; los compuestos de esta invención incluyen ambas conformaciones. En el caso de alquenilo, heteroátomos tales como O, S o N-R₁ no deben estar presentes en el carbono que está enlazado a un enlace doble.

El término **alquinilo** incluye medios de alquinilo de cadena recta y ramificada que contienen de 2 a 6 átomos de carbono y que contienen al menos un enlace triple, preferiblemente el medio de alquinilo tiene uno o dos enlaces triples. En el caso de alquinilo, heteroátomos tales como O, S o N-R₁ no deben estar presentes en el carbono que está enlazado a un enlace doble o triple.

El término **cicloalquil** se refiere a un grupo hidrocarburo alicíclico de 3 a 7 átomos de carbono. El término **perfluoroalquil** se utiliza en este contexto para referirse a grupos alifáticos de hidrocarburo saturados de cadena recta y ramificada que tienen al menos un átomo de carbono y dos átomos más de flúor. Ejemplos incluyen CF₃, CH₂CF₃, CF₂CF₃ y CH(CF₃). El término **halógeno** se define como Cl, Br, F e I.

Si alquil, alquenil, alquinil o cicloalquil es "sustituido opcionalmente", uno o dos de los siguientes son posibles sustituyentes: nitro, -aril, -heteroaril, alcóxicarbonil-, -alcoxi, -alcoxi-alquil, alquil-O-alquil-C₂-C₄-O-, -ciano, -halógeno, -hidroxi, -N-R₆R₇, -COOH, -COO-alquil, -trifluorometil, -trifluorometoxi, arilalquil, alquilaril, R₆R₇N-alquil-, HO-alquil-C₁-C₆, alcóxialquil-, alquil-S-, -SO₂N-R₆R₇, -SO₂NHR₆, -CO₂H, CONR₆R₇, aril-O-, heteroaril-O-, -S(O)_s-aril (donde s= 0-2), -alquil-O-alquil-NR₆R₇, -alquil-aril-O-alquilN-R₆R₇, alquil C₁-C₆, alquenil, alquinil, cicloalquil, alcoxi-alquil-O-, R₆R₇N-alquil-, y -S(O)_s-heteroaril (donde s= 0-2); sustituyentes preferidos para alquil, alquenil, alquinil y cicloalquil incluyen: halógeno, nitro, aril, heteroaril, -COOH, -COO-alquil, alcóxicarbonil-, alcoxi, -alcoxi-alquil, -ciano, hidroxi y -N-R₆R₇.

Arilo se define como un medio hidrocarburo aromático seleccionado del grupo: fenil, α-naftil, β-naftil, bifenil, antril, tetrahidronaftil, fluorenil, indanil, bifenilenil, acenaftenil. Grupos arilo preferidos son fenilo y bifenilo.

Heteroarilo se define como un sistema aromático de anillo heterocíclico (monocíclico o bicíclico), donde los medios heteroarilo son seleccionados del: (1) furano, tiofeno, indol, azaindol, oxazol, tiazol, isoxazol, isotiazol, imidazol, N-metilimidazol, piridina, pirimidina, pirazina, pirrol, N-metilpirrol, pirazol, N-metilpirazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,4-triazol, 1-metil-1,2,4-triazol, 1H-tetrazol, 1-metriltetrazol, benzoxazol, benzotiazol; benzofurano, bencisoxazol, bencimidazol, N-metilbencimidazol, azabenzimidazol, indazol, quinazolina, quinolina e isoquinolina; (2) un heterociclo aromático bicíclico, donde un anillo de fenilo, piridina, pirimidina o piridizina está: (a) fusionado a un anillo heterocíclico aromático (no saturado) de 6 miembros que tiene un átomo de nitrógeno; (b) fusionado a un anillo heterocíclico aromático (no saturado) de 5 ó 6 miembros que tiene dos átomos de carbono; (c) fusionado a un anillo heterocíclico aromático (no saturado) de 5 miembros que tiene un átomo de nitrógeno junto con un átomo de oxígeno o un átomo de sulfuro; o (d) fusionado a un anillo heterocíclico aromático (no saturado) de 5 miembros que tiene un heteroátomo seleccionado de O, N o S. Grupos heteroarilo preferidos son furano, oxazol, tiazol, isoxazol, isotiazol, imidazol, N-metilimidazol, piridina, pirimidina, pirazina, pirrol, N-metilpirrol, pirazol, N-metilpirazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,4-triazol, 1-metil-1,2,4-triazol, 1H-tetrazol, 1-metiltetrazol, quinolina, isoquinolina y naftiridina.

Si arilo o heteroarilo es 'sustituido opcionalmente', uno o dos de los siguientes son posibles sustituyentes: nitro, -aril, -heteroaril, alcoxicarbonil-, alcoxi, -alcoxi-alquil, alquil-Oalquil-C2-C4-O-, -ciano, -halógeno, -hidroxi, -N-R₆R₇, -trifluorometil, -trifluorometoxi, arilalquil, alquilaril, R₆R₇N-alquil-, HO-alquil-C1-C6, alcoxialquil-, alquil-S-, -SO₂N-R₆R₇, -SO₂NHR₆, -CO₂H, CONR₆R₇, aril-O-, heteroaril-O-, -S(O)_s-aril (donde s = 0-2), -alquil-O-alquil-NR₆R₇, -alquil-aril-O-alquilN-R₆R₇, alquil C1-C6, alquenil, alquinil cicloalquil, alcoxi-alquil-O-, R₆R₇N-alquil-, y -S(O)_s-heteroaril (donde s = 0-2); sustituyentes preferidos de arilo y heteroarilo incluyen: alquilo, halógeno, -N-R₆R₇, trifluorometil, -trifluorometoxi, arilalquil y alquilaril.

Arilalquil se define como Aril-alquil C1-C6; medios de arilalquil incluyen bencilo, 1-feniletil, 2-feniletil, 3-fenilpropil, 2-fenilpropil y similares. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a sustituido o insustituido con 1 ó 2 sustituyentes en el medio alquilo o arilo según se define arriba.

Alquilaril se define como alquil-C1-C6-aril. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a 1 ó 2 sustituyentes sustituidos o insustituidos en el medio arilo o alquilo según se define arriba.

Heteroaril-alquil-C1-C6 se define como un medio alquil sustituido con heteroaril, en donde la cadena alquilo es una cadena de 1-6 átomos de carbono (recta o ramificada). Los medios alquil heteroaril incluyen Heteroaril-(CH₂)₁₋₆ y similares. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a sustituido o insustituido con 1 ó 2 sustituyentes en el medio alquilo o heteroalquilo según se define arriba.

Alquilheteroaril C1-C6 se define como una cadena alquilo de 1-6 átomos de carbono (recta o ramificada) fija a un medio heteroarilo, el cual está enlazado al resto de la molécula. Ej: alquil-C1-C6-Heteroaril-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a sustituido o insustituido con 1 ó 2 sustituyentes en el medio alquilo o heteroarilo según se define arriba.

Grupos heterociclos saturados o parcialmente saturados se definen como anillos heterocíclicos seleccionados de los medios: aziridinil, acetidinil, 1,4-dioxanil, hexahidroacepinil, piperazinil, piperidinil, pirrolidinil, morfolinil, tioforfolinil, dihidrobencimidazolil, dihidrobenzofuranil, dihidrobenzotienil, dihidrobenzoxazolil, dihidrofuranil, dihidroimidazolil, dihidroindolil, dihidroisooxazolil, dihidroisotiazolil, dihidrooxadiazolil, dihidrooxazolil, dihidropirrazinil, dihidropirazolil, dihidropiridinil, dihidropirimidinil, dihidropirrolil, dihidroquinolinil, dihidrotetrazolil, dihidrotiadiazolil, dihidrotiazolil, dihidrotienil, dihidrotriazolil, dihidroacetidinil, dihidro-1,4-dioxanil, tetrahidrofuranil, tetrahidrotienil, tetrahidroquinolinil y tetrahidroisoquinolinil. Heterociclos preferidos saturados o parcialmente saturados son aziridinil, acetidinil, 1,4-dioxanil, hexahidroacepinil, piperazinil, piperidinil, pirrolidinil, morfolinil, tiomorfonilil, tetrahidroquinolinil, tetrahidroisoquinolinil, dihidroimidazolil y dihidroisooxazolil.

Heterociclos saturados mono o bíciclicos o parcialmente saturados de alquil C1-C6 se define como un grupo alquil (recto o ramificado) de C1-C6 fijo a un heterociclo (como se definió antes) a través de un átomo de carbono o a un átomo de nitrógeno y el otro extremo de la cadena alquilo fija al resto de la molécula. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a sustituido o insustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo heterocíclica de la molécula, según se define arriba.

Arilalquiloalquil se define como Aril-alquil C1-C6-O-alquil C1-C6. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en las porciones alquilo /o arilo según se define arriba.

Alquiloalquil se define como alquil C1-C6-O-alquil C1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo según se define arriba.

Ariloalquil se define como Aril-O-alquil C1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo o arilo según se define arriba.

Heteroarilalquiloalquil se define como Heteroaril-alquil C1-C6-alquil C1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo o heteroarilo según se define arriba.

Ariloxiaril se define como Aril-O-Aril-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio arilo según se define arriba.

Ariloxiheteroaril se define como Aril-O-Heteroaril- o -Aril-O-Heteroaril; en esta definición, el medio arilo o el medio heteroarilo pueden estar fijos a la porción restante de la molécula. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio arilo o en el medio heteroarilo según se define arriba.

Alquil ariloxiaril se define como Aril-O-Aril-alquil C1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio arilo según se define arriba.

Alquilariloxiheteroaril se define como Heteroaril-O-Aril-alquil C1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio arilo o en el medio heteroarilo según se define arriba.

Alquilariloalquilamina se define como R_6R_7N -cicloalquil C1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo o arilo según se define arriba. R_6 y R_7 son según se define arriba.

Alcoxycarbonil se define como alquil C1-C6-O-C=O. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en la porción alquilo del medio alcoxi según se define arriba.

Ariloxicarbonil se define como Aril-O-C=O . El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio arilo según se define arriba.

Heteroariloxi carbonil se define como Heteroaril-OC=O . El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio heteroarilo según se define arriba.

Alcoxi se define como alquil C1-C6-O- . El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo según se define arriba.

Ariloxi se define como Aril-O- . El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio arilo según se define arriba.

Heteroariloxi se define como Heteroaril-O- . El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio heteroarilo según se define arriba.

Alqueniloxi se define como alquen C3-C6-O- . Ejemplo: medios como alil-O- , but-2-eno-O- . El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alqueno según se define arriba, con la condición de que no haya ningún heteroátomo tal como O, S ó N-R_1 presente en el átomo de carbono, el cual está fijo a un enlace doble.

Alquililoxi se define como alquin C3-C6- . Ejemplo, medios como enlace triple $\text{CH C-CH}_2\text{-O-}$. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquino según se define arriba, con la condición de que no haya un heteroátomo tal como O, S o N-R_1 presente en un átomo de carbono el cual está fijo a un enlace doble o triple.

Alquilaminoalcoxi se define como $\text{R}_6\text{R}_7\text{N-alquil C1-C6-O-alquil-C1-C6-}$, donde el grupo alquilo terminal fijo al oxígeno está conectado el resto de la molécula. Los términos R_6 y R_7 son según se define arriba. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo según se define arriba.

Alquilendioxi se define como $\text{-O-CH}_2\text{-O-}$ ó $\text{-O-(CH}_2)_2\text{-O-}$.

Ariloxialquilamina se define como $\text{R}_6\text{R}_7\text{N-alquil C1-C6-O-Aril-}$, donde el arilo está fijo al resto de la molécula. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a

insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alquilo o arilo según se define arriba.

Arilalquenil se define como Aril-alquen-C2-C8-, con la condición de que no haya un heteroátomo tal como O, S o N-R₁ presente en átomo de carbono, el cual está fijo a un enlace doble. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio alqueno o arilo según se define arriba.

Heteroariloxialquil se define como Heteroaril-O-alquilC1-C6-. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio heteroarilo según se define arriba.

Heteroariloxiaril se define como Heteroaril-O-aril-, donde el medio arilo está fijo al resto de la molécula. El término 'sustituido opcionalmente' se refiere a insustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes presentes en el medio heteroarilo o al medio arilo según se define arriba.

Alcoxi, alcoxialquil, alcoxialquiloxi y alquiltioalquiloxi son medios en donde la cadena alquilo es de 1 a 6 átomos de carbono (recta o ramificada). Ariloxi, heteroariloxi, ariltio y heteroariltio son medios en donde los grupos arilo y heteroarilo son según se define arriba. Arilalquiloxi, heteroarilalquiloxi, arilalquiltio y heteroarilalquiltio son medios en donde los grupos arilo y heteroarilo son según se define arriba y en donde la cadena alquilo es de 1 a 6 carbonos (recta o ramificada).

Ariloxialquil, heteroariloxialquil, ariloxialquiloxi y heteroariloxialquiloxi son sustituyentes, en donde el radical alquilo es de 1-6 átomos de carbono. Los términos monoalquilamino y dialquilamino se refieren a moléculas con uno o dos grupos alquilo, en donde la cadena alquilo es de 1 a 6 carbonos y los grupos pueden ser los mismos o diferentes. Los términos monoalquilaminoalquil y dialquilaminoalquil se refieren a medios monoalquilamino y dialquilamino con uno o dos grupos alquilo (los mismos o diferentes) enlazados al átomo de nitrógeno que está fijo a un grupo alquilo de 1-3 átomos de carbono.

Ejemplos de grupos heteroaril bicclico fusionados son sistemas anulares sustituidos opcionalmente, tal como uno de lo siguiente:

4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin, sustituido opcionalmente por ej: por arilalquil tal como bencilo; por alcoxiarilalquil tal como 4-metoxibencil; por alquilC1-C6 tal como metil; por heteroarilalquil tal como piridin-3-ilmetil; por arilalquilCO- tal

como fenilacetilo; o heteroarilCO- tal como piridin-3-ilcarbonil; por ej: por alquilCO- tal como acetilo;

5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]pirazin, sustituido opcionalmente por ej: por alquilC1-C6 tal como metilo;

5,6-dihidro-8*H*-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina;

6,7-Dihidro-5*H*-pirrolo[1,2-a]imidazol;

5,6-Dihidro-8*H*-imidazol[2,1-c][1,4]oxazina;

5,6-Dihidro-4*H*-pirrolo[1,2-b][1,4]pirazol

4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridina

6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina, sustituido opcionalmente por ej: por alquilC1-C6 tal como metilo;

6,7-Dihidro-4*H*-pirazolo[5,1-c][1,4]tiazina;

4*H*-5-tia-1,6a-diazenpentalen;

7*H*-Imidazol[1,2-c]tiazol;

4-oxo-6,7-dihidro-4*H*-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazina;

6,7-Dihidro-4*H*-tieno[3,2-c]pirano;

6,7-Dihidro-4*H*-tieno[3,2-c]tiopirano;

6,7-dihidro-4*H*-tieno[3,2-c]piridina, sustituido opcionalmente por alcóxicarbonil C2-C7;

6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-imidazol[1,2-c]azepina;

5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]pirazina, sustituido opcionalmente por arilalquil tal como bencilo;

5,5-Dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5λ6-pirazolo[5,1-c][1,4]tiazina;

4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazina;

5,6-Dihidro-4*H*-ciclopenta[b]furano;

4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazaindeno;

5,6-Dihidro-8-*H*-imidazol[2,1-c][1,4]tiazina;

4*H*-5-tia-1,6a-diazapentalen;

2,3-Dihidropirazolo[5,1-b]tiazol;

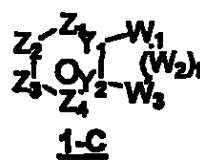
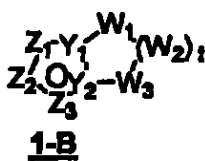
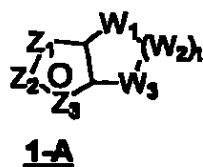
2,3-Dihidropirazolo[5,1-b]oxazol;

6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin;

6,7,5H-Dihidropirazolo[5,1-b]oxazin; y

4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazina sustituido opcionalmente, por ej: por alcoxilalquilCO- tal como 2-metoxiacetil; o por alquiloalquilCO- tal como metoxiacetil.

Otros ejemplos de grupos heteroaril bicíclicos son los siguientes:



En la fórmula 1-A, Z1, Z2 y Z3 son independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁ y uno de Z1-Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1. Cuando uno de Z es CR₂, los otros dos Z pueden ser N o un N y O, S, N-R₁ en cualquier combinación sin interrumpir la aromaticidad; cuando dos Z = CR₂, el otro Z puede seleccionarse opcionalmente de uno N, O, S o N-R₁ en cualquier combinación sin interrumpir la aromaticidad.

W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O, N-R₁, C=O; con la condición de que no puede ocurrir una formación de enlace S-S ó O-O para formar el sistema de anillo saturado; t=1 a 4.

En la fórmula 1-B Z1, Z2 y Z3 son independientemente CR₂, N, O S o N-R₁ y uno de Z1-Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1. Cuando uno de los Z es = CR₂, entonces los otros dos Z pueden ser independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁ en cualquier combinación in interrumpir la aromaticidad.

Cuando dos Z son = N, entonces el otro carbono en el anillo está enlazado a la porción penem de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.

W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O, N-R₁,

t = 1 a 4;

Y_1 y $Y_2 = N$ ó C ; con la condición de que cuando el heterociclo aromático es imidazol, el anillo saturado no puede contener un s adyacente al carbono de cabeza de puente.

En la fórmula 1-C, Z_1 , Z_2 , Z_3 y Z_4 son independientemente CR_2 o N y uno de Z_1 - Z_4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula.

W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO , SO , SO_2 , O , $N-R_1$, con la condición de que ninguna formación de enlace $S-S$ o $O-O$ puede ocurrir en el sistema de anillo saturado; $t = 1$ a 4 .

Y_1 y Y_2 son independientemente C ó N .

La realización más preferida de la fórmula 1-A:

1. $t = 1$ a 3 .
2. En la fórmula 1-A Z_1 es N , S , $N-R_1$ u O es uno de Z_2 o Z_3 es CR_2 y el otro Z_2 o Z_3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.
3. En la fórmula 1-A Z_3 es N , S , $N-R_1$ u O es uno de Z_2 o Z_1 es CR_2 y el otro de Z_2 o Z_1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.
4. En la fórmula 1-A Z_2 es N , S , $N-R_1$ u O es uno de Z_1 o Z_3 es CR_2 y el otro de Z_1 o Z_3 es carbono enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.
5. En la fórmula 1-A Z_1 es N , $N-R_1$ O o S y Z_2 es N , O o S y Z_3 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.
6. En la fórmula 1-A Z_3 es N , $N-R_1$ O o S y Z_2 es N , O o S y Z_1 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.
7. En la fórmula 1-A Z_1 es N , $N-R_1$ O o S y Z_3 es N , O o S y Z_2 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula tal como se muestra en la fórmula 1.
8. En la fórmula 1-A Z_1 es N , S , $N-R_1$ u O y Z_2 o Z_3 es CR_2 y el otro de Z_2 o Z_3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 .

57

9. En la fórmula 1-A Z3 es N, S, N-R₁ u O y Z2 o Z1 es CR₂ y el otro de Z2 o Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄.
10. En la fórmula 1-A Z2 es N, S, N-R₁ u O y uno de Z1 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄.
11. En la fórmula 1-A Z1 es N, N-R₁ O o S y Z2 es N, O o S; Z3 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄.
12. En la fórmula 1-A Z3 es N, N-R₁ O o S y Z2 es N, O o S; Z1 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄.
13. En la fórmula 1-A Z1 es N, N-R₁ O o S y Z3 es N, O o S; Z2 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄.
14. En la fórmula 1-A Z3 es N, N-R₁ O o S y Z1 es N, O o S; Z2 es un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄.
15. En la fórmula 1-A Z1 es N, S, N-R₁ u O; uno de Z2 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; t=1-3; un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n n= 0-2 y otro W₂ es CR₄R₄.
16. En la fórmula 1-A Z3 es N, S, N-R₁ u O; uno de Z2 o Z1 es CR₂ y el otro de Z2 o Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; t=1-3; un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n n= 0-2 y otro W₂ es CR₄R₄.
17. En la fórmula 1-A Z2 es N, S, N-R₁ u O; uno de Z1 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; t=1-3; un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n n= 0-2 y otro W₂ es CR₄R₄.
18. En la fórmula 1-A cuando Z1 = N, N-R₁ O o S y Z2 = N, O o S y Z3 = un carbono enlazado a la porción penem de la molécula, donde t=1-3 entonces un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n n= 0-2 y otro W₂ es CR₄R₄.
19. En la fórmula 1-A Z3 = N, N-R₁ O o S y Z2 = N, O o S y Z1 = un carbono enlazado a la porción penem de la molécula, donde t=1-3 entonces un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n n= 0-2 y otro W₂ es CR₄R₄.

58

20. En la fórmula 1-A cuando $Z1 = N, N-R_1, O$ o S y $Z3 = N, O$ o S y $Z2 =$ un carbono enlazado a la porción penem de la molécula, donde $t=1-3$ entonces un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
21. En la fórmula 1-A $Z1 = N, S, N-R_1$ u O y $Z2$ o $Z3 = CR_2$ y el otro de $Z2$ o $Z3$ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; entonces W_1 y $W_3 = CH_2$ o ambos hidrógenos en el enlace de metileno pueden sustituirse para formar un sistema espiro con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados de $O, S=(O)_n$ ($n=0$ a 2), $N-R_1$ para formar un sistema cíclico de 5 a 8 miembros; $t = 1-3$; un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
22. En la fórmula 1-A $Z3 = N, S, N-R_1$ u O y $Z2$ o $Z1 = CR_2$ y el otro de $Z2$ o $Z1$ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; entonces W_1 y $W_3 = CR_4R_4$; donde $t=1-3$, entonces un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
23. En la fórmula 1-A $Z2 = N, S, N-R_1$ u O y $Z1$ o $Z3 = CR_2$ y el otro de $Z1$ o $Z3$ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; entonces W_1 y $W_3 = CR_4R_4$; donde $t=1-3$, entonces un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
24. En la fórmula 1-A cuando $Z1 = N, N-R_1, O$ o S y $Z2 = N, O$ o S , entonces $Z3 =$ un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; entonces W_1 y $W_3 = CR_4R_4$; donde $t=1-3$, entonces un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
25. En la fórmula 1-A $Z3 = N, N-R_1, O$ o S y $Z2 = N, O$ o S , entonces $Z1 =$ un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; entonces W_1 y $W_3 = CR_4R_4$; donde $t=1-3$, entonces un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
26. En la fórmula 1-A cuando $Z1 = N, N-R_1, O$ o S y $Z3 = N, O$ o S , entonces $Z2 =$ un carbono enlazado a la porción penem de la molécula; entonces W_1 y $W_3 = CR_4R_4$; donde $t=1-3$, un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .
27. En la fórmula 1-A $Z3 = N, N-R_1, O$ o S ; $Z1$ es N, O o S ; $Z2$ es un carbono enlazado al resto de la molécula; W_1 y W_3 son independientemente CR_4R_4 ; $t=1-3$, entonces un W_2 es $N-R_1, O$ o $S(O)_n$ $n=0-2$ y otro W_2 es CR_4R_4 .

Realizaciones más preferidas de la fórmula 1-B:

28. En la fórmula 1-B $t=3$.

29. En la fórmula 1-B Z1 y Z3 son N; Y1 es N; Y2 es C y Z2 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
30. En la fórmula 1-B Z2 y Z3 son N; Y1 es N; Y2 es C y Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
31. En la fórmula 1-B Z1 es N, Y2 es C, uno de Z2 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z3 es un carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
32. En la fórmula 1-B Z1 es N, Y1 es N, uno de Z2 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z3 es un carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
33. En la fórmula 1-B Z1 es N, Y2 es C, uno de Z2 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z3 es un carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I. W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; t=1-3; un W₂ es N-R₁, O, S=(O)_n (n=0-2), y otro W₂ es CR₄R₄.
34. En la fórmula 1-B Z1 es N, Y1 es C, Y2 es N, uno de Z2 o Z3 es CR₂ y el otro de Z2 o Z3 es un carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I. W₁ y W₂ son independientemente CR₄R₄; t=1-3; un W₂ es N-R₁, O, S=(O)_n (n=0-2), y otro W₂ es CR₄R₄.
35. En la fórmula 1-B Z3 es N, Y1 es C, uno de Z1 o Z2 es CR₂ y el otro de Z1 o Z2 es un carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
36. En la fórmula 1-B Z2 es N, Y2 es C, uno de Z1 o Z3 es CR₂ y el otro de Z1 o Z3 es un carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
37. En la fórmula 1-B Z1 y Z2 son N; Y1 es N; Y2 es C; y Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
38. En la fórmula 1-B Z1, Z2 y Z3 son independientemente CR₂; Y1 es C; Y2 es N; salvo que uno de Z1-Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I.
39. En la fórmula 1-B Z1 y Z3 son N; Y1 es N; Y2 es C; y Z2 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I; t = 1-3.
40. En la fórmula 1-B Z2 y Z3 son N; Y1 es N; Y2 es C; y Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I; t = 1-3.
41. En la fórmula 1-B Z2 y Z3 son N; Y1 es C y Y2 = N y Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula tal como se muestra en la fórmula I; t = 1-3.

- 60
42. En la fórmula 1-B Z2 y Z3 son N; Y1 es N; Y2 es C; y Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CH₂ o ambos hidrógenos en el enlace de metileno pueden sustituirse para formar un sistema espiro con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados de O, S(O)_n n= 0-2, N-R₁ para formar un sistema cíclico de 5 a 8 miembros; t = 1-3 y W₂ es CH₂, N-R₁, O, S(O)_n, donde n = 0-2.
 43. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; Z1 es CR₂ y Z2 es el átomo de carbono enlazado al resto de la molécula.
 44. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; y Z1 es CR₂; Z2 es el átomo de carbono enlazado al resto de la molécula; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄; t= 1-3.
 45. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; Z1 es CR₂; Z2 es el átomo de carbono enlazado al resto de la molécula; W₁, y W₃ son independientemente CR₄R₄; y un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n, y otro W₂ es CR₄R₄; t= 1-3.
 46. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; Z1 es CR₂; Z2 es el átomo de carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₂ son independientemente CR₄R₄; W₃ es N-R₁, O o S(O)_n; y t=2.
 47. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; Z1 es CR₂; Z2 es el átomo de carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; W₂ es N-R₁, O o S(O)_n; y t=1.
 48. En la fórmula 1-B Z2 es N; Y1 es N; Y2 es C Z3 es CR₂; Z1 es el carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₂ son CH₂ o ambos hidrógenos en el enlace de metileno pueden sustituirse para formar un sistema espiro con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados de O, S(O)_n n= 0-2, N-R₁ para formar un sistema cíclico de 5 a 8 miembros; W₃ es CH₂, N-R₁, O, S(O)_n; y t= 3.
 49. En la fórmula 1-B Z2 es N; Y1 es N; Y2 es C, Z3 es CR₂; Z1 es el carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CH₂ o ambos hidrógenos en el enlace de metileno pueden sustituirse para formar un sistema espiro con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados de O, S(O)_n n= 0-2, N-R₁ para formar un sistema cíclico de 5 a 8 miembros; y un W₂ es N-R₁, O, o S(O)_n; y otro W₂ es CR₄R₄; y t= 3.
 50. En la fórmula 1-B Z2 es N; Y1 es N; Y2 es C; Z3 es CR₂; Z1 es el carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CH₂ o ambos hidrógenos en el enlace de metileno pueden sustituirse para formar un sistema espiro con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados de

O, $S(O)_n$ $n=0-2$, N-R₁ para formar un sistema cíclico de 5 a 8 miembros; W₂ es N-R₁, O, $S(O)_n$; y $t=1$.

51. En la fórmula 1-B Z₂ es N; Y₁ es N; Y₂ es C; Z₁ es el carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; uno de W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$ y otro W₂ es CR₄R₄; y $t=3$.
52. En la fórmula 1-B Z₂ es N; Y₁ es N; Y₂ es C; Z₁ es CR₂; Z₃ es el carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; un W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$ y otro W₂ es CR₄R₄; y $t=2$.
53. En la fórmula 1-B Z₂ es N; Y₁ es N; Y₂ es C; Z₁ es CR₂; Z₃ es el carbono enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$; y $t=2$.
54. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₂ son N; Y₁ es N; Y₂ es C; Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; uno de W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$, y otro W₂ es CR₄R₄; y $t=3$.
55. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₂ son N; Y₁ es N; Y₂ es C; Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; uno de W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$, y otro W₂ es CR₄R₄; y $t=2$.
56. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₂ son N; Y₁ es N; Y₂ es C; Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; W₂ es N-R₁, y $t=1$.
57. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₂ son independientemente CR₂; Y₁ es C; Y₂ es N; Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; uno de W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$, otro W₂ es CR₄R₄; y $t=3$.
58. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₂ son independientemente CR₂; Y₁ es C; Y₂ es N y Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; uno de W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$, y otro W₂ es CR₄R₄; y $t=2$.
59. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₂ son independientemente CR₂; Y₁ es C; Y₂ es N; Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$, y $t=1$.
60. En la fórmula 1-B Z₁ y Z₃ son independientemente CR₂; Y₁ es C; Y₂ es N; Z₃ es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; un W₂ es N-R₁, O o $S(O)_n$, otro W₂ es CR₄R₄; y $t=3$.

61. En la fórmula 1-B Z1 y Z3 son independientemente CR₂; Y1 es C; Y2 es N; Z2 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; y un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n y el otro W₂ es CR₄R₄; y t= 2.
62. En la fórmula 1-B Z1 y Z3 son independientemente CR₂; Y1 es C; Y2 es N; Z2 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; W₂ es N-R₁, O o S(O)_n, y t= 1.
63. En la fórmula 1-B Z3 y Z2 son independientemente CR₂; Y1 es C; Y2 es N; Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₂ son independientemente CR₄R₄; un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n, otro W₂ es CR₄R₄; y t= 3.
64. En la fórmula 1-B Z3 y Z2 son independientemente CR₂; Y1 es C; Y2 es N; Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; un W₂ es N-R₁, O o S(O)_n, el otro W₂ es CR₄R₄; y t= 2.
65. En la fórmula 1-B Z3 y Z2 son independientemente CR₂; Y1 es C; Y2 es N; Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; W₁ y W₃ son independientemente CR₄R₄; W₂ es N-R₁, O o S(O)_n, y t= 1.
66. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; uno de Z1 y Z2 es CR₂ y el otro es C; W₁ es CR₄R₄; W₂ es CR₄R₄; W₃ es CH₂, N-R₁, u O; y t = 1.
67. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; uno de Z1 y Z2 es CR₂ y el otro es C; W₁ es CR₄R₄; W₂ es C=O; W₃ es N-R₁; y t = 1.
68. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; uno de Z1 y Z2 es CR₂ y el otro es C; W₁ es N-R₁; W₂ es C=O; W₃ es CR₄R₄; y t = 1.
69. En la fórmula 1-B Z3 es N; Y1 es N; Y2 es C; uno de Z1 y Z2 es CR₂ y el otro es C; W₁ es C=O; W₂ es N-R₁; W₃ es CH₂, y t = 1.

Las realizaciones más preferidas de la fórmula 1-C son:

70. En la fórmula 1-C Z1, Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; t=1 a 3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
71. En la fórmula 1-C Z1, Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; y uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C ó N; ; t=1 a 3; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.

72. En la fórmula 1-C Z1, Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; Y₁ y Y₂ son N; t = 1-3; W₁, y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
73. En la fórmula 1-C Z1 es N y Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; Y₁ y Y₂ son N; t = 1-3; W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
74. En la fórmula 1-C Z1 es N y Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es C; Y₂ es N; t=1-3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
75. En la fórmula 1-C Z2 es N y Z1, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; t=1-3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
76. En la fórmula 1-C Z2 es N y Z1, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es C; Y₂ es N; t=1-1; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
77. En la fórmula 1-C Z3 es N y Z1, Z2 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; t=1-3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
78. En la fórmula 1-C Z3 es N y Z1, Z2 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es C; Y₂ es N; t=1-3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
79. En la fórmula 1-C Z4 es N y Z1, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; t=1-3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
80. En la fórmula 1-C Z4 es N y Z1, Z2 y Z3 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es N; Y₂ es C; t=1-3; y W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
81. En la fórmula 1-C Z1 es N y Z2, Z3 y Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C;

- $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
82. En la fórmula 1-C Z1 y Z2 son N y Z3 o Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es C; Y₂ es N; $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
83. En la fórmula 1-C Z1 y Z3 son N y Z2 o Z4 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es C; Y₂ es N; $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
84. En la fórmula 1-C Z1 y Z4 son N y Z2 o Z3 son independientemente CR₂; uno de Z1-Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es N; Y₂ es C; $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
85. En la fórmula 1-C Z1, Z2 y Z3 son N y Z4 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ es C; Y₂ es N; $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
86. En la fórmula 1-C Z1, Z3 y Z4 son N y Z2 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
87. En la fórmula 1-C Z1, Z2 y Z4 son N y Z3 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; y $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.
88. En la fórmula 1-C Z2, Z3 y Z4 son N y Z1 es carbono y está enlazado al resto de la molécula; Y₁ y Y₂ son C; y $t=1-3$; y W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , SO, SO, SO₂, O o N-R₁.

Los compuestos más preferidos de la presente invención son:

1. (5R,6Z)-6-[(5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il)mutilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]Hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
2. Sal sódica (5R),(6Z)-6-(7-Metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]Hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
3. Sal sódica (5R),(6Z)-7-Oxo-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-ilmetilen)-4-tia-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

4. Sal sódica (5*R*,6*Z*)-6-[[5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-*c*]piridin-2-il)]mutilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico.
5. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(5,6-dihidro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]tiazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
6. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(6,7-Dihidro-5*H*-pirrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
7. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(5,6-Dihidro-8*H*-imidazo[2,1-*c*]oxazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
8. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-Dihidro-4-*H*-pirrolo[1,2-*b*]pirazol-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
9. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1.5-*a*]piridin-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
10. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(7-Metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-*a*]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
11. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(6,7-Dihidro-4*H*-pirazolo[5.1-*c*][1,4]tiazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
12. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7-Oxo-6-(4*H*-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
13. Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7*H*-Imidazo[1,2-*c*]tiazol-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
14. Sal sódica (5*R*,6*Z*)-7-Oxo-6-[(4-oxo-6,7-dihidro-4*H*-pirazolo[5.1-*c*][1,4]oxazin-2-il)mutilen]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
15. 6-(6,7-Dihidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]piran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
16. 6-(6,7-Dihidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]tiopiran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
17. 6-(5-Metil-4,5,6,7-tetrahidro-tieno[3,2-*c*]piridin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
18. 2-(2-Carboxi-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-ilidenmetil)-6,7-dihidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]piridin-5-ácido carboxílico etil éster.

19. 7-Oxo-6-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-imidazo[1,2-a]azepin-2-ilmetilen)-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
20. (5R),(6Z)-6-(7-Bencil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
21. (5R,6Z)-7-oxo-6-[[5-piridin-3-ilmetil]-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il]mutilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
22. (5R,6Z)-7-oxo-6-[[5-(piridin-3-ilcarbonil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il]mutilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.
23. (5R,6Z)-7-oxo-6-[[5-fenilacetil]-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3.2.0]piridin-2-il]mutilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Los compuestos según la invención tienen propiedades inibidoras y antibacteriales de β -lactamasa y son útiles para el tratamiento de infecciones en seres humanos y animales. Debe observarse que los compuestos de la presente invención, cuando se usan en combinación con antibióticos β -lactam resultarán en la actividad antibacteriana (efecto sinérgico) contra organismos productores de clase A y de clase C. Los antibióticos de β -Lactam incluyen antibióticos de penicilina tales como piperacilina, amoxicilina, ticarcilina, bencilpenicilinas, ampicilina, sulbenicilina, otras penicilinas conocidas y cefalosporinas tales como cefatrizina, cefaloridina, cefalotina, cefazolina, cefalexina, cefradina, otras cefalosporinas conocidas, aztreonam y latamoxef (Moxalactam). Más preferiblemente, los compuestos de la presente invención se usan con piperacilina o amoxicilina que tiene un espectro amplio de actividad contra patógenos Gram positivo y Gram negativo.

Los compuestos de la presente invención pueden proveerse antes, simultáneamente o después de un antibiótico β -lactam (co-administración). Por "proveerse" se entiende que incluye administrar el compuesto directamente o *in vivo*, por ej: pro-fármacos. Cuando los compuestos de la presente invención son co-administrados con un antibiótico β -lactam, la relación de la cantidad del compuesto con la cantidad del antibiótico β -lactam puede variar ampliamente. La relación de antibiótico β -lactam a inhibidor de β -lactamasa puede variar entre 1:1 y 100:1. Preferiblemente, la relación del antibiótico β -lactam al inhibidor de β -lactamasa es menos de 10:1. La composición de la presente invención puede ser en forma indicada para administración oral (PO), intravenosa (IV) o tópica. Las composiciones de la invención pueden ser en forma de tabletas, cápsulas, cremas, jarabes, suspensión, soluciones estériles indicadas para inyección o infusión. Preferiblemente, los compuestos de la presente invención son co-

6X

administrados con piperacilina por vía intravenosa o amoxicilina por vía intravenosa u oral.

Una fórmula estructural del compuesto incluye cualquier tautómero, cualquier estereoisómero (salvo cuando la estereoquímica se observe claramente) y cualquier forma cristalina.

Determinación IC₅₀ para el Inhibidor Penem

Se determinó la actividad inhibidora de β -lactamasa de los inhibidores penem se espectrofotométricamente, tal como lo describen Bush y otros [Bush, K. Macalintal, C; Rasmussen, B.A. Lee, V y Yang Y. *Antimicrobial Agent and Chemotherpay* 1993, 37, 851]. En el estudio se emplearon β -lactamasas clase A homogéneamente purificadas TEM-1- de *E.coli* a Imi-1- *Enterobacter cloacae*, enzima clase B CcrA de *Bacteroides fragilis* y enzima clase C AmpC de *Enterobacter cloaca*. Las concentraciones de enzima de TEM-1, Imi-1- CcrA y AmpC fueron 4,3, 7,1, 1,2 y 2,1 nM, respectivamente. Se preparó un amplio rango de concentraciones del inhibidor en 50 mM PO₄, pH 7,0 para incluir los valores IC₅₀ posibles. El substrato que se utilizó para iniciar la reacción de la enzima fue nitrocefín a 50 μ g/ml en el mismo tamponador que el inhibidor. Inicialmente, la enzima y el inhibidor (20 μ l da cada uno) se preincubaron durante 10 minutos a 25°C antes de agregar 160 μ l volumen de nitrocefín. Se monitorearon las tasas iniciales de hidrólisis durante 5 minutos a 495 nm utilizando dispositivos moleculares Spectra Max 250 con protocolo cinético de SoftMax Program. Las lecturas del Spectra Max 250 se exportaron y se pasaron a Microsoft Excel. El porcentaje de inhibición de cada concentración de inhibidor se calculó con base en la actividad de la enzima de control La concentración de inhibidor que causó una reducción de 50% en la actividad enzimática (IC₅₀) se determinó gráficamente.

69

Tabla 1

	IC50 (nM)			
	Clase A		Clase B	Clase C
	TEM-1	Imi	Ccr	AmpC
Ejemplo 1	4,2	2,1	260	12
Ejemplo 2	4,4	22	120	5,8
Ejemplo 3	5,4	28	320	6,2
Ejemplo 7	0,4	7,8	66	4,8
Ejemplo 8	1,2	50	14	1,5
Ejemplo 9	2,2	90	62	3,2
Ejemplo 10	10	65	140	3,0
Ejemplo 11	1,0	18	61	1,2
Ejemplo 12	1,4	56	110	1,5
Ejemplo 13	2,9	16	160	3,1
Ejemplo 14	2,5	68	26	3,8
Ejemplo 15	1,2	8,6	14	3,8
Ejemplo 16	3,1	25	12	4,2
Ejemplo 17	12	24	28	26
Ejemplo 18	2,8	50	120	9,2
Ejemplo 19	4,8	1700	170	4,6
Ejemplo 20	1,4	9,6	18	3,1
Ejemplo 21	9,8	40	280	18
Ejemplo 22	6,1	42	110	11
Ejemplo 23	4,6	40	140	7,8
Ejemplo 24	1,1	56	4	1,5
Ejemplo 25	1,1	123	162	2,7
Ejemplo 26	0,73	54	89	2,3
Ejemplo 27	2	5,5	73	2
Ejemplo 28	ND	ND	ND	ND
Ejemplo 29	ND	ND	ND	ND
Ejemplo 30	2,9	2300	7,8	2,5
Ejemplo 31	1,4	56	110	1,5
Ejemplo 32	ND	ND	ND	ND
Ejemplo 33	1,1	59	41	0,85
Ejemplo 34	4,2	34	99	6,5
Ejemplo 35	4,2	230	30	6,1
Ejemplo 36	6,3	413	140	4,5
ND= No se determinó				

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana. Las actividades *in vitro* de los antibióticos se determinaron por el método de dilución de microcaldo según recomendación del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). (NCCLS. 2000. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standards: M7-A5*, Vol 19, *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Vilanova, PA). Mueller-Hinton II broth (MHBII)(BBL Cockeysville, MD), se utilizaron para el procedimiento de prueba. Placas de microtítulo que contenían 50 µl por receptáculo de diluciones seriales dobles de piperacilina combinadas con una cantidad constante (4µg/ml) de un inhibidor de β-lactamasa se inocularon con 50 µl de inóculo para rendir la densidad

apropiada (10^5 CFU/ml) en 100 • de volumen final. Las placas se incubaron durante 18 a 22 horas a 35°C en aire ambiente. La concentración inhibidora mínima (MIC) para todos los aislados se definió como la concentración más baja de agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento del organismo detectado por el ojo sin ayuda. La Tabla 2 presente una lista de los datos MIC obtenidos por el procedimiento anterior.

TABLA 2
Datos de concentración inhibidora mínima (µg/ml) Inc 35 C durante 18 horas

Ejempl 1	E Coli GC2844	E Coli GC2847 (TEM 1)	E Coli GC2920 (IRT 2)	E Coli GC2894 (AmpC)	E Cloacae GC1477 (AmpC)	P aeruginos GC1764 (AmpC)	S Marcescens GC1781 Sme-1+AmpC	E Coli GC22033	S aureus GC2216
1	2	2	2	16	32	32	0 5	1	0,12
2	2	16	2	2	>64	8	1	1	0 25
3	2	2	1	2	64	16	1	2	0 5
4	2	8	2	2	64	32	2	2	0,50
7	2	2	4	2	16	1	1	1	<0 06
8	2	2	2	2	8	0 25	2	2	<0 06
9	1	2	1	2	16	4	1	2	<0 06
10	1	32	1	16	>64	4	1	1	<0,06
11	2	4	2	2	32	2	1	1	<0 06
12	2	4	2	2	32	1	1	1	<0 06
13	0 5	1	2	0 5	16	1	0 5	2	<0,06
14	1	32	0 50	64	>64	64	16	2	1
15	2	16	2	8	32	8	2	2	<0,06
16	2	16	1	4	32	16	2	1	0,12
17	2	8	2	4	32	4	1	2	0 25
18	2	16	2	32	>64	64	2	2	0 50
19	2	8	2	8	>64	64	4	2	0 5
20	2	32	2	32	>64	64	2	2	<0 06
21	2	32	2	32	>64	64	2	1	0 25
22	2	>64	2	64	>64	64	4	2	0 5
23	2	64	2	32	>64	64	4	2	0 5
24	2	4	2	4	64	2	1	2	ND
25	2	4	2	2	32	0,5	2	2	ND
26	2	8	2	16	32	8	2	4	ND

27	2	4	2	16	32	16	2	2	ND
28	2	4	2	4	16	2	2	2	ND
29	2	8	2	8	32	8	2	2	ND
30	2	8	1	2	16	8	8	2	0,06
31	2	4	2	2	32	1	0 5	1	0 5
32	2	2	2	2	16	2	1	2	ND
33	2	4	4	2	16	0 5	1	4	0,06
34	4	32	4	32	>64	32	2	2	ND
35	2	4	2	2	64	1	8	2	0 25
36	2	4	2	2	16	1	1	4	0 06
ND=no se determinó									

Protección antibacteriana In Vivo

MATERIALES:

ANIMALES:

Se recibieron de Charles River laboratorios cepas de ratones hembras de aproximadamente 18-22 gramos y se pusieron en cuarentena 7 días antes de usarlas. Además, los ratones pueden hacerse neutropénicos usando citoxano.

INFECCIONES:

En el experimento se utilizaron aislados clínicos que habían sido adaptados para causar infección en ratones, incluidas infecciones con cepas de *E. Coli*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *C. freundii*, estafilococo, estreptococo, *P.aeruginosa* y *N. gonorrhoeae*.

PREPARACIÓN:

Los animales fueron alojados en una jaula con acceso libre a alimento y agua, de acuerdo con las pautas NIH.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL:

Se retan los ratones inyectándoles 0,5 ml por vía intraperitoneal o 0,05 por vía intranasal de un inóculo bacteriano predeterminado suspendido en caldo, salina o mucina gástrica de cerdo (suplementado con hemoglobina bovina seca para *N. gonorrhoeae*). El inóculo bacteriano es equivalente a 10-100 LD50 de la cepa infecciosa específica y resultará en la muerte de los animales de control no tratados dentro de 7 días: "*Bacterial Virulence in Mice*". Dosis antibacterianas (concentración de dosis preparada por diluciones seriales dobles del antibiótico) se disuelven o suspenden en agar acuoso o metocel al 0,2%, salina tamponadora de fosfato o un adyuvante son administrados por vía oral subcutánea o intravenosa de la siguiente forma:

a) Vía oral o subcutánea: volumen de dosis de 0,5 ml administrado ½ hora después de la infección. Se puede administrar una segunda dosis 3 horas después de la infección para el tratamiento de infecciones con organismos más virulentos.

b) Vía intravenosa: volumen de dosis de 0,2 ml, administrado ½ hora después de la infección. Para el tratamiento de infecciones con organismos más

virulentos, se pueden administrar más dosis, hasta 48 horas. la dosificación intravenosa no podrá exceder de 3 dosis por periodo de 24 horas).

c) Tratamiento oral; Bajo circunstancias especiales, el pH del estómago debe ajustarse con el fin de aumentar la estabilidad gástrica del antibiótico. Con este propósito, 0,5 ml de salina tamponada en fosfato (pH 7,8, 0,06M) (o un adyuvante específico aprobado) se administra oralmente ½ hora después de la infección, seguido 5 minutos después por 0,5ml del antibiótico (también oralmente) contenido en la salina tamponada de fosfato (pH 7,8, 0,06M).

ESPECIES ANIMALES

La siguiente es una explicación detallada en cuanto al número de animales necesarios para la determinación de la eficacia *in vivo*:

- A) Se prueban antibióticos novedosos en 5 niveles de dosis diferentes con 5 ratones por nivel de dosis en cada una de las tres rutas de administración (oral, subcutánea e intravenosa). Inicialmente, las tres rutas de administración deben investigarse con el fin de determinar si el fármaco es absorbido oralmente y/o cuál es la ruta más efectiva. Esto requeriría 25 ratones / ruta con 3 rutas / antibiótico o 75 ratones por compuesto novedoso probado. Se probará uno de dos antibióticos novedosos por experimento (675-150 ratones).
- B) La eficiencia del nuevo compuesto debe compararse con la de un estándar o antibiótico de efectividad conocida. Antibióticos conocidos o probados previamente se prueban a niveles de 5 dosis con 5 ratones por nivel de dosis por una sola vía de administración, para un total de 25 ratones / antibiótico. Normalmente se probarán 3-6 antibióticos por experimento (75-150⁴ ratones).
- C) Controles no tratados – En cada una de las anteriores pruebas, los animales no tratados son infectados con 3 concentraciones diferentes de inóculo bacteriano con 10 ratones por concentración (30 ratones en total en cada una de las pruebas). Estos controles no tratados se usan para determinar y mantener el nivel de infección entre 10-100 LD50 tal como se requiere para comparación prueba a prueba y validez.

DETERMINACIÓN DE EFECTOS PROTECTORES DE LOS AGENTES ANTIBACTERIANOS.

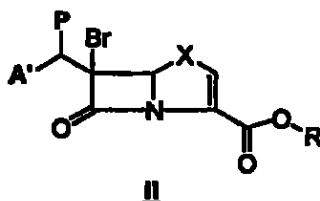
Los efectos protectores de los agentes antibacterianos se miden por la supervivencia de los animales infectados no tratados en comparación con los animales tratados. Para esta determinación, los animales se observan durante 7 días luego del tratamiento. Se toma un censo de los supervivientes dos veces al día y se retiran los animales muertos y moribundos. Se agrupa la relación de supervivencia de 7 días de estas tres pruebas separadas para estimar la dosis media efectiva (ED50) en programa computarizado para análisis probit (Cleeland, R y E. Squires. 1991. *"Evaluation of New Antimicrobials in Vitro and in Experimental Animal Infections. In Antibiotics in Laboratory Medicine"* 3 edi. Editada por Victor Lorian. Williams and Wilkins Baltimore, Maryland, pags. 752-783). La prueba se hace tres veces en días separados para proveer un número estadísticamente válido de animales y para minimizar la variación en los resultados de la prueba sobre una base día-a-día y prueba-a-prueba.

TABLA 3

Ejemplo	ED50 mg/kg	Relación de piperacilina vr. inhibidor
1	32-64	2:1
2	>64	2:1
3	16-32	4:1
4	32-64	4:1
7	22,8	4:1
8	18,9	4:1
9	31,3	4:1
10		
11	13,9	4:1
12	20,0	4:1
13	18,0	
14		
15		
16		
17	37,9	4:1
18		
19	59,2	4:1
20		
21		
22	128	4:1
23	128	4:1
24	64	
25	30	
26	30	
27	28	
28	31	
29	46	
30	ND	
31	20	
32	46	
33	>64	
34	32	
35	19	
36	90	

PROCESO DE LA INVENCION

Esta invención también provee un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I que comprende someter a eliminación reductiva un compuesto de la fórmula II:



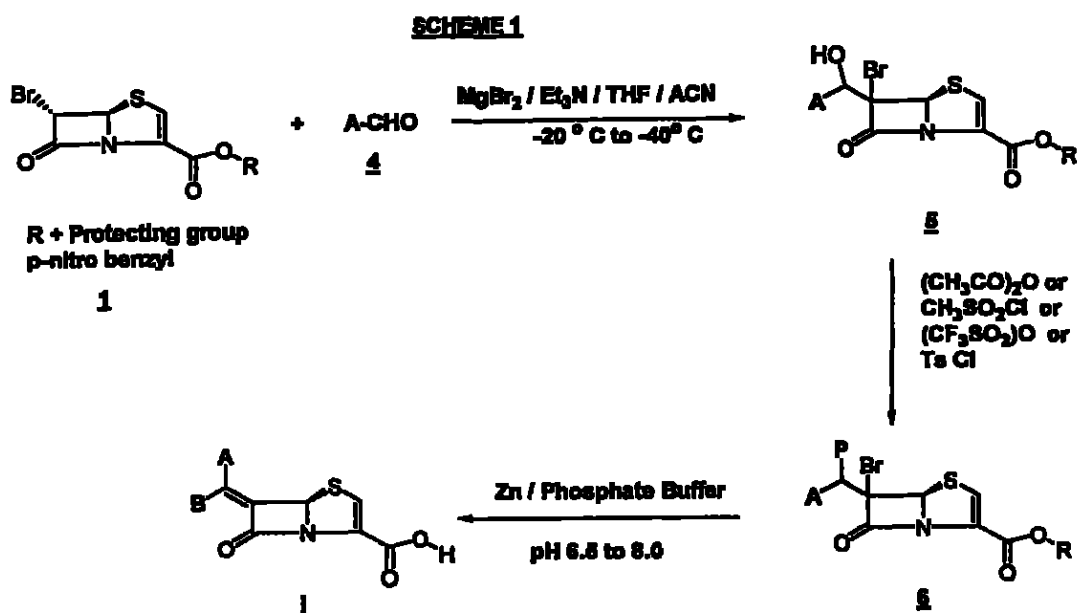
en donde A' es A o B según se define arriba, X es O o S, P es un grupo saliente de éster, por ej; acetato, mesilato, triflato o tosilato, y R es un grupo protector, seguido, si fuere necesario, por la remoción del grupo protector, para dar un compuesto de la fórmula I, en donde R₅ es hidrógeno; y si se desea convertir a una sal farmacéuticamente aceptable o a un éster, en donde R₅ es alquil C1-C6, cicloalquil C5-C6 o CHR₃OCOalquilC1-C6.

De manera conveniente, los compuestos de la fórmula general I pueden prepararse de un modo novedoso, moderado y fácil, condensando un aldehído 4 sustituido adecuadamente con un derivado de 6-bromo-penem de la estructura 1. (Esquema 1) en la presencia de MgBr₂ anhidro o MgBr₂ eterato y una base tal como trietilamina o DBU o DMPAP, preferiblemente entre -20°C y -40°C. El producto aldol intermedio 5 puede funcionalizarse con cloruros ácidos o anhídridos a un acetato, triflato o un tosilato 6. El Compuesto 6 puede convertirse uniformemente al producto deseado mediante un proceso de eliminación reductiva, utilizando un metal tal como cinc activado y tamponador de fosfato entre 20°C y 35°C a un pH entre 6,5 y 8,0. Si el grupo protector en el oxígeno carboxilato es un sustituyente *para*-nitrobencil, entonces la eliminación reductiva y la desprotección pueden hacerse en un solo paso. Sin embargo, si el grupo protector es diferente de un sustituyente *para*-nitrobencil, se puede seguir un procedimiento de dos pasos dependiendo de la naturaleza del grupo protector. El producto puede aislarse como un ácido libre o como una sal de metal alcali. El anterior procedimiento de dos pasos puede hacerse en un paso haciendo todo el proceso sin aislar el intermedio 6. Este es un procedimiento muy general, relativamente sencillo y eficiente en términos de rendimiento y factibilidad económica. Este procedimiento puede adoptarse a síntesis de grande escala y es

flexible para una variedad de aldehídos. Alternativamente, el compuesto 6 puede hidrogenarse a una presión de 40 psi en presencia de Pd/C (10%) en THF y 6,5 tamponador de fosfato para rendir el producto final.

La reacción de condensación de aldol arriba mencionada es muy versátil y puede aplicarse a cualquier derivado de bromopenem, donde el grupo carboxi es protegido diferente de un medio 4-nitrobenzilo. Ejemplos de otros grupos protectores incluyen bencilo, derivado de para-metoxi bencil, derivados de bencihidrol, trítulo, alquilo y alilo. Sin embargo, cuando el grupo protector es diferente de un grupo 4-nitrobenzilo, se requiere un paso separado de desprotección luego del procedimiento de eliminación reductiva. La química que involucra el paso de desprotección es bien conocida por las personas versadas en la técnica.

Esquema 1



P = OMs (Mesilato), -OTf (Triflato); -OTs (Tosilato)

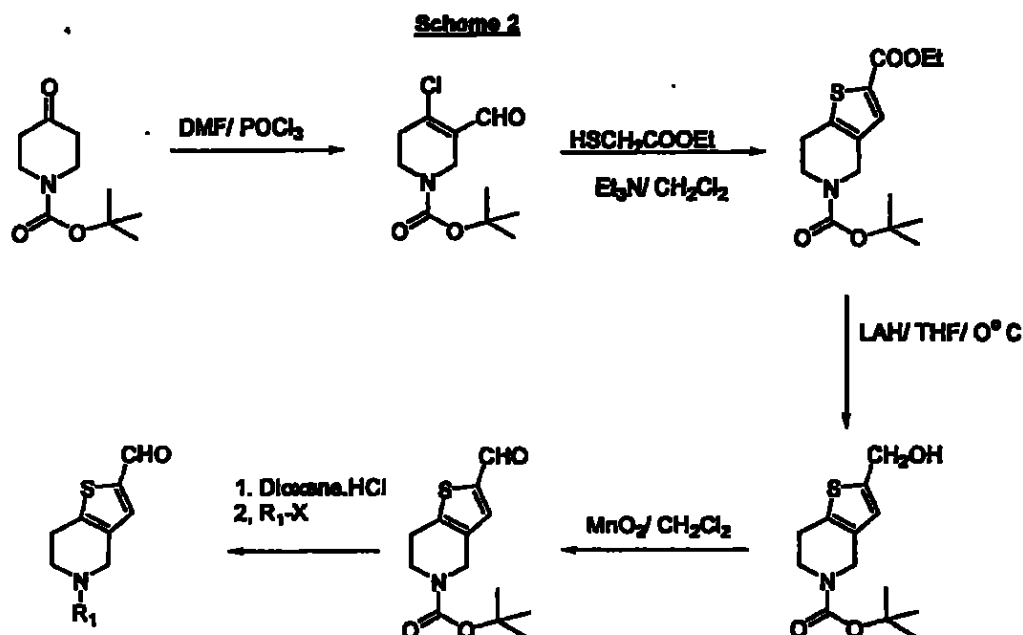
Los aldehídos requeridos 4 para las anteriores transformaciones pueden prepararse a partir de sus respectivos derivados de alcohol mediante oxidación MnO₂ u oxidación de Swern. En algunos casos, se puede introducir la funcionalidad de aldehído requerida directamente en el medio heterocíclico mediante una reacción Vilsmeier Haack utilizando DMF/POCl₃. Los aldehídos requeridos para la presente investigación pueden prepararse tal como se ilustra en los Esquemas 2 a 5. La N-(tert-butoxicarbonil)- (ie) t-Boc -4 piperidona protegida se trata con DMF/POCl₃ para dar el derivado 4-cloro-3-formil. (Esquema 2). Esta reacción puede hacerse en tetrahidro-4H-piran-4-ona y el correspondiente

77

derivado de tetrahidro-4H-tiopiran-4-ona para dar el correspondiente oxígeno y los derivados de sulfuro. Esta reacción también puede hacerse en derivados de cetona cíclica de cinco a ocho miembros. El intermedio de cloro formal puede hacerse reaccionar con 2-mercapto etil acetato para dar el derivado de tieno. El éster puede convertirse a alcohol, el cual puede convertirse a la funcionalidad de aldehído inicial. El Esquema 3 ilustra la preparación del derivado imidazolo-tetrahidro piridina y el derivado imidazolo pirazina. 2-aminopiridina o 2-aminopirazina pueden hacerse reaccionar con etil bromopiruvato en etanol hirviendo para dar el derivado ciclizado (Esquema 3). Se puede lograr la reducción de un anillo.

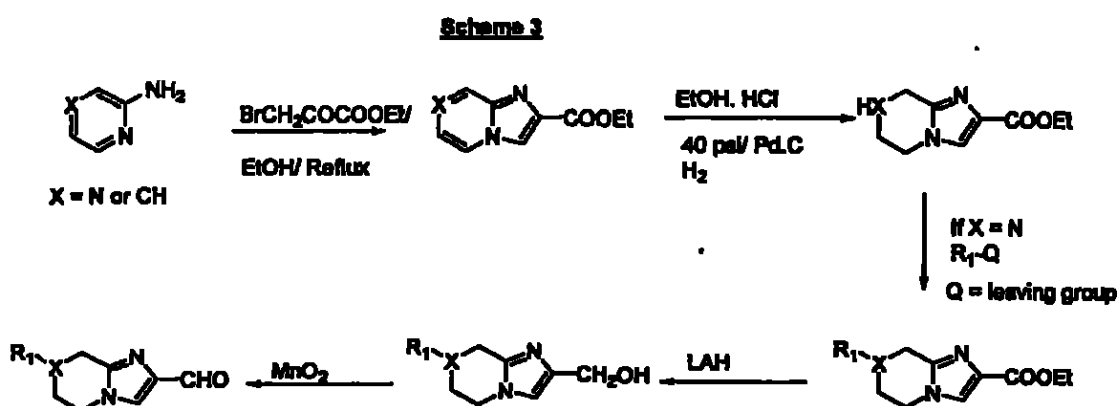
25

Esquema 2

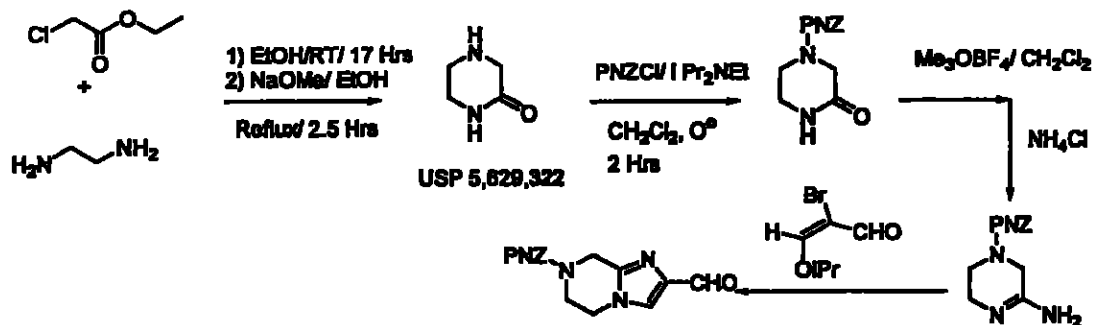


Esta secuencia puede hacerse comenzando de tetrahidro-4H-piran-4-ona y el correspondiente tetrahidro-4H-tiopiran-4-ona. La reacción Vilsmeier puede hacerse en cetonas cíclicas de cinco a ocho miembros.

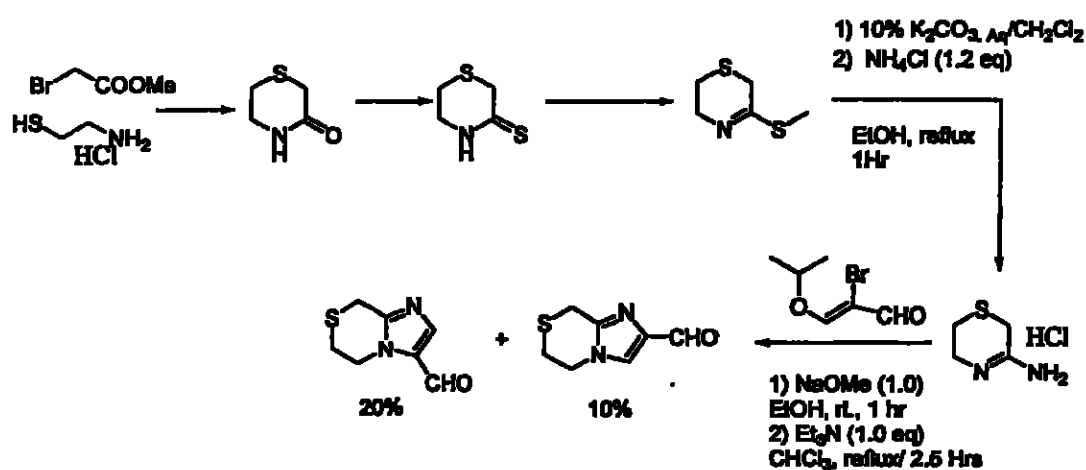
Esquema 3



hidrogenándolo en Pd/C bajo una presión de 40 psi en un aparato par. Luego, el grupo éster puede reducirse a alcohol y convertirse al aldehído. En el caso de X = Y, el intermedio amino éster puede derivatizarse utilizando un R₁Q apropiado (donde Q es el grupo saliente o un grupo de condensación). En el caso del Esquema 3, donde R₁ = H, puede sintetizarse mediante el procedimiento del Esquema 4.

Esquema 4

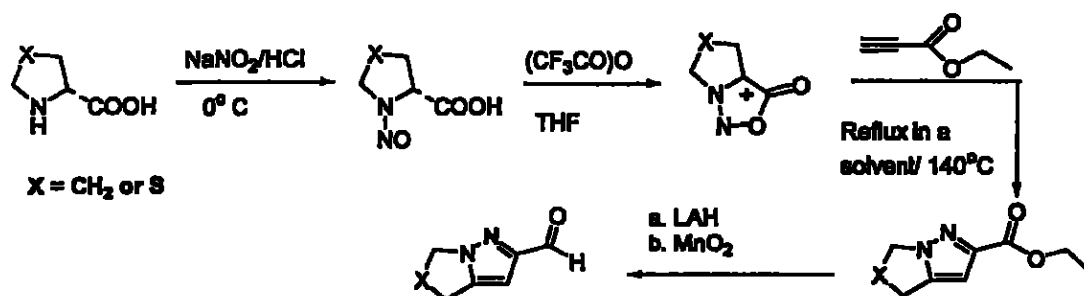
Aldehidos adicionales pueden sintetizarse según los Esquemas 5-7

Esquema 5

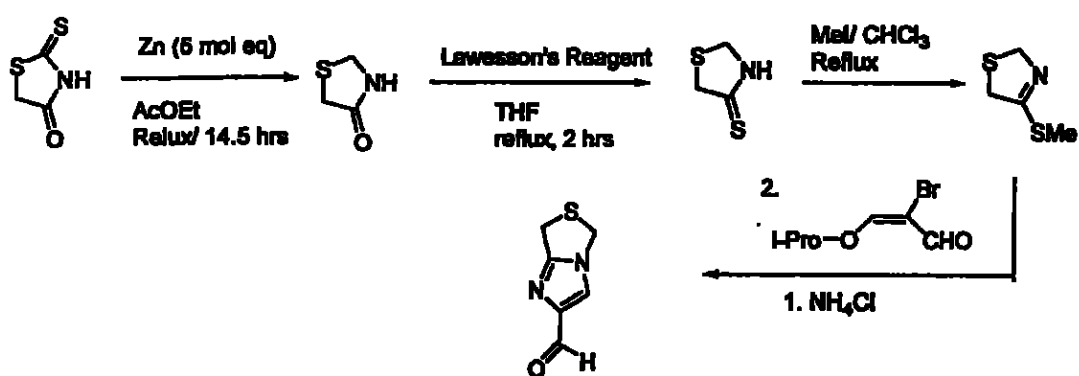
Los aldehidos requeridos para los ejemplos 24-32 y 34, 35 se prepararon por la ruta indicada en los Esquemas 8 a 18.

Esquema 6

Scheme 6

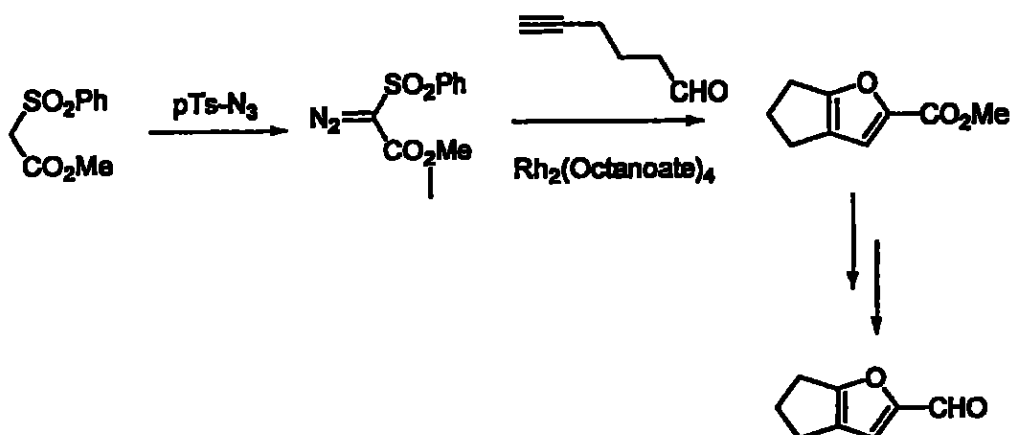


Scheme 7

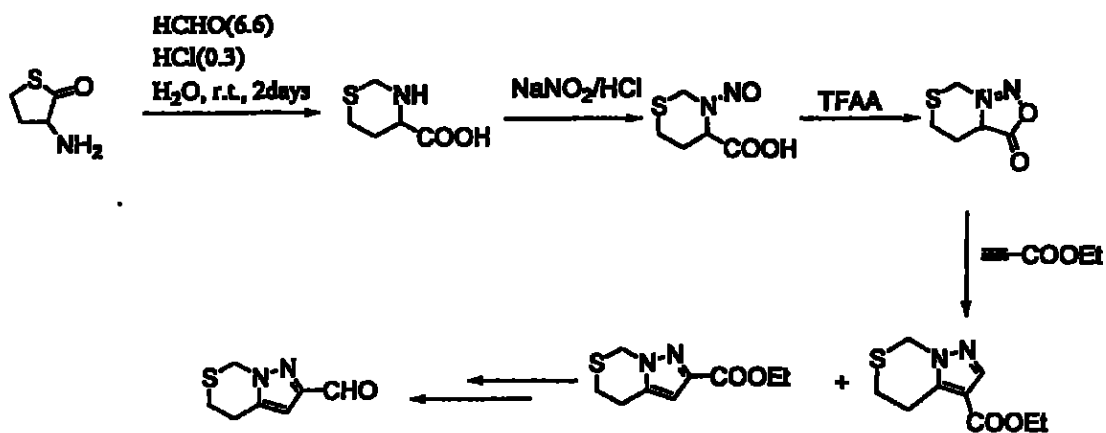


Esquema 11

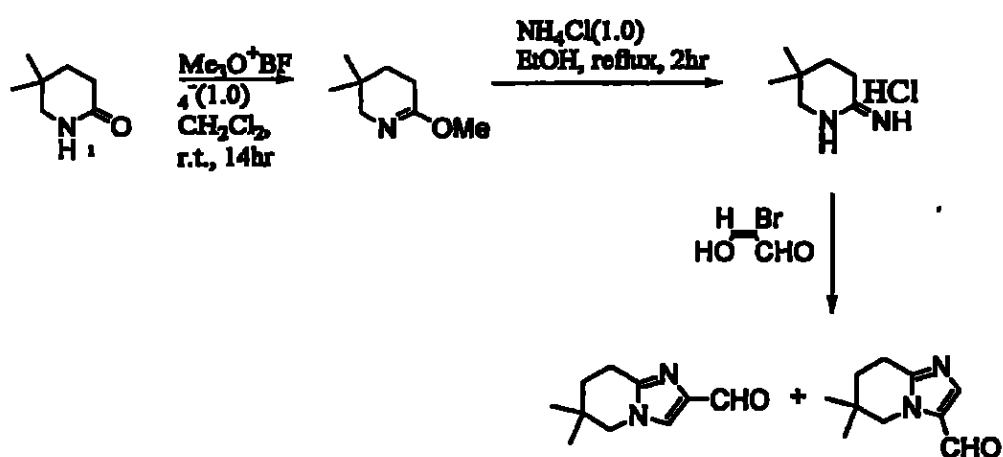
Scheme 11

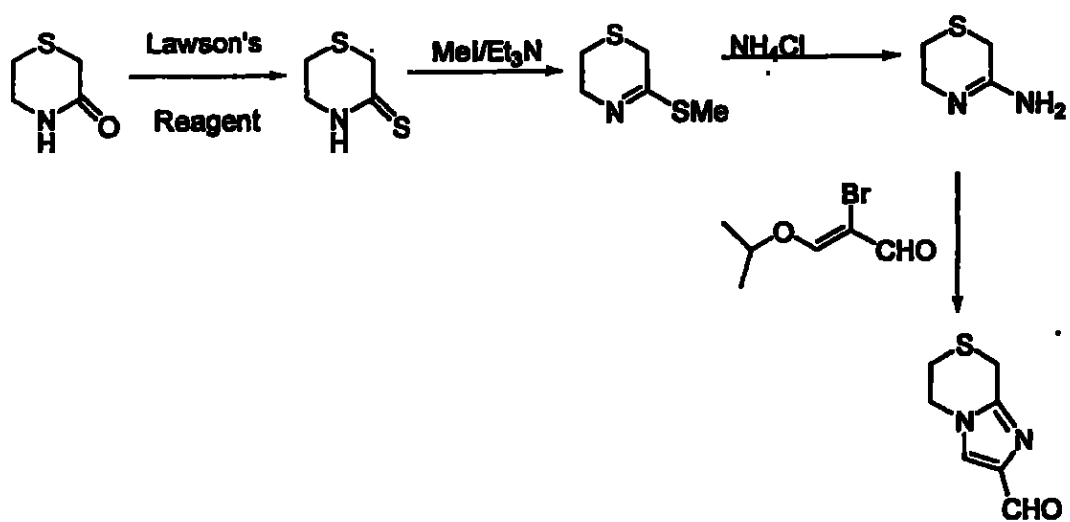


Esquema 12

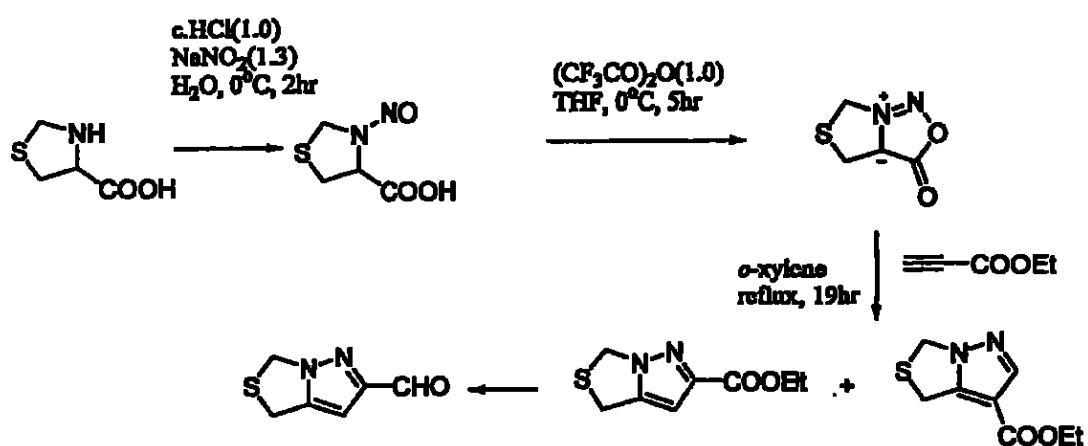


Esquema 13

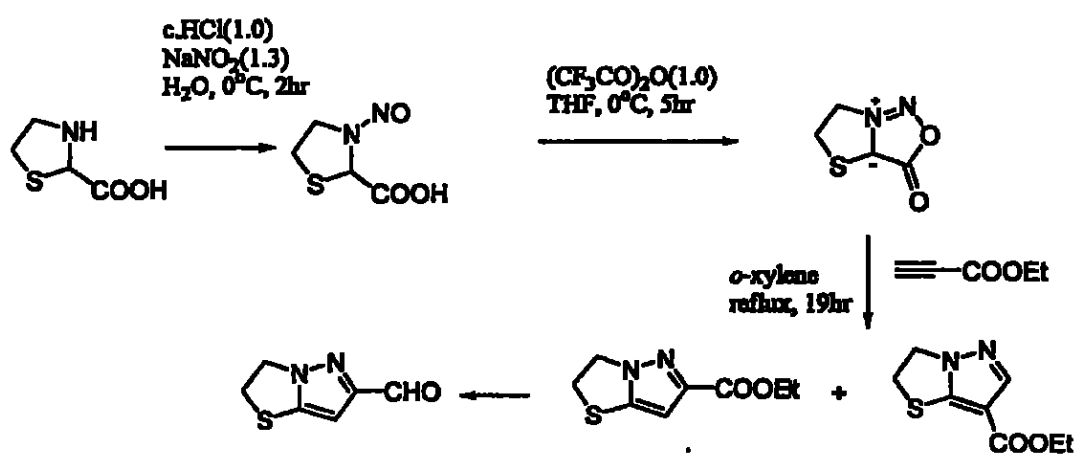


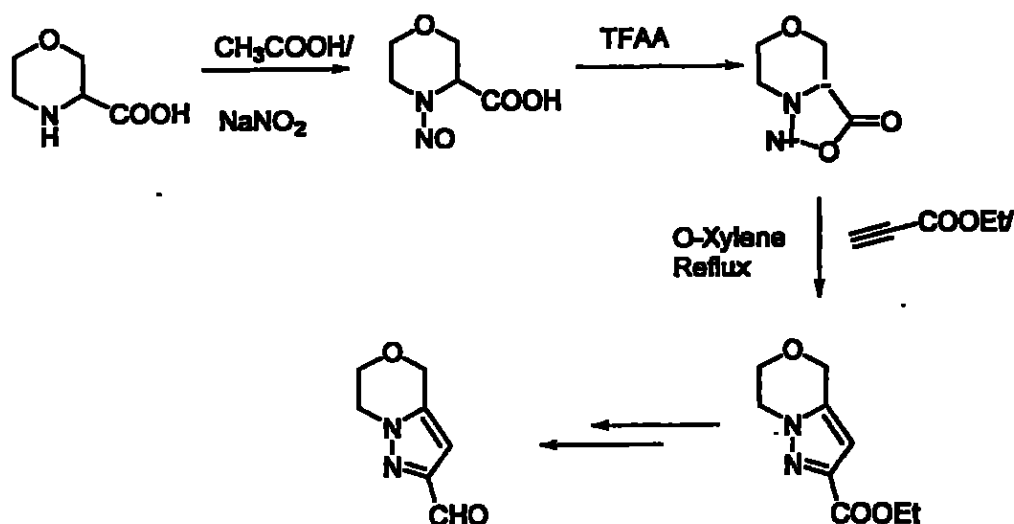
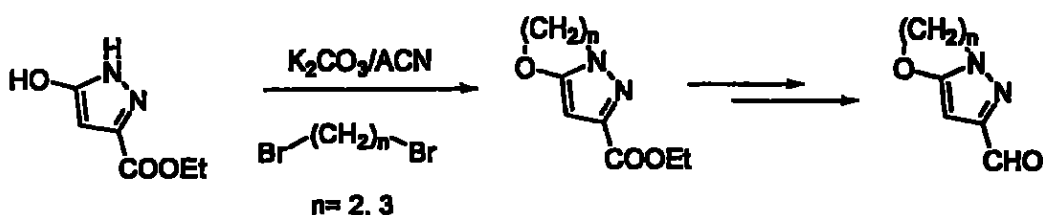
Esquema 14

Esquema 15



Esquema 16



Esquema 17Esquema 18

EXPERIMENTOS

Ejemplo 1

Preparación de ácido (5R, 6Z)-6-[(bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metileno]-7-oxo-4-tia-1-azabiziclo[3.2.0]hept-2-eno-carboxílico

Paso 1: Etil 5-benzil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-carboxilato:

A DMF 7.3 g 100 mmol seco agitado, se le agregó lentamente entre 0-5°C, POCl₃ (12.25 g 80 mmol). Después de la adición, la masa solidificada se disolvió en CHCl₃ (20 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Nuevamente la temperatura se enfrió a 0°C y se agregó lentamente 1-benzil-4-piperidona en CHCl₃. Se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se extrajo con CH₂Cl₂; se lavó bien con agua; se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró. La solución cruda se disolvió en CH₂Cl₂ y se agregó lentamente a temperatura ambiente etilmercaptoacetato (9.6 g 80 mmol) / Et₃N (10.1 g, 100 mmol). Se

sometió la mezcla de reacción a reflujo durante 2 horas y se apagó con agua; la capa de CH_2Cl_2 se lavó bien con agua; se secó sobre MgSO_4 anhidro; se filtró y concentró. El producto fue purificado durante una cromatografía en columna de SiO_2 eluyéndolo con acetato de etilo al 50%; hexano. Aceite amarillo; rendimiento de 6.4 g (25%); $M^+ H316$.

Paso 2 (5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metanol:

A la suspensión de LAH(2.0 g.) agitada a 0°C se le agregó lentamente una solución de etil 5-benzoil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-carboxilato-etil-5-benzoil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-carboxilato (6.0g., 19mmol) en THF. Después la mezcla de reacción adicionada se agitó durante 30 minutos y se apagó con NH_4Cl saturado. Se diluyó con CHCl_3 y se filtró. El filtrado se lavó con solución salmuera saturada y se secó sobre MgSO_4 anhidro. Se filtró y se llevó al siguiente paso sin purificaciones. Rendimiento: 4.5 g. 91%. Líquido amarillo.

Paso 3 -formil(5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridina):

Se agregó la solución (5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metanol (4.0 g. 15.4 mmol) en CH_2Cl_2 (300 mL) activo MnO_2 (20 g. en exceso) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Al final se filtró la mezcla de reacción a través de un lecho de Celita y se lavó con CHCl_3 . La mezcla de reacción se lavó bien con agua, se secó y concentró. Se encontró que el producto era puro y se llevó al siguiente paso sin purificaciones. Rendimiento: 3.0 g. (76%); (M^+H :257).

Paso 4: (4-nitrobencil-6-[(acetiloxi)(5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato):

A la solución 2-formil(5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridina) (565mg, 2.2mmol) y a la solución THF seco (20 mL) de 4-nitrobencil éster de ácido (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (772 mg 2.0 mmol) se agregó sucesivamente acetonitrilo seco (15 mL) de anhidro $\text{MgBr}_2 \cdot \text{O}(\text{Et})_2$ (390 mg, 1.5mmol) bajo una atmósfera argón a temperatura ambiente. Después de enfriar a -20°C , se agregó una porción de Et_3N (2.0 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con una porción de anhídrido acético (1.04 mL). La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5%, con carbonato de hidrógeno sódico saturado y

sálmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró con un lecho de Celita. La capa se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, luego la columna se eluyó con acetato de etilo: hexano (1:1). Se concentraron las fracciones recogidas bajo una presión reducida y la mezcla de isómeros diastereos se llevaron al siguiente paso. Sólido amorfo amarillo pálido; Rendimiento: 550 mg, 40% M+H 687.

Paso 5 ácido (5R,6Z)-6-[(5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-Il)metilen]-7-oxo-4-tia-1-azabíclclo[3.2.0]hept-2-eno-carboxílico):

Se disolvió 4-nitrobencil éster de ácido (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabiziclo[3.2.0] hept-2-eno-2-carboxílico (772 mg 2.0 mmol) en THF (20 mL) y acetonitrilo (10 mL). Se agregó inmediatamente el polvo de Zn recientemente activado (5.2 g) con tamponador de fosfato 0.5 M (PH65, 28mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 0.1 M para ajustar el pH a 8.5. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. La capa acuosa se concentró a un alto grado de vacío a 35°C para obtener un precipitado amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna de fase reversa de resina. Se eluyó inicialmente la columna con agua deionizada (2 l) y posteriormente con CAN al 10%: agua. Las fracciones que contienen el producto se recogieron y concentraron a presión reducida a temperatura ambiente. El sólido amarillo se lavó con acetona y se filtró. Se secó con (MgSO₄) y se filtró. Rendimiento: 50 mg 18% como cristales amarillos; MP 198°C (M+H) 411.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ d 2.7 (m, 2H), 2.8 (bm, 2H), 3.4 (m, 2H), 3.8 (s, 2H), 6.3 (s, 1H), 6.5 (s, 1H) 7.1 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.4 (s, 5H).

Ejemplo 2

Preparación de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-[7-metil-5,6,7,8-tetrahidrolimidazo[1,2-a]pirazin-2-Ilmetilen]-7-oxo-4-tia-1-azabíclclo[3.2.0]hept-2-eno carboxílico

Paso 1: éster etílico de ácido Imidazo [1,2-a]pirazin-2-carboxílico:

A la solución DME (258 mL) de 2-aminopirazina (24.8 g) se agregó agitando durante 2.5 horas a temperatura ambiente bromopirubato etílico (62.9 g). Se enfrió la mezcla de reacción a 0°C y se agitó durante 30 minutos para lograr un precipitado de color café pálido. El precipitado se filtró y lavó con Et₂O para obtener cristales de color café pálido. Se sometió la suspensión del precipitado (66.1 g) en EtOH (1.29 L) a reflujo para aclarar la solución. Después de someter a reflujo la mezcla de reacción durante dos horas, ésta se concentró bajo presión reducida, luego mezclada con CHCl₃ y saturada con NaHCO₃ aq. La mezcla se filtró con un lecho de Celita. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con CHCl₃ - MeOH (99/1 ~ 97/3), y las fracciones se obtuvieron bajo presión reducida seguido de la recristalización de CHCl₃-Et₂O. Se obtuvo el compuesto del título como cristales rosa pálido. Rendimiento: 10.9 g, (22%).

¹H NMR(CDCl₃) δ d 1.46(t, 3H, J = 7.2 Hz), 4.49(q, 2H, J = 7.2 Hz), 7.96(d, 1H, J = 4.7 Hz), 8.08(dd, 1H, J = 1.2, 4.7 Hz), 8.26(s, 1H), 9.21(d, 1H, J = 1.2 Hz).

Paso 2: Clorhidrato de éster etílico de ácido 5,6,7,8-tetrahidrazol [1,2-a]pirazina-2-carboxílico:

Se agregó HCl 0.46 M -EtOH (169 mL) y 10% Pd-c (50% húmedo) (1.37 g) a la solución de EtOH (546 mL) de éster etílico de ácido imidazo[1,2-a]pirasena-2-carboxílico (1.37).

La mezcla fue hidrogenada bajo H₂ a 40 Psi a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla de reacción se filtró y el Pd-C se lavó con EtOH. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel sílice, luego la columna se eluyó con CHCl₃ - MeOH (9/1 ~ 2/1). Se obtuvo el compuesto del título como cristales café. Rendimiento: 10.4 g, 63%.

¹H NMR (CDCl₃) δ d 1.38 (t, 3H, J = 7.1 Hz), 3.90 (t, 2H, J = 5.7 Hz), 4.40 (q, 2H, J = 7.1 Hz), 4.59 (t, 2H, J = 5.7 Hz), 4.80 (s, 2H), 8.20 (s, 1H).

Paso 3: etil éster de ácido 7-Metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxílico:

A la solución Et₃N (3.44 mL), HCHO aq. 37% (2.02 mL) y NaBH₃CH (1.78) se agregó sucesivamente a temperatura ambiente MeOH (75 mL) de clorhidrato de etil éster de ácido 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxílico, (5.2 g) y se agitó durante 3.5 horas bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se diluyó con

90

CH_2Cl_2 y se lavó con K_2CO_3 al 50% aq. La capa orgánica (K_2CO_3) se secó y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, luego la columna se eluyó con CHCl_3 -acetona (1/1~1/2). Se obtuvo el compuesto del título como un aceite naranja. Rendimiento: 2.68 g, (575).

^1NMR (CDCl_3) δ d 1.37 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 2.50 (s, 3H), 2.85 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 3.69 (s, 2H), 4.06 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 4.36 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz), 7.52 (s, 1H).

Paso 4: 7-metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirasen-2-carbaldehído:

A la solución de DIBAL al 1.01 M en tolueno (13.6 mL) se agregó CH_2Cl_2 seco (86 mL) de etil éster de ácido 7-Metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-carboxílico (1.8 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a -78°C y agitado durante dos horas.

La mezcla se apagó con HCl 1M. La mezcla de reacción se filtró con un lecho de Celita. El filtrado se lavó con 50% de H_2CO_3 aq. y se extrajo una capa acuosa CH_2Cl_2 (tres veces). La capa orgánica combinada (K_2CO_3) se secó y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, luego la columna se eluyó con CHCl_3 -MeOH (19/1 ~ 9/1). El compuesto del título 5 se obtuvo como cristales incoloros. Rendimiento: 5.91 mg, (42%).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ d 2.51 (s, 3H), 2.87 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 3.70 (s, 2H), 4.10 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 7.53 (s, 1H), 9.82 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz).

Paso 5: 4-nitrobencil éster de ácido (5R,6RS)-6-[(RS)-acetoxi(7-metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (mezcla diastéreo).

A la solución de acetonitrilo seco (97 mL) de MgBr_2 anhidro (4.05 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente se agregó 7-metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído (1.19g). Se agregó a la mezcla la solución THF seco (97 mL) una porción de 4-nitrobencil éster de ácido (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-eno-2-carboxílico enfriada a -20°C y Et₃N (3.0 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 4.5 horas a -20°C y se trató una porción con anhídrido acético (1.36 mL). La mezcla de reacción se calentó a 0°C

92

y se agitó durante 17 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice, luego la columna se eluyó con CHCl₃-acetona (9/1 ~ 2/1). Se obtuvo el compuesto del título como dos mezclas diastereas. Aceite rojo. Rendimiento: 1.13 g.

¹H NMR (CDCl₃) δ d 1.20 (s, 0.81x3H), 2.24 (s, 0.19x3H), 2.48 (s, 3H), 2.80 δ 2.84 (m, 2H), 3.57 ~ 3.67 (m, 2H), 3.97 ~ 4.02 (m, 2H), 5.27 (d, 1H, J = 13.6 Hz), 5.42 (d, 0.19 x 1H, J = 13.6 Hz), 5.45 (d, 0.81 x 1H, J = 13.6 Hz), 6.07 (s, 0.19 x 1H), 6.30 (s, 0.81 x 2H), 6.79 (s, 0.19 x 1H), 6.80 (s, 0.19 x 1H), 7.02 (s, 0.81 x 1H), 7.44 (s, 0.19 x 1H), 7.47 (s, .081 x 1H), 7.60 (d, 0.19 x 2H, J = 8.2 Hz), 7.62 (d, 0.81 x 2H, J = 8.6 Hz), 8.22 ~ 8.26(m, 2H).

Paso 6: Sal sódica de ácido (5R,6Z)-6-(7-metil-5,6,7,8-tetrahidromidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico.

Se disolvió en THF (32 mL) y ácido nitrilo (32 mL) 4-nitrobencil éster de ácido (5R-6RS)-6-[(RS)-acetoxi(7-metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2- carboxílico (1.11 g).

Se agregó inmediatamente polvo de Zn recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5M (pH 6.5, 48 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. Se filtró con un lecho de Celita enfriado a 3°C y se agregó NaOH 1M para ajustar el pH a 7.5. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. La capa acuosa se concentró a un alto grado de vacío a 35°C. Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (20 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorber la columna se disolvió en H₂O-MeCN(1/0 ~ 95/5). Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizaron para obtener el compuesto del título como sólido amorfo amarillo. Rendimiento: 4.17 mg, 65%: mp 200°C (dec).

¹H NMR (D₂O) δ d 2.32 (s, 3H), 2.79 ~ 2.81 (m, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.95 (t, 2H, J = 5.6 Hz), 6.39 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 7.26 (s, 1H).

Ejemplo 3

Preparación de sal sódica de ácido (5R), (6Z)-7-oxo-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-carboxílico

2-Ceto-piperazin

El compuesto 2-cetopiperazin se preparó según los procedimientos del USP 5.629.322.

Paso 1: 4-p-nitrobencilloxycarbonil-2-cetopiperazin

Se agregó 48.7% de cloruro p-nitrobencilloxycarbonil en 1,4-dioxane (10.7 mL) a diclorometano (110 mL) de 2 cetopiperazin (2.21 g) y diisopropiletilamina (4.6 mL) a 0°C agitando durante 0.5 horas a 0°C. Se agregó agua (300 mL) a la mezcla de reacción y se extrajo con diclorometano (3x100 mL). Se secó la capa orgánica (MgSO₄) y se filtró. Se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice eluida con CHCl₃-metanol (30:1). Se obtuvo el compuesto del título como un sólido blanco (7.1 g, cuant).

¹H NMR (d, CDCl₃) δ 3.42-3.45 (m, 2H), 3.74 (t, 2H, J = 5.4 Hz), 4.19 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 6.39 (brs, 1H); 7.52 (d, 2H, J = 8.6 Hz), 8.24 (d, 2H, J = 8.6 Hz).

Paso 2: 5-Metoxi-4-p-Nitrobencilloxycarbonil-1,2,3,6-tetrahidropirazina

A la solución seca de diclorometano (120 mL) 4-p-nitrobencilloxycarbonil-2-cetopiperazin (6.7 g) se agregó a temperatura ambiente y agitando durante 17 horas trimetiloxonio tetrafluoroborato (97%, 3.7 g). La mezcla de reacción se trató con solución acuosa de carbonato de hidrógeno sódico saturado y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3x100 mL), luego se lavó la capa orgánica combinada con la solución acuosa de carbonato de hidrógeno de sodio saturada y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida concentrada y se obtuvo como un compuesto del título sólido café pálido. Rendimiento: 5.7 g, 80.6%.

¹H NMR (d, CDCl₃) δ 3.48 (m, 2H), 3.57 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.97 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 7.52 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 8.23 (d, 2H, J = 8.7 Hz).

Paso 3: 2-Imino-4-p-nitrobencilloxycarbonil piperazin

Se sometió durante 4 horas a reflujo la mezcla de 5-metoxi-4-p-nitrobenciloxicarbonil-1,2,3,6-tetrahidropiraxina (5.7 g) y cloruro amónico (1.6 g) en etanol seco (100 mL). La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, luego se agregó diclorometano (100 mL) hasta residuo y se extrajo con agua (3x50 mL), luego se lavó la capa acuosa combinada con diclorometano. La capa acuosa fue neutralizada con una solución acuosa de carbonato de potasio al 10% y se extrajo con diclorometano (8 x 50 mL). La capa orgánica combinada (MgSO_4) se secó y filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y se obtuvo el compuesto del título como un sólido blanco. Rendimiento: 4.9 g, (91.2%).

^1H NMR (d, CDCl_3) δ 3.49 (brs, 4H), 3.98 (brs, 2H), 5.26 (s, 2H), 7.52 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 8.23 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz).

Paso 4: 7-p-nitrobenciloxicarbonil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído (9) y 7-p-nitrobenziloxicarbonil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo [1,2-a]pirazina-3-carbaldehído:

Se sometió azeotrópicamente una mezcla de 2-bromo-3-hidroxipropenol (2.8 g), ácido monohidrato p-toluenosulfónico (33 mg) y 2-propanol (3.5 mL) en ciclohexano (28 mL) bajo una temperatura de 80°C. La reacción de la mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en una solución de acetonitrilo seco (30 mL). Se agregó a temperatura ambiente a la solución 2-imino-4-p-nitrobenziloxicarbonil piperazin (4.7 g) acetonitrilo seco (310 mL). La reacción del compuesto se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y la reacción de la solución se removió al vacío. El residuo fue disuelto en acetato de etilo (170 mL) y se adicionó trietilamina (2.4 mL), la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 1.5 horas. El resultado de esta reacción se enfrió a temperatura ambiente, se adicionó agua (170 mL) a la reacción, se mezcló y se separó. La capa acuosa fue extraída con diclorometano (2 x 100 mL). La capa orgánica combinada se secó (MgSO_4) y se filtró. La reacción filtrada se redujo mediante presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, eluido con CHCl_3 - metanol (50:1). Se obtuvo el compuesto del título como sólido café. Rendimiento: (2.9 g, 51.6%) y se obtuvo su regio isómero (sólido amorfo anaranjado, rendimiento: 0.8 g. 14.9%).

^1H NMR (d, CDCl_3) δ 3.99 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz), 4.14 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz), 4.85 (s, 2H), 5.29 (s, 2H), 7.54 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 7.57 (s, 1H), 8.24 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 9.85 (s, 1H).

Regio isómero ^1H NMR (d, CDCl_3) δ 3.95 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz), 4.44 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz), 4.87 (s, 2H), 5.29 (s, 2H), 7.54 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.78 (s, 1H), 8.24 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 9.71 (s, 1H).

Paso 5: p-nitrobencil éster de ácido (5R)-6-[acetoxi-(7-p-nitrobenciloxicarbonil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-il)-metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico:

A la solución de acetonitrilo seco (55 mL) de MgBr_2 (2.2) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente se agregó acetonitrilo seco (25 mL) de 7-p-nitrobenciloxicarbonil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído (1.6 g). Luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se agregó una solución en THF (80 mL) de 4-nitrobencil éster de ácido (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico. La mezcla se enfrió a -20°C y se agregó una porción de trietilamina (1.6 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4,4 dimetilaminopiridin (58.3 mg) y anhídrido acético (0.89 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . Se agregó 10% de una solución acuosa de ácido cítrico (320 mL) a una mezcla de reacción y se extrajo una capa acuosa con acetato de etilo (3%, 60 mL). La capa orgánica se lavó con agua, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó la cromatografía en columna con gel de Sílice, eluido con CH_2Cl_2 - acetona (20 : 1) y se obtuvo el compuesto del título como una mezcla de diastereo (81:19) sólido amorfo espumoso café. Rendimiento: 2.1 g, 59.9%.

^1H NMR (d, CDCl_3) δ 2.01 (s, 2.43H), 4.24 (s, 0.57H), 3.93-3.96 (m, 2H), 4.02-4.05 (m, 2H), 4.74-4.76 (m, 2H), 5.28 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz), 5.28 (s, 2H), 5.45 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz), 6.07 (s, 0.19H), 6.29 (s, 0.81H), 6.31 (s, 0.81H), 6.80 (s, 0.19H), 6.83 (s, 0.19H), 7.08 (s, 0.81H), 7.43 (s, 0.19H), 7.46 (s, 0.81H), 7.54 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 7.61 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 8.24 (d, 4H, $J = 8.3$ Hz).

Paso 6: sal sódica de ácido (5R)-(6Z)-(7-oxo-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-4-tia-1-[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico:

Se disolvió p-nitrobencil éster de ácido (5R)-6-[acetoxi-(7-p-nitrobenciloxicarbonil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-il)-metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico: (2.0) en THF (63 mg). Se agregó

inmediatamente polvo de Zn (7.9 g) recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5 mol/L (pH 6.5, 63 mL). Se cubrió el tubo de reacción con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante dos horas. La solución de reacción se filtró con un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (150 mL) y *n*-butanol (150 mL). La capa acuosa se separó y luego fue extraída la capa orgánica con agua (2.50 mL). La capa acuosa combinada se concentró a (61g). Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (20 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorber la columna se eluyó con agua y luego con una solución acuosa de acetonitrilo. Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizaron para obtener el compuesto del título como sólido amorfo amarillo. Rendimiento: 1.72 mg, 20.1%; mp 150°C (dec).

^1H NMR (d, D_2O) δ d 3.02 (t, 2H, $J = 5.6$ Hz), 3.82 (s, 2H), 3.89 (d, 2H, $J = 5.6$ Hz), 6.38 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 7.24 (s, 1H); IR (KBr).

Ejemplo 4

Preparación de ácido (5R,6Z)-6-([5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il]-metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 5-tert-butil 2-etil 6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-2,5(4H)-dicarboxilato:

Se preparó 5-tert-butil-2-etil 6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-2,5(4H)-dicarboxilato conforme al procedimiento explicado en el ejemplo 1 (paso 1). Se inicia desde tert-butil-piperidin-carboxilato (9.9 g 50 mmol), POCl_3 (6.3 g 40 mmol) y DMF (3.8 g 50 mmol). El intermedio de cloroformilo se reaccionó con etil mercaptoacetato (60 g, 50 mmol) y Et_3N . El producto se purificó por cromatografía en columna de SiO_2 eluyéndolo con hexano 3:1 etilacetato, rendimiento: 8.7 g, 56%; líquido blanco (M+H) 312.

Paso 2: tert-butil 2-(hidroximetil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-5(4H)-carboxilato:

Se preparó tert-butil 2-(hidroximetil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-5(4H)-carboxilato conforme al procedimiento explicado en el ejemplo 1 (paso 2). Se inicia desde 5-ter-butil-2-etil-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-2,5(4H)-dicarboxilato (1.0g, 3.21 mmol) y

LiAlH_4 (500 mg exceso), (807 mg, 92% rendimiento) del derivado de alcohol, aislado como un líquido blanco (M+H) 270.

Paso 3: tert-butil 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-5(4H)-carboxilato:

Se preparó tert-butil 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-5(4H)-carboxilato conforme al procedimiento explicado en el ejemplo 1 (paso 3). Se inicia desde tert-butil 2-(hidroximetil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-5(4H)-carboxilato (1.0g, 3.7 mmol) en cloruro de metileno (100 mL) y MnO_2 activo (5 g, exceso), (800 g, 81% rendimiento) del derivado de aldeído, aislado como un sólido café (M+H) 268.

Paso 4: 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]-5(4H)-piridin:

Se preparó 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]-5(4H)-piridin; se disolvió iniciando desde tert-butil 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]piridin-5(4H)-carboxilato (1.0g, 3.7 mmol) en CH_2Cl_2 (20 mL) MeOH (90 %, 20 mL) y HCl 1N en dioxano (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. Al final la mezcla de reacción se concentró hasta secar y se llevó al siguiente paso sin purificación. Rendimiento: 2.750 mg, (sal HCl, cuantitativa); (M+H) 168.

Paso 5: 2-(formil) [5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetra][3,2-c]piperidin:

Se agregó a temperatura ambiente una solución agitada de 2-(formil) [5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetra][3,2-c]piperidin en DMF (20 mL), cloruro de 4-metoxibencilo (0.94 g, 6.2 mmol) N,N-dihexopropil etilamina (10 mL exceso). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas y se apagó con agua. La mezcla de la reacción se extrajo con cloroformo. Se lavó bien con agua y se secó sobre MgSO_4 anhidro. Se filtró y concentró. El producto se purificó por cromatografía en columna de SiO_2 eluyéndolo con acetato de etilo. Aceite amarillo pálido. Rendimiento: 4.70 mg, 35%; M+H 288.

Paso 6: 4-Nitrobencil-6-[(acetiloxi)[5(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-carboxilato:

A la solución THF seco 20 mL de 4-nitrobencil éster de ácido (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (772 mg, 2.0 mmol) se agregó sucesivamente 2-(formil) [5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin (574 mg, 2.0 mmol) a acetonitrilo seco (15 mg) de MgBr_2 anhidro: $\text{O}(\text{Et}_2)$ (390 mg, 1.5 mmol) bajo una atmósfera argón a temperatura ambiente, después de enfriar a

-20°C se agregó a una porción Et₃N (2.0 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con una porción de anhídrido acético (1.04 mL). La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera.

La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró con un lecho de Celita. El lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice, luego se eluyó con acetato de etilo: hexano (1:1). Las fracciones recogidas se concentraron bajo presión reducida y la mezcla de isómeros diastéreos se llevaron al siguiente paso. Sólido amorfo amarillo pálido; rendimiento: 550 mg, 40%; M+H 714 y 716.

Paso7: ácido (5R,6Z)-6-([5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il]metileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió 4-nitrobencilo ácido carboxílico-6-[(acetiloxi)[5(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il]metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno (300 mg, 0.42 mmol) en THF (20 mL) y acetonitrilo (10 mL). Se agregó Polvo de Zn recientemente activado 5.2 con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 28 mL). El tubo se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se filtró y enfrió a 3°C y se agregó NaOH 0.1 M para ajustar el pH a 8.5. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. La capa acuosa se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C para obtener un precipitado amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna de fase reversa de resina HP21. Inicialmente la columna se diluyó con agua deionizada (2 litros) y posteriormente con CAN al 10%: agua. Las fracciones que contienen el producto se recogieron y se concentraron a una presión reducida a temperatura ambiente. El sólido amarillo se lavó con acetona y se filtró. Secó. Rendimiento: 50 mg, 18%; como cristales amarillos mp. 127°C, (M+H) 441.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ d 2.7 (m, 2H), 2.8 (bm, 2H), 3.4 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.8 (s, 2H), 6.6 (s, 1H), 6.88 (dd, 2H); 7.14 (s, 1H), 7.24(dd, 2H), 7.4 (s, 1H), 7.59 (s, 1H).

Ejemplo 5

Preparación de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-

c[1,4]tiazina-2-il-metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico:

Paso 1: 5-Metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]hidroiodo tiazina

Se preparó 5-Metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]hidroiodo tiazina por el método especificado en la USP 5.629.322.

Paso 2: 3-clorhidrato de iminotiomorfolina

La solución acuosa (150 mL) K₂CO₃ al 10% 5-metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]hidróxido tiazina (7.1 g) se disolvió y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (5 x 70 mL). La capa orgánica combinada, se seco (MgSO₄), filtró y concentró bajo presión reducida. Se agregó cloruro amónico (1.7 g) al residuo obtenido en el etanol seco (128 mL) y se calentó hasta derretir durante una hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. La solución de la reacción se retiró al vacío y el clorhidrato de iminotiomorfolina se obtuvo como un sólido café (4.3 g, quant).

¹H NMR(d, DMSO-d⁶) δ 3.15(t, 2H, J = 5.9 Hz), 3.74 (t, 2H, J = 5.9 Hz), 3.83 (s, 2H), 8.97 (brs, 1H), 9.38 (brs, 1H), 9.99 (brs, 1H).

Paso 3: 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído y 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-3-carbaldehído

Se sometió azeotrópicamente la mezcla de 2-bromo-3-hidroxipropenal (7,4.3 g), *p*-monihidrato de ácido toluensulfónico (52 mg) y 2-propanol (5.3 mL) en ciclohexano (43 mL) hasta que la temperatura al vapor alcanzó 80°C. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en etanol seco (28 mL). La mezcla de la solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se agregó una solución de etanol seco (143 mL), clorhidrato de 3-iminotiomorfolina (4.3 g) y 28% de metanol metilato sódico (5.0 mL). Luego la solución de la reacción se retiró al vacío. El residuo se disolvió en cloroformo (128 mL) y se agregó trietilamina (3.6 mL), luego la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió con diclorometano (300 mL) y se lavó con una solución acuosa K₂CO₃ al 50% (2 x 100 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄) y filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de

silíce, eluida con CHCl_3 -acetona (10:1), y 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído (sólido café, 445 mg, 10.3%) y se obtuvo 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-3-carbaldehído (sólido café, 872 mg, 20.2%).

5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído: ^1H NMR (d, CDCl_3) δ 3.07 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 3.95 (s, 2H), 4.33 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 7.55 (s, 1H), 9.83 (s, 1H).

5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-3-carbaldehído: ^1H NMR (d, CDCl_3) δ 3.05 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 3.98 (s, 2H), 4.61 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 7.73 (s, 1H), 9.69 (s, 1H).

Paso 4: sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-il-metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

A la solución acetonitrilo seco (20 mL) de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído (392 mg) se agregó a temperatura ambiente acetonitrilo seco (20 mL) MgBr_2 (1.1 g) bajo atmósfera de nitrógeno; luego se agitó la mezcla durante 10 minutos. Se agregó la solución en THF (40 mL) de 4-nitrobencilo éster de ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (1.0 g) y la mezcla se enfrió a -20°C , luego se agregó trietilamina (0.8 mL) en una porción. El tubo de la reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 3.5 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilamino piridin (30 mg) y anhídrido acético (0.44 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 14 horas a 0°C . Se agregó una solución acuosa de ácido cítrico al 10% (240 mL) a la mezcla de reacción y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (3 x 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua, con carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó ampliamente por cromatografía en columna con gel de sílice; se eluyó con CH_2Cl_2 -acetona (50:1), y se obtuvo solución cruda éster-*p*-nitrobencilo de ácido carboxílico (5R)-6-[acetoxi-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2, como sólido

El sólido obtenido anteriormente fue purificado por una cromatografía en columna de SiO_2 diluyéndolo con 505 de acetato de etilo: hexano. El sólido amarillo pálido obtenido, se disolvió en THF (17 mL). Se agregó polvo de Zn (2.2 g) recientemente activado con tamponador de fosfato (pH 6.5, 17 mL), 0.5 mol/L. El

100

tubo de la reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución de la reacción se filtró con un lecho de Celita y la capa se lavó con agua (40 mL) y *n*-butanol (30 mL). La capa acuosa fue separada y la capa orgánica fue extraída con tamponador de fosfato (pH 6.5, 2 x 10 mL) 0.5 mol/L. A la capa acuosa combinada de 23g mL, se agregó 1mol/L NaOH para ajustar el pH a 7.25 y se aplicó cromatografía en columna de resina, Diaon HP-21 (30 mL Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorber, se eluyó la columna con agua y luego con una solución acuosa de acetonitrilo al 10%. Las fracciones combinadas activas fueron concentradas bajo un alto grado de vacío a 35°C y liofilizadas para obtener sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazina-2-il-metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2- carboxílico como sólido amorfo amarillo (168 mg, 20.9%).

mp 135°C (dec); ¹H NMR (d, D₂O) δ 3.00 (t, 2H, J = 5.7 Hz), 3.80 (AB, 2H, J = 16.7, 18.1 Hz), 4.19 (t, 2H, J = 5.7 Hz), 6.44 (d, 1H, J = 0.8 Hz), 6.89 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 7.29 (s, 1H); M+H = 322.

Ejemplo 6

Preparación de sal sódica (5R),(6Z)-6-(6,7-Dihidro-5H-pirrol[1,2-a]imidazo-2-il-metileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 6,7-dihidro-5H-pirrol[1,2-a]imidazo-2-carbaldehído

A la solución EtOH (250 mL) de 4,5 dihidro-3H-pirrol-2- clorhidrato-ilamina (3.27g) se agregó a temperatura ambiente 28% de metóxido de sodio (5.26g). Después se agitó la reacción durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se adicionó a la mezcla 2-bromo-3-propoxi-propenal (5.79g) a temperatura ambiente, luego la mezcla de la reacción se agitó durante 1 hora temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se llevó a secado al vacío. El residuo se disolvió en CHCl₃ (300 mL) y se agregó trietilamina (3.8 mL). La mezcla se calentó hasta derretir durante 3 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con 50% de K₂CO₃, se secó con anhidro K₂CO₃, se filtró y evaporó bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice, se eluyó con CHCl₃-acetona (2:1), y se obtuvo 6,7-dihidro-5H-pirrol[1,2-a]imidazo-2-carbaldehído {41%, 1.51 g} como sólido amarillo pálido.

¹H NMR {d, CDCl₃} δ 2.62-2.7 (m, 2H), 2.90-2.94 (m, 2H), 4.07 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 7.59 (s, 1H), 9.80 (s, 1H).

Paso 2: sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-5H-pirrol[1,2-a]imidazo-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

A la solución de acetonitrilo seco (155 mL) de anhídrido MgBr_2 (5.64 g) bajo atmósfera argón a temperatura ambiente, se agregó 6,7-Dihidro-5H-pirrol[1,2-a]imidazo-2-carbaldehído (1.36 g). Se agregó la solución en THF seco (155 mL) de 4-nitrobencilo éster de ácido carboxílico (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2- (83.86 g) a la mezcla, enfriada a -20°C , y se agregó Et_3N (4.18 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1.89 mL) y DMAP (370 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 14.5 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico 1M; carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y filtró. El lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en THF (166 mL) y acetonitrilo (77 mL). Se agregó inmediatamente polvo de Zn (23.2 g) activado con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 243 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, se enfrió a 3°C , y se agregó NaOH 1M para ajustar el pH a 8. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. Se agregó nuevamente NaOH 1M a la capa acuosa para ajustar el pH a 8. La mezcla resultante se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C . Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (20 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorber, se eluyó la columna con H_2O -MeCN (1/0 ~ 9/1) para obtener fracciones activas purificadas de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-5H-pirrol[1,2-a]imidazo-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico. Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizaron para obtener como compuesto del título un sólido amorfo amarillo (681 mg, 24%, pH 7.8).

mp 190°C (dec); ^1H NMR(d, D_2O): δ 2.48-2.56 (m, 2H), 2.74-2.79 (m, 2H), 3.94-3.99 (m, 2H), 6.47 (d, 1H, $J = 0.7$ Hz), 6.94 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 7.36 (s, 1H); (M+H) 291.

Ejemplo 7

Preparación de (sal sódica de ácido carboxílico (5R),(6Z)-6-(5,6-dihidro-8H-

Imidazo[2,1-c][1,4]oxazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en -2

Paso 1: Morfolina-3-ona

Se preparó morfolina-3-ona siguiendo el método USP 5.349.045.

Paso 2: Morfolina-3-tiona

Se sometió a reflujo durante 1.5 horas una mezcla de morfolina-3-ona (4.7 g) y el reactivo Lawesson (10.3 g) en THF seco (94 mL). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el solvente de reacción se retiró al vacío. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice y se eluyó con CHCl₃-metanol (50:1) para obtener un sólido amarillo. Se obtuvo a través de la cristalización de la solución cruda de hexano-acetato de etilo (4.0 g, 72.2%) el título como polvo amarillo.

¹H NMR (CDCl₃) δ 3.45 (t, 2H, J = 5.1 Hz), 3.91 (t, 2H, J = 5.1 Hz), 4.55 (s, 2H).

Paso 3: 5-metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazina

Se agitó la mezcla de morfolina-3-tiona (4.7 g) y yoduro de metilo (13 mL) en CH₂Cl₂ seco (140 mL) a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla de la reacción se filtró y el sólido se lavó con CH₂Cl₂. El sólido obtenido se disolvió con una solución acuosa (150 mL) K₂CO₃ al 50% y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (8 X 100 mL). La capa CH₂Cl₂ combinada se secó (MgSO₄) y filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y se obtuvo el título como aceite amarillo pálido (3.6 g, 67.8%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.32 (s, 3H), 3.71-3.74 (m, 4H), 4.14-4.15 (m, 2H).

Paso 4: 3-clorhidrato de Iminomorfollna

Se sometió a reflujo durante 1 hora una mezcla de 5-metiltio-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazina (3.6 g) y cloruro amónico (1.5 g) en etanol seco (136 mL). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. El solvente de reacción se retiró al vacío y se obtuvo como título un sólido café pálido (3.6 g, 97.7%).

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.34 (m, 2H), 3.86 (t, 2H, J = 5.2 Hz), 4.47 (s, 2H).

Paso 5: 5,6-dihidro-8H-imidazo-[2,1-c][1,4]oxazina-2-carbaldehído (9) y 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazina-3-carbaldehído

Se sometió azeotrópicamente la mezcla de 2-bromo-3-hidroxipropenal (4.1 g), monohidrato de ácido p-toluensulfónico (52 mg) y 2-propanol (5.2 mL) en ciclohexano (42 mL) hasta que la temperatura vapor alcanzó 80°C. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en etanol seco (50 mL). Se agregó a la mezcla una solución de etanol seco (200 mL) a 3-clorhidrato de iminomorfolina (3.4 g) y metanol al 28% de metilato sódico (4.8 g) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, y luego el solvente de reacción se retiró al vacío. Se disolvió el residuo en cloroformo (125 mL) y se agregó trietilamina (3.5 mL); luego la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se concentró bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en diclorometano (300 mL) y se lavó con una solución acuosa K₂CO₃ al 50% (2 x 100 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄) y filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice y se eluyó con CHCl₃-acetona (4:1) para obtener el título (sólido naranja pálido, 1.4 g, 36.3%) y el otro isómero regio (sólido naranja pálido, 609 mg, 16.1 %).

Producto deseado: ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.08-4.15 (m, 4H), 4.88 (s, 2H), 7.58 (s, 1H), 9.85 (s, 1H).

Regio isómero no deseado. ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.06 (t, 2H, J = 5.2 Hz), 4.40 (t, 2H, J = 5.2 Hz), 4.90 (s, 2H), 7.75 (s, 1H), 9.72 (s, 1H).

Paso 6: sal sódica de ácido carboxílico (5R),(6Z)-6-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2

Se agregó a la solución de acetonitrilo seco (66 mL) de MgBr₂ (3.6 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente acetonitrilo seco 66 mg de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazina-2-carbaldehído (1.2 g); luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se agregó la solución en THF seca (132 mL) de p-nitrobencilo (5R, 6S)-6-bromopenem-3-carboxilato (3.4 g) y la mezcla se enfrió a -20°C; luego se agregó trietilamina (2.8 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilamino piridín (100 mg) y anhídrido acético (1.5 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 18 horas a 0°C. Se agregó solución acuosa de ácido cítrico al 10% (1 L) a la mezcla de reacción y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 500 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua, carbonato de hidrógeno

sódico saturado y salmuera, se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y se obtuvo un crudo *p*-nitrobencil éster de ácido carboxílico (5R)-6-[acetoxi-(5,6-dihidro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2, como un sólido amorfo café.

Se agregó inmediatamente polvo de Zn recientemente activado (14 g), con 0.5 mol/L tamponador de fosfato (pH 6.5, 72 mL) a una solución de THF (72 mL) de éster *p*-nitrobencil de ácido carboxílico (5R)-6-[acetoxi-(5,6-dihidro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2.5 horas a temperatura ambiente. La solución de la reacción se filtró a través de un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (170 mL) y *n*-butanol (170 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con tamponador de fosfato 0.5 mol/L (pH 6.5, 2 x 50 mL). La capa acuosa combinada se concentró a 90 g, se agregó NaOH 1 mol/L para ajustar el pH a 7.5 y se aplicó cromatografía en columna 5 Diaion HP-21 resina (120 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción, la columna se eluyó con agua y luego con una solución acuosa de acetonitrilo al 5%. Las fracciones activas combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizó para obtener el título como un sólido amorfo amarillo (756 mg, 29.1 %).

Mp 130°C (dec): ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 3.98–4.01 (m, 2H), 4.04–4.07 (m, 2H), 4.74 (AB, 2H, $J = 15.3, 22.9$ Hz), 6.40 (d, 1H, $J = 0.8$ Hz), 6.55 (s, 1H), 6.95 (d, 1H, $J = 0.6$ Hz), 7.54 (s, 1H); 1R (KBr) 3412, 1741, 1672, 1592, 1549 cm^{-1} ; $\delta^{\text{max}}(\text{H}_2\text{O})$ 304 mm.

Ejemplo 8

Preparación de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-4*H*-pirrol[1,2-*b*]pirazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: éster etílico de ácido 5,6-dihidro-4*H*-pirrol[1,2-*b*]pirazol-2-carboxílico

El compuesto del título se preparó en la misma forma de Ranganathan y colaboradores (*Indian J. Chem.* 1991, 30 B, 169-175).

Paso 2: (5,6-dihidro-4*H*-pirrol[1,2-*b*]pirazol-2-il)metanol

Se agregó MeOH (2.73 mL) a la solución THF (180 mL) de LiBH_4 (1.63 g) bajo una

atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, luego se agregó a la suspensión éster etílico de ácido 5,6-dihidro-4H-pirrol[1,2-b]pirazol-2- carboxílico (8.11 g) y se agitó durante 2 horas a 40°C. La mezcla se extinguió con HCl 1 mol/L a un pH 1 y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó K₂CO₃ sólido para ajustar el pH a 8 y la mezcla se extrajo con AcOEt. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto del título como cristales café (4.87 g, 78%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.44 (t, 1H, J = 5.8 Hz), 2.54-2.62 (m, 2H), 2.87 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 4.10 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 4.63 (d, 2H, J = 5.8 Hz), 5.96 (s, 1H).

Paso 3: 5,6-dihidro-4H-pirrol[1,2-b]pirazol-2-carbaldehído

Se agregó MnO₂ (activado) (24.4 g) a la solución CHCl₃ (350 mL) de (5,6-dihidro-4H-pirrol[1,2-b]pirazol-2-il)metanol (4.87 g) y se sometió a reflujo durante 1 hora bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita.

El filtrado se redujo bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice; luego la columna se eluyó con n-hexano-AcOEt (1/1 ~ 1/2). Se obtuvo el compuesto del título como un aceite amarillo (4.35 g, 91%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.63-2.71 (m, 2H), 2.95 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 4.22 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 6.52 (s, 1H), 9.89 (s, 1H).

Paso 4: sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-5,6-dihidro-4H-pirrol[1,2-b]pirazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se agregó 5,6-dihidro-4H-pirrol[1,2-b]pirazol-2-carbaldehído (1.36 g) a la solución acetonitrilo seca (148 mL) de anhídrido MgBr₂ (5.52 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se agregó la solución en THF seca (148 mL) de éster-nitrobencilo-4-ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2- (cont. 97%) (3.97 g) a la mezcla, y se enfrió a -20°C, y se agregó Et₃N (4.18 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1.89 mL) y DMAP (123 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 14 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y carbonato de hidrógeno sódico saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida.

106

Se disolvió el residuo en THF (106 mL) y acetonitrilo (49 mL). Se agregó inmediatamente polvo de Zn (22.5 g) recientemente activado, con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 155 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1.5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. La capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C. Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (79 ml, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción la columna se eluyó con H₂O-MeCN (1/0 ~ 9/1). Las fracciones combinadas fueron concentradas bajo un alto grado de vacío a 35°C y liofilizadas para obtener el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (848 mg, 29%, pH 7.1).

Mp 190°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 2.49 (m, 2H), 2.78 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 4.02 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 6.01 (s, 1H), 6.29 (s, 1 H), 6.90 (s, 2H).

Ejemplo 9

Preparación de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-7-oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridina-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: tetrahidropiridinol[1,2-c][1,2,3]oxadiazolona

Se agregó HCl (1.96 mL) y NaNO₂ (2.2 g) a una solución de H₂O (21 mL) de ácido pipecólico DL-(3.04 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 1 hora. La solución se extrajo con CH₂Cl₂ y se lavó la capa orgánica con salmuera. La mezcla se secó con Na₂SO₄ y se concentró bajo una presión reducida para obtener un producto crudo de ácido (2RS)-1-nitrosopiperidina-2-carboxílico como cristales amarillos pálidos.

Se agregó anhídrido trifluoro acético (1.93 g) a una solución en THF (92 mL) de una solución cruda de ácido (2RS)-1-nitrosopiperidina-2 carboxílico bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 5 horas a 0°C y durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución se concentró bajo una presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de Sílice; luego la columna se eluyó con n-hexano-AcOEt (1/1 ~ 0/1). Se obtuvo el compuesto del título como cristales incoloros (1.10 g, 33%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.93-1.99 (m, 2H), 2.08-2.15 (m, 2H), 2.65 (t, 2H, J = 6.5 Hz), 4.26 (t, 2H, J = 6.1 Hz).

Paso 2: Ester etílico de ácido 4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridina-2-carboxílico:

Se agregó etil propiolato (804 mg) a una solución de o-xileno (15 mL) de tetrahidropiridin[1,2-c][1,2,3]oxadiazolona (1.04 g) bajo una atmósfera de nitrógeno y se sometió a reflujo durante 16 horas. La solución se concentró bajo una presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, luego la columna se eluyó con *n*-hexano- AcOEt (2/1 ~ 1/1). Se obtuvo el compuesto del título como un aceite amarillo (871 mg, 65%), y se obtuvo éster etílico de ácido 4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-3 carboxílico como aceite amarillo (345 mg, 26%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.39 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 1.84-1.91 (m, 2H), 2.02-2.09 (m, 2H), 2.82 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz), 4.22 (t, 2H, $J = 6.2$ Hz), 4.39 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 6.53 (s, 1 H).

Paso 3: (4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-2-il)metanol

A la solución THF (19 mL) de LiBH_4 (cont. 90%) (174 mg) se agregó MeOH (0.29 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, luego se agregó éster etílico de ácido 4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-2- carboxílico (862 mg) a la suspensión y en agitación durante 1 hora a temperatura ambiente y durante 1.5 horas a 40°C. La mezcla se extinguió con HCl 1 mol/L a un pH 1 y en agitación durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó K_2CO_3 sólido a la solución para ajustar el pH a 8 y la mezcla se extrajo con AcOEt. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para obtener un compuesto del título como aceite amarillo pálido (691 mg, 95%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.80-1.87 (m, 2H), 1.98-2.05 (m, 2H), 2.77 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz), 2.81-2.84 (br, 1H), 4.09 (t, 2H, $J = 6.1$ Hz), 4.62 (d, 2H, $J = 5.3$ Hz), 5.96 (s, 1H).

Paso 4: 4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-2-carbaldehído

A la solución CHCl_3 (44 mL) de (4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-2-il)metanol (673 mg) se agregó MnO_2 (activado) (3.36 g) y se sometió a reflujo durante 1 hora bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se redujo bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de sílice, luego la columna se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (2/1 ~ 1/2). Se obtuvo el compuesto del título como aceite amarillo

pálido (510 mg, 77%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.90 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 2.84 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz), 4.23 (t, 2H, $J = 6.2$ Hz), 6.52 (s, 1 H), 9.92 (s, 1H).

Paso 5: sal sódica de ácido (5R),(6Z)-7-oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico.

Se agregó 4,5,6,7-tetrahidropirazol[1,5-a]piridin-2-carbaldehído (483 mg) a una solución de acetonitrilo seco (48 mL) de MgBr_2 anhidro (1.81 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se agregó a la solución THF seca (48 mL) de éster 4-nitrobencilo de ácido (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (cont. 97%) (1.28 g) a la mezcla, se enfrió a -20°C , y se agregó Et_3N (1.35 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (0.61 mL) y DMAP (40 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y en agitación durante 16 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5% carbonato de hidrógeno sódico saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida.

Se disolvió el residuo en THF (35 mL) y acetonitrilo (16 mL). Se agregó inmediatamente polvo de Zn (7.43 g) recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 51 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1.5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con acetato de etilo y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C . Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (105 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción, la columna se eluyó con H_2O -MeCN (1/0 ~ 85/15). Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizaron para obtener un compuesto del título como sólido amorfo amarillo (427 mg, 41%. pH 7.7).

Mp 190°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 1.67-1.71 (m, 2H), 1.85-1.89 (m, 2H), 2.64 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), 3.97 (t, 2H, $J = 6.1$ Hz), 5.97 (s, 1H), 6.25 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.88 (s, 1H).

Ejemplo 10

Preparación de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(7-Metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-1imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico

Paso 1: 5-Metoxi-1-metil-3,6-dihidro-1H-pirazina-2-ona

El compuesto del título se preparó de la misma manera que el S. Rajappa y B.G. Advani (Tetrahedron. 1973, 29, 1299-1302).

Paso 2: 5-Amino-1-metil-3,6-dihidro-1H-pirazina-2-ona

Se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y luego se sometió a reflujo durante 2 horas una mezcla de 5-metoxi-17-metil-3,6-dihidro-1 H-pirazina-2-ona (2.3 g) y cloruro amónico (936 mg) en etanol seco (32 mL). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se trituró con cloroformo a temperatura ambiente durante 30 minutos. El precipitado se filtró y se secó al vacío. Se obtuvo el clorhidrato de 5-amino-1-metil-3,6-Dihidro-1H-pirazin-2-ona como un polvo café pálido (1,7 g, 66%).

Se agregó una solución de 5-amino-1-metil-3,6-dihidro-1H-pirazina-2-ona clorhidrato (662mg) en metanol (10 mL) a una solución acuosa de carbonato de potasio al 10% y luego se agitó durante 40 min a 0°C. La mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con cloroformo (18 mL) y metanol (2 mL) a temperatura ambiente durante 30 minutos. El precipitado se filtró y se secó al vacío. El compuesto se obtuvo como un polvo café pálido (515 mg, cuantitativo).

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 2.88 (s, 3H), 3.94 (s, 2H), 4.42 (s, 2H).

Paso 3: 7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-1imidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído y 7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-1imidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldehído

A la solución solución 5-amino-1-metil-3,6-dihidro-1H-pirazina-2-ona (782 mg) en acetonitrilo seco (60 mL) se agregó a temperatura ambiente 2-bromo-3-isopropoxi-propenal (1.3 g) en acetonitrilo seco (60 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas; se agregó trietilamina (0.95 mL) y luego se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se evaporó bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en cloroformo (10mL) y se lavó con una solución acuosa K_2CO_3 (10mL) al 50%. Se extrajo la capa acuosa con cloroformo. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se evaporó bajo presión reducida. Al residuo se

aplicó cromatografía en columna con gel de sílice y se eluyó con CHCl_3 -MeOH (95:5) para obtener un compuesto del título 7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-carbaldehído como un sólido amarillo pálido (541 mg, 49.1%) y su regio isómero 7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldehído como un sólido amarillo pálido (128 mg, 11.6%).

7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído:

^1H NMR (CDCl_3) δ 3.17 (s, 3H), 4.68 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 7.66 (s, 1H), 9.83 (s, 1H).

7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-3-carbaldehído:

^1H NMR (CDCl_3) δ 3.16 (s, 3H), 4.70 (s, 2H), 5.03 (s, 2H), 7.82 (s, 1H), 9.73 (s, 1H).

Paso 4: éster-4-nitrobencilo de ácido carboxílico (5R,6RS)-6-[Acetoxi-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-il)-metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2

Se agregó 7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-carbaldehído (319 mg) a la solución acetonitrilo seco (32 mL) de MgBr_2 anhidro (786 mg) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente.

Se agregó la solución en THF seco (32 mL) de 4-nitrobencilo éster de ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (687 mg) a la mezcla; se enfrió a -20°C , y se agregó trietilamina (0.60 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilaminopiridín (44 mg) y anhídrido acético (0.35 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 20 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y H_2O . Después de separar la capa orgánica se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron con una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice, luego se eluyó con cloroformo. Se obtuvo el compuesto del título como una mezcla diasterea (sólido amorfo amarillo, 410 mg, 38%).

^1H NMR (δ CDCl_3) 2.03 (s, 0.7 x 3 H), 2.09 (s, 0.3 x 3H), 3.15 (s, 3H), 4.59-4.62 (m, 2H), 4.66 (s, 0.3 x 2H), 4.67 (s, 0.7 x 2H), 5.28 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz), 5.43 (d, 0.3 x 1H, $J = 13.5$ Hz), 5.45 (d, 0.7 x 1H, $J = 13.5$ Hz), 6.07 (s, 0.3 x 1H), 6.28 (s,

0.7 x 1H), 6.32 (s, 0.7 x 1H), 6.83 (s, 0.3 x 1H), 6.86 (s, 0.3 x 1H), 7.10 (s, 0.7 x 1H), 7.44 (s, 0.3 x 1H), 7.47 (s, 0.7 x 1H), 7.60 (d, 0.7 x 2H, $J = 8.6$ Hz), 7.61 (d, 0.3 x 2H, $J = 8.6$ Hz), 8.24 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz).

Paso 5: Sal sódica de ácido-7-oxo-6-(4,5,6,7(5R),(6Z)-6-(7-metil-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico y sal sódica de ácido (5R),(6E)-6-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico

Se disolvió en THF (6.7 mL) y acetonitrilo (3.1 mL) éster 4-nitrobencilo de ácido carboxílico (5R,6RS)-6-[Acetoxi-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (481 mg).

Se agregó a la mezcla polvo de Zn (1.92 g) recientemente activado y tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 9.9 mL). El tubo de la reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución de la reacción se agitó con acetato de etilo y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con agua y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizó. El residuo fue separado por HPLC preparada (Inertsil ODS-2, Gl Science Inc., 10 x 250 mm, tamponador de fosfato 0.05 mol/L (pH 7.1): CH₃CN = 93: 7, 4.0 mL/min.). Las fracciones separadas de sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico y sal sódica de ácido (5R),(6E)-6-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico se enfriaron a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0 respectivamente.

Cada solución se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C. A cada concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (60 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción, la columna se eluyó con agua y luego con acetonitrilo-agua 5%. Las fracciones combinadas fueron concentradas bajo un alto grado de vacío a 35°C y liofilizadas para obtener el compuesto del título de sal sódica de ácido (5R),(5Z)-6-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2- carboxílico como un sólido amorfo amarillo (125 mg, 44.4%, Mp 115-117°C (dec)) y el compuesto sal sódica de ácido (5R),(6E)-6-(7-metil-6-oxo-

5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido como un sólido amorfo amarillo (19 mg, 6.7 %) respectivamente.

Compuesto sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

^1H NMR (δ , D_2O) 2.99 (s, 3H), 4.54 (s, 2H), 4.6 (s, 2H), 6.38 (s, 1 H), 6.85 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 7.30 (s, 1H).

Compuesto sal sódica de ácido (5R),(6E)-6-(7-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

^1H NMR (δ , D_2O) 2.94 (s, 3H), 4.45 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 6.22 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 7.69 (s 1H).

Ejemplo 11

Preparación de sal sódica de ácido (5R)(6Z)-6-(6,7-Dihidro-4H-pirazol)[5.1-c][1.4]tiazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico.

Paso 1: ácido (3R)-tiomorfolina-3-carboxílico

El compuesto del título se preparó de la misma forma que Shiraiwa y colaboradores (Biosci. Biotechnol. Biochem. 1998, 62, 2382-2387).

Paso 2: 3-oxo-3a,4,6,7-tetrahidro-3H-2-oxa-5-tia-1-aza-7a-azonioindenida

A una solución HCl 1mol (33.7 mL) de ácido (3R)-tio-morfolina-3 carboxílico (4.96 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y agitada durante 0.5 horas se agregó NaNO_2 (3.14 g). La solución se extrajo con CHCl_3 (5 veces) y la capa orgánica se lavó con salmuera. La mezcla se secó sobre MgSO_4 y se concentró bajo presión reducida para obtener una solución cruda de ácido (3R)-4-nitrosotiomorfolin-3-carboxílico como cristales amarillo pálido.

Se agregó anhídrido trifluoro acético (7.07 g) a la solución cruda en THF (169 mL) de ácido (3R)-4-nitrosotiomorfolin-3-carboxílico bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 3 horas a 0°C y durante 17 horas a temperatura ambiente. La solución se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó

cromatografía en columna de gel de Sílice; luego la columna se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (1/1 ~ 0/1). Se obtuvo el compuesto del título como cristales café pálido (3.41 g, 64%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 3.15 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 3.71 (s, 2H), 4.54 (t, 2H, $J = 5.5$ Hz).

Paso 3: éster etílico de ácido 6,7-dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-carboxílico

A la solución de *o*-xileno (72 mL) de 3-oxo-3^a,4,6,7-tetrahidro-3H-2-oxa-5-tia-1-aza-7a-azonioindenide (3.41 g) se agregó etil propiolato (2.33 g) bajo una atmósfera de nitrógeno y se sometió a reflujo durante 15 horas. La solución se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice; luego la columna se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (2/1 ~ 1/1). El compuesto del título se obtuvo como aceite amarillo (3.13 g, 68%), y fue obtenido otro regio isómero no deseado éster etílico de ácido 6,7-dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-3-carboxílico como aceite amarillo (556 mg, 12%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.31 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 3.04 (t, 2H $J = 5.7$ Hz), 3.81 (s, 2H), 4.32 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 4.40 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 6.54 (s, 1H).

Paso 4: (6,7-dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-il)metanol

A la solución THF (59 mL) de éster etílico de ácido 6,7-Dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2- carboxílico (3.13 g) se agregó bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y en agitación durante 3 horas a 40°C, agregó LiBH_4 (cont. 90%) (536 mg) y MeOH (0.9 mL). La mezcla fue extinguida con HCl 1 mol/L a un pH 1 y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó a la solución K_2CO_3 sólido para ajustar el pH a 8 y la mezcla se extrajo con AcOEt. La capa orgánica se secó (K_2CO_3) y se filtró.

El filtrado se concentró bajo presión reducida para obtener un compuesto del título como aceite Amarillo pálido (2.51 g, quant.).

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.58 (br, 1H), 3.07 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 3.84 (s, 2H), 4.33 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 4.63 (d, 2H, $J = 3.9$ Hz), 6.05 (s, 1H).

Paso 5: 6,7-Dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído

A la solución CHCl_2 (135 mL) de (6,7-Dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazin-2-il)metanol (2.31 g) se agregó MnO_2 (activado) (11.46 g) y se sometió a reflujo durante 1 hora bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al

residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice; luego la columna se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (1/1). El compuesto titulado se obtuvo como cristales amarillo pálido (1.78 g, 78%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 3.15 (t, 2H, $J = 5.8$ Hz), 3.90 (s, 2H), 4.48 (t, 2H, $J = 5.8$ Hz), 6.58 (s, 1H), 9.92 (s, 1H).

Paso 6: Sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(6,7-Dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

A una solución de acetonitrilo seco (39 mL) de MgBr_2 anhidro (1.88 g) se agregó bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente 6,7-dihydro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído (841 mg). Se agregó la solución en THF seca (39 mL) de éster 4-nitrobencilo ácido (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico (cont. 99.7%) (1.93 g) a la mezcla; enfriada a -20°C , y se agregó Et_3N (2.79 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (0.94 mL) y DMAP (61 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 17 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5% y carbonato de hidrógeno de sodio saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida.

El residuo se disolvió en THF (83 mL) y acetonitrilo, (39 mL). Se agregó rápidamente polvo de Zn (7.72 g) recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 122 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1.5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. La capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C . Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (150 ml, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción, la columna se eluyó con H_2O - MeCN (1/0 ~ 85/15). Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y liofilizadas para obtener el compuesto del título como sólido amorfo amarillo (371 mg, 22%, pH 8.0).

Mp 190°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 3.03 (t, 2H, $J = 5.7$ Hz), 3.75 (s, 2H), 4.22 (t, 2H, J

= 5.7 Hz), 6.07 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.89 (s, 1H).

Ejemplo 12

Preparación de sal sódica de ácido (5R)(6Z)-7-oxo-6-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 3-oxo-3a,4-dihidro-3H,6H-2-oxo-5-tia-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenide

A la solución H₂O (166 mL) de L-tioprolina (24.3 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 2 horas se agregó HCl concentrado (15 mL) y NaNO₂ (16.6 g). La solución se extrajo con CH₂Cl₂, la capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida para obtener el derivado de crudo N-nitroso como sólido amarillo.

A la solución en THF (350 mL) de anhídrido trifluoroacético (5.0 mL) se agregó solución cruda N-nitrosotioprolina bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C, y en agitación durante 5 horas a 0°C. La solución se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice; luego la columna se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (1:1). Se obtuvo el compuesto del título como un sólido café pálido (4.0 g, 15.1%).

¹H NMR (CDCl₃): δ 4.04 (t, 2H, *J* = 1.7 Hz), 5.40 (t, 2H, *J* = 1.7 Hz).

Paso 2: éster etílico ácido 4H-5-Tia-1,6a-diazapentalen-2-carboxílico

A la solución de *o*-xilene (130 mL) de 3-oxo-3a,4-Dihidro-3H,6H-2-oxa-5-tia-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenide (4.0 g) bajo una atmósfera de nitrógeno y sometido a reflujo durante 19 horas se agregó etil propiolato (3.1 mL). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice, luego la columna se eluyó con *n*-hexano AcOEt (4:1). Se obtuvo el compuesto del título como sólido amarillo (2.7 g, 49.3%), y se obtuvo etil éster ácido 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-3-carboxílico como cristales amarillos pálido (1.2 g, 21.7%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.40 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 4.11 (d, 2H, *J* = 2.1 Hz), 4.40 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 5.24 (t, 2H, *J* = 1.6 Hz), 6.61 (s, 1H).

Paso 3: (4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-il)metanol

A la solución de éter (126 mL) de éster etílico ácido 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-

carboxílico (2.5 g) y MeOH (0.77 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y sometida a reflujo durante 1.5 horas se agregó LiBH₄ (cont. 90%) (459 mg). La mezcla se extinguió con HCl 1 mol/L (25 mL) y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó y separó por una solución de carbonato de hidrógeno sódico saturado. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (10 x 25 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice, luego la columna se eluyó con AcOEt. Se obtuvo el compuesto del título como un sólido amarillo pálido (1.7 g, 87.9%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.95 (t, 1H, J = 5.6 Hz), 4.07 (s, 2H), 4.62 (d, 2H, J = 5.1 Hz), 5.13 (t, 1H, J = 1.6 Hz), 6.04 (s, 1H).

Paso 4: 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-carbaldehído

A la solución de diclorometano seco (110 mL) de cloruro oxalil (2.0 mL) a -78°C se agregó gota a gota la solución diclorometano seco (8 mL) de dimetilsulfóxido (2.2 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a la misma temperatura. La solución diclorometano (40 mL) de (4H-5-tia-1,6a-diazapentaleno-2-il)metanol (1.7 g) se agregó gota a gota a la mezcla de reacción a -78°C, y en agitación continua durante 15 minutos adicionales a la mezcla de reacción, dejándola calentar a -45°C y en agitación durante 1 hora. Se agregó gota a gota Trietilamina (11.3, mL) y la mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C. Después de 20 minutos, se agregó y se separó la solución de cloruro amónico saturado (50 mL) y agua (100, mL), la capa acuosa se extrajo con AeOEt (3 x 150 mL). Las capas orgánicas se lavaron con agua (200 mL) y salmuera (200 mL), se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de Sílice, luego la columna se eluyó con hexano-AeOEt (1:1). Se obtuvo el compuesto del título como un sólido amarillo (1.7 g, quant).

¹H NMR (CDCl₃) δ 4.13 (s, 2H), 5.26 (d, 2H, J = 1.4 Hz), 6.59 (s, 1H), 9.90 (s, 1H).

Paso 5: sal sódica de p-acido (5R),(6Z)-7-oxo-6-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabiclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

A la solución de acetonitrilo seco (92 mL) de MgBr₂ (5.0 g) bajo de nitrógeno a temperatura ambiente se agregó acetonitrilo seco (92 mL) de 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-carbaldehído (1.7 g), luego se agitó la mezcla durante 10 minutos. Se agregó la solución en THF seca (184 mL), de p-nitrobencilo (5R,6S)-6-

bromopenem-3-carboxilato (4.3 g) y la mezcla se enfrió a -20°C luego se agregó trietilamina (7.4 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilamino piridín (138 mg) y anhídrido acético (2.1 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . Se agregó la solución acuosa de ácido cítrico 1 mol/L (1000 mL) a la mezcla de reacción y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (3 x 400 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secaron (MgSO_4) y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo solución cruda de éster *p*-nitrobencilo de ácido carboxílico(5*R*)-6-[acetoxi-(4*H*-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2, como un sólido amorfo café.

Se agregó inmediatamente polvo de Zn (19.3 g) recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5 mol/L (pH 6.5, 100 mL) a la solución cruda en THF (100 mL) de éster *p*-nitrobencil ácido carboxílico (5*R*)-6[acetoxi-(4*H*-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2.5 horas a temperatura ambiente. La solución de la reacción se filtró a través de un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (200 mL) y *n*-butanol (200 mL).

La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con tamponador de fosfato 0.5 mol/L (pH 6.5, 2 x 50 mL). Las capas acuosas combinadas se concentraron a 90 g., se agregó NaOH 1 mol/L para ajustar el pH a 8.0 y se aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (180 ml, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción, la columna se eluyó con agua y luego con la solución acuosa de acetonitrilo al 15%. Las fracciones activas combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y liofilizaron para obtener el compuesto del título como sólido amorfo amarillo (634 mg, 17.4%, pH 7.25).

Mp 150°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 4.00 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 6.14 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.92 (s, 1H); IR (KBr) 3381, 1752, 1683, 1600, 1558 cm^{-1} λ^{max} (H_2O) 292, 196 nm.

Ejemplo 13

Preparación de sal sódica de ácido (5*R*),(6*Z*)-6-(7-*H*-imidazo[1,2-*c*]tiazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: tiazolidina-4-ona

El compuesto de título se preparó de la misma manera que Marvin M. y Allen R. Harkness. (*Tetrahedron Letters*. 1994, 35, 6971-6974).

Paso 2: Tiazolidin-4-iona

Se agregó reactivos Lawesson (33.5 g) a una solución de tiazolidin-4-ona (14.2 g) en THF seco (690 mL) y se sometió la mezcla a reflujo durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se trituró con una solución $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=7:3$ (65 mL) a temperatura ambiente durante 30 minutos. El precipitado se filtró, se lavó con una solución acuosa $\text{CHCl}_3:\text{n-hexano}=7:3$ (15 mL) y se secó al vacío. Se obtuvo tiazolidina-4-iona como polvo amarillo pálido (10.7 g, 65%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 4.08 (s, 2H), 4.70 (s, 2H).

Paso 3: 4-Metiltio-2,5-dihidro-tiazol

A una solución en ebullición de tiazolidin-4-iona (9.5 g) en cloroformo (400 mL), y sometida a reflujo la mezcla de reacción durante 1.5 horas, se agregó yoduro de metilo (28.4 g). Se agregó a la mezcla de reacción, yoduro de metilo adicional (56.8 g) en 5 porciones a intervalos de 30-60 minutos. Después de someter a reflujo durante una hora adicional, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. Luego se agregó la solución acuosa de carbonato de potasio al 10% (200 mL) y se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. Después de separar la capa orgánica se extrajo la capa acuosa con CHCl_3 (100 mL x 3). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron (MgSO_4) y filtraron. El filtrado se concentró bajo presión reducida y se secó al vacío. Después del secado se obtuvo el compuesto del título como un aceite café (11.09, quant.).

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.51 (s, 3H), 3.91 (t, 2H, $J = 3.5$ Hz), 5.21 (t, 2H, $J = 3.5$ Hz).

Paso 4: Tiazolidina-4-ildeneamina

Se sometió a reflujo durante 27.5 horas una mezcla de 4-Metiltio-2,5-Dihidrotiazol (10.7 g) y cloruro amónico (6.4 g) en etanol seco (400 mL). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en cloroformo (300 mL) y en una solución acuosa de carbonato al 10% (200 mL); luego se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Después de separar la capa orgánica, la capa acuosa se extrajo con cloroformo (100 mL x 55).

Las capas orgánicas se secaron (MgSO_4) y se filtraron. El filtrado se concentró bajo presión reducida y se secó al vacío para obtener una solución cruda de tiazolidin-4-ilideneamina (5.5 g) como un sólido café incluido durante el producto el cual es un derivado de etoxi y 4-Metiltio-2,5-Dihidrotiazol, el cual es el material de inicio. Se determinó que el ratio de estos tres compuestos era 61:34:5 respectivamente por $^1\text{H-NMR}$.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 3.75 (t, 2H, $J = 2.8$ Hz), 4.97 (t, 2H, $J = 2.9$ Hz).

Paso 5: 7-H-Imidazo[1.2-c]tiazol-2-carbaldehído

A la solución de crudo tiazolidin-4-ilideneamine (3.3 g) en acetonitrilo seco (326 mL) a temperatura ambiente se agregó la solución 2-bromo-3-isopropoxipropenal (6.9 g) en acetonitrilo seco (326 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 19.5 horas, se agregó trietilamina (4.9 mL) y luego se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se evaporó bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en diclorometano (300 mL) y se lavó con una solución acuosa de carbonato de potasio al 50% (20 g). Después de filtración y separación se extrajo la capa acuosa con diclorometano (50 mL x 4). Las capas orgánicas se combinaron, secaron (MgSO_4) y se filtraron. El filtrado se evaporó bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna con gel de sílice y se eluyó con CHCl_3 -MeOH (100:3) para obtener crudo 7H-Imidazo[1.2-c]tiazol-2-carbaldehído como sólido café. La solución cruda se recristalizó dos veces desde CHCl_3 - *n*-hexano (1er: 30:5, 2nd: 30:60) a 0°C para obtener el aldehído requerido como cristales café pálido (Rendimiento: 1.84 g, 15 %).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4.09 (t, 2H, $J = 1.3$ Hz), 5.08 (t, 2H, $J = 1.2$ Hz), 7.63 (s, 1H), 9.81 (s, 1H).

Paso 6: Sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(7-H-Imidazo[1.2-c]tiazol-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

A la solución de acetonitrilo seco (116 mL) de MgBr_2 anhidro (2.93 g) se agregó 7-H-imidazo[1.2-c]tiazol-2-carbaldehído (841 mg) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se agregó solución en THF seca (116 mL) de éster 4-nitrobencilo ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (cont. 99.7%) (2.51 g) a la mezcla, enfriado a -20°C y se agregó Et_3N (2.20 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a -20°C y se

trató con anhídrido acético (1.26 mL) y DMAP (160 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida.

El residuo se disolvió en THF (53 mL) y acetonitrilo (25 mL). Se agregó Polvo de Zn (15.1 g) recientemente activado y tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 78 mL) a la mezcla. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz.

La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1.5 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con acetato de etilo y se separó la capa acuosa. La capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C. Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de resina Diaion HP-21 (321 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción la columna se eluyó con H₂O-MeCN (1/0 ~ 9/1). Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizaron para obtener el título del compuesto como un sólido amorfo amarillo (1.1 g, 51% pH 7.5).

Mp 145 °C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 3.85 (s, 2H), 4.88 (s, 2H), 6.32 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 7.27 (s, 1H).

Ejemplo 14

Preparación de ácido (5R, 6Z)-7-oxo-6[(4-dihidro-4H[5,1-c][1,4]oxazina-2-yl)metileno]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: Dietil 1-(2-{[tert-butil(dimetil)silil]ox}etil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato

Se agregó a la solución de dietil 3,5-pirazoldicarboxilato (2.17 g 510 mmol) en acetonitrilo (10 ml), bajo nitrógeno, a carbonato de potasio (2.07 g, 15 mmol), y 2-bromo tosi-t-butildimetilsilano (2.909, 12 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 18 horas. Luego se dejó enfriar a temperatura ambiente, diluido con acetato de etilo (20 ml), y filtrado a través de Magnesol. El lecho del filtro se eluyó con 2 x 10 ml de acetato de etilo, y se evaporó el filtrado combinado. El residuo se disolvió con hexano, usando cromatografía en columna de gel de sílice (70 g). Después de eluir con hexanos (100 mL), la columna se eluyó con acetato de etilo.

121

El eluyente del acetato de etilo se evaporó para obtener 3.71 g. de aceite incoloro; MS/m/e 371 (MH+).

Paso 2: 1-(2-([tert-butil(dimetil)silil]oxi)etil)-1H-pirazol-3,5-dimetanol

A la solución diisobutil aluminio en cloruro de metileno a 0°C se agregó bajo nitrógeno durante 0.5 horas dietil-1-(2-([tert-butil(dimetil)silil]oxi)etil)-1H-pirazol-3,5 dicarboxilato (0.74 g, 2 mmol) en cloruro de metileno (8 ml.). La mezcla se calentó a temperatura ambiente durante 0.5 horas; se extinguió con 15 ml de la solución de cloruro amónico saturada y se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico se lavó con salmuera se secó sobre sulfato sódico anhidro y se evaporó para obtener 0.44g. de un sólido blanco; mp 82-83°C; MS m/e 287 (MH+).

Paso 3: 1-(2-([tert-butil(dimetil)silil]oxi)etil)-1H-pirazol-3,5-dicarbaldehído

Se agregó a una solución agitada de 1-(2-([tert-butil(dimetil)silil]oxi)etil)-1H-pirazol-3,5dimetanol (1.18 g, 4 mmol) en cloruro de metileno (20 ml), a 4-metil morfolina-N-óxido (2.89 g, 24 mmol) y un tamiz molecular 4A (4 g). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se trató con tetrapropilamónico perutenato (0.15 g, 0.04 mmol). La agitación continuó durante 2 horas. La solución de cloruro de metileno se concentró y diluyó con éter (40 mL). La mezcla fue filtrada a través de un lecho de gel de sílice (40 g) y el lecho del filtro se eluyó con éter 2 x 20. El eluyente combinado se lavó con una solución acuosa HCl 1 N y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se evaporó para obtener 0.79 g. de un sólido blanco mp 63-64°C; MS m/e 283 (MH+).

Paso 4: 4-oxo-6,7-dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]oxazina-2-carbaldehído

A la solución de 1-(2-([tert-butil(dimetil)silil]oxi)etil)-1H-pirazol-3,5-dicarbaldehído (1.02 g, 6.07 mmol) en THF (30 ml.) 6.68 ml se agregó una solución de tetrabutilamonioflúor 1.0 M en THF A 0°C. Después de agitar durante una hora la mezcla se trató con 10 ml. de una solución de cloruro amonio saturada y extraída con acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se filtró y evaporó a través de Magnesol. La goma cruda se lavó con hexanos, se secó al vacío y luego se disolvió con cloruro de metileno (20 mL). A esta solución se le agregó 4-metilmorfolina-N-óxido (2.89 g, 24 mmol) y un tamiz molecular 4A (6 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se trató con tetrapropilamonio perutenato (0.11 g, 0.3 mmol). La agitación se continuó durante dos horas. La solución de cloruro de metileno se concentró y diluyó con acetato de etilo (40 ml.). La mezcla se filtró a través de un lecho de gel de sílice (40 g.) y el lecho del filtro se eluyó con acetato

122

de etilo 2x20 mL. El eluyente combinado se lavó con HCl 1N y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó para obtener 0.30 g. de un sólido blanco; 135-136°C; MS m/e 167 (MH+).

Paso 5: 4-nitrobencilo(5R-6-[(acetiloxi)(4-oxo-6,7-dihidro-4H-pirazol[5.1-c][1.4]oxazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato

Se agregó a una solución de MgBr₂ (0.46 g, 2.52 mmol) en acetonitrilo (13 mL) bajo nitrógeno 4-oxo-6,7-dihidro-4H-pirazo[5,1-c][1,4]oxazina-2-carbaldehído (0.14 g., 0.84 mmol) a temperatura ambiente con agitación a 4-nitrobencilo éster de ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (0.32 g, 0.84 mmol) en THF (13 mL) y la mezcla se enfrió a -20°C. Se introdujo trietilamina (0.35 mL 2.52 mmol) y la mezcla se agitó a -20°C en la oscuridad durante 4 horas. Luego se trató con anhídrido acético (0.2 mL, 2.0 mmol), y 4-N,N-dimetilaminopiridin (12 mg, 0.1 mmol), y se mantuvo a 0°C. durante 18 horas. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió con acetato de etilo.

La solución de acetato de etilo se lavó con una solución acuosa 5% de ácido cítrico, solución de bicarbonato de sodio saturada y salmuera, secada sobre sulfato de sodio anhidro y evaporada. Al material crudo se le aplicó cromatografía de gel de sílice (EtOAc/CH₂Cl₂/1:5) para obtener 0.27 g. de un sólido blanco; mp 107-110°C; MS m/e 595 (MH+).

Paso 6: ácido (5R,6Z-7-oxo-6-[(4-oxo-6,7-dihidro-4H-pirazol[5.1-c][1.4]oxazina-2-il)metileno]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico

Se agregó a una solución de 4-nitrobencilo (5R)-6-[(acetiloxi)(4-oxo-6,7-dihidro-4H-pirazo[5,1-e][1,4]oxazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato (0.22 g, 0.37 mmol) en THF (15 mL), bajo nitrógeno de solución tamponador de fosfato (0.5 M, pH 6.5), y 80 mg Pd/C al 10%. La mezcla se hidrogenó a 40-50 psi durante 3 horas, y luego filtró a través de Celita. El lecho del filtro se lavó con THF y el filtrado se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó. El residuo se lavó con eter para obtener 0.07 g. de un sólido amarillo; MS m/e 320 (MH+);

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 4.55-4.57 (m, 2H), 4.76-4.80 (m, 2H), 6.50 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.76 (s, 1H).

Ejemplo 15

Paso 1: Preparación de ácido 6-(6,7-Dihidro-4H-tien[3,2-c]piran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se agregó gota a gota POCl_3 (3.83 mL, 50 mol) a DMF en hielo (3.85ml, 50mmol) en un término de 3 minutos. Se agregó DCM (20 mL) y el baño se removió cuando el medio de reacción se tornó grumoso. La reacción se mantuvo a 23 °C durante 2 horas. Luego se enfrió nuevamente a 0°C; se agregó gota a gota en 3 minutos 4H-piran-4-ona (5 gram, 50mmol) en DCM 10ml. La reacción se mantuvo a 0°C durante 2 horas. Se colocó la mezcla en hielo y en la solución de acetato de sodio y se extrajo con DCM (2x200). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio. El agente de secado se filtró y se concentró para obtener 5.0 gram del producto. El compuesto se disolvió en DCM (200mL) y se agregó 6.0 gram de etil-2-6,7-Dihidro-4H 5-tien[3,2-c]tiopiran-2-carbaldehído-acetato y TEA 10 mL. La mezcla se sometió a reflujo durante 18 horas. Luego se lavó con agua y se secó sobre sulfato de magnesio. Luego se filtró, concentró y se llevó a cromatografía flash con 20 acetato de etilo en hexano. El material recogido se disolvió en 100ml THF y LAH (150 mL, 0.5 M en THF), se inyectó y se mantuvo a 23°C durante 10 minutos. Luego se sometió a reflujo durante 18 horas. Se apagó a 23°C agregándole agua y eventualmente HCl 1 N para aclarar la mezcla. Se extrajo con acetato de etilo (2 x 200mL) y se combinaron las capas orgánicas secándolas sobre sulfato de magnesio. Se filtró y concentró para obtener 2.3 gram del producto. El material crudo se disolvió en DCM (300 mL) y dióxido de manganeso (se agregaron 15 gram). La reacción se mantuvo a 23°C durante 0.5 horas. Luego se agregó 2 x 15 gram del oxidante cada media hora. El material se filtró a través de un lecho de Celita concentrado. La cromatografía en columna Flash dio 1.206 gram (14% rendimiento) de producto aceitoso.

H-NMR: δ 9.84(s, 1H), 7.41 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.00 (t, 2H, $J=5.6$ Hz), 2.96 (t, 2H, $J=5.6$ Hz); MS: 169.1 (M+H)

Paso 2: ácido Preparación de 6-(6,7-Dihidro-4 piran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió ácido (6,7-Dihidro-4-piran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2- carboxílico, en acetonitrilo 20 mL (516 g, 2mmol) y luego se agregó bajo una atmósfera N_2 bromuro de magnesio (516 mg, 2mmol). La mezcla se agitó a 23°C durante media hora. Se inyectó al mismo tiempo 4-nitrobencilo-éster de ácido carboxílico 6-Bromo-7-oxo-4-tia-1-

124

azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno- (770mg, 2mmol) en THF 20 mL. Luego la mezcla se enfrió inmediatamente a -20°C. Posteriormente se inyectó Trietilamina (1 mL) y la mezcla se agitó a -20°C durante tres horas. Luego se inyectó anhídrido acético (0.4 mL) y la mezcla se agitó a 0°C durante 18 horas. El medio de reacción se diluyó 400 mL de acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de 100 mL de ácido cítrico al 5%, 100 mL de bicarbonato de sodio saturado, y 100 mL de salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. Se aplicó cromatografía en columna Flash usando 20% de acetato de etilo en hexano dando como resultado 491mg (41%) del producto. Este producto luego se disolvió en THF 15 mL y 15 mL de tamponador de fosfato acuoso (pH=6.5), la mezcla luego se sometió a 45 psi de hidrógeno durante una hora con 0.5 gram de paladio en carbono al 10%. Luego se filtró a través de un lecho de Celita y se concentró al vacío para remover la mayoría del THF. La solución luego se enfrió a 0°C y se basificó a un pH=8 con hidróxido de sodio 1 N. Luego se purificó a través de HPLC de fase reversa usando 2 litros de agua seguido por acetonitrilo al 5%. Luego se removió el agua a través de un concentrado al vacío y se agregó 100 mg (38%) del producto; MP: >250°C;

H-NMR: δ 7.36 (s, 1H), 7.15(s, 1H), 6.55(s, 1H), 6.44(s, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.88(m, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.27 (m, 2H), 1.43 (t, 3H) MS: 320.3(M-H)

Elemplo 16

Preparación de ácido 6-(6,7-Dihidro-4H-tien[3,2-c]tiopiran-2-Ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: Preparación de 6-(6,7-dihidro-4H-tien[3,2-c]tiopiran-2-carbaldehído

Se agregó gota a gota enfriando en hielo con DMF (3.34 ml, 43mmol) a POCl₃ (4.02ml, 43mmol) durante 3 minutos. Se agregó el DCM (20mL) y el baño se removió cuando el medio de reacción se tomó grumoso. La reacción se mantuvo a 23°C durante 2 horas. Luego se enfrió a 0°C nuevamente; posteriormente se agregó gota a gota durante 3 minutos tetrahidro-tiopiran-4-ona (5 gram, 43mmol) en 10 ml DCM. La reacción se mantuvo a 0°C durante 2 horas, diluido con DCM (250 mL) y luego lavado con un baño de hielo de una solución acuosa de acetato de sodio saturado 200ml. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. Se filtró el agente de secado se concentró y se aplicó cromatografía en columna flash usando 10% de acetato de etilo en hexano para obtener 1.3 gram (8mmol) del producto. El compuesto se disolvió en DCM (100 mL) y se agregó 1.2 ml (11

125

mmol) de etil 2-mercaptoacetato y 1 ml TEA. La mezcla luego se sometió a reflujo durante 18 horas; Luego se lavó con agua y se secó sobre sulfato de magnesio. Se filtró, se concentró y se utilizó cromatografía flash con acetato de etilo 20 en hexano para producir 1.1gram (Rendimiento 11%).

¹H-NMR: δ 6.68(s, 1H), 4.73 (s, 2H), 3.68(s, 2H), 3.04 (t, 2H, J=7.6 Hz), 2.91 (t, 2H, J=7.6Hz); MS (EI): 185.99 (M⁺)

Se disolvió y se inyectó 1.1 gram (4.8 mmol) etil éster de ácido 6,7-Dihidro-4H-tien[3,2-c]tiopiran-2-carboxílico en 100ml THF y LAH (40ml, 0.5 M en DMG) y la reacción se dejó a 23°C durante 10 minutos. Luego se sometió a reflujo durante 18 horas.

Se apagó a 23°C con agua (10 mL). La capa orgánica se decantó y el remanente se lavó con 20ml DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. Se filtraron, concentraron y se usó cromatografía de columna flash con 10-20% de acetato de etilo para producir 940 mg del producto crudo. Este material crudo se disolvió en DCM (40 mL) y dióxido de manganeso (se agregó 2 gram). La reacción se dejó a 23°C durante media hora. Luego el material se filtró a través de un lecho de Celita concentrado. La Cromatografía en columna Flash dio 320mg (36%) del producto.

H-NMR: δ 9.82(s, 1H), 7.46 (s, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.15 (t, 2H, J=7.2 Hz), 2.95 (t, 2H, J=7.2 Hz); MS (EI): 228.02 (M⁺)

Paso 2: Preparación de ácido 6-(6,7-Dihidro-4H-tien[3,2-c]tiopiran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió 6,7-dihidro-4H-tien[3,2-c]tiopiran-2-carbaldehído (320mg, 1.72 mmol) se disolvió en 17ml acetonitrilo y se adicionó eterato de bromuro de magnesio (450 mg, 1.74 mmol) bajo una atmósfera N₂. La mezcla se agitó a 23°C durante media hora. Se inyectó todo al mismo tiempo de 4-nitrobencilo éster de ácido 6-Bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (660mg, 1.72 mmol) en 17ml THF, y la mezcla se enfrió inmediatamente a -20°C. Luego se inyectó Trietilamina (1mL) y se agitó la mezcla a -20°C durante 3 horas. Luego se inyectó a la mezcla anhídrido acético (0.4mL) y se agitó a 0°C durante 18 horas. El medio de reacción se diluyó con 400ml de acetato de etilo y se lavó con 100 ml de ácido cítrico al 5%, 100 ml de bicarbonato de sodio saturado y 100ml de salmuera. Luego la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. Se usó cromatografía en columna Flash acetato de etilo al 20% en hexano para obtener 461mg (44%) del producto. Este producto luego se disolvió en 20ml THF

y 20ml de tamponador de fosfato acuoso (pH=6.5). Luego la mezcla se sometió a 40psi de hidrógeno durante una hora y media con 0.5gram al paladio en carbono al 10%. Luego se filtró través de un lecho de Celita y se concentró al vacío para retirar la mayoría del THF. Luego se enfrió la solución 0°C y se basificó a pH=8 con hidróxido de sodio 1 N. Luego se purificó a través de un HPLC de fase reversa utilizando 2 litros de agua, seguido de 5% de acetonitrilo in agua. Luego se retiró el agua a través de un concentrado al vacío y se recogió 21 mg (8.6%) del producto.

MP: >250°C

H-NMR: 7.34 (s, 1H), 7.18(s, 1H), 6.59(s, 1H), 6.44(s, 1H), 3.71 (s, 2H), 2.93(s, 2H), 2.50 (s, 2H).; MS: 338.0(M+H)

Ejemplo 17

Preparación de ácido 6-(5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tien[3,2-c]piridin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: Preparación de (5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tien[3,2-c]piridin-2-il)-metanol

Se disolvió en 200ml THF dietil éster de ácido 6,7-dihidro-4H-tien[3,2-c]piridina-2,5 dicarboxílico (46 gram, 163mmol). La solución fue inyectada con (1M, THF) 300ml a 23°C. Luego se agitó a 23°C durante 18 horas. La reacción se apagó con 10ml de agua y se secó directamente sobre sulfato de sodio. Se filtró y concentró. Rendimiento 29.3 gram (160mmol, 98%) del producto crudo.

H-NMR: 6.55(s, 1H), 4.70 (s, 2H), 3.41 (s, 2H), 2.86 (t, 2H, J=5.6 Hz), 2.73 (t, 2H, J=5.6 Hz), 2.38 (s, 3H); MS: 184.0(M+H)

Paso 2: Preparación de 5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tien[3,2-c]piridin-2-calbaldehído

Se enfrió a -50-60°C el DMSO (1.7ml, 24mmol) en 5ml CH₂Cl₂. Luego se agregó cloruro de oxalil (1 ml, 11 mmol) en 20ml DCM durante 5 minutos a 50°C. La mezcla se mantuvo a -50°C durante 5 minutos y luego se agregó 1.67 gram (9 mmol) de (5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tien[3,2-c]piridina-2-il)-metanol en 20ml DCM a 50°C y la mezcla se agitó durante otros 15 minutos a 50°C. Posteriormente se agregó trietilamina (7ml) a -50°C y después de 5 minutos se removió el baño y la mezcla se calentó naturalmente a 23°C. Luego se lavó con 100ml de agua y se extrajo con 100ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se

127
secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, concentraron y se usó cromatografía en columna flash de 0-15% de metanol en acetato de etilo. Rendimiento (45%) del producto.

H-NMR: 9.81(s, 1H), 7.42 (s, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.00 (t, 2H, $J=5.6$ Hz), 2.91 (t, 2H, $J=5.6$ Hz), 2.51 (s, 3H); MS: 182.1(M+H)

Paso 3: Preparación de ácido 6-(5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tien[3,2-c]piridin-2-imetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió etil éster de ácido 2-formil-6,7-dihidro-4H-tien[3,2-c]piridina-5-carboxílico (724mg, 4mmol) en 40ml de acetonitrilo y eterato bromuro de magnesio (1.2 gram, 4.65mmol) bajo una atmósfera N₂. Se agitó la mezcla a 23 °C durante media hora. Se agregó 4-nitrobencilo éster de ácido 6-Bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico (1.54 gram, 4mmol) en 40ml THF. Luego se inyectó trietilamina (1mL) y se agitó la mezcla a -20°C durante 3 horas. Luego se inyectó a la mezcla anhídrido acético (0.66 mL) y se agitó a 0°C durante 48 horas. El medio de reacción se diluyó con 500ml de acetato de etilo y se lavó con 50 ml de ácido cítrico al 5%, 50 ml de bicarbonato de sodio saturado y 50ml de salmuera, se usaron otros 300ml de acetato de etilo para lavar cada solución acuosa. Luego la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. Se usó cromatografía en columna Flash usando acetato de etilo al 20% en hexano para obtener 1.56g (64%) de rendimiento. Este producto luego se disolvió en 20ml THF y 20ml de tamponador de fosfato acuoso (pH=6.5). Luego la mezcla se sometió a 40 psi de hidrógeno durante dos horas con 0.5 gram al 10% de paladio en carbono. Luego se filtró a través de un lecho de Celita y se concentró al vacío para retirar la mayoría del THF. Luego se enfrió la solución a 0°C y se basificó a pH=8 con hidróxido de sodio 1 N. Luego se purificó a través de un HPLC de fase reversa utilizando 2 litros de agua, seguido por 5% de acetonitrilo en agua. Luego se retiró el agua a través de un concentrado al vacío y se recogió 112 mg (13%) del producto.

MP: >250°C

H-NMR: δ 7.48 (s, 1H), 7.37(s, 1H), 7.21(s, 1H), 7.10(s, 1H), 3.41 (s, 2H), 2.88 (s, 2H). 2.68(s, 2H), 2.37(s, 3H); MS: 335.0(M+H)

Ejemplo 18

Preparación de: etil éster de ácido 2-(2-carboxi-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-6-ildenometil)-6,7-dihidro-4H-tien[3,2-c]piridin-5-

carboxílico

Se disolvió etil éster de ácido 2-formil-6,7-dihidro-4H-tien[3,2-c]piridina-5-carboxílico (480mg, 2mmol) en 20ml de acetonitrilo y eterato bromuro de magnesio (516 mg, 2mmol) bajo una atmósfera N₂. Se agitó la mezcla a 23 °C durante media hora. Se agregó 4-nitrobencilo éster de ácido 6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2 carboxílico (770 mg, 2mmol) en 20ml THF. Luego se inyectó trietilamina (1mL) y se agitó la mezcla a -20°C durante 3 horas. Luego se inyectó a la mezcla anhídrido acético (0.4 mL) y se agitó a 0°C durante 48 horas. El medio de reacción se diluyó con 200ml de acetato de etilo y se lavó secuencialmente con 50 ml de ácido cítrico al 5%, 50 ml de bicarbonato de sodio saturado y 50ml de salmuera. Luego la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y concentró. Se usó cromatografía en columna Flash acetato de etilo al 20% en hexano, para obtener 690 mg (50%) de rendimiento. Una fracción de este producto (456 mg 0.69mmol) se disolvió en 15ml THF y 15ml de tamponador de fosfato acuoso (pH=6.5). Luego la mezcla se sometió a 40psi de hidrógeno durante dos horas con 0.5gram al 10% de paladio en carbono. Luego se filtró a través de un lecho de Celita y se concentró al vacío para retirar la mayoría del THF. Luego se enfrió la solución a 0°C y se basificó a pH=8 con hidróxido de sodio 1 N. Luego se purificó a través de un HPLC de fase reversa utilizando 2 litros de agua, seguido durante 5% de acetonitrilo en agua. Luego se retiró el agua a través de un concentrado al vacío y se recogió 18mg (5%) del producto.

MP: >250°C

H-NMR: 7.35 (s, 1H), 7.24.(s, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.45(s, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.08 (quartet, 2H, J=7.2 Hz), 3.68 (m, 2H), 2.87(m, 2H), 1.20 (t, 3H, J=7.2 Hz); MS: 393.0(M+H)

Ejemplo 19**Preparación de ácido 7-oxo-6-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo[1,2-a]azepina-2-ilmetileno)-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2- carboxílico****Paso 1: Preparación de 6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo[1,2-a]azepina-2-carbaldehído**

Se disolvió tiocaprolactam (6.45 gram, 50mmol) en 400ml CH₂Cl y se adicionó yoduro de metilo (16ml, 5eq). La mezcla se agitó bajo nitrógeno durante 18 horas. Luego se trató con 100ml de carbonato de potasio (50%, aq.). La capa orgánica luego se secó sobre sulfato de magnesio. Se obtuvo después de filtración y

concentración de 7.3 gram del material. Este material se disolvió en 300ml de etanol y se agregó 2.83 gram de cloruro amónico. La mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. Luego el solvente se removió al vacío. Se agregó la mitad del material a 200ml de etanol seguido por 1.35 gram (25mmol) de metóxido de sodio y 4.8 gram (25 mmol) de 2-bromo-3-isopropoxi-propenal y la mezcla se agitó a 23°C durante 2 horas. Luego se retiró el solvente y se agregó 200ml de cloroformo con 10ml trietil amina. La mezcla se sometió a reflujo durante 2 horas y luego se enfrió a 23°C.

El medio de reacción se dividió entre 300ml DCM y carbonato de potasio 2x150 (50%). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio. Después de filtración y concentración se obtuvo 2.1 gram del producto de aceite.

H-NMR: 9.62 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.45(s, 1H), 4.58 (s, 2H), 2.96 (2m, H), 1.90(m, 2H), 1.72 (m, 2H); MS: 164.9 (M+H)

Paso 2: Preparación de ácido 7-oxo-6-(6,7,8,9-tetrahidro-5H-imidazo[1,2-a]azepina-2-ilmetileno)-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2- carboxílico

Se disolvió 6,7,8,9-Tetrahidro-5H-imidazo[1,2-a]azepine-2-carbaldehído (1.312gram, 8mmol) en 80ml de acetonitrilo y posteriormente se agregó éterato de bromuro de magnesio (2.94gram, 8mmol) bajo una atmósfera N₂. La mezcla se agitó a 23 °C durante media hora. Luego se inyectó 4-nitrobencilo éster ácido carboxílico 6-Bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (1.155gram, 3mmol). Luego se inyectó THF 60ml al mismo tiempo y la mezcla se enfrió inmediatamente a -20°C. Se inyectó trietilamina (4mL) y la mezcla se agitó a -20°C durante 4 horas. Luego se inyectó anhídrido acético (1 mL) y la mezcla se agitó a 0°C durante 20 horas. El medio de reacción se diluyó luego con 500ml de acetato de etilo y se lavó con 100ml de ácido cítrico al 5%, 100 ml de bicarbonato de sodio saturado y 100ml de salmuera. Luego la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. Se filtró y concentró y se usó cromatografía en columna flash con acetato de etilo al 20% en hexano, para obtener 800mg de producto. Este producto luego se disolvió en 20ml THF y 20ml de tamponador de fosfato acuoso (pH=6.5). La mezcla luego se sometió a 40psi de hidrógeno durante 1 hora con 0.5gram al 10% de paladio en carbono. Luego esta se filtró a través de un lecho de Celita y se concentró al vacío para remover la mayoría del THF. La solución luego se enfrió a 0°C y se basificó a un pH=8 con hidróxido de sodio 1 N. Luego se purificó a través de HPLC de fase reversa usando 2 litros de agua seguido de 5% de acetonitrilo en agua. El agua luego se retiró a través de un concentrado al vacío y se recogió 131 mg (31%) del producto.

MP: >250°C

¹H-NMR: δ 7.78 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 3.92(m, 2H), 2.80 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.61(m, 2H), 1.54(m, 2H); MS: 318.2(M+H).

Ejemplo 20

Preparación de Sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(7-Bencilo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 7- etil éster ácido de Bencilo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2- carboxílico

A una solución de etil éster de ácido 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carboxílico, clorhidrato (9.47 g) a temperatura ambiente y en agitación durante 3 horas bajo una atmósfera de nitrógeno se agregó sucesivamente Et₃N (6.27 mL), PhCHO (4.92 mL) a EtOH (81 mL). Luego se agregó NaBH₃CN (2.97 g) a la mezcla de reacción y se agitó durante 19 horas. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celita y se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con 50% K₂CO₃ aq. La capa orgánica se secó (K₂CO₃) y filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de Sílice, luego la columna se eluyó con CHCl₃ - acetona (1/0 ~ 9/1) y CHCl₃ - MeOH (19/1 ~ 9/1). Se obtuvo el compuesto del título como cristales amarillo pálido (4.16 g, 36%).

¹H NMR(CDC₃) δ 1.36(t, 3H, J = 7.1 Hz), 2.87(t, 2H, J= 5.2 Hz), 3.71(s, 2H), 3.75(s, 2H), 4.01(m, 2H), 4.34(q, 2H, J= 7.1 Hz), 7.25-7.34(m, 5H), 7.51 (s, 1H).

Paso 2: 7-Bencilo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído

Se agregó sucesivamente DIBAL 1.01 M en tolueno (1 ml+0.2 ml+0.3 mL) a la solución seca CH₂Cl₂ (5 mL) de etil éster de ácido carboxílico 7-bencilo-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2 (283 mg) bajo atmósfera de nitrógeno a -78°C y se agitó durante 1.5 horas. La mezcla se extinguió con HCl 1 M (5 mL). La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con una solución acuosa al 50% K₂CO₃ aq. y se extrajo la capa acuosa con CH₂Cl₂. La capa orgánica combinada se secó (K₂CO₃) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de sílice, luego la columna se eluyó con CHCl₃ - acetona (9/1 ~ 4/1) y CHCl₃ - MeOH

(19/1). El compuesto del título se obtuvo como cristales incoloros (148 mg, 61%).

^1H NMR(CDCl_3) δ 2.90(t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 3.14(s, 2H), 3.76(s, 2H), 4.06(t, 2H, $J = 5.5$ Hz), 7.28 - 7.35(m, 5H), 7.53(s, 1H), 9.80(s, 1H).

Paso 3: 4-nitrobencilo éster de ácido carboxílico (5R, 6RS)-6-[(RS)-Acetoxi(7-benzil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2

A la solución de acetonitrilo seco (8.7 mL) de MgBr_2 anhidro (325 mg) se agregó bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente 7-Benzil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-carbaldehído (139 mg). Se agregó la solución THF seca (8.7 mL) de 4-nitrobencilo éster de ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (223 mg) enfriada a -20°C y se agregó en una porción Et_3N (0.24 mL). El tubo de reacción se cubrió con un lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 5 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (0.11 mL) y DMAP (7 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa al 5% de ácido cítrico, carbonato de sodio de hidrógeno saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de Sílice, luego la columna se eluyó con *n*-hexano - AcOEt (3/1 ~ 1/1). El compuesto del título se obtuvo como una mezcla diasterea (80/20 sólido amorfo púrpura 233 mg, 61%).

^1H NMR(CDCl_3) δ 1.99(s, 0.8x3H), 2.23(s, 0.2x3H), 2.83 - 2.89(m, 2H), 3.68(d, 2H, $J=4.9$ Hz), 3.71(s, 2H), 3.94 - 4.13(m, 2H), 5.27(d, 1H, $J= 13.6$ Hz), 5.41(d, 0.2x1H, $J= 13.6$ Hz), 5.45(d, 0.8x1H, $J= 13.6$ Hz), 6.05(s, 0.2x1H), 6.28(s, 0.8x1H), 6.31(s, 0.8x1H), 6.790(s, 0.2x1H), 6.193(s, 0.2x1H), 1.01(s, 0.8x1H), 1.211.36(m, 5H), 7.42(s, 0.2x1H), 1.46(s, 0.8x1H), 7.61(d, 2H, $J= 8.6$ Hz), 8.22(d, 2H, $J= 8.6$ Hz).

Paso 4: sal sódica de ácido (5R),(6Z)-6-(7-Bencil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico,

Se disolvió en THF (55 mL) y acetonitrilo (25 mL) 4-nitrobencilo éster ácido carboxílico (5R,6RS)-6-[(RS)-Acetoxi(7-benzil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazina-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (1.27 g). Se adicionó polvo de Zn (5.08 g) recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 80 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para

132

protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se enfrió a 3°C y NaOH 1 M se agregó para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C. Al concentrado se le aplicó cromatografía en columna de gel de resina Diaion HP-21 (79 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de adsorción, la columna se eluyó con H₂O - MeCN(1/0 ~ 4/1). Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y liofilizaron para obtener un compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (390 mg, 49%, pH 7.7).

Mp 180°C (dec); ¹H NMR(D₂O) δ 2.84 - 2.95(m, 2H), 3.61(d, 2H, J = 7.2 Hz), 3.67(s, 2H), 3.96(t, 2H, J = 5.7 Hz), 6.43(s, 1 H), 6.89(s, 1 H), 6.93(s, 1 H), 7.28 - 7.37(m, 6H).

Ejemplo 21

Preparación de ácido (5R,6Z)-7-oxo-6-([5-(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridina-2-il])metileno}-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 2-formil[5-(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridina

A una solución agitada se agregó a temperatura ambiente 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]-5(4H)-piridin (1.05 g, 5.2 mmol) en DMF (20 mL), 3- clorhidrato de cloruro picolil (0.852 g, 5.2 mmol) y N,N-diisopropiletilamine (10 ml, exceso). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas y se apagó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con cloroformo; se lavó con agua y se secó sobre MgSO₄ anhidro. Se filtró y concentró. El producto se purificó por cromatografía en columna de SiO₂ eluyéndolo con acetato de etilo. Semi sólido amarillo pálido. Rendimiento: 800 mg, 59%; M+H 259.

Paso 2: 4-nitrobencilo-6-((acetil-oxi)-[5(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il])metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato

Se agregó sucesivamente bajo una atmósfera argón a temperatura ambiente 2-Formil[5-(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin (516 mg, 2.0 mmol) y la solución THF (20 mL) de 4-nitrobencil éster de ácido carboxílico (5R,6S)-6-

bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (772 mg, 2.0 mmol) al acetonitrilo seco (15 mL) de MgBr_2 anhidro: $\text{O}(\text{Et})_2$ (390 mg, 1.5 mmol). Luego de enfriar a -20°C , se agregó en una porción Et_3N (2.0 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1.04 mL) en una porción; La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa al 5% de ácido cítrico, carbonato de hidrógeno sódico saturado, y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y filtró a través de un lecho de Celita. La capa se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de sílice. Luego la columna se eluyó con acetato de etilo: hexano (1:1). Las fracciones recogidas se concentraron bajo presión reducida y la mezcla de isómeros diastéreos se llevaron al siguiente paso. Sólido amorfo amarillo pálido; Rendimiento: 700 mg, 51%; M+H 685 y 687.

Paso 3: ácido (5R,6Z)-6-([5-(piridin-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3.2-c]piridin]-2-il-metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió en THF (20 mL) y acetonitrilo (10 mL) 4-nitrobencilo-6-((acetil-oxi)-[5(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato (686 mg, 1.0 mmol). Se adicionó inmediatamente polvo de Zn (5.2 g) recientemente activado con taponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 28 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, se enfrió a 3°C , y se agregó NaOH 0.1 M para ajustar el pH a 8.5. El filtrado se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C para obtener precipitado amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna en fase reversa de resina HP21. La columna se eluyó con agua deionizada (2 lits) y posteriormente con CAN al 10%: Agua. Las fracciones que contienen el producto se recogieron y concentraron bajo presión reducida a temperatura ambiente. El sólido amarillo se lavó con acetona y filtró. Seco. Rendimiento: 50 mg, 12% como cristales amarillos; mp. $134\text{--}136^\circ\text{C}$; (M+H) 412.

^1NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ d 2.8 (m, 2H), 2.92 (bm, 2H), 3.6 (m, 2H), 3.86 (s, 2H), 6.3 (s,

1H), 6.41 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.7 (m, 1H), 8.48 (d, 1H), 8.54 (s, 1H).

Ejemplo 22

Preparación de ácido (5R,6Z)-7-oxo-6-([5-(piridina-3-ilcarbonil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridina-2-il]metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 2-Formil[5-(piridin-3-il-carbonil)-4,5,6,7-tetrahidrotien][3,2-c]piridina:

Se agregó a temperatura ambiente a una solución agitada 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]-5(4H)-piridin (606 mg, 3.0 mmol) en DMF (20 mL) nicotinoil cloruro clorhidrato (531 mg, 3.0 mmol) y N,N-diisopropiletilamine (10 mL, en exceso). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas y se apagó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con cloroformo; se lavó bien con agua y se secó sobre MgSO₄ anhidro. Se filtró y concentró. El producto se purificó por cromatografía en columna de SiO₂ eluyéndolo con etilacetato. Semi-sólido amarillo pálido. Rendimiento: 600 mg, 73%; M+H 273.

Paso 2: 4-Nitrobencilo-6-[(acetiloxil)[5(piridin-3-ilcarbonil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il]carbonil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0] hept-2-eno-2-carboxilato

Se agregó sucesivamente bajo una atmósfera argón a temperatura ambiente 2-Formil[5-(piridin-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien][3,2-c]piridin (400 mg, 1.4 mmol) y la solución THF (20 mL) de 4-nitrobencil éster de ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (772 mg, 2.0 mmol) al acetonitrilo seco (15 mL) de MgBr₂ anhidro: O(Et)₂ (619 mg, 2.4 mmol). Luego de enfriar a -20°C, se agregó en una porción Et₃N (2.0 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1.04 mL) en una porción; La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa al 5% de ácido cítrico, carbonato de hidrógeno sódico saturado, y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y filtró a través de un lecho de Celita. La capa se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de sílice. Luego la columna se eluyó con acetato de etilo: hexano (1:1). Las fracciones recogidas

se concentraron bajo presión reducida y la mezcla de isómeros diastéreos se llevaron al siguiente paso. Sólido amorfo amarillo pálido; Rendimiento: 300 mg, 30%; MPT 71°C M+H 701.

Paso 3: sal sódica ácido (5R,6Z)-6-([5-(piridina-3-licarbonil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridina-2-il)]metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió en THF (20 mL) y acetonitrilo (10 mL) 4-nitrobencilo-6-((acetiloxi)[5(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato (800 mg, 1.14 mmol). Se adicionó inmediatamente polvo de Zn (5.2 g) recientemente activado con taponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 28 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, se enfrió a 3°C, y se agregó NaOH 0.1 M para ajustar el pH a 8.5. El filtrado se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C para obtener precipitado amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna en fase reversa de resina HP21. La columna se eluyó con agua deionizada (2 lits) y posteriormente con CAN al 10%: Agua. Las fracciones que contienen el producto se recogieron y concentraron bajo presión reducida a temperatura ambiente. El sólido amarillo se lavó con acetona y filtró. Seco. Rendimiento: 50 mg, 12% como cristales amarillos; mp. 195; (M+H) 426.

Ejemplo 23

Preparación de: ácido (5R,6Z)-7-oxo-6-([5-(fenilacetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)]metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Paso 1: 2-Formil [5-fenilacetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien][3,2-c]piridin:

Se agregó a temperatura ambiente a una solución agitada 2-(formil)-6,7-dihidrotien[3,2-c]-5(4H)-piridin (0.41 mg, 2 mmol) en DMF (20 mL) cloruro acetilfenil (0.35 mg, 2.2 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (10 mL, en exceso). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas y se apagó con agua. La mezcla de reacción se extrajo con cloroformo; se lavó bien con agua y se secó sobre MgSO₄ anhidro. Se filtró y concentró. El producto se purificó por cromatografía en columna de SiO₂ eluyéndolo con etilacetato. Sólido blanco. Rendimiento: 5510 mg

, 89%; M+H 286.

Paso 2: 4-nitrobencilo-6-((acetiloxi)[5(fenilacetil)]4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato:

A acetronitrilo seco (15 mL) de MgBr₂ anhidro: Oeth₂ (310 mg, 1.2 mmol) se agregó sucesivamente bajo una atmósfera argón a temperatura ambiente 2-Formil[5-(fenilacetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien][3,2-c]piridin 340 mg, 1.2 mmol) y la solución THF seca (20 mL) de 4-nitrobencilo éster (390 mg, 1.0 mmol) de ácido carboxílico (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2: Después de enfriar a -20°C se agregó en una porción Et₃N (2.0 mL). EL tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1.04 mL) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado, y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. Al residuo se le aplicó cromatografía en columna de gel de sílice, luego la columna se eluyó con acetato de etilo: hexano (1:1). Las fracciones recogidas se concentraron bajo presión reducida y la mezcla de isómeros diastéreos se llevaron al siguiente paso. Sólido amorfo amarillo pálido; Rendimiento: 360 mg, 50%; M+H 713.

Paso 3: ácido (5R,6Z)-6-([5-(fenilacetil)]4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)]metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió en THF (50 mL) y tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5 4.28 mL) 4-nitrobencilo-6-((acetil-oxi)[5(piridina-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato (300 mg, 0.4 mmol). Esto fue hidrogenado a una presión PSI 40 en presencia de Pd/c 10% 80 mg durante 2 horas. Al final la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite y se concentró. El sólido amarillo separado se disolvió en acetato de etilo y se lavó bien con agua. La capa orgánica se secó y concentró. El sólido amarillo separado se trituró con dietileter y se filtró. El sólido amarillo se lavó bien con dietileter y se encontró que era 95% puro. Rendimiento: 160 mg, 91% sólido amarillo; mp. 166-169°C; (M+H) 439.

Ejemplo 24

Preparación de: sal sódica ácido carboxílico, (5R),(6Z)-6-(5,5-Dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5λ⁶-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-Ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2

Paso 1: 5,5-Dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5λ⁶-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído

A la solución de 6,7 -dihidro-4H-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído (1.86 g) a 0°C se agregó ácido clorobenzoico cont. (69%) (6.36 g) al CH₂Cl₂ (111 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 0.5 horas a la misma temperatura y se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con 10 mL de THF y se filtró para obtener cristales. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con 5 mL de THF y se filtró para obtener cristales. Los cristales combinados se secaron bajo presión reducida para obtener los compuestos del título como cristales incoloros (1.96 g, 89%).

¹H NMR (CDCl₃) δ 3.60 (t, 2H, J = 6.1 Hz), 4.47 (s, 2H), 4.87 (t, 2H, J = 6.1 Hz), 6.71 (s, 1H), 9.94 (s, 1H).

Paso 2: éster 4-nitrobencilo ácido carboxílico (5R),(6RS)-6[(RS)-acetoxi-5,5-Dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5λ⁶-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-Il)-metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2

A la solución de MgBr₂ anhidro (cont. 98%) (S.48 g) bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente se agregó 5,5-Dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5λ⁶-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-carbaldehído (1.9 g) y acetonitrilo seco (1,12 mL). La solución THF (112 mL) de ácido carboxílico 4- nitrobencilo éster (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2eno-2(cont. 96.5%) (3.:88 g) se agregó a la mezcla, se enfrió a -20°C, y Et₃N (cont. 99%) (3.79 mL) se agregó en una porción. El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (cont. 97%) (3.79 mL) y DMAP (cont. 99%) (120 mg) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a 0 5°C y se agitó durante 16 horas a 0°C. A la mezcla de reacción se agregó anhídrido acético (cont. 97%) (0.95 mL) y DMAP (cont. 99%) (120 mg) en una porción. A la mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con

una solución acuosa 5% solución acuosa de ácido cítrico, se saturó con carbonato de hidrógeno de sodio y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4), seguido por concentración bajo presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía en columna de gel de resina Diaion HP-21 (80 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). (CHCl_3 : acetona = 19 : 1 - 4:1) para obtener el compuesto del título como un sólido amorfo café (mezcla diastereo (8 : 2), 1.35 g, 22%).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ (2.07) (s, 3H x 0.2), 2.25 (s, 3H x 0.8), 3.45 - 3.60 (m, 2H), 4.39 (d, 1H, J = 17.0 Hz), 4.44 (d, 1H, J = 17.0 Hz), 4.65-4.78 (m, 2H), 5.28 (d, 1H, J = 13.5 Hz), 5.43 (d, 1H x 0.8, J = 13.5 Hz), 5.44 (d, 1H x 0.2, J = 13.5 Hz), 6.05 (s, 1H x 0.8), 6.20 (s, 1H x 0.8), 6.22 (s, 1H x 0.2H), 6.38 (s, 1H x 0.2), 6.39 (s, 1H x 0.2), 6.79 (s, 1H x 0.8), 7.42 (s, 1H x 0.8), 7.44 (s, 1H x 0.2), 7.60 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 8.24 (d, 2H, J = 8.7 Hz).

Paso 3: sal sódica ácido carboxílico, (5R),(6Z)-6-(5,5-dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5 λ ⁶-pirazol[5,1-c][1,4]tiazina-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico

Se disolvió en THF (19 mL) y acetonitrilo (9 mL) ácido (5R,6Z)-7-oxo-6-[[5-(fenilacetil)-4,5,6,7-tetrahidrotien[3.2-c]piridin-2-il]]metileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico (1.33 g). Se agregó inmediatamente polvo de Zn (5.32 g) recientemente activado con tamponador de fosfato 0.5 M (pH 6.5, 27 mL). El tubo de reacción se cubrió con una lámina para protegerlo de la luz. La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1.5 horas a temperatura ambiente. El material insoluble se filtró y se lavó con H_2O (27 mL). Al filtrado se le agregó H_2O (27 mL) y se lavó con una solución acuosa de acetato de etilo (27 mL) y la capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó HCL 1 M para ajustar el pH a 2.5. La mezcla se agitó durante 1 hora a la misma temperatura y se agregó H_2O (55 mL), luego se agitó durante 4 horas a la misma temperatura. La mezcla se agitó durante 10 horas a temperatura ambiente. La mezcla resultante se enfrió a 3°C y se agregó NaOH 1 M para ajustar el pH a 8.0. La mezcla se concentró bajo un alto grado de vacío a 35°C. El concentrado se trató con cromatografía en columna de gel de resina Diaion HP-21 (80 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.). Después de la adsorción, la columna se eluyó con H_2O -MeCN (1/0 - 9/1). Las fracciones combinadas se concentraron bajo un alto grado de vacío a 35°C y se liofilizaron para obtener el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (306 mg, 38%, pH 7.4).

Mp 180°C (dec); $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 3.83 (t, 2H, J =6.1 Hz), 4.68 (s, 2H), 4.72 (t, 2H, J =6.1 Hz), 6.37 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 6.95 (s, 1H)

Ejemplo 25

Preparación de sal sódica ácido carboxílico (5R), (6Z)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetileno)-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2

Piperazin-2-ácido carboxílico, clorhidrato

El compuesto del título se preparó de la misma forma de M.T. Wu y colaboradores (*Bioorg. Med. Chem. Lett*). 1993, 3, 2023-2028)

Paso 1: Piperazin-1,3-ácido carboxílico-1-(4-nitrobencil) éster

Se agregó $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (15,8 g) a la solución de H_2O (275 ml) de piperazin-2-ácido carboxílico, clorhidrato (22,3 g), luego se sometió la mezcla a reflujo y se agitó durante 10 minutos. El material insoluble se filtró y se lavó con H_2O caliente (165 mL). El producto filtrado se enfrió a temperatura ambiente y se agregó NaHCO_3 (9,2 g) y 1,4-dioxano (220 mL) a la solución azul oscura. La mezcla se enfrió a 0°C y se agregó NaHCO_3 (18,5 g) y solución al 50% de 4-nitrobencil clorofomato en 1,4-dioxano (61,7 g) a la mezcla durante 0,5 hora. Luego de agitar durante otra 1,5 hora a 0°C , el precipitado se filtró y se lavó con H_2O fría (140 mL), EtOH (100 mL), acetona (200 mL) y Et_2O (100 mL) y se dejó secar a presión reducida para obtener cristales azul claro. Los cristales se agregaron a la solución 1 mol/L HCL (330 mL) de EDTA:2Na (20,5 g) durante 30 minutos, y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La suspensión se filtró y el material filtrado se diluyó con EtOH – H_2O (7 : 3,550 mL) y se sometió a reflujo durante 10 minutos. La mezcla de la reacción se filtró para obtener los cristales incoloros. La recristalización del filtrado se hizo 3 veces para obtener cristales adicionales. Los cristales combinados se secaron bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (26,25 g, 77%) como cristales incoloros.

^1H NMR (D_2O) δ 2,54 – 2,61 (m, 1H), 2,89 (dt, 2H, $J = 12,7, 3,4$ Hz), 2,97 (br, 1H), 3,13 (br, 1H), 3,62 – 4,04 (m, 2H), 5,16 (s, 2H), 7,49 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 8,14 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz).

Paso 2: 5-(4-Nitrobencilloxycarbonil)-3-oxo-3a,4,5,6,7-tetrahidro-3H-2-oxa-1,5-diaza-7a-azonialden-3a-uro

La solución de H_2O (300 mL) de NaNO_2 (que contenía 98,5%) (6,66 g) se agregó a la solución de ácido acético (864 mL) de piperazin-1,3-ácido carboxílico 1-(4-nitrobencil) éster (26,72 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C durante 0,5 horas y se agitó durante 1 hora. Además, la solución de H_2O (132 mL) de NaNO_2 (que contenía 98,5%) (2,41 g) se agregó a la solución a 0°C durante 0,5 horas y se agitó durante 1 hora. La solución se concentró a presión reducida y al residuo

se le agregó H₂O (500 mL). La solución se extrajo con AcOEt (5 veces) y la capa orgánica se lavó con salmuera. La mezcla se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para dar 4-nitrosopiperazin-1,3-ácido carboxílico 1-(4-nitrobencil) éster crudo como un café claro amorfo (27,83 g) (brutos), 25,77 g (netos) 88,2%)

La solución THF (10 mL) de anhídrido trifluoroacético (24,0 g) se agregó a la solución THF (371 mL) de 4-nitrosopiperazin-1,3-ácido carboxílico 1-(4-nitrobencil) éster crudo bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C durante 15 minutos. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas a 0°C y durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución THF (5 mL) de anhídrido trifluoroacético (8,0 g) se agregó a la solución durante 5 minutos y se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. A la solución se agregó anhídrido trifluoroacético (8,0 g) durante 5 minutos y la solución se agitó durante 4 horas. El producto precipitado se filtró y se lavó con THF y Et₂O. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con THF, se filtró y se lavó con Et₂O. Estos materiales se combinaron y se secaron a presión reducida para dar el compuesto del título como cristales incoloros (22,3 g, 91%)

¹H NMR CDCl₃) δ 4,06(t, 2H, J = 5,4 Hz), 4,37 (t, 2H, J = 5,4 Hz), 4,63 (s, 2H) 5,30 (s, 2H), 7,54 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 8,25 (d, 2H, J = 8,7 Hz)

Paso 3: 6,7-Dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-2,5-ácido dicarboxílico 2-etil éster 5-(4-nitrobencil) éster

Se agregó propiolato de etilo (que contenía (99% (8,28 g) a la solución de o-xileno (349 mL) de 5-(4-nitrobenciloxycarbonil)-3-oxo-3a,4,6,7-tetrahidro-3H-2-oxa 1,5 diaza-7a-azoniainden-3a-uro (22,3 g) bajo una atmósfera de nitrógeno y se sometió a reflujo durante 16 horas. La solución se concentró a presión reducida, seguida por cromatografía en columna con gel de sílice 3 veces (n-hexano / AcOEt = 2/1 – 1/3). El compuesto del título se obtuvo como cristales amarillo claro (16,78 g, 664%). Además se obtuvo ácido carboxílico 6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-3,5- 3-etil éster 5-(4-nitrobencil) éster como cristales amarillo claro. (6,18 g, 24%).

¹H NMR CDCl₃) δ 1,39 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 4,01 (t, 2H, J = 5,5 Hz), 4,31 (t, 2H, J = 5,5 Hz), 4,40 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 4,79 (s, 2H), 5,29 (s, 2H), 6,64 (s, 1H), 7,54 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 8,24 (d, 2H, J = 8,6 Hz).

141

Paso 4: ácido carboxílico 2-Hidroximetil-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5- nitrobencil éster

Se agregó LiBH_4 (6430 mg) y MeOH (1,2 mL) a la solución THF (267 mL) de 6,7-Dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-2,5-ácido dicarboxílico 2-etil éster 5-(4-nitrobencil) éster (10g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas a 40°C. A la solución se agregó más LiBH_4 (523 g) y MeOH (1,0 mL) y se agitó durante 1 hora a 40°C y 1 hora a 50°C. La mezcla se acidificó con 3 mol/L HCl a pH 2 y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, luego se agregó K_2CO_3 sólido a la solución para ajustar el pH a 8. Se filtró el material insoluble y el filtrado se extrajo con AcOEt. La capa orgánica se secó (K_2CO_3) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía en columna con gel de sílice (CHCl_3 / MeOH = 49/1 – 19/1) para dar el compuesto del título como cristales amarillo claro.

^1H NMR CDCl_3) δ 1,69 (br, 1H), 3,98 (t, 2H, $J = 5,5$ Hz), 4,19 (t, 2H, $J = 5,5$ Hz) 4,65 (s, 2H), 4,75 (s, 2H), 5,28 (s, 2H), 6,08 (s, 1H), 7,53 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 8,24 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz)

Paso 5: ácido carboxílico 2-Formil-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5- 4-nitrobencil éster

Se agregó MnO_2 (activado (84,2 g) a la solución CHCl_3 -MeOH (95 : 5, 253 mL) de ácido carboxílico 2-hidroximetil-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5- - nitrobencil éster (8,42 g), y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de la reacción se filtró a través de un lecho de celita. Se agregó gel de sílice (20 g) al filtrado y el solvente se retiró a presión reducida para dar el recubrimiento de gel de sílice con reactivo crudo. El gel de sílice se adsorbió a cromatografía en columna con gel de sílice y la columna se eluyó con CHCl_3 -MeOH (49/1 a 19/1). El compuesto del título se obtuvo como cristales amarillos (2,82 g, 34%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 4,05, (t, 2H, $J = 5,5$ Hz), 4,32 (t, 2H, $J = 5,5$ Hz), 4,81 (s, 2H), 5,29 (s, 2H), 6,62 (s, 1H), 7,54 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 8,24 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 9,93 (s, 1H)

Paso 6: ácido carboxílico 2-[(RS-Acetoxi-[(5R, 6S)-6-bromo-2-(4-nitrobenciloxycarbonil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-yl]-metil)-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5- 4-nitrobencil éster.

Se agregó ácido carboxílico 2-Formil-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5-4-nitrobencil éster (2,71 g) a la solución de acetonitrilo seco (160 mL) de MgBr₂ (que contenía 98%) (6,17 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La solución THF seca (164 mL) de ácido carboxílico (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.]hept-2-eno-2- 4-nitrobencil éster (que contenía 96,5%) (3,27 g) se agregó a la mezcla, se enfrió a -20°C y se agregó Et₃N (que contenía 99%) (9,24 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 1,5 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (que contenía 97%) (3,19%) y DMAP (que contenía 99%) (203 g) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 1 hora a 0°C. Se agregó anhídrido acético (3,19 mL) a la solución y se agitó durante 15 horas a 0°C. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución acuosa de ácido nítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado, agua y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO₄), seguida por concentración bajo presión reducida. El residuo se purificó tres veces con cromatografía en columna con gel de sílice (*n*-hexano – AcOEt (1/1 a 2/3), CHCl₃ – acetona (29/1 a 19/1) y CHCl₃ – acetona (29/1). El compuesto del título se obtuvo como un amorfo amarillo (mezcla diastereo (64 : 36), 3,30 g, 53%).

¹H NMR CDCl₃) δ 2,06 (s, 3H x 0,36), 2,26 (s, 3H x 0,64), 3,95 – 4,04 (m, 2H), 4,18 (s, 2H), 4,73 (d, 1H, J = 18,2 Hz), 4,78 (d, 1H J = 18,2 Hz), 5,28 (d, 1H, J = 13,5 Hz), 5,28 (s, 2H), 5,43 (d, 1H x 0,64, J = 13,5 Hz), 5,44 (d, 1H x 0,36), 6,06 (s, 1H x 0,64), 6,08 (s, 1H x 0,64), 6,24 (s, 1H x 0,36), 6,27 (s, 1H, 0,36), 6,41 (s, 1H x 0,36), 6,79 (s, 1H x 0,64), 7,42 (s, 1H x 0,64), 7,44 (s, 1H x 0,36), 7,53 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7,60 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 8,24 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 8,24 (d, 2H, J = 8,6 Hz).

Paso 7: Sal sódica de (5R),(6Z)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ylmetil)-4-tia-1-aza-biciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

A la solución de THF (43 mL) y acetonitrilo (20 mL) de 2-[(RS-Acetoxi-[(5R, 6S)-6-bromo-2-(4-nitrobenciloxycarbonil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-yl]-metil)-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5- ácido carboxílico 4-nitrobencil éster se agregó polvo de Zn (12,36 g) rápidamente con 0,5 M de tamponador de

fosfato (pH 6,5, 6,3 mL). El tubo de reacción se cubrió con lámina para protegerlos de la luz. La mezcla de la reacción se agitó enérgicamente durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El material insoluble se filtró y se lavó con H₂O (63 mL). El filtrado se lavó con acetato de etilo (63 mL) y la capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó 1 M HCl para ajustar el pH a 2,5. La mezcla se agitó durante 4 horas a la misma temperatura y se agregó H₂O (63 mL) y 1 M de HCl para ajustar el pH a 2,5, luego se agitó durante 17 horas a la misma temperatura. A la mezcla se agregó 1 M de NaOH para ajustar el pH a 8. La mezcla se concentró a vacío alto a 35°C. El concentrado se trató con Diaion HP-21 (124 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd.) en cromatografía en columna con resina. Luego de la adsorción, la columna se eluyó con H₂O – MeCN (1/10 – 95/5). Las fracciones combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto como un sólido amorfo amarillo (288 mg, 22%, pH 8,8)

Mp 160°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 2,94 (t, 2H, J = 5,6 Hz), 3,67 (d, 1H J = 17,2 Hz), 3,70 (d, 1H, J = 17,2 Hz), 3,82 (t, 2H, J = 5,6 Hz), 5,84 (s, 1H), 6,03 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,67 (s, 1H).

Ejemplo 26

Preparación de (5R(6Z)-6-(5,5-Dimetil-4H-1,6a-diazapentalen-2-ilmetil)-7-Oxo-4-tia-1-azabiclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico, sal sódica 5,5-Dimetil-2-piperidona

Se preparó 5,5-Dimetil-2-piperidona en el método de Nagasawa (*J. Med. Chem.*, 20, 1176 (1977)).

Paso 1: 3,3-Dicloro-5,5-dimetil-2-piperidona

A una solución fría (0°C) agitada de 5,5-dimetil-2-piperidona (30,2 g, 0,24 mol) en 475 mL de CHCl₃, PCl₅ (57,1 g, 0,26 mol) se agregó a una tasa donde la temperatura nunca excedió de 7°C. Una vez estuvo completa la adición, se siguió agitando durante 10 minutos. Se agregó lentamente cloruro de sulfuro (96,6 g, 0,72 mol) lentamente y la mezcla se calentó bajo reflujo durante 1 hora. La solución se concentró bajo presión reducida. El residuo se enfrió en hielo y se diluyó con 250 mL de agua hielo. Luego el producto se extrajo con CHCl₃ (6 x 250 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con CHCl₃-MeOH (50:1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (41,3 g, 88,8%). (*J. Med. Chem.*, 20, 11767 (1977))

144

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,17 (s, 6H), 2,76 (s, 2H), 3,19 (d, 2H, $J = 3,0$ Hz), 6,82 (brs, 1H).

Paso 2: 3-Cloro-5,5-dimetil-2-piperidona

A 40,8 g (0,21 mol) de 3,3-Dicloro-5,5-dimetil-2-piperidona disuelto en 410 mL de AcOH se agregó Pd/C al 10% (50% húmedo, 6,2 g) y NaOAc-3H₂O (62,4 g 0,46 mol) y la mezcla se hidrogenó a 300 kPa durante 20 minutos. La presión del hidrógeno se ajustó a 300 kPa cada 5 minutos. El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se concentró a presión reducida. Se agregaron CHCl_3 (400 mL) y agua (mL) al residuo y la capa acuosa se neutralizó con 4 mol/L de NaOH. La mezcla se separó y la capa acuosa se extrajo con CHCl_3 (5 x 300 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con hexano-AcOEt (1:1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (20,4 g, 59,9%) (*J. Med. Chem.* 20, 1176 (1977)).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,10 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 2,02 (dd, 1H, $J = 10,8, 13,6$ Hz), 2,20 (ddd, 1H, $J = 2,2, 6,7, 13,6$ Hz), 2,97 (ddd, 1H, $J = 2,3, 3,9, 12,1$ Hz), 3,22 (d, 1H, $J = 12,1$ Hz), (4,44 (dd, 1H, $J = 6,8, 10,7$ Hz), 6,66 (brs, 1H).

Paso 3: 4,4-Dimetilpirrolidin-2-ácido carboxílico

Se calentó una suspensión de 20,4 g (0,13 mol) de Cloro-5,5-dimetil-2-piperidona y 45,2 g (0,14 mol) de $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ en 252 mL de agua en un aparato Parr a 150°C durante 6 horas. Luego se agregaron 18,6 g (0,14 mol) de sulfato de amonio. El precipitado se filtró y la solución se concentró bajo presión reducida hasta que se secó. Se obtuvo 4,4-dimetilpirrolidin-2-ácido carboxílico crudo como un sólido blando (37,5 g) (*J. Med. Chem.*, 20, 1176 (1977), EP 0 447 704 A1, página 17).

^1H NMR (D_2O) δ 1,10 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 1,88 (dd, 1H, $J = 7,8, 13,2$ Hz), 2,21 (dd, 1H, $J = 9,2, 13,2$ Hz), 3,12 (dd, 2H, $J = 11,5, 23,5$ Hz) (dd, 1H, $J = 8,1, 8,9$ Hz).

Paso 4: 5,5-Dimetil-3-oxo-3a, 4-dihidro-3H, 6H-2-oxa-5-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenida

A una suspensión de 37,5 g de 4,4-Dimetilpirrolidin-2-ácido carboxílico crudo en 420 mL de AcOH se agregó una solución de 13,3 g (0,19 mol) de NaNO_2

en 210 mL de agua durante 15 minutos a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La solución se concentró a presión reducida. Se agregó acetona (250 mL) al residuo y el precipitado se filtró y la solución se concentró a presión reducida hasta secarse y el 4,4-Dimetilpirrolidin-2-ácido carboxílico crudo se obtuvo como un aceite café.

A una solución de 4,4-dimetil-1-nitrosopirrolidin-2-ácido carboxílico crudo en 252 mL de THF seco se agregó anhídrido trifluoroacético (81,3 g, 0,39 mol) bajo atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 6 horas a 0°C. La solución se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con *n*-hexano – AcOEt (2 : 1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido café (12,0 g, 61, 7%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,38 (s, 6H), 2,71 (s, 2H), 4,12 (s, 2H).

Paso 5: 5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[1,2-b]pirazol-2-ácido carboxílico etil éster

Se sometió a reflujo una solución de 5,5-Dimetil-3-oxo-3a, 4-dihidro-3H, 6H-2-oxa-5-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenida (10,8 g, 0,07 mol) y propiolato de etilo (10,8 mL, 0,11 mol) eno-xileno (350 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno durante 16 horas. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con *n*-hexano – AcOEt (3:1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido café claro (4,63 g, 31,7%) y se obtuvo 5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[1,2-b]pirazol-2-ácido carboxílico etil éster como un sólido amarillo (4,73 g, 32,4%).

5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[1,2-b]pirazol-2-ácido carboxílico etil éster.
 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,29 (s, 6H), 1,40 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz), 2,71 (s, 2H), 3,93 (s, 2H), 4,39 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 6,54 (s, 1H)

5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[1,2-b]pirazol-2-ácido carboxílico etil éster.
 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,32 (s, 6H), 1,33 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz), 2,89 (s, 2H), 3,90 (s, 2H), 4,26 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,90 (s, 1H).

Paso 6: 5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[1,2-b]pirazol-2-carbaldehído

A 4,63 g (22,2 mmol) de 5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4H-pirrolol[1,2-b]pirazol-2-ácido carboxílico etil éster en 222 mL de THF seco se agregó LiAlH_4 (0,85 g, 22,3 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y luego se agitó durante 1 hora. La

mezcla se apagó con agua (5,0 mL) y el precipitado se filtró en un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (50 mL) y THF (150 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y luego se agregó agua (50 mL). La capa acuosa se extrajo con CHCl_3 (5 x 100 mL). La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo 5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[1,2-*b*]pirazol-2-il)metanol como un sólido amarillo (3,19 g).

A 3,19 g de 5,5-Dimetil-5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[1,2-*b*]pirazol-2-il)metanol en 222 mL de CHCl_3 se agregó MnO_2 activado (18,5 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego se sometió a reflujo durante 1 hora. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con hexano-AcOEt (3:1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido café (2,48 g, 68,0% del éster).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,32 (s, 6H), 2,73 (s, 2H), 3,95 (s, 2H), 6,52 (s, 1H), 9,90 (s, 1H)

Paso 7: Sal sódica (5*R*)(6*Z*)-6-(5,5-Dimetil-4*H*-1,6a-diazapentalen-2-ilmetil)-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

La solución de acetonitrilo seco (16 mL) de Dimetil-5,6-dihidro-4*H*-pirrolo[1,2-*b*]pirazol-2-carbaldehído (2,48 g, 15,1 mmol) se agregó a la solución de acetonitrilo seco (90 mL) de MgBr_2 (3,07 g, 16,4 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego la mezcla se agitó durante 15 minutos. La solución de THF seco (106 mL) de *p*-nitrobencil (5*R*, 6*S*)-6-bromopenem-3-carboxilato (5,30 g, 13,8 mmol) se agregó a la mezcla se enfrió a -20°C , y luego se agregó trietilamina (4,6 mL, 33,0 mmol) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilamino piridina (172 mg, 1,4 mmol) y anhídrido acético (2,6 mL, 27,6 mmol) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 16 horas a 0°C . Se agregó a la mezcla de la reacción acetato de etilo (420 mL) y 1 mol/L de solución acuosa de ácido cítrico (210 mL) y se separó. La capa orgánica se lavó con carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo (5*R*)-6-[acetoxi-(5,5-dimetil-4*H*-1,6a-diazapentalen-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster como un amorfo café.

Se agregó rápidamente polvo de Zn (32,0 g) recientemente activado con 0,5 ml/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 167 mL) al THF (114 mL) y solución de acetonitrilo (53 mL) de (5*R*)-6-[acetoxi-(5,5-dimetil-4*H*-6*a*-diazapentalen-2-*il*)metil]-6-bromo-7-oxo-4-*ta*-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de a luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se enfrió a 0°C y luego se ajustó el pH a 8,0. Se agregó acetato de etilo (85 mL) a la mezcla y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con agua (120 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con 0,5 mol/L de tamponador de fosfato (pH 6,2 x 50 mL). Las capas acuosas combinadas se enfriaron a 0°C y luego el pH se ajustó a 8,5. La mezcla se concentró a 325 g y luego se aplicó a la cromatografía en columna la resina Diaion HP-21 (240 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con agua (480 mL) y luego solución acuosa de acetonitrilo (10%; 480 mL, 20%, 720 mL). Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amorfo (2,00 g, 42,8%, pH 7,16).

Mp 150°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 1,19 (s, 6H), 2,67 (s, 2H), 3,85 (s, 2H), 6,15 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 7,03 (s, 1H); IR (KBr) 3422, 1752, 1683, 1598, 1557 cm⁻¹, λ_{max} (H₂O) 296, 198 nm.

Ejemplo 27

Preparación de sal sódica de (5*R*),(6*R*)-6-(5,6-Dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]furan-2-*il*metil)-7-oxo-4-*ta*-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: 5,6-Dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]furan-2-ácido carboxílico metil éster

El compuesto del título se preparó según el procedimiento de Tim Johnson y colaboradores (*Synlett* 2001, 5,646-648).

Paso 2: (5,6-Dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]furan-2-*il*)metanol

Se agregó 5,6-Dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]furan-2-ácido carboxílico metil éster (2,24 g) a la solución THF (59 mL) de LiAlH₄ (511 mg) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 1 hora a 0°C. La mezcla se apagó con 10 mL de agua y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida y la solución acuosa obtenida se extrajo con CHCl₃. La capa orgánica se lavó con salmuera y

se secó en MgO_4 y se filtró. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (1,86 g, cant).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,66 (t, 1H, $J=5,9$ Hz), 2,38 – 2,46 (m, 2H), 2,50 – 2,55 (m, 2H), 2,65 – 2,70 (m, 2H), 4,54 (d, 2H, $J=5,9$ Hz), 6,15 (s, 1H)

Paso 3: 5,6-Dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-carbaldehído

Se agregó MnO_2 activado (9,3 g) a la solución CHCl_2 (135 mL) de (5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-il)metanol (1,86 g) y se sometió a reflujo durante 1 hora bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de la reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (9/1 – 7/1). El compuesto del título se obtuvo como cristales amarillos (1,51 g, 77%)

^1H NMR (CDCl_3) δ 2,47 – 2,58 (m, 2H), 2,63 (t, 2H, $J=6,8$ Hz), 2,78 (t, 2H, $J=7,3$ Hz), 7,06 (s, 1H), 9,44 (s, 1H).

Paso 4: (5R,6RS)-6-[(RS)-Acetoxi(5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico-4-nitrobencil éster

La solución de acetonitrilo (50 mL) de 5,6-Dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-carbaldehído (1,33 g) se agregó a la solución de acetonitrilo seco (101 mL) de MgBr_2 anhidro (cont. 98%) (5,52 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La solución THF seca (151 mL) de (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico 4-nitrobencil éster (cont 96,5%) (3,91 g) se agregó a la mezcla, se enfrió a -20°C , y Et_3N (cont. 99%) (8,28 mL) se agregó en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (cont. 97%) (4,13 mL) y DMAP (cont. 99%) (121 mg) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 16 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y luego se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía en columna con gel de sílice (*n* – hexano: AcOEt=4:1 – 3:1) para dar el compuesto del título como un sólido amorfo café (3,34 g, 61%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 2,21 (s, 3H), 2,40 – 2,48 (m, 2H), 2,53 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 2,69 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 5,28 (d, 1H, $J = 13,5$ Hz), 5,43 (d, 1H, $J = 13,5$ Hz), 6,00 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,60 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 8,24 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz).

Paso 5: Sal sódica de (5R),(6Z)-6-(5,6-Dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Se disolvió, (5R,6RS)-6-[(RS)-Acetoxi(5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico-4-nitrobenzilo éster (3,28 g) en THF (46 mL) y acetonitrilo (21 mL). Se agregó rápidamente polvo de Zn (13,12 g) recientemente activado con 0,5 M de tamponador de fosfato (pH 6,5, 67 mL). El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 1,25 horas a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se lavó con acetato de etilo y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se enfrió a 3°C y se agregó 1M NaOH para ajustar el pH a 8,0. La mezcla se concentró a vacío alto a 35°C . El concentrado se aplicó a cromatografía en columna con resina Diaion HP-21 (181 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con H_2O -MeCN (1/10-85/15). Las fracciones combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el producto del título crudo (288 mg). Este se purificó por cromatografía en columna con resina Diaion HP-21 (100 mL, Mitsubishi Kasei Co., Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con H_2O -MeCN (1/10-85/15). Las fracciones combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amarillo amorfo (185 mg, 10%, pH 7,2).

Mp 170°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 2,24 – 2,30 (m, 2H), 2,37 (t 2H, $J = 6,5$ Hz), 2,52-2,57 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz), 6,32 (s, 1H), 6,55 (s, 1H), 6,73 (s, 1H) (s, 1H).

Ejemplo 28

Preparación de sal sódica de (5R),(6Z)-6-(4,5-Dihidro-6-tia-1-7a-diazainden-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: DL-Tetrahidro-1,3-tiazin-4-clorhidrato de ácido carboxílico

Se preparó DL-Tetrahidro-1,3-tiazin-4-clorhidrato de ácido carboxílico según el método de Lewis (*J. Med. Chem.* 21, 1070 (1978)),

Paso 2: 4,5-Dihidro-3aH,7H-2-oxo-6-tia-1-aza-7a-azonioinden

A una suspensión de *DL*-Tetrahidro-1,3-tiazin-4-clorhidrato de ácido carboxílico (48,6 g, 0,26 mol) en 666 mL de AcOH se agregó una solución de 27,4 g (0,40 mol) de NaNO₂ en 333 mL de agua durante 16 minutos a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La solución se concentró a presión reducida. Se agregó acetona (300 mL) al residuo y el precipitado se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida hasta que se secó y se obtuvo 3-nitroso[1,3]tiazin-4-ácido carboxílico crudo como un sólido amorfo café.

A una solución de 3-nitroso[1,3]tiazin-4-ácido carboxílico crudo en 530 mL de THF seco se agregó anhídrido trifluoroacético (168,4 g, 0,80 mol) durante 60 minutos bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 5 horas a 0°C. La solución se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna de gel de sílice y luego la columna se eluyó con *n*-hexano – AcOEt (1:2). El compuesto del título se obtuvo como un polvo café (28, g, 67,0%)

¹H NMR (CDCl₃) δ 3,00 (t, 2H, *J*= 5,7 Hz), 3,07 (t, 2H, *J*= 5,7 Hz), 5,16 (s, 2H).

Paso 3: 4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-ácido carboxílico etil éster

Se sometió a reflujo una solución de 4,5-Dihidro-3aH,7H-2-oxo-6-tia-1-aza-7a-azonioinden (28,0 g, 0,18 mol) y propiolato de etilo (27,0 mL, 0,27 mol) en *o*-xileno (590 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno durante 16 horas. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna de gel de sílice, y luego la columna se eluyó con *n*-hexano AcOEt (3:1). El compuesto del título se obtuvo como agujas café pálidas (22,1 g, 58,7%) y se obtuvo 4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-ácido carboxílico etil éster como cristales café claro (12,7 g, 33,9%).

4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-ácido carboxílico etil éster ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,39 (t, 3H, *J*= 7,1 Hz), 2,98 (t, 2H, *J*= 6,1 Hz), 3,21 (t, 2H, *J*= 6,1 Hz), 4,40 (q, 2H, *J*= 7,1 Hz), 5,17 (s, 2H), 6,60 (s, 1H).

4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-3-ácido carboxílico etil éster ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,34 (t, 3H, *J*= 7,1 Hz), 2,99 (t, 2H, *J*= 6,1 Hz), 3,45 (t, 2H, *J*= 6,1 Hz), 4,28 (q, 2H, *J*= 7,1 Hz), 5,11 (s, 2H), 7,85 (s, 1H).

Paso 4: 4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-carbaldehído

A 22,1 g (0,10 mol de 4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-ácido carboxílico etil éster en 520 mL de THF seco se agregó LiAlH_4 (3,95 g, 0,10 mol) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C, y luego se agitó durante 45 minutos. La mezcla se apagó con agua (20 mL) y el precipitado se filtró a través de un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (100 mL) y THF (250 mL). El filtrado se concentró a presión reducida y luego se agregó agua (300 mL). La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (6x500 mL). La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo crudo como cristales amarillo claro (17,2 g).

A 17,2 gramos del crudo (4,5-dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-il)metanol en 520 mL de CHCl_3 se agregó MnO_2 activado (88,0 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna de gel de sílice y luego la columna se eluyó con hexano-AcOEt (2:1). El compuesto del título se obtuvo como cristales amarillos (13,0 g, 74,5 %).

^1H NMR (CDCl_3) δ 3,00 (t, 2H, $J=6,0$ Hz), 3,23 (t, 2H, $J=6,0$ Hz), 5,18 (s, 2H), 6,58 (s, 1H), 9,92 (s, 1H).

Paso 5: Sal sódica de (5R)(6Z)-6-(4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

La solución de acetonitrilo seco (11 mL) de 4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-carbaldehído (1,70 g, 10,1 mmol) se agregó a la solución de acetonitrilo seco (60 mL) de MgBr_2 (2,03 g, 11,0 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, y luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. La solución THF seca (mL) de *p*-nitrobencilo (5R,6S)-6-bromopenem-3-carboxilato (3,55 g, 9,2 mmol) se agregó y la mezcla se enfrió a -20°C y luego se agregó trietilamina (3,1 mL 22,2 mmol) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilamino piridín (0,11 g, 0,9 mmol) y anhídrido acético (1,8 mL, 18,6 mmol) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C. A la mezcla de la reacción se agregó acetato de etilo (280 mL) y 1 mol/L de solución acuosa de ácido cítrico (140 mL) y se separó. La capa orgánica se lavó con carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo

(5*R*)-6-[acetoxi-(4,5-dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster crudo como un sólido amorfo café.

Se agregó rápidamente polvo de Zn (21,4 g) recientemente activado con 0,5 ml/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 112 mL) al THF (76 mL) y solución de acetonitrilo (36 mL) de (5*R*)-6-[acetoxi-(4,5-dihidro-6-tia-1,7^a-diazainden-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se enfrió a 0°C y luego se ajustó el pH a 8,0. Se agregó acetato de etilo (56 mL) a la mezcla y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con agua (150 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con 0,5 mol/L de tamponador de fosfato (pH 6,5 x 2 x 30 mL). Las capas acuosas combinadas se enfriaron a 0°C y luego el pH se ajustó a 8,0. La mezcla se concentró a 236 g y luego se aplicó a la cromatografía en columna la resina Diaion HP-21 (240 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con agua (960 mL) y luego solución acuosa de acetonitrilo (5%; 960 mL, 10%; 960 mL, 20%; 960 mL). Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amorfo (1,28 g, 40,5%, pH 7,45).

Mp 200°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 2,95 (t, 2H, *J* = 6,1 Hz), 3,12 (t, 2H, *J* = 6,1 Hz), 5,08 (s, 2H), 6,23 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 7,01 (s, 1H); IR (KBr) 3382, 1752, 1684, 1597, 1554 cm⁻¹, λ^{max} (H₂O) 366, 292, 197 nm.

Ejemplo 29

Preparación de sal sódica de (5*R*),(6*Z*)-6-(6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirizín-2-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: Preparación de 5,5-Dimetil-2-piperidona

Se preparó 5,5-Dimetil-2-piperidona (1) según el método de Nagasawa (*J. Med. Chem.* 23, 1176 (1977))

Paso 2: Preparación de 3,3-Dimetil-6-metoxi-2,3,4,5-tetrahidropiridin

Se agregó trimetiloxonio tetrafluoroborato (97%, 11,9 g, 78 mmol) a la solución de diclorometano seco (156 mL) de 5,5-Dimetil-2-piperidona (9,93 g, 78

mmol) a temperatura ambiente y se agitó durante 14 horas. La mezcla de la reacción se neutralizó con solución acuosa de carbonato de hidrógeno sódico al 10%, y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 120 mL), y luego la capa orgánica combinada se lavó con solución acuosa de carbonato de hidrógeno sódico al 10% y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el compuesto del título se obtuvo como un aceite amarillo claro (9,0 g, 82,0%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,92 (s, 6H), 1,49 (t, 2H, $J=7,0$ Hz), 2,18 (t, 2H, $J=7,0$ Hz), 3,19 (s, 2H), 3,63 (s, 3H).

Paso 3: 5,5-Dimetilpiperidin-2-ildeneamina monoclóhidrato

La mezcla de 3,3-dimetil-6-metoxi-2,3,4,5-tetrahidropiridin (9,0 g 64 mmol) y cloruro de amonio (3,4 g, 64 mmol) en etanol seco (160 mL) se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla de la reacción luego se concentró a presión reducida y el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (9,9 g, 946%).

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 0,95 (s 6H), 1,52 (t, 2H, $J=6,9$ Hz), 2,55 (t, 2H, $J=6,9$ Hz), 2,99 (d, 2H, $J=2,1$ Hz)

Paso 4: 6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-carbaldehído & 6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-3-carbaldehído

La mezcla de 2-bromo-3-hidroxipropenal (10,1 g, 67 mmol), monohidrato de *p*-ácido toluensulfónico (0,13 g, 0,6 mmol) y 2-propanol (12,6 mL, 165 mmol) en ciclohexano (100 mL) se sometió a mezcla azeotrópica hasta que la temperatura del vapor estuvo por encima de 80°C . La mezcla de la reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOH seco (200 mL). Se agregó la solución de EtOH seco (350 mL) de 5,5-Dimetilpiperidin-2-ildeneamina monoclóhidrato (9,9 g, 61 mmol) y la solución de EtOH (50 mL) de NaOMe (28%, 11,7 g, 61 mol) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y luego la solución de la reacción se retiró al vacío. El residuo se disolvió en CHCl_3 (300 mL) y se agregó trietilamina (8,5 mL, 61 mmol) y luego la mezcla de la reacción se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla de la reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego la solución de reacción se retiró al vacío. El residuo se disolvió en CH_2Hl_2 (600 mL) y se lavó con solución acuosa de K_2CO_3 al 50% (2 x 200 mL). La combinación acuosa combinada se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 200 mL). La capa orgánica combinada se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se

aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, se eluyó con CHCl_3 -metano. (50:1) y se obtuvo el compuesto del título 6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-carbaldehído (sólido café, 4,4 g, 40,7 %) y 6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-3-carbaldehído (sólido naranja, 17,7 g, 15,8 %).

6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-carbaldehído: ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,10 (s, 6H), 1,78 (t, 2H, $J=6,9$ Hz), 2,95 (t, 2H, $J=6,9$ Hz), 3,71 (s, 2H), 7,46 (s, 1H), 9,83 (s, 1H)

6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-3-carbaldehído: ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,09 (s, 6H), 1,74 (t, 2H, $J=6,8$ Hz), 2,97 (t, 2H, $J=6,8$ Hz), 4,05 (s, 2H), 7,74 (s, 1H), 9,64 (s, 1H)

Paso 5: Sal sódica de (5R),(6Z)-6-(6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

La solución de acetonitrilo seco (28 mL) de 6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-carbaldehído (4,55 g, 26 mmol) se agregó a la solución de acetonitrilo seco (152 mL) de MgBr_2 (5,22 g, 28 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, y luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. La solución de THF seco (180 mL) de *p*-nitrobencil (5R, 6S)-6-bromopenem-3-carboxilato (8,94 g, 23 mol) se agregó a la mezcla y se enfrió a -20°C y luego se agregó trietilamina (7,8 mL, 58 mmol) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilamino piridin (0,29 g, 2,4 mmol) y anhídrido acético (4,4 mL, 47 mmol) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 16 horas a 0°C . Se agregó acetato de etilo (715 mL) a la mezcla de la reacción y luego la capa orgánica se lavó con 1 mol/L, solución acuosa de ácido cítrico, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo (5R)-6-[acetoxi-(6,6-dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-a]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster crudo como un sólido amorfo café.

Se agregó rápidamente polvo de Zn (53,6 g) recientemente activado con 0,5 ml/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 282 mL) al THF (192 mL) y solución de acetonitrilo (90 mL) de (5R)-6-[acetoxi-(6,6-dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol

[1.2.a]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se enfrió a 0°C y luego se ajustó el pH a 7,6. Se agregó acetato de etilo (140 mL) a la mezcla y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con agua (200 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con 0,5 mol/L de tamponador de fosfato (pH 6,5 x 2 x 50 mL). El pH de las capas acuosas se ajustó a 8,1 y la mezcla se concentró a 584 g. Se agregó 1 mol/L de NaOH para ajustar el pH a 8,2 y se aplicó la cromatografía en columna a la resina Diaion HP-21 (240 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con 2,5% (2 vol. de lecho), 5% (2 vol. De lecho), 10% (1 vol. de lecho) y solución acuosa de acetonitrilo al 20%. Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar sal sódica de (5*R*),(6*Z*)-6-(6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirizin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico cruda como un sólido amorfo amarillo (1,19 g).

La sal sódica de (5*R*),(6*Z*)-6-(6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirizin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico cruda se purificó mediante la preparación HPLC (Mightysil RP-18 GP (5 m), Kanto Chemical Co. Inc., 35 x 250 mm, 0,05 mol/L tamponador de fosfato (pH 7,2); CH₃CN = 70:30, 20 mL/min). El producto purificado se desalinizó por cromatografía en columna con resina Diaion HP-21 (50 mL) y el compuesto del título se obtuvo (230 g, 2,8%) como un sólido amorfo amarillo.

Mp 210°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 0,91 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 1,63 (t, 2H *J*= 6,8 Hz), 2,72 (t, 2H, *J*= 6,8 Hz), 3,60 (s, 2H), 6,44 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 7,19 (s, 1H).

Ejemplo 30

Preparación de (5R),(6Z)-6-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazin-3-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

La solución de acetonitrilo seco (40 mL) de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazin-3-carbaldehído (813 mg) se agregó a la solución de acetonitrilo seco (40 mL) de MgBr₂ (2,2 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se agregó la solución de THF seco (80 mL) de *p*-nitrobencil (5R,6S)-6-bromopenem-3-carboxilato (2,1 g), la mezcla se enfrió a -20°C y luego se agregó trietilamina (1,7 mL) en una porción. El tubo de la reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 3,5 horas a -20°C y se trató con 4,4-dimetilamino piridina (64 mg) y anhídrido acético (0,9 mL) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 14 horas a 0°C. Se agregó a la mezcla de la reacción solución acuosa de ácido nítrico al 10% (500 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). La capa orgánica se lavó con agua, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y se eluyó con CH₂Cl₂-acetona (20:1) para obtener (5R)-6-[acetoxi-(5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazin-3-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster como un sólido amorfo café.

El sólido obtenido con la cromatografía anterior se disolvió en THF (11 mL)

Se agregó rápidamente polvo de Zn (1,4 g) recientemente activado con 0,5 mL/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 11 mL). El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. La reacción se filtró a través de un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (26 mL) y *n*-butanol (26 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con 0,5 mol/L de tamponador de fosfato (pH 6,5 2 x 5 mL). La capa acuosa combinada se concentró a 18 g, se agregó 1 mol/L de NaOH para ajustar el pH a 7,3 y se aplicó a cromatografía en columna con resina Diaion HP-21 (20 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con agua y luego solución acuosa de acetonitrilo (5%). Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (81 mg).

157

Mp 145°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 3,05-3,08 (m, 1H), 3,83 (s, 1H), 4,13-4,16 (m, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 7,04 (s, 1H); IR (KBr) 3371, 1770, 1672, 1613 cm^{-1} , λ^{max} (H_2O) 314 nm.

Ejemplo 31

Preparación de sal sódica de (5R)(6Z)-7-Oxo-6-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: Preparación de 3-Oxo-3a,4-dihidro-3H,6H-2-oxa-5-tia-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenida

La conc. HCl (15 mL) y NaNO_2 (16,6 g) se agregó a la solución H_2O (166 mL) de *L*-tioprolina (24,3 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 2 horas. La solución se extrajo con CH_2Cl_2 , la capa orgánica se secó en MgSO_4 y se concentró a presión reducida para dar el compuesto N-nitroso crudo como un sólido amarillo.

Se agregó anhídrido trifluoroacético (5,0 mL) a la solución THF (350 mL) de N-nitroso tioprolina crudo bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 5 horas a 0°C. La solución se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con *n*-hexano – AcOEt (1:1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido café claro (4,0 g, 151,1%)

^1H NMR (CDCl_3) δ 4,04 (t, 2H, $J = 1,7$ Hz), 5,40 (t, 2H, $J = 1,7$ Hz).

Paso 2: Preparación de 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ácido carboxílico etiléster

Se agregó propiolato de etilo (3,1 mL) a la solución de *o*-xileno (130 mL) de 3-Oxo-3a,4-dihidro-3H, 6H-2-oxa-5-tia-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenida (4,0 g) bajo una atmósfera de nitrógeno y se sometió a reflujo durante 19 horas. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con *n*-hexano – AcOEt (4:1). El título del compuesto se obtuvo como un sólido amarillo (2,5 g, 49,3%), y se obtuvo 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ácido carboxílico etiléster como cristales amarillos claros (1,2g, 21, 7%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,40 (t, 3H, $J=7,1$ Hz), 4,11 (d, 2H, $J=2,1$ Hz), 4,40 (q, 2H, $J=7,1$ Hz), 5,24 (t, 2H, $J=1,6$ Hz), 6,61 (s, 1H)

Paso 3: Preparación de (4H-5-Tia-1,6a-diazapentalen-2-Il)metanol

Se agregó LiBH_4 (cont. 90%) (459 mg) a la solución de éter (126 mL) de 4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ácido carboxílico etiléster (2,5 g) y MeOH (0,77 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego se sometió a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla se apagó con 1 mol/L HCl (25 mL) y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó por medio de una solución de carbonato de hidrógeno sódico saturado y se separó. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (10 x 25 mL). La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con AcOEt. El compuesto del título se obtuvo como un sólido amarillo claro (1,7 g, 87,9%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 2,95 (t, 1H, $J=5,6$ Hz), 4,07 (s, 2H), 4,62 (d, 2H, $J=5,1$ Hz), 5,13 (t, 1H, $J=1,6$ Hz), 6,04 (s, 1H).

Paso 4: Preparación de 4H-5-Tia-1,6a-diazapentalen-2-carbaldehído

La solución de diclorometano seco (8 mL) de dimetilsulfóxido (2,2 mL) se agregó por gotas a la solución de diclorometano seco (110 mL) de cloruro de oxalil (2,0 mL) a -78°C . La mezcla de la reacción se agitó durante 15 minutos a la misma temperatura. La solución de diclorometano seco (40 mL) de (4H-5-Tia-1,6a-diazapentalen-2-Il)metanol (1,7 g) se agregó por gotas a la mezcla de reacción a -78°C y se continuó agitando durante otros 15 minutos. Se dejó calentar la mezcla de la reacción a -45°C y se agitó durante 1 hora. Se agregó trietilamina (11,3 mL) por gotas y se dejó calentar la mezcla de la reacción a 0°C . Luego de 20 minutos, se agregó solución de cloruro de amonio saturado (50 mL) y agua (100 mL) y se separó. La capa acuosa se extrajo con AcOEt (3 x 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (200 mL) y salmuera (200 mL), se secaron (MgSO_4) y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con hexano-AcOEt (1:1). El compuesto del título se obtuvo como un sólido amarillo (1,7 g, cant).

^1H NMR (CDCl_3) δ 4,13 (s, 2H), 5,26 (d, 2H, $J=1,4$ Hz), 6,59 (s, 1H), 9,90 (s, 1H).

Paso 5: Preparación de sal sódica de (5R),(6Z)-7-Oxo-6-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0]hept-2-en -2-ácido carboxílico

La solución de acetonitrilo seco (92 mL) de 4H-5-Tia-1,6a-diazapentalen-2-carbaldehído (1,7 g) se agregó a la solución de acetinitrilo seco (92 mL) de MgBr₂ (5,0 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se agregó la solución de THF seco (184 mL) de *p*-nitrobencil (5R,6S)-6-bromopenem-3-carboxilato (4,3 g), la mezcla se enfrió a -20°C y luego se agregó trietilamina (7,4 mL) en una porción. El tubo de la reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4,4-dimetilamino piridina (138 mg) y anhídrido acético (2,1 mL) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C. Se agregó a la mezcla de la reacción solución acuosa de ácido cítrico 1mol/L (1000 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 400 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera, se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo (5R)-6-[acetoxi-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster como un amorfo café.

Se agregó rápidamente polvo de Zn (19,3 g) recientemente activado con 0,5 ml/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 100 mL) a la solución THF (10 mL) de (5R)-6-[acetoxi-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicciclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de a luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 2,5 horas a temperatura ambiente. La solución de la reacción se filtró a través de un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (200 mL) y *n*-butanol (200 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con 0,5 mol/L de tamponador de fosfato (pH 6,5 2 x 50 mL). Las capas acuosas combinadas se concentraron a 90 g, se agregó 1mol/L de NaOH para ajustar el pH a 8,0 y se aplicó a cromatografía en columna con resina Dialon HP-21 (180 mL, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con agua y luego solución acuosa de acetonitrilo (15%). Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (634 mg, 17,4%, pH 7,25)

Mp 150°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 4,00 (s, 2H), 5,09 (s 2H), 6,14 (s, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,92 (s, 1H); IR (KBr) 3381, 1752, 1683, 1600, 1558 cm^{-1} , λ^{max} (H_2O) 292, 196 nm.

Ejemplo 32

Preparación de sal sódica de (5*R*)(6*Z*)-6-(2,3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

Paso 1: Preparación de 3-Oxo-3a, 4-dihidro-3H, 6H-2-oxa-4-tia-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenida

A una suspensión de tiazolidin-2-ácido carboxílico (39,9 g, 0,30 mol) en 1,000 ml de ácido acético se agregó una solución de 31,0 g (0,45 mol) de nitrito de sodio en 500 mL de agua durante 13 minutos a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas. La solución de la reacción se concentró a presión reducida. Se agregó acetona (500 mL) al residuo y el precipitado se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con acetona (500 mL). El filtrado se concentró a presión reducida hasta que se secó y se obtuvo 3-nitrosotiazolidin-2-ácido carboxílico crudo como un sólido amarillo.

A una solución de 3-nitrosotiazolidin-2-ácido carboxílico crudo en 600 ml de tetrahydrofurano seco se agregó anhídrido trifluoroacético (189,6 g, 0,90 mol) durante 20 minutos bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y se agitó durante 19 horas a 0°C. La solución se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con *n*-hexano-etil acetato (1:1). El compuesto del título se obtuvo como un cristal café claro (19,2 g, 44,5%).

^1H NMR (CDCl_3) δ 3,98 (t, 2H, $J = 7,7$ Hz), 4,65 (t, 2H, $J = 7,7$ Hz).

Paso 2: Preparación de 2,3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-ácido carboxílico etil éster y 2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-ácido carboxílico etil éster

Se agregó propiolato de etilo (20,3 ml, 0,20 mol) a una solución *o*-xileno (600 ml) de 3-oxo-3a, 4-dihidro-3H, 6H-2-oxa-4-tia-1-aza-6a-azonio-3a-pentalenida (19,2 g, 0,13 mol) bajo una atmósfera de nitrógeno y se sometió a reflujo durante 21 horas. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a una cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con *n*-hexano-etil acetato (2:21 a 1:1). La mezcla de 2,3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-ácido carboxílico etil éster y 2,3-

dihidropirazolo[5.1-*b*]tiazol-7-ácido carboxílico etil éster se obtuvo como un aceite café en la proporción de 1:1,5, respectivamente. (21,2 g, Rendimiento: 80,0%).

2,3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-ácido carboxílico etil éster, ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,39 (t, 3H $J=7,1$ Hz), 3,82 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 4,39 (q, 2H, $J=7,1$ Hz), 4,42 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 6,52 (s, 1H)

2,3-dihidropirazolo[5.1-*b*]tiazol-7-ácido carboxílico etil éster ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,34 (t, 3H $J=7,1$ Hz), 3,85 (t, 2H, $J=7,8$ Hz), 4,28 (q, 2H, $J=7,1$ Hz), 4,39 (t, 2H, $J=7,8$ Hz), 7,87 (s, 1H).

Paso 3: 2,3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-carbaldehído y 2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-carbaldehído

A la mezcla (21,2 g (0,11 mol)) de 2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-ácido carboxílico etil éster y 2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-ácido carboxílico etil éster en 540 ml de tetrahidrofurano seco se agregó LiAlH_4 (4,05 g, 0,11 mol) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C y luego se agitó durante 2,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla se apagó con agua (15 ml) y el precipitado se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con agua (100 ml) y tetrahidrofurano (500 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y luego se agregó agua (150 ml). La capa acuosa se extrajo con diclorometano (15 x 250 ml). Las capas orgánicas se secaron (MgSO_4) y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo una mezcla de (2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-il) metanol y (2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-il metanol como un aceite café claro.

A la mezcla [15,5 g (0,10 mol)] de (2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-il) metanol y (2,3-dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-il metanol en 500 ml de cloroformo se agregó MnO_2 activado (77,7 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego se sometió a reflujo durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a una cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con hexano-etil acetato (2:1 a 1:1). El compuesto del título 2,3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-carbaldehído se obtuvo como un cristal amarillo (2,50 g, 15,2%) y 2,3-dihidro-pirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-carbaldehído se obtuvo como un sólido café claro (5,57 g, 33,8).

3-Dihidropirazolo[5,1-*b*]tiazol-6-carbaldehído; ^1H NMR (CDCl_3) δ 3,86 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 4,45 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 6,50 (s, 1H), 9,83 (s, 1H).

2,3-dihidro-pirazolo[5,1-*b*]tiazol-7-carbaldehído; ^1H NMR (CDCl_3) δ 3,92 (t, 2H, $J=7,9$ Hz), 4,40 (t, 2H, $J=7,9$ Hz), 7,91 (s, 1H), 9,76 (s, 1H).

Pas 4: Preparación de sal sódica de (5R)(6Z)-6-(2,3-Dihidropirazolo[5,1-b]tiazol-6-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

Una solución de acetonitrilo seco (19 mL) de 2,3-dihidropirazolo[5,1-b]tiazol-6-carbaldehído (2,50 g, 16,2 mol) se agregó a una solución de acetonitrilo seco (106 mL) de MgBr_2 (3,67g, 19,9 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se agregó una solución de tetrahidrofurano seco (125 mL) de *p*-nitrobencil (5R,6S)-6-bromopenem-3-carboxilato (6,23 g, 16,2 mmol) y la mezcla se enfrió a -20°C y luego se agregó trietilamina (5,4 ml, 38,7 mmol) en una porción. El tubo de la reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 3 horas a -20°C y se trató con 4,4-dimetilamino piridina (198 mg), 1,62 mol) y anhídrido acético (3,1 ml, 32,9 mmol) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 16 horas a 0°C . Se agregó etil acetato (500 ml) a la mezcla de la reacción y luego la capa orgánica se lavó con 1mol/l de solución acuosa de ácido cítrico, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se obtuvo (5R)-6-[acetoxi-(2,3-dihidropirazolo[5,1-b]tiazol-6-ilmetil)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster como sólido un amorfo café.

Se agregó rápidamente polvo de Zn (37,4 g) recientemente activado con 0,5 ml/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 196 mL) a la solución THF (134ml) y acetonitrilo (62 ml) de (5R)-6-[acetoxi-(2,3-dihidropirazolo[5,1-b]tiazol-6-ilmetil)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico *p*-nitrobencil éster. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se enfrió a 0°C , y luego el pH se ajustó a 8,0. Se agregó etil acetato (100 ml) a la mezcla de la reacción. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celita y el lecho se lavó con agua (300 mL). La capa acuosa se separó y luego la capa orgánica se extrajo con 0,5 mol/L de tamponador de fosfato (pH 6,5 2 x 50 mL). El pH de la capa acuosa combinada se ajustó a 8,0 y la mezcla se concentró a 426 g. Se ajustó el pH del concentrado a 8,0 y se aplicó a cromatografía en columna con resina Diaion HP-21 (540 ml, Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con agua (1 vol. Lecho) y luego 5% (2 vol. Lecho), 10% (2 vol. Lecho) y solución acuosa de acetonitrilo al 20%. Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron

para dar el compuesto del título como un sólido amorfo naranja (2,09 g, 39,2%, pH 7,10)

Mp 150°C (dec); ^1H NMR (D_2O) δ 3,75 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 4,27 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 6,00 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,85 (s, 1H) 6,94 (s, 1H); IR (KBr) 3392, 1755, 1596, 1554 cm^{-1} , λ^{max} (H_2O) 290, 223 nm.

Ejemplo 33

Preparación de Sal sódica (5R)(6Z)-6-(2,3-Dihidropirazolo[5.1.b]oxazol-6-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: Preparación de etil2,3-dihidropirazolo[5,1-b][1,3]oxazol-6-carboxilato:

A la suspensión agitada de etil-5-hidroxi-1H-pirazol-3-carboxilato (10,34 g, 0,66 mol) y 36,62 g de carbonato de potasio en 500 ml de acetonitrilo se agregó 13,68 g de 1,2-diclorometano y se sometió a reflujo durante 16 horas. Se dejó enfriar la mezcla de la reacción a temperatura ambiente, luego se filtró y el sólido se lavó con acetonitrilo. El filtrado se concentró en un aceite. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se extrajo con agua. La fase orgánica se secó en MgSO_4 y se evaporó hasta que se secó. Se obtuvo 5,80 g del producto deseado (48%)

Paso 2: Preparación de 2,3-dihidropirazolo[5,1-b][1,3]oxazol-6-metanol:

A la solución agitada de etil2,3-dihidropirazolo[5,1-b][1,3]oxazol-6-carboxilato (5,47 g, 35 mmol) en 100 ml de THF se agregó 1,05 g de borohidruro de litio y 1,54 g de metanol. La solución se calentó a 40°C durante 2,5 horas. La reacción se apagó con 1N HCl y se ajustó el pH a 1,3 y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El pH de la mezcla de la reacción se ajustó a 8 con K_2CO_3 . La mezcla de la reacción se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó en MgSO_4 y se concentró en un aceite y se aplicó cromatografía en columna para dar 2,68 g del producto deseado (65%).

Paso 3: Preparación de 2,3-dihidropirazolo[5,1-b][1,3]oxazol-6-carbaldehído:

A la solución agitada de 2,3-dihidropirazolo[5,1-b][1,3]oxazol-6-metanol (2,60 g, 18,5 mol) en 60 ml de CH_3Cl se agregó 12,9 g de MnO_2 . La suspensión se sometió a reflujo durante 1,5 hora bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de la

reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se concentró para dar un aceite amarillo. El producto se purificó por cromatografía. Se obtuvo 2,15 g del producto (84,3%).

Paso 4: 4-Nitrobencil(5R)-6-(acetoxi)(2,3-dihidropirazolo[5,1-b[1,3]oxazol-6-ii)-metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato

Se agregó sucesivamente 2,3-dihidropirazolo[5,1-b[1,3]oxazol-6-carbaldehído (607 mg, 4,3 mmol) y la solución de THF seco (20 mL) de (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico 4-nitro-bencil éster (1,54 g, 4,6 mmol) a la solución de acetonitrilo seco (15 mL) de $MgBr_2$ anhidro; $O(Et)_2$ (2,21 g, 8,5 mmol) bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente. Luego de enfriarse a $-20^\circ C$, se agregó Et_3N (2,0 mL) en una porción. El tubo de la reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 2 horas a -20° y se trató con anhídrido acético (1,04 mL) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a $0^\circ C$ y se agitó durante 15 horas a $0^\circ C$. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó ($MgSO_4$) y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones recogidas se concentraron a presión reducida y la mezcla de diastereoisómeros se tomó para el siguiente paso. Sólido amorfo amarillo claro; Rendimiento: 1,9 g, 81%; $M+H$ 566.

^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8,24 (2H, d, $J=6,6$ Hz), 7,60 (2H, d, $J=6,6$ Hz), 7,44 (1H, s) 6,34 (1H, s), 6,23 (1H, s), 5,56 (1H, s), 5,44 (1H, d, $J=10,2$ Hz), 5,27 (1H, d $J=10,2$ Hz), 5,04 (2H, m), 4,30 (2H, m), 2,10 (3H, s).

Anal. Cal. Para $C_{21}H_{17}BrN_4O_6S$: C, 44,61, H, 3,03, N, 9,91

Se encontró: C, 45,00 H, 3,14, N, 9,533,98

Paso 5: Sal sódica de (5R,6Z)-6-(2,3-dihidropirazolo[5,1-b[1,3]oxazol-6-ii)-metil]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Se disolvió 4-Nitrobencil(5R)-6-(acetoxi)(2,3-dihidropirazolo[5,1-b[1,3]oxazol-6-ii)-metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato (700 mg, 1,2 mmol) en THF (20 mL), acetonitrilo (10 mL) y 0,5 M de tamponador de fosfato (pH 6,5, 28 mL) y se hidrogenó en Pd/C al 10% a una presión psi de 40. Luego de 4 horas, la mezcla de la reacción se filtró, se enfrió a $3^\circ C$ y se agregó 0,1 M de NaOH para ajustar el pH a 8,5. El filtrado se lavó con acetato de etilo y la capa

acuosa se separó. La capa acuosa se concentró a vacío alto a 35°C para dar un precipitado amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna de fase inversa con resina HP 21. Inicialmente, la columna se eluyó con agua desionizada (2 lts) y más tarde con acetonitrilo al 10%: agua. Las fracciones que contenían el producto se recogieron y se concentraron a presión reducida a temperatura ambiente. El sólido amarillo se lavó con acetona y se filtró. Se secó. Rendimiento: 276 mg, 73% como un sólido amorfo amarillo: (M+H+Na)⁺314.

¹H NMR (D₂O) δ 6,97 (1H, s), 6,95 (1H, s), 6,46 (1H, s), 5,56 (1H, s), 5,07 (2H, d, J= 6,3 Hz), 4,30 (2H, t J= 6,3 Hz)

Ejemplo 34

Preparación de (5R,6Z)-6-[(5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il)metilen]-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico (mezcla de isómeros E+Z, sal sódica)

Paso 1: 5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-carbaldehído

A una suspensión fría (0°C) de 1,5 g (7,4 mmol) de 4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-carbaldehído clorhidrato en 50 mL de cloruro de metileno, bajo N₂ atm, condiciones secas, se agregó por gotas bajo agitación 2,6 mL (2,5 eq) de trietilamina. Se agitó RM durante 30 minutos a 0°C y se agregó por gotas una solución de 0,7 g (8,1 mmol, 1,1 eq) de cloruro de acetilo en 15 mL de cloruro de metileno; se dejó que el RM alcanzara RT y se agitó durante 3 horas. Se filtró a través de un lecho de celita, el filtrado se lavó con 3x 50 mL de agua, se secó, se evaporó, para dar 1,1 g (71,4%) del compuesto del título como un aceite viscoso (M+H)⁺ 210,3.

Paso 2: Preparación de 4-nitrobencil[(5R)-6-[(acetiloxi)(5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato

5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-carbaldehído (540 mg, 2,57 mmol) y la solución de THF seco (20 mL) de (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico 4-nitro-bencil éster (950 mg, 2,5 mmol) se agregaron sucesivamente a la solución de acetonitrilo seco (15 mL) de MgBr₂·O(Et)₂ (2,21 g, 8,5 mmol) bajo una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Luego de enfriar a -20°C, Et₃N (2,0 mL) se agregó en una porción. El

tubo de la reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1,04 mL) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó (MgSO_4) y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, luego la columna se eluyó con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones recogidas se concentraron a presión reducida y la mezcla de diastereoisómeros se tomó para el siguiente paso. Sólido amorfo amarillo claro; Rendimiento; 870 mg, 53%; m.p. $46-48^{\circ}\text{C}$; $(\text{M}+\text{H})^+$ 637,6.

^1H NMR (CDCl_3) δ 2,15 (t, 6H); 2,8-3,0 (m 2H); 3,7-3,9 (m, 2H); 4,58-4,68 (m, 2H); 5,30-5,45 (dd, 2H); 5,85 (d, 1H); 6,71 (s, 1H); 6,95 (s, 1H); 7,35-7,45 (d, 1H); 7,60 (dd, 2H); 8,25 (dd, 2H).

Paso 3: (5R,6Z)-6-[(5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il)metileno]-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico (mezcla de isómeros E+Z, sal sódica)

Una solución de 0,77 g (1,21 mmol, 4-nitrobencil(5R)-6-[(acetiloxi)(5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c] piridin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato en 40 mL THF y 40 mL de solución tamponadora de fosfato ($\text{pH}=6,36$) se hidrogeno a 40 psi durante 3 horas en la presencia de 0,4 g de catalizador Paladio en Carbono al 10%. La mezcla de la reacción se filtró a través de un lecho de celita, el filtrado se ajustó a $\text{pH}=8,0$, se concentró al vacío, el residuo se purificó en una columna de fase inversa (amberlite), utilizando una mezcla de 5%, 10% ACN/agua como solvente, para dar 0,107 g (23%) del compuesto del título, como cristales rojizos, m.p. $362,4^{\circ}\text{C}$, $(\text{M}+\text{H})^+$ 409,5

^1H NMR: δ 2,08 (s, 3H); 2,80-2,95 (m, 1H); 3,74 (m, 2H); 3,98-4,06 (d, 2H); 6,32-6,42 (s 1H); 6,50-6,60 (s, 1H); 6,98-7,20 (s 1H); 7,30-7,40 (s 1H).

Ejemplo 35

Preparación de (5R,6Z)-6-(6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: 4-Nitrosomorfolin-3-ácido carboxílico

A una solución de morfolin-3-ácido carboxílico (6,96 g, 52 mmol) en agua (20 ml), a 0°C bajo nitrógeno, se agregó ácido clorhídrico concentrado (4 ml) seguido por nitrito sódico (5,0 g, 72 mmol) en porciones pequeñas. La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora y luego se concentró al vacío a 30-35°C. El residuo se agitó con 200 ml de acetona y se filtró. El filtrado se evaporó y el residuo se trató con 50 ml de THF y se concentró. El proceso se repitió con 2x50 ml de THF para dar 11,7 de una espuma amarilla clara; MS(ESI) m/z 159 (M-H).

Paso 2: 6,7-Dihidro-4H-[1,2,3]oxadiazolo[4,3-c][1,4]oxazin-8-io-3-olato

El 4-nitromorfolin-3-ácido carboxílico (11,0 g) del paso 1 se disolvió en THF (250 ml) y se enfrió a 0°C. Se agregó una solución de anhídrido trifluoroacético (7,4 ml, 52 mmol) en THF (20 ml) agitando durante 10 minutos. La mezcla que resultó se agitó a 0°C durante 5 horas y se calentó a temperatura ambiente durante 16 horas. El solvente se evaporó y el residuo se diluyó con 250 ml de acetato de etilo y se agitó con 30 g de carbonato de potasio anhidro. La mezcla se filtró a través de un lecho de gel de sílice y el filtrado se evaporó. El residuo se lavó con una mezcla de acetato de etilo-éter para dar 3,80 g de un sólido blanco; mp 132-133°C; MS (ESI) m/z 143,1 (M+H).

Paso 3: Etil 6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c]oxazin-2-carboxilato

A una solución parcial de 6,7-Dihidro-4H-[1,2,3]oxadiazolo[4,3-c][1,4]oxazin-8-io-3-olato (3,41 g, 24 mmol) en o-xileno (80 ml) se agregó propiolato de etilo (2,7 ml, 26 mmol). La mezcla se agitó a 140°C durante 3 horas. Luego se agregaron otros 2,0 ml (19 mmol) de propiolato de etilo y la mezcla se agitó a reflujo durante 18 horas. La solución final se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en una mezcla de cloruro de metileno y hexanos (1:5). Se pasó la solución a través de un lecho de gel de sílice y el lecho se eluyó con cloruro de metileno-hexanos, seguido por acetato de etilo. El eluyente de acetato de etilo se evaporó y el residuo se lavó con hexanos para dar 4,10 g de un sólido blanco; mp 63°C; MS (ESI) m/z 197,1 (M+H).

Paso 4: 6,7-Dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetanol

A una solución de etil 6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-carboxilato (1,57 g, 8,0 mmol) en cloruro de metileno (30 ml) se agregaron 24 ml de una solución 1,0 M de hidruro de diisobutilaluminio en cloruro de metileno a 0°C, bajo nitrógeno. Luego de agitar durante 0,5 horas a 0°C, la mezcla se calentó a temperatura

ambiente durante 2 horas. Luego se trató con 30 ml de solución de cloruro de amonio saturado y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con salmuera, se secó en sulfato sódico anhidro, se filtró y se evaporó para dar 1,27 g de un aceite incoloro; MS (ESI) m/z 155,3 (M+H).

Paso 5: 6,7-Dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-carbaldehído

A una solución de 6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetanol (1,08 g, 7,0 mmol) en 1,2-dicloroetano (30 ml) se agregaron 5,4 g de dióxido de manganeso activado a temperatura ambiente, agitando. La mezcla se calentó a 60°C durante 1 hora y luego se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla final se filtró a través de una columna de gel de sílice llenada con celita. El lecho del filtro se eluyó con cloruro de metileno, seguido por acetato de etilo. El eluyente de acetato de etilo se evaporó y el residuo se trituró para dar 0,81 g de un sólido blanco; MS (ESI) m/z 153,2 (M+H).

Paso 6: 4-Nitrobencil (5R)-6-[(acetiloxi)6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato

A una solución de MgBr₂ (0,94 g, 5,1 mmol) en acetonitrilo (25 ml) bajo nitrógeno se le agregó 6,7-Dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-carbaldehído (0,26 g, 1,7 mmol) a temperatura ambiente, agitando. Luego se agregó una solución de (5R,6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico 4-nitrobencil éster (0,58 g, 1,5 mol) en THF (25 ml) y la mezcla se enfrió a -20°C en la oscuridad durante 5 horas. Luego se trató con anhídrido acético (0,6 ml, 6,0 mmol) y 4-N,N-dimetilaminopiridin (24 mg, 0,2 mmol) y se mantuvo a 0°C durante 18 horas. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo. La solución de acetato de etilo se lavó con ácido cítrico al 5%, solución de bicarbonato sódico saturado y salmuera, se secó en sulfato sódico anhidro y se evaporó. Se aplicó cromatografía al material crudo con gel de sílice (EtOAc-CH₂Cl₂/1:5) para dar 0,77 g de una espuma blanca; MS (ESI) m/z 578,9 (M+H).

Paso 7: (5R,6Z)-6-(6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

A una solución de 4-nitrobencil (5R)-6-[(acetiloxi)(6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato (0,35 g, 0,6 mol) en THF (20 ml) bajo nitrógeno, se agregaron 20 ml de

una solución tamponadora de fosfato (0,5M, pH 6,5) y 120 mg de Pd/C al 10%. La mezcla se hidrogenó a 40-50 psi durante 3 horas, y luego se filtró con Celita. El lecho del filtro se lavó con THF y el filtrado se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico se secó en sulfato de magnesio anhidro y se evaporó. El residuo se lavó con éter para dar 0,09 g de un sólido amarillo; HRMS; calc. Para $C_{13}H_{11}N_3O_4S$, 305.0470; se encontró (ESI+), 306.05434; ^1H NMR: (DMSO- d_6) δ 4,07-4,09 (t, 2H), 4,13-4,17 (t 2H), 4,82 (s, 2H), 6,36 (s, 1H), 6,55 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 12,80 (bs, 1H).

Ejemplo 36

Preparación de sal sódica de (5R)(6Z)-6-(6,7-5H-Dihidropirazolo[5,1-b]oxazin-2-ilmetileno)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Paso 1: Preparación de etil 6,7-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b]oxazin-2-carboxilato

A la suspensión agitada de etil-5-hidroxi-1H-pirazol-3-carboxilato (10,34 g, 0,66 mol) y 36,62 g de carbonato de potasio en 500 ml de acetonitrilo se agregaron 14,7 g de 1,3-dibromopropano y se sometió a reflujo durante 16 horas. Se dejó enfriar la mezcla de la reacción a temperatura ambiente, luego se filtró, el sólido se lavó con acetonitrilo. El filtrado se concentró a un aceite. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se extrajo con agua. La fase orgánica se secó en $MgSO_4$ y se evaporó hasta secarse. Se obtuvo 8,80 g del producto deseado (68%), m.p. 44-46°C $(M+H)^+ 197,1$.

Paso 2: Preparación de 2,3-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b]oxazin-2-il-metanol:

A la solución agitada de 6,7-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b]oxazin-2-carboxilato (4,0 g, 20 mmol) en 100 ml de THF se agregó 0,71 g de borohidruro de litio y 1,03 de metanol. La solución se calentó a 40°C durante 2,5 horas. La reacción se apagó con 1N HCl y el pH se ajustó a 1,3 y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El pH de la mezcla de la reacción se ajustó a 8 con K_2CO_3 . La mezcla de la reacción se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó en $MgSO_4$ y se concentró a un aceite; se aplicó cromatografía en columna para dar 2,08 g del producto deseado (67%): $(M+H)^+ 155$.

Paso 3: Preparación de 6,7-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b][1,3]oxazin-2-carbaldehído:

A la solución agitada de 2,3-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b]oxazin-2-il-metanol (2,08 g, 13,5 mol) en 60 ml de CHCl_3 se agregó 9,38 g de MnO_2 . La suspensión se sometió a reflujo durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de la reacción se filtró a través de un lecho de Celita. El filtrado se concentró para dar un aceite amarillo. El producto se purificó por cromatografía. Se obtuvo 2,15 g del producto (78%).

Paso 4: Nitrobencil(5R)-6-[(acetoxi)6,7-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b][1,3]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato

6,7-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b][1,3]oxazin-2-carbaldehído (330 mg, 2 mmol) y solución de THF seco (20 mL) de (5R, 6S)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico 4-nitrobencil éster (0,74 g, 2,2 mmol) se agregaron sucesivamente a la solución de acetonitrilo seco (15 mL) de MgBr_2 anhidro $\cdot \text{O}(\text{Et})_2$ (1,2 g) bajo una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Luego de enfriar a -20°C , se agregó Et_3N (2,0 mL) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 2 horas a -20°C y se trató con anhídrido acético (1,04 mL) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 15 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó en MgSO_4 y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones recogidas se concentraron a presión reducida y la mezcla de diastereoisómeros se tomó para el siguiente paso. Sólido amorfo amarillo claro; Rendimiento: 0,76 g, 65%; $\text{M}+\text{H}$ 57 :

Paso 5: Sal sódica (5R)(6Z)-6-(6,7-5H-Dihidropirazolo[5,1-b]oxazin-2-ilmetil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

4-Nitrobencil(5R)-6-[(acetiloxi)6,7-dihidro-5H-pirazolo[5,1-b][1,3]oxazin-2-il)metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-carboxilato (350 mg, 0,6 mol) se disolvió en THF (20 mL), acetonitrilo (10 mL) y 0,5 M de tamponador de fosfato (pH 6,5, 28 mL) y se hidrogenó en Pd/C al 10% a una presión de 40 psi. Luego de

4 horas, la mezcla de la reacción se filtró, se enfrió a 3°C y se agregó 0,1 M NaOH para ajustar el pH a 8,5. El filtrado se lavó con acetato de etilo y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se concentró a vacío alto a 35°C para dar un precipitado amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna de fase inversa con resina HP21. Inicialmente, la columna se eluyó con agua desionizada (2 litros) y posteriormente con acetonitrilo al 10%:Agua. Las fracciones que contenían el producto se recogieron y concentraron a presión reducida a temperatura ambiente. El sólido amarillo se lavó con acetona y se filtró. Se secó. Rendimiento: 103 mg, 52%, como un sólido amorfo amarillo; (M+H+Na) 327.

¹H NMR: (D₂O) δ 6,97 (1H, s), 6,93 (1H, s), 6,47 (1H, s), 5,65 (1H, s), 4,28 (2H, m), 4,10 (2H, m), 2,21 (2H, m)

Ejemplo 37

Preparación de sal sódica de (5R),(6Z)-6-[5-(3-carboxipropionil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilén]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

Se preparó el compuesto anterior según los procedimientos descritos en todos los anteriores ejemplos. Comenzando con sal sódica de (5R),(6Z)-6-[5-(3-(4-írobenciloxycarbonil)propionil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilén]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico (467 mg) e hidrogenándolo en Pd/C (10%), 276 mg de (74%) de (5R), (6Z)-6-[5-(3-carboxipropionil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilén]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno ácido carboxílico, se aisló sal sódica como un sólido amorfo amarillo. Mp. 180°C (Dec): ¹H NMR: (D₂O) δ 2,41, (t, 2H), 2,42, (t, 2H), 2,67 (t, 2H), 2,72 (t, 2H), 3,95-4,09 (m, 2H), 4,18 (t, 2H), 4,28 (t, 2H), 4,75 (s, 2H), 4,87 (s, 2H), 6,33 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,53 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 7,09 (s, 1H).

Ejemplo 38

Preparación de sal sódica (5R),(6Z)-6-[5-(2-metoxiacetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilén]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

Sal sódica ácido carboxílico (5R), (6Z)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilén)-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (Ejemplo 25)

172

A la solución de THF (64 mL) y H₂O (64 mL) de sal sódica ácido carboxílico (5R), (6Z)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetileno)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2 (Ejemplo 25) (638 mg) se agregó 0,1 M de NaOH aq lentamente para ajustar el pH a 12,5 a 0°C. A la mezcla se agregó cloruro de metoxiacetil (0,28 mL) durante 5 minutos. La mezcla se agitó durante 0,5 horas a 0°C y se agregó metoxiacetilcloruro (0,09 mL). Luego de agitar la mezcla durante 0,5 horas a la misma temperatura, se agregó 0,1 M de NaOH para ajustar el pH a 8,05. La mezcla se concentró a vacío alto a 35°C. El concentrado se aplicó a cromatografía en columna con resina Diaion HP-21 (78 mL, Mitsubishi Kasei Co., Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con H₂O-MeCN (1:0 a 9:1). Las fracciones combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (509 mg, 65%, pH 7,58).

Mp 170°C (dec); ¹H NMR: (D₂O) δ 3,28 (s, 3H x ½), 3,29 (s, 3H x ½), 3,78 (t, 2H x ½, J= 5,4 Hz), 3,89-3,93 (m, 2H x ½), 4,09 (t, 2H x ½, J= 5,4 Hz), 4,14 (t, 2H x 1/2, J= 5,4 Hz), 4,20 (s, 2H x ½), 4,25 (s, 2H x 1/2), 4,61 (s, 2H x ½), 4,66 (s, 2H x ½), 6,19 (s, 1H x ½), 6,22 (s, 1H x ½), 6,37 (s, 1H, ½), 6,372 (s, 1H, ½), 6,878 (s, 1H), 6,93 (s, 1H).

Ejemplo 39

Preparación de sal sódica de (5R),(6Z)-6-[5-(2-metoxiacetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetileno]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno- ácido carboxílico

(4,5,6,7-Tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-il)-metanol

Se agregó metanol (150 ml) a la mezcla de 2-hidroximetil-6,7-dihidro-4H-pirazolo[1,5-a]pirazin-5-ácido carboxílico 4-nitrobencil éster (Ejemplo 25) (2,38 g) y Pd-C al 10% (50% húmedo, 1,19 g). La mezcla de la reacción se agitó durante 2 horas bajo atmósfera de hidrógeno. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego la columna se eluyó con metanol al 50% en cloroformo. El compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (1,08 g, 98%).

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ 3,22-3,25 (m, 2H), 3,99 (s, 2H), 4,03-4,06 (m, 2H), 4,52 (s, 2H), 6,06 (s, 1H).

[5-(4,5-Dihidrotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-il]metanol

Se agregó solución de cloruro de hidrógeno (2 mol) en dietil éter (0,7 ml) a la solución de metanol (20 ml) de (4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-il)-metanol (1,08 g) y 2-metilsulfanil-4,5-dihidrotiazol (1,03 g). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 4 días. La mezcla se apagó con una pequeña cantidad de solución de carbonato de potasio saturado, se secó en MgSO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice y luego la columna se eluyó con metanol al 10% en cloroformo. El compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (1,49 g, 89%).

^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD) δ 2,04 (brs, 1H), 3,39 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 3,90 (t, 2H, $J = 5,3$ Hz), 4,06 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 4,21 (t, 2H, $J = 5,3$ Hz), 4,66 (s, 2H), 4,69 (s, 2H), 6,07 (s, 1H).

Sal sódica de (5R),(6Z)-6-[5-(4,5-Dihidrotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-il]metileno]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

Se agregó el óxido de manganeso activado (IV) (16,75 g) a la mezcla de la solución de cloroformo (180 ml) de [5-(4,5-dihidrotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-il]-metanol (3,35 g) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se sometió a reflujo durante 1 hora. Luego del reflujo, la mezcla se filtró a través de un lecho de Celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se secó al vacío y el 5-(4,5-dihidrotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-carbaldehído se obtuvo como un sólido incoloro. El aldehído crudo que se obtuvo (2,56 g) se agregó a una solución de acetonitrilo seco (200 ml) de MgBr_2 (7,36 g) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente y luego la mezcla se agitó durante 10 minutos. Una solución de THF seco (200 ml) de WLJ 20,014 (4,16 g) se agregó y la mezcla se enfrió a -20°C . Se agregó trietilamina (11,3 ml) en una porción. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparlo de la luz. La mezcla de la reacción se agitó durante 1,5 horas a -20°C y se trató con 4-dimetilaminopiridina (132 g) y anhídrido acético (4,2 ml) en una porción. La mezcla de la reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 20 horas a 0°C . La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 5%, carbonato de hidrógeno sódico saturado, y salmuera. La capa orgánica se lavó con MgSO_4 y se filtró. El residuo se aplicó a cromatografía en columna con gel de sílice, y luego se eluyó con *n*-hexano-AcOEt (1:2) y cloroformo-metano (1:1). Se obtuvo (5R,6RS)-6-[(RS)-acetoxi-[5-(4,5-

dihidrotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-1]pirazin-2-il]metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico 4-nitrobencil éster (5,41 g, 75,4%).

El (5R,6RS)-6-[(RS)-acetoxi-[5-(4,5-dihidrotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-1]pirazin-2-il]metil]-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] hept-2-eno-2-ácido carboxílico 4-nitrobencil éster (5,41) se disolvió en THF (76 ml) y acetonitrilo (35 ml). Se agregó polvo de Zn (21,6 g) recientemente activado y 0,5 ml/L de tamponador de fosfato (pH 6,5, 111 mL) a la mezcla. El tubo de reacción se cubrió con lámina para taparle la luz. Se agitó enérgicamente la mezcla de la reacción durante 2 horas a 30-35°C. La mezcla de la reacción se enfrió a 0°C y luego se ajustó el pH a 7,6. Se agregó acetato de etilo a la mezcla de la reacción y se filtró a través de un lecho de Celita. El lecho se lavó con agua y la capa acuosa se separó. La capa acuosa se concentró a vacío alto a 35°C. El concentrado se aplicó a cromatografía en columna con la resina Diaion HP-21 (170 ml. Mitsubishi Kasei Co. Ltd). Luego de adsorber, la columna se eluyó con agua y luego con solución acuosa de acetonitrilo (5% a 15%). Las fracciones activas combinadas se concentraron a vacío alto a 35°C y se liofilizaron para dar el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (1,60 g).

El compuesto crudo se purificó por HPLC (Mightysil RP-18GP, KANTO CHEMICAL CO., INC., 35 x 250 mm, 0,05 mol/tamponador de fosfato (pH 7,1): acetonitrilo = 80:20, 25 ml/min) seguido por desalinización con la resina Diaion HP-21 (150 ml, Mitsubishi Kasei Co. Ltd) para dar el compuesto del título como un sólido amorfo amarillo (1,06 g, y. 31,5 %, pH 8,33).

Mp 200°C (dec); ¹H NMR (D₂O) δ 3,18 (t, 2H, J= 7,6 Hz), 3,60 (t, 2H, J= 5,3 Hz), 3,73 (t, 2H J= 7,6 Hz), 3,94 (t, 2H, J= 5,3 Hz), 4,37 (s, 2H), 6,01 (s, 1H), 6,21 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,78 (s, 1H); IR (KBr) 3381, 1752, 1606 cm⁻¹, λ^{max} (H₂O) 369, 291, 208 nm.

Ejemplo 40

Preparación de sal sódica de (5R),(6Z)-6-[5-(2-metoxiacetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetil]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico

Preparación de Etil 2-[(acetiloxi)((5R)-6-bromo-2-[(4-nitrobencil)oxi]carbonil)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-il)metil]-4,7-dihidrofuro[2,3-c]piridin-6(5H)-carboxilato

175

El título del compuesto se preparó a partir de 0,669 gramos de metil-2-formil-4,7-dihidrofuro[2,3-c]piridin-6-(5H)-carboxilato y 1,155 gramos de 4-nitrobencil (5R)-6-bromo-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxilato y produjo 1,65 gramos de producto (84%) el cual se utilizó para el siguiente paso. MS: 652 (M+H)

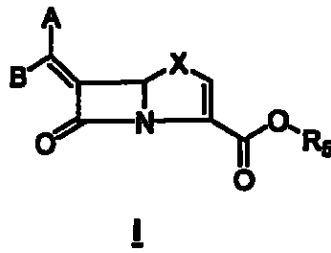
Preparación de (5R,6Z)-6-[[6-(etoxicarbonil)-4,5,6,7-tetrahidrofuro[2,3-c]piridin-2-il]metileno]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico

El título del compuesto se preparó a partir de 1,65 g de Etil 2-[(acetiloxi)((5R)-6-bromo-2-[[[(4-nitrobencil)oxi]carbonil]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-il]metil]-4,7-dihidrofuro[2,3-c]piridin-6(5H)-carboxilato, produjo 0,386 gramos de producto (41%). MP: se descompuso a 175°C. MS: 375.0 (M-H). H-NMR(D2O) γ 6,91 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 4,41 (b, 2H), 4,04 (q, 2H J=5Hz), 3,52 (b, 2H), 2,42 (b, 2H), 1,14 (t, 3H, J=5Hz)

~~PR~~

REIVINDICACIONES:

Un compuesto de fórmula (I)



en donde:

uno de A y B es hidrógeno y el otro es un grupo heteroarilo bicíclico fusionado sustituido opcionalmente;

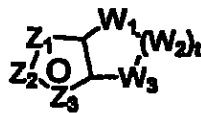
X es O o S;

R₅ es H, alquil C1-C6, cicloalquil C5-C6, o CHR₃OCOalquil C1-C6; y

R₃ es hidrógeno, alquil C1-C6, cicloalquil C5-C6, arilo sustituido opcionalmente o heteroarilo sustituido opcionalmente;

o una sal farmacéuticamente aceptable de lo mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde el grupo heteroarilo bicíclico es:



1-A

en donde:

Z₁, Z₂ y Z₃ son independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁, siempre y cuando uno de Z₁-Z₃ sea carbono y esté enlazado al resto de la molécula;

W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, S, SO, SO₂, O o N-R₁; con la condición de que no se puede formar ningún enlace S-S o O-O o S-O para formar el sistema de anillo saturado;

t= 1 a 4;

R₁ es H, alquil-C1-C6 sustituido opcionalmente, -arilo sustituido opcionalmente, -heteroaril sustituido opcionalmente o heterocíclicos saturados mono o bicíclicos, cicloalquil -C5-C7 sustituido opcionalmente, alquenil-C3-C6 sustituido

177

opcionalmente, alquínil C3-C6 sustituido opcionalmente con la condición de que tanto el enlace doble como el enlace triple no deben estar presentes en el átomo de carbono que está enlazado directamente a N; per fluoroalquil-C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil o aril sustituido opcionalmente por $-S(O)_p$, donde p es 2, C=O heteroaril sustituido opcionalmente, C=O aril sustituido opcionalmente, C=O alquil (C1-C6) sustituido opcionalmente, $-C=O$ cicloalquil (C5-C6) sustituido opcionalmente, $-C=O$ heterociclos saturados mono o bíclicos sustituidos opcionalmente, alquil aril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil heteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil C1-C6 aril sustituido opcionalmente, alquil-C1-C6 heteroaril sustituido opcionalmente, heterociclos saturados mono o bíclicos alquil C1-C6 sustituidos opcionalmente, arilalquénil sustituido opcionalmente de 8 a 16 átomos de carbono, $-CONR_6R_7$, $-SO_2NR_6R_7$, alrilalquiloalquil sustituido opcionalmente, $-alquil-O-alquil-aril$ sustituido opcionalmente, $-alquil-O-alquil-heteroaril$ sustituido opcionalmente, ariloalquil sustituido opcionalmente, heteroariloalquil sustituido opcionalmente, ariloxiaril sustituido opcionalmente, ariloxiheteroaril sustituido opcionalmente, alquil ariloxiaril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil ariloxiheteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, alquil ariloxi alquilaminas sustituidas opcionalmente, alcóxicarbonil sustituido opcionalmente, ariloxi carbonil sustituido opcionalmente, heteroariloxi carbonil sustituido opcionalmente.

R_2 es hidrógeno, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, alquénil C2-C6 sustituido opcionalmente, alquínil C2-C6 sustituido opcionalmente que tiene de 1 a 2 enlaces triples, clano, $N-R_6R_7$, alcóxi C1-C6 sustituido opcionalmente, hidróxi; aril sustituido opcionalmente, heteroaril sustituido opcionalmente, $COOR_6$, alquil ariloxi alquilaminas sustituidas opcionalmente, ariloxi sustituido opcionalmente, heteroariloxi sustituido opcionalmente, alquéniloxi C3-C6 sustituido opcionalmente, alquíniloxi C3-C6 sustituido opcionalmente, alquilamino-C1-C6-alcóxi-C1-C6, alquénil dioxi, ariloxi alquil amina C1-C6 sustituida opcionalmente, perfluoro alquil C1-C6, $S(O)_q$ -alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, $S(O)_q$ -aril sustituido opcionalmente, donde q es 0, 1 ó 2, $CONR_6R_7$, guanidino o guanidino cíclico, alquilaril C1-C6 sustituido opcionalmente, arilalquil sustituido opcionalmente, alquilheteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, heteroaril-alquil-C1-C6 sustituido opcionalmente, heterociclos saturados mono o bíclicos alquil C1-C6 sustituidos opcionalmente, arilalquénil de 8 a 16 átomos de carbono sustituido opcionalmente, $SO_2NR_6R_7$, arilalquiloalquil sustituido opcionalmente, ariloalquil sustituido opcionalmente, heteroariloalquil sustituido opcionalmente, ariloxiaril sustituido opcionalmente, heteroariloalquil sustituido opcionalmente, ariloxiaril sustituido opcionalmente, ariloxiheteroaril sustituido opcionalmente, heteroariloxiaril

178

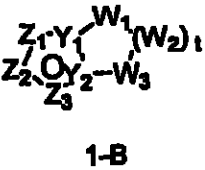
128

sustituido opcionalmente, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, alquilariloxiheteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, ariloxialquil sustituido opcionalmente, heteroariloxialquil sustituido opcionalmente, alquilariloxialquilaminas sustituidas opcionalmente.

R₄ es H, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, uno de R₄ es OH, alcoxi C1-C6, -S-alquil C1-C6, COOR₆, -NR₆R₇, -CONR₆R₇; o R₄R₄ juntos pueden ser =O o R₄R₄ junto con el carbono al que están enlazados pueden formar un sistema espiro de cinco a ocho miembros, con o sin la presencia de heteroátomos seleccionados N, O, S=(O)_n, (donde n=0 a 2); N-R₁;

R₆ y R₇ son independientemente H, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, aril sustituido opcionalmente, heteroaril sustituido opcionalmente, alquil C1-C6 sustituido opcionalmente, arilalquil sustituido opcionalmente, heteroarilalquil sustituido opcionalmente, alquil heteroaril C1-C6 sustituido opcionalmente, R₆ y R₇ pueden estar juntos para formar un sistema de anillo saturado de 3 a 7 miembros, que tenga opcionalmente uno o dos heteroátomos.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde el grupo heteroaril bicíclico es :



en donde:

Z₁, Z₂ y Z₃ son independientemente CR₂, N, O, S o N-R₁, siempre y cuando Z₁ -Z₃ sea carbono y esté enlazado al resto de la molécula;

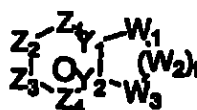
W₁, W₂ y W₃ son independientemente CR₄R₄, S, SO, SO₂, O o N-R₁;

t= 1 a 4

Y₁ y Y₂ son independientemente N ó C; siempre y cuando que si la porción de anillo aromático del grupo heteroarilo bicíclico es imidazol, la porción de anillo no aromático no puede contener un S adyacente al carbono de cabeza de puente; y R₁, R₂, R₄, R₆ y R₇ son según se definen en la reivindicación 2.

4. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde el grupo heterarilo bicíclico es:

130



1-C

en donde:

Z_1 , Z_2 , Z_3 y Z_4 son independientemente CR_2 o N, siempre y cuando uno de Z_1 - Z_4 sea carbono y esté enlazado al resto de la molécula;

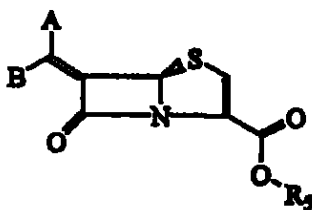
W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 , S, SO, SO_2 , O o $N-R_1$; siempre y cuando no se forme un enlace S-S o O-O o S-O para formar el sistema de anillo saturado; $t = 1$ a 4;

Y_1 y Y_2 son independientemente C o N;

y R_1 , R_2 , R_4 , R_6 y R_7 son según se define en la reivindicación 2.

5. Un compuesto según la reivindicación 2, en donde uno de Z_1 - Z_3 es CR_2 .
6. Un compuesto según la reivindicación 2 ó 5, en donde uno de Z_2 o Z_3 es N, O, o S.
7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2, 5 y 6, en donde al menos uno de W_1 , W_2 y W_3 es CR_4R_4 .
8. Un compuesto según la reivindicación 7, en donde W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 .
9. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 y 5 a 7, en donde $t=1-3$.
10. Un compuesto según la reivindicación 3, en donde $t=3$.
11. Un compuesto según la reivindicación 3 ó 10, en donde al menos dos de Z_1 , Z_2 , Z_3 , Y_1 y Y_2 son N.
12. Un compuesto según la reivindicación 11, en donde tres de Z_1 , Z_2 , Z_3 , Y_1 y Y_2 son N.
13. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 3 y 10 a 12, en donde dos de W_1 , W_2 y W_3 son independientemente CR_4R_4 .
14. Un compuesto según la reivindicación 13, en donde R_4 es H.

15. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 3 y 10 a 14, en donde uno de Y_1 y Y_2 es C y el otro es N.
16. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 3 y 10 a 15, en donde dos de Z_1 , Z_2 y Z_3 son independientemente CR_2 .
17. Un compuesto según la reivindicación 4, en donde tres de Z_1 - Z_4 son independientemente CR_4 y el otro es C.
18. Un compuesto según la reivindicación 4 o 17, en donde al menos uno de Z_1 - Z_4 es N.
19. Un compuesto según la reivindicación 18, en donde Z_1 es N.
20. Un compuesto según la reivindicación 18, en donde dos de Z_1 - Z_4 son N.
21. Un compuesto según la reivindicación 18, en donde tres de Z_1 - Z_4 son N.
22. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, que tiene la estructura:



23. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo compuesto por:

(5*R*,6*Z*)-6-[(5-bencil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-*c*]piridin-2-il)metilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]Hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(7-Metil-5,6,7,8-tetrahidroimidazol[1,2-*a*]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]Hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7-Oxo-6-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-ilmetilen)-4-tia-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*,6*Z*)-6-[[5-(4-metoxibencil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-*c*]piridin-2-il]]metilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]Hept-2-eno-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(5,6-dihidro-8*H*-imidazo[2,1-*c*][1,4]tiazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(6,7-Dihidro-5*H*-pirrolo[1,2-*a*]imidazol-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(5,6-Dihidro-8*H*-imidazo[2,1-*c*]oxazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-Dihidro-4-*H*-pirrolo[1,2-*b*]pirazol-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1.5-*a*]piridin-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(7-Metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-imidazo[1,2-*a*]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-6-(6,7-Dihidro-4*H*-pirazolo[5.1-*c*][1,4]tiazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7-Oxo-6-(4*H*-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*),(6*Z*)-7*H*-Imidazo[1,2-*c*]tiazol-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5*R*,6*Z*)-7-Oxo-6-[(4-oxo-6,7-dihidro-4*H*-pirazolo[5.1-*c*][1,4]oxazin-2-il)metilen]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

6-(6,7-Dihidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]piran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

6-(6,7-Dihidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]tiopiran-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

6-(5-Metil-4,5,6,7-tetrahidro-tieno[3,2-*c*]piridin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

2-(2-Carboxi-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-ilidenmetil)-6,7-dihidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]piridin-5-ácido carboxílico etil éster.

7-Oxo-6-(6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-imidazo[1,2-*a*]azepin-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

(5*R*),(6*Z*)-6-(7-Bencil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

(5*R*,6*Z*)-7-oxo-6-[(5-piridin-3-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-*c*]piridin-2-il)metilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

(5*R*,6*Z*)-7-oxo-6-[(5-(piridin-3-ilcarbonil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-*c*]piridin-2-il)metilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

(5*R*,6*Z*)-7-oxo-6-[(5-fenilacetil)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3.2.0]piridin-2-il)metilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R),(6Z)-6-(5,5-Dioxo-4,5,6,7-tetrahidro-5λ6-pirazolo[5.1-c][1,4]tiazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R),(6Z)-7-Oxo-6-(4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilen)-4-tia-1-aza-bicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R)(6Z)-6-(5,5-Dimetil-4H-1,6a-diazapentalen-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico, 5,5-Dimetil-2-piperidona.

Sal sódica (5R),(6Z)-6-(5,6-Dihidro-4H-ciclopenta[b]furan-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R)(6Z)-6-(4,5-Dihidro-6-tia-1,7a-diazainden-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R),(6Z)-6-(6,6-Dimetil-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]pirazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

(5R),(6Z)-6-(5,6-Dihidro-8-H-imidazo[2,1-c][1,4]tiazin-3-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R)(6Z)-7-Oxo-6-(4H-5-tia-1,6a-diazapentalen-2-ilmetilen)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R)(6Z)-6-(2,3-Dihidropirazolo[5,1-b]tiazol-6-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R)(6Z)-6-(2,3-Dihidropirazolo[5,1-b]oxazol-6-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

(5R)(6Z)-6-[(5-acetil-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3.2.c]piridin-2-il)metilen]oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico (mezcla de isómeros E+Z, sal sódica)

(5R,6Z)-6-(6,7-dihidro-4H-pirazolo[5,1-c][1,4]oxazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R)(6Z)-6-(6,7-5H-Dihidropirazolo[5,1-b]oxazin-2-ilmetilen)-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-ácido carboxílico.

Sal disódica (5R),(6Z)-6-[5-(3-carboxipropionil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R),(6Z)-6-[5-(2-metoxiacetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R),(6Z)-6-[5-(2-metoxiacetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilen]7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-ácido carboxílico.

Sal sódica (5R),(6Z)-6-[5-(2-metoxiacetil)-4,5,6,7-tetrahidroxipirazolo[1,5-a]pirazin-2-ilmetilen]-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno ácido carboxílico

24. Un método para el tratamiento de una infección bacteriana o enfermedad en un paciente que lo requiera, que comprende suministrar a dicho paciente una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 o una sal farmacéuticamente aceptable de lo mismo.

25. Un método según la reivindicación 24, en donde el compuesto es co-administrado con un antibiótico de betalactam.

26. Un método según la reivindicación 25, en donde la relación de antibiótico β -lactam al compuesto es entre aproximadamente 1:1 y 100:1.

27. Un método según la reivindicación 26, en donde la relación de antibiótico β -lactam al compuesto es menos de 10:1.

28. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el antibiótico betalactam es seleccionado del grupo compuesto por un antibiótico de penicilina y un antibiótico de cefalosporin.

29. El método según cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el antibiótico betalactam es seleccionado del grupo compuesto por piperacilina, amoxicilina, ticardilina, bencilpenicilinas, ampicilina, sulbenicilina, cefatrizina, cefaloridina, cefalotina, cefazolina, cefalexina, cefradina, aztreonam y latamoxef.

30. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el antibiótico betalactam es piperacilina o amoxicilina.

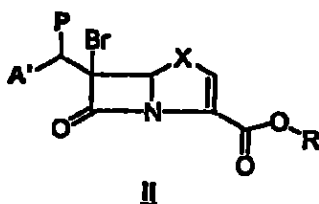
31. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el antibiótico betalactam es piperacilina y se administra al paciente por vía intravenosa.

32. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el antibiótico betalactam es amoxicilina y se administra al paciente por vía oral.

33. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, o una sal farmacéuticamente aceptable de lo mismo.

34. Una composición según la reivindicación 33, que además comprende un antibiótico betalactam.

35. Un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1, que comprende someter a eliminación reductora un compuesto de la fórmula II.



en donde A' es A o B según se define arriba, X es O o S, P es un grupo saliente de éster, por ej; acetato, mesilato, triflato o tosilato, y R es un grupo protector, seguido, si fuere necesario, por la remoción del grupo protector, para dar un compuesto de la fórmula I, en donde R₅ es hidrógeno; y si se desea convertir a una sal farmacéuticamente aceptable o a un éster, en donde R₅ es alquil C1-C6, cicloalquil C5-C6 o CHR₃OCOalquilC1-C6.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION **[x]**

MODELO DE UTILIDAD **[]**

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente **[x] 1**
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud **[x] 1**
- ◆ Descripción de la invención **[x] 43**
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes **[]**
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas **[x] 2**

COMPLETA **[x]**

INCOMPLETA **[]**

DISEÑO INDUSTRIAL **[]**

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial **[]**
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud **[]**
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño **[]**
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas **[]**

COMPLETA **[]**

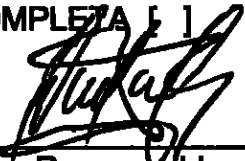
INCOMPLETA **[]**

ESQUEMA DE TRAZADO **[]**

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado **[]**
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud **[]**
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado **[]**
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas **[]**

COMPLETA **[]**

INCOMPLETA **[]**



Firma Responsable

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha **Radicacion :** 94100099 00000000 **Folios:** 186
Fecha (AGD): 2004-10-27 16:09:36
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
ALICIA LLOREDA RICAURTE
Apoderado(a)
WYETH

Oficio N°
10486

ASUNTO:

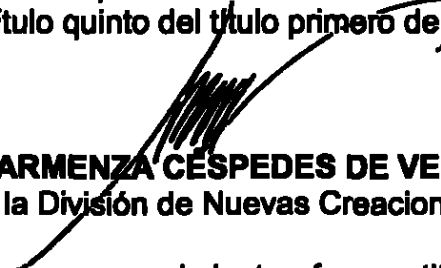
Radicación N°	04-108099
Solicitud internacional	PCT/US03/13428
Fecha inicio fase nacional	01/12/2004
Trámite	011
Evento	379
Actuación	430
Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- La solicitud no contiene copia del documento en que consta la cesión del derecho de patente del inventor al solicitante o a su causante (Art. 26-k Decisión 486).
- La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando éste fuere una persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

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


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,

1-2 NOV 2004
202044