



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Q. F.

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21 EXPEDIENTE No

04-122695

54 TITULO PROFARMACOS DE AMINOACIDOS EXCITADORES

51 CLASIFICACION INTERNACIONAL _____

71 SOLICITANTE ELI - LILLY AND COMPANY -

DOMICILIO Lilly Corporate Center, Indianapolis,
IN 46285 EUA

74 APODERADO CARLOS E. OLARTE

22 BOGOTA, D.C., Diciembre 7, 2004.

55

04/142

OLARTE RAISBECK



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación: 04122635 00000000 Folios: 409
Fecha (MD): 2004-12-07 10:28:28
Trámite: 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: ELI-LILLY AND COMPANY

Dirección: Lilly Corporate Center, Indianapolis
Indiana 46285 E.U.A.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: ESTADOS UNIDOS
DE AMERICA

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

**REPRESENTANTE
APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A, Calle
100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747 Btá
TP 74.295

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: Eric David Moher; James Allen Monn ; Concepcion Pedregal-
Tercero. (Pct. 428, 429)

Dirección: 492 Oak Brook Lane Greenwood, IN 46142, E.U.A.; 7518 Allenwood Court
Indianapolis, IN 46268, E.U.A.; Lilly S.A. Av. de la Industria 30 E-28100 Alcobendas, España.

Nacionalidad o Domicilio: (1y2) ESTADOUNIDENSE; (3) ESPAÑOLA.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US03/15405

Fecha Junio 6, 2003

Publicación Internacional No. WO 03/104217

Fecha Diciembre 18, 2003

6

Título (54) PROFÁRMACOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES.

7

Clasificación Internacional (51) C07D 333/00

8

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

EP

EP

US

US

(32) Fecha

Junio 11, 2002

Junio 11, 2002

Octubre 3, 2002

Octubre 3, 2002

(31) Número de Solicitud

02380120.2

02380121.0

60/415,936

60/415,937

9

Comprobante de pago No. 93,908

Fecha

Diciembre 3, 2004

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

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, dibujos).

☒

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.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

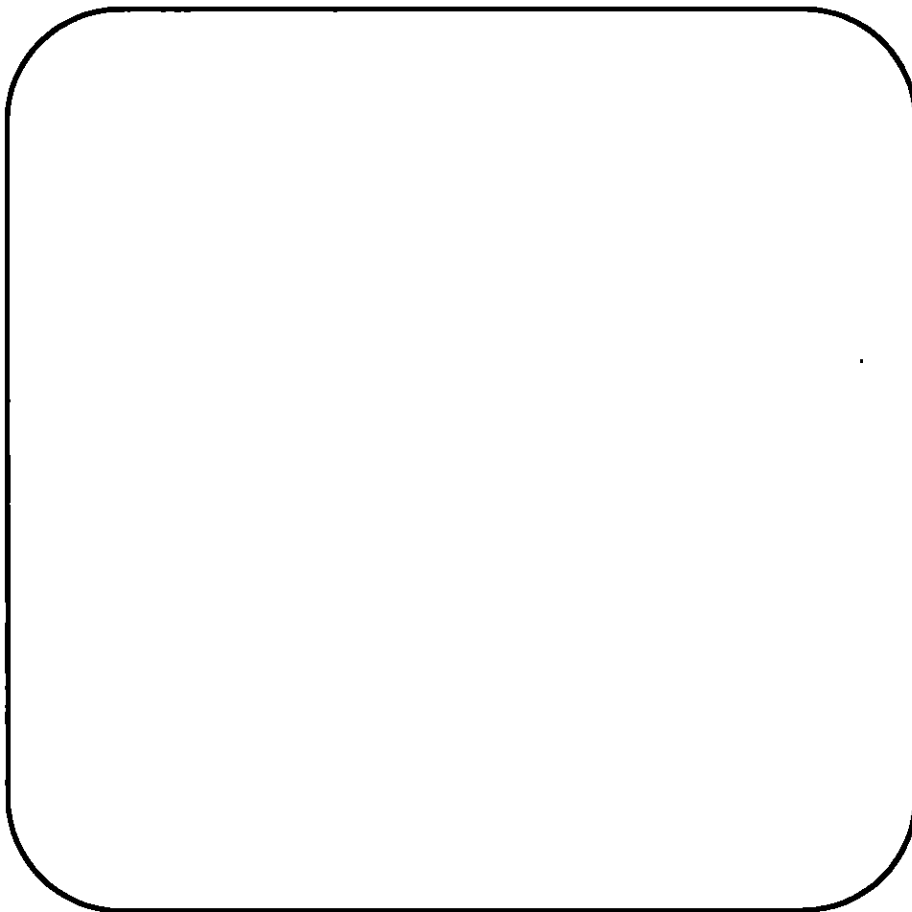
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

3

NIT : 800174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 93,908
FECHA : DICIEMBRE 3 DE 2004

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radiacion : 04122695 00000000 Folios: 409
Fecha (UMB): 2004-12-07 10:20:20
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INCI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE SANTOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	33693624	02/12/2004	5,212,000.

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	30005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
		TOTAL :	422,000.

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

4

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

**APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE
ELI LILLY AND COMPANY**

Bilingüe inglés- español otorgado en Indianapolis, Indiana, Estados Unidos el 17 de julio de 2003 y firmado por Peter G. Stringer, Director Ejecutivo y Patentes Internacionales de Ely Lilly & Company.

Todd Rokita Secretario de Estado
Secretario de Estado de Indiana Estado de Indiana

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América- Este documento Público
2. ha sido firmado por Catherine Michel
3. Quien ejerce funciones de Secretario de la Corte del Circuito en y para el condado Johnson
4. Lleva el sello del Secretario de la Corte del Circuito en y para el estado de Indiana

CERTIFICADO

5. En Indianapolis, Indiana
6. El 22 de julio de 2003
7. Por el Secretario de Estado de Indiana
8. No. A2003- 11279
9. Gran Sello del Estado de Indiana
10. Firma legible de Todd Rokita- Secretario de Estado de Indiana

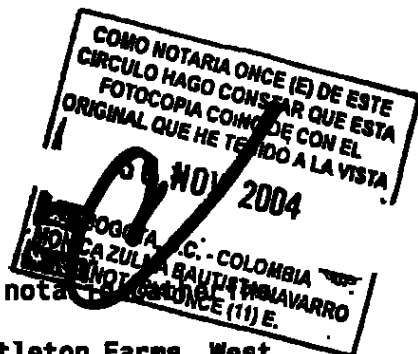
* Vigente desde el 1 mayo de 2003, todas las apostillas del Secretario de Estado de Indiana tienen el sello impreso electrónicamente.

The Statehouse, Indianapolis, Indiana 46204, (317) 232-8531, fax (317) 233-3283

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 17 de julio de 2003 el suscrito notario Michel certifica que Peter G. Stringer, domiciliado en 7620 Castleton Farms, West Drive, Indianapolis, Indiana - 46256 Estados Unidos ejercía funciones de Director Ejecutivo y Patentes Internacionales de Ely Lilly & Company, con sede en Indianapolis, Indiana, Estados Unidos.

Marlen Neira
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987



5

El otorgante fundamenta sus certificaciones en este documento: Delegación de Autoridad concerniente a Ciertas Materias de Patentes, suscrito el 20 de enero de 2003: conforme al poder otorgado al Asesor General de la Compañía por el Comité ejecutivo de la Junta Directiva de Eli Lilly and Company.

Firma del notario público Catherine Michel certifica
Sus funciones vencen el 21 de octubre de 2008 - residente en el condado Johnson
Sello de notario público de Indiana

--

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 28 de julio-2003.

Marlen Neira C

MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

COMO NOTARIA ONCE (E) DE ESTE
CIRCULO HAGO CONSTAR QUE ESTA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL
ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
20 NOV 2004
BOGOTÁ D.C. - COLOMBIA
MONICA BAUTISTA NAVARRO
NOTARIA ONCE (11) E.

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FREEM, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-65 Piso 10
BOGOTÁ, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-8200
Fax: +57-1 638-8201

www.olarteraisbeck.com

6

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285 US

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana María Friet** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

ELI LILLY AND COMPANY

domiciliado en

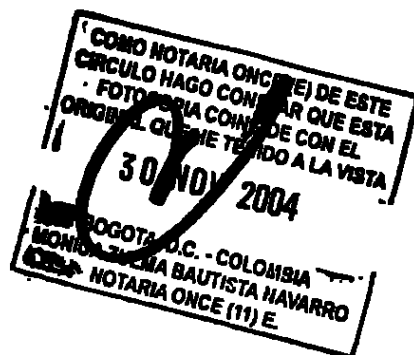
Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285 US

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Friet** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma

Date/Fecha: 17 July 2003

City/Country/Ciudad, País: Indianapolis, Indiana, United States of America





SECRETARY OF STATE
STATE OF INDIANA



Todd Rokita
Secretary of State

APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
2. This public document has been signed by *Catherine Michel*
3. acting in the capacity of circuit court clerk in & for *Johnson County*
4. and bears the seal/stamp of circuit court clerk in & for the State of Indiana

Certified

5. at Indianapolis, Indiana
6. this *Twenty-second* day of *July*, 2003
7. by Secretary of State of Indiana
8. No. A2003- 11279
9. Seal/Stamp:

10. Signature:

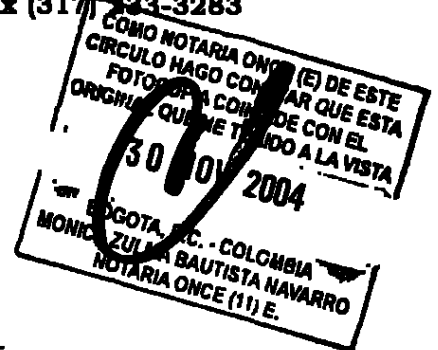



Todd Rokita

Indiana Secretary of State

*Effective May 1, 2003 all apostilles from the Indiana Secretary of State will have an electronically printed seal.

The Statehouse, Indianapolis, Indiana 46204, (317) 232-6531, Fax (317) 233-3283



OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FISHER, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 No. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 838-6200
Fax: +57-1 838-6201

www.olarteraisbeck.com

8

Notarial Certification

On this date,
17 July 2003

The undersigned Notary Public certifies:

1. That

of legal age and domiciled in

7620 Castleton Farms, West Drive, Indianapolis, Indiana 46256 US
signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing
document as Executive Director, International
Patents
of ELI LILLY AND COMPANY

3. That ELI LILLY AND COMPANY
having its principal place of business located in
Indianapolis, Indiana, United States of
America

is duly incorporated, is currently in existence, and
that the purposes for which the Power of Attorney is
granted are within the scope of its corporate
purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the
Power of Attorney and that his/her representation is
legal.

5. The foundation for my certifications contained in
points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following
authentic document(s):

Delegation of Authority Concerning Certain
Patent Matters, executed January 20, 2003;
pursuant to the authority granted to the
General Counsel of the Company by the
executive Committee of the Board of
Directors of Eli Lilly and Company

NOTARY PUBLIC (Signature):



Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que

Peter G. Stringer
mayor de edad y domiciliado
suscribió el documento que antecede.

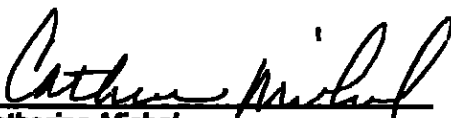
2. Que el otorgante ha suscrito el referido
documento en su carácter de
de

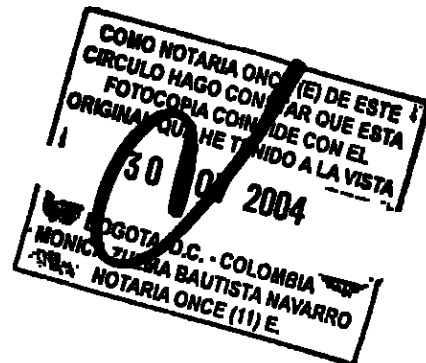
4. Que
con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia
legal vigente y que los propósitos para los cuales
se otorga el poder se encuentra dentro de los que
comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para
suscibir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones
contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición
de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):


Catherine Michel
My Commission Expires October 21, 2008
Resident of Johnson County



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
18 December 2003 (18.12.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/104217 A2(51) International Patent Classification⁷: C07D 333/00

(21) International Application Number: PCT/US03/15405 ✓

(22) International Filing Date: 6 June 2003 (06.06.2003)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
 02380120.2 ✓ 11 June 2002 (11.06.2002) EP
 02380121.0 11 June 2002 (11.06.2002) EP
 60415,936 3 October 2002 (03.10.2002) US
 60415,937 3 October 2002 (03.10.2002) US

(71) Applicant (for all designated States except US): ELI
 LILLY AND COMPANY [US/US]; Lilly Corporate
 Center, Indianapolis, IN 46285 (US).

(72) Inventors; and

(73) Inventors/Applicants (for US only): MOHER, Eric,
 David [US/US]; 492 Oak Brook Lane, Greenwood,
 IN 46142 (US). MONN, James, Allen [US/US]; 7518
 Allenwood Court, Indianapolis, IN 46142 (US). PEDRE-
 GAL-TERCERO, Concepcion [ES/ES]; Lilly, S. A.,
 Avenida de la Industria 30, E-28100 Alcobendas (ES).

(74) Agents: LEE, Kirby, W. et al.; ELI LILLY AND COM-
 PANY, P.O. Box 6288, Indianapolis, IN 46206-6288 (US).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT (uti-
 lity model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA,
 CH, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), CZ, DE (uti-
 lity model), DE, DK (utility model), DK, DM, DZ, EC,
 EE (utility model), EE, ES, FI (utility model), 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 (utility model), SK, SL, TJ, TM, TN,
 TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
 KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
 Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
 European patent (AT, BE, 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).

Declarations under Rule 4.17:

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted
 a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE,
 AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH,

CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI,
 GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
 KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
 MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
 SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
 UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM,
 KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian
 patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European
 patent (AT, BE, 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)

— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
 earlier application (Rule 4.17(iii)) for the following desig-
 nations 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, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO
 patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG,
 ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
 TJ, TM), European patent (AT, BE, 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)

— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
 earlier application (Rule 4.17(iii)) for the following desig-
 nations 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, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO
 patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG,
 ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
 TJ, TM), European patent (AT, BE, 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)

Published:

— without international search report and to be republished
 upon receipt of that 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: PRODRUGS OF EXCITATORY AMINO ACIDS

(57) Abstract: This invention relates to synthetic excitatory amino acid prodrugs and processes for their preparation. The invention further relates to methods of using, and pharmaceutical compositions comprising, the compounds for the treatment of neurological disorders and psychiatric disorders.

WO 03/104217 A2

10

PRODRUGS OF EXCITATORY AMINO ACIDS

5 This invention provides synthetic excitatory amino acid prodrugs (compounds of Formula I) and processes for their preparation. The invention further relates to methods of using, and pharmaceutical compositions comprising, the compounds of Formula I for the treatment of neurological disorders and psychiatric disorders.

10

Background of the Invention

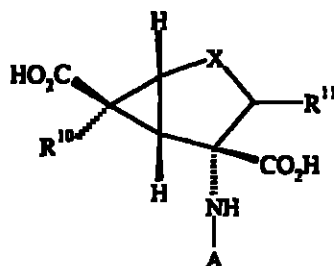
Treatment of neurological or psychiatric disorders, such as anxiety disorders, have been linked to selective activation of metabotropic excitatory amino acid receptors. For example, (+)-4-amino-2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid is disclosed
15 as an active mGluR2 receptor agonist in U.S. Patent No. 5,688,826 (the '826 patent), issued November 18, 1997. Additionally, (+)-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid is disclosed as an active mGluR2 receptor agonist in U.S. Patent No. 5,958,960 (the '960 patent), issued September 28, 1999.

The present invention provides for prodrug forms of mGluR2 receptor agonist
20 compounds, which enhance the in vivo potency of the respective parent compound and produce higher oral exposure of the parent compound. Compounds of the present invention represent the best approach for maintaining the safety and efficacy of previously disclosed mGluR2 receptor agonists with increased oral bioavailability.

Synthetic excitatory amino acid prodrugs and processes for their preparation are
25 disclosed in PCT Application Serial Nos. PCT/US01/45866 and PCT/US02/00488.

Summary of the Invention

The present invention provides a compound of Formula 1



(I)

wherein

A is H-(Q)_p;

Q is independently selected, each time taken, from the group amino acyl;

p is an integer from 1 to 10;

X is O, S, SO, SO₂, or CR³R⁴;

R³ is fluoro, X'OR⁵, SO₃H, tetrazol-5-yl, CN, PO₃R⁶₂, hydroxy, or NO₂, and

R⁴ is hydrogen; or R³ and R⁴ each represent fluoro; or R³ and R⁴ together represent =O,

=NOR⁷, or =CR⁸R⁹; or one of R³ or R⁴ represents amino and the other represents

carboxyl; or R³ represents N₃, (CH₂)_mCOOR^{5a}, (CH₂)_mPO₃R^{6a}₂, NHCONHR^{5b}, or

NHSO₂R^{5c}, and R⁴ represents hydrogen; or R³ and R⁴ together represent =CHCOOR^{5b},

=CHPO₃R^{6a}₂, or =CHCN;

X' represents a bond, CH₂, or CO;

m is an integer from 1 to 3;

R⁵, R^{5a}, R^{5b}, R^{5c}, R⁷, R⁸, and R⁹ are independently a hydrogen atom; an

optionally substituted (1-6C) alkyl group; an optionally substituted (2-6C) alkenyl group;

an optionally substituted (2-6C) alkynyl group; an optionally substituted aromatic group;

an optionally substituted heteroaromatic group; a non-aromatic carbocyclic group; a non-

aromatic heterocyclic group; a non-aromatic monocyclic carbocyclic group fused with

one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups; or a non-aromatic monocyclic

heterocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups;

12

R^6 and R^{6a} independently represent hydrogen or a (1-6C)alkyl group;

R^{10} is hydrogen or fluoro; and

R^{11} is hydrogen, fluoro, or hydroxy;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

5 The present invention also provides a compound of Formula I wherein substituents are defined as above, provided that the compound is not one in which X is CR^3R^4 wherein R^3 is fluoro and R^4 is hydrogen, p is 1, and Q is L-alanyl; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10 The present invention also provide a compound of Formula I wherein A is $H-(Q)_p$; Q is independently selected, each time taken, from the group amino acyl; p is an integer from 1 to 3; X is O, S, SO, SO_2 , or CR^3R^4 ; R^3 is fluoro or hydroxy, and R^4 is hydrogen; or R^3 and R^4 together represent =O; R^{10} is hydrogen or fluoro; and R^{11} is hydrogen, fluoro, or hydroxy; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15 The present invention also provides a compound of Formula I wherein A is $H-(Q)_p$; Q is L-alanyl; p is 1; X is CR^3R^4 ; R^3 is fluoro and R^4 is hydrogen; R^{10} is hydrogen; and R^{11} is hydrogen; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20 It will be appreciated that the compounds of Formula I contain at least four asymmetric carbon atoms. The present invention includes all stereoisomeric forms of the compounds of Formula I, including each of the individual enantiomers and mixtures thereof such as prodrug forms of compounds disclosed in the '826 patent such as, for example, 1SR,4RS,5RS,6RS-4-amino-(2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane)-4,6-dicarboxylic acid.

25 A further aspect of the present invention provides for a pharmaceutical formulation comprising in association with a pharmaceutically acceptable carrier, diluent, or excipient, a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

30 A further aspect of the present invention provides for a method for affecting the cAMP-linked metabotropic glutamate receptors in a patient, which comprises administering to a patient requiring modulated excitatory amino acid neurotransmission a pharmaceutically-effective amount of a compound of Formula I. This invention also

13

provides for a use of a compound of Formula I for the manufacture of a medicament for affecting the cAMP-linked metabotropic glutamate receptors in a patient.

5 A further aspect of the present invention provides for a method of administering an effective amount of a compound of Formula II that comprises administering to a patient requiring modulated excitatory amino acid neurotransmission a pharmaceutically effective amount of a compound of Formula I. This invention also provides for a use of a compound of Formula I for the manufacture of a medicament for administering an effective amount of a compound of Formula II.

10 A further aspect of the present invention provides for a method for treating a neurological disorder in a patient that comprises administering to the patient in need of treatment thereof a pharmaceutically-effective amount of a compound of Formula I. This invention also provides for a use of a compound of Formula I for the manufacture of a medicament for treating a neurological disorder in a patient.

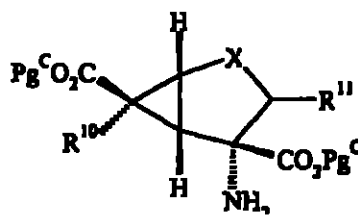
15 A further aspect of the present invention provides for a method for treating a psychiatric disorder in a patient that comprises administering to the patient in need of treatment thereof a pharmaceutically-effective amount of a compound of Formula I. This invention also provides for a use of a compound of Formula I for the manufacture of a medicament for treating a psychiatric disorder in a patient.

20 Compounds of Formula I may be made by a process that is analogous to one known in the chemical art for the production of structurally analogous heterocyclic compounds or by a novel process described herein. Such processes and intermediates useful for the manufacture of a compound of Formula I as defined above are illustrated by the following procedures in which, unless otherwise specified, the meanings of the generic radicals are as defined herein.

25

14

The present invention provides a process for preparing compounds of Formula I comprising acylating a compound of formula (ii):



(ii)

5 with a corresponding amino acyl of Formula III



wherein Pg^{N} is a nitrogen-protecting group and A is as defined above;

10 whereafter, for any of the above procedures, when a functional group is protected using a protecting group, removing the protecting group;

whereafter, for any of the above procedures: when a pharmaceutically acceptable salt of a compound of Formula I is required, reacting the basic form of such a compound of Formula I with an acid affording a pharmaceutically acceptable counterion; or for a compound of Formula I which bears an acidic moiety, reacting the acidic form of such a compound of Formula I with a base which affords a pharmaceutically acceptable cation; or for a zwitterionic compound of Formula I, neutralizing the acid-addition salt form or base-addition salt form of such a compound of Formula I; or by any other conventional procedure.

20 The present invention also provides for compounds of Formula I, wherein X is CH_2 , R^{10} is fluoro, and the other variables are as defined above.

Detailed Description of the Invention

Compounds of the invention have been found to be useful prodrugs of compounds that are selective agonists of metabotropic glutamate receptors, and are therefore useful in the treatment of diseases of the central nervous system such as neurological diseases, for example neurodegenerative diseases, and as antipsychotic, anxiolytic, drug-withdrawal, antidepressant, anticonvulsant, analgesic and anti-emetic agents.

It will be appreciated that the compounds of Formula 1 contain at least four asymmetric carbon atoms, three being in the cyclopropane ring and one being at the α -carbon of the amino acid group. Accordingly, the compounds of the invention may exist in and be isolated in enantiomerically pure form, in racemic form, or in a diastereoisomeric mixture.

The amino acid moiety preferably has the natural amino acid configuration, i.e., the L-configuration relative to D-glycerol aldehyde.

The present invention includes pharmaceutically acceptable salts of a compound of Formula 1. These salts can exist in conjunction with the acidic or basic portion of the molecule and can exist as acid addition, primary, secondary, tertiary, or quaternary ammonium, alkali metal, or alkaline earth metal salts. Generally, the acid addition salts may be prepared by the reaction of an acid with a compound of Formula 1. Alternatively, acid addition salts may be prepared by reacting the penultimate compound (protected intermediate) with appropriate equivalents of acid to produce the corresponding salt form, which, in turn, may be reacted to produce a compound of Formula 1 or other salts. The alkali metal and alkaline earth metal salts are generally prepared by the reaction of the hydroxide form of the desired metal salt with a compound of Formula 1.

Some particular salts provide certain formulation advantages due to their crystalline form. Non-crystalline amorphous forms of compounds may be hygroscopic. Crystalline forms of pharmaceutical compounds are sometimes more desirable because they exhibit favorable solid-state properties.

Acids commonly employed to form such salts include inorganic acids, for example hydrochloric, hydrobromic, nitric, sulphuric or phosphoric acids, or with organic acids, such as organic carboxylic acids, for example, glycollic, maleic, hydroxymaleic, fumaric, malic, tartaric, citric, salicylic, *o*-acetoxybenzoic, or organic sulphonc,

2-hydroxyethane sulphonic, toluene-p-sulphonic, methane-sulfonic, naphthalene-2-sulphonic, benzene sulfonic, or ethane sulfonic acid. 16

In addition to pharmaceutically acceptable salts, other salts are included in the invention. They may serve as intermediates in the purification of compounds or in the preparation of other pharmaceutically acceptable acid addition salts, or are useful for identification, characterization, or purification.

In the present invention, compounds of Formula I include solvates thereof. Particularly, compounds of Formula I include hydrates thereof.

Furthermore, the present invention contemplates prodrugs of fluorinated compounds as disclosed in International Application Nos. PCT/JP99/03984, PCT/JP99/00324, and PCT/JP01/05550. See International Publication Nos. WO/0012464, WO/9938839, and WO/0200605, respectively. For example, the present invention contemplates prodrugs of 1S,2R,5S,6S-2-amino-6-fluoro-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid; 1S,2R,4S,5S,6S-2-amino-6-fluoro-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid; 1S,2R,3R,5S,6S-2-amino-3-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid; and 1S,2R,3S,5S,6S-2-amino-6-fluoro-3-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid.

A variety of physiological functions have been shown to be subject to influence by excessive or inappropriate stimulation of excitatory amino acid transmission. The Formula I compounds of the present invention are believed to have the ability to treat a variety of neurological disorders in mammals associated with this condition, including acute neurological disorder such as cerebral deficits subsequent to cardiac bypass surgery and grafting, stroke, cerebral ischemia, spinal cord trauma, head trauma, perinatal hypoxia, cardiac arrest, and hypoglycemic neuronal damage. The Formula I compounds are believed to have the ability to treat a variety of chronic neurological disorders, such as Alzheimer's disease, Huntington's Chorea, amyotrophic lateral sclerosis, AIDS-induced dementia, ocular damage and retinopathy, cognitive disorders, and idiopathic and drug-induced Parkinson's. The present invention also provides methods for treating these disorders which comprises administering to a patient in need thereof an effective amount of a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

17
'

The Formula I compounds of the present invention treat a variety of other neurological disorders in patients that are associated with glutamate dysfunction, including muscular spasms, convulsions, migraine headaches, urinary incontinence, pain, premenstrual dysphoric disorder (PDD), psychosis, (such as schizophrenia), drug tolerance, withdrawal, cessation, and craving (such as nicotine, opiates, cocaine, benzodiazepines, and ethanol), anxiety and related disorders, emesis, brain edema, chronic pain, and tardive dyskinesia. The Formula I compounds are also useful as antidepressant and analgesic agents. Therefore, the present invention also provides methods for treating these disorders which comprise administering to a patient in need thereof an effective amount of a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The following definitions are to set forth the meaning and scope of the various terms used herein. The general terms used herein have their usual meanings.

The term "affecting" refers to a Formula II compound acting as an agonist at an excitatory amino acid receptor. The term "excitatory amino acid receptor" refers to a metabotropic glutamate receptor, a receptor that is coupled to cellular effectors via GTP-binding proteins. The term "cAMP-linked metabotropic glutamate receptor" refers to a metabotropic receptor that is coupled to inhibition of adenylate cyclase activity.

The term "neurological disorder" refers to both acute and chronic neurodegenerative conditions, including cerebral deficits subsequent to cardiac bypass surgery and grafting, cerebral ischemia (for example stroke resulting from cardiac arrest), spinal cord trauma, head trauma, Alzheimer's Disease, Huntington's Chorea, amyotrophic lateral sclerosis, AIDS-induced dementia, perinatal hypoxia, hypoglycemic neuronal damage, ocular damage and retinopathy, cognitive disorders, idiopathic and drug-induced Parkinson's Disease. This term also includes other neurological conditions that are caused by glutamate dysfunction, including muscular spasms, migraine headaches, urinary incontinence, drug tolerance, withdrawal, cessation, and craving (i.e. opiates, benzodiazepines, nicotine, cocaine, or ethanol), smoking cessation, emesis, brain edema, chronic pain, sleep disorders, convulsions, Tourette's syndrome, attention deficit disorder, and tardive dyskinesia.

The term "psychiatric disorder" refers to both acute and chronic psychiatric conditions, including schizophrenia, anxiety and related disorders (e.g. panic attack and stress-related cardiovascular disorders), depression, bipolar disorders, psychosis, obsessive compulsive disorders, generalized anxiety disorder, acute stress disorder, and panic disorder.

As used herein the term "effective amount" refers to the amount or dose of the compound, upon single or multiple dose administration to the patient, which provides the desired effect in the patient under diagnosis or treatment.

An effective amount can be readily determined by the attending diagnostician, as one skilled in the art, by the use of known techniques and by observing results obtained under analogous circumstances. In determining the effective amount or dose of compound administered, a number of factors are considered by the attending diagnostician, including, but not limited to: the species of mammal; its size, age, and general health; the specific disease involved; the degree of or involvement or the severity of the disease; the response of the individual patient; the particular compound administered; the mode of administration; the bioavailability characteristics of the preparation administered; the dose regimen selected; the use of concomitant medication; and other relevant circumstances. For example, a typical daily dose may contain from about 5 mg to about 300 mg of the active ingredient. The compounds can be administered by a variety of routes including oral, rectal, transdermal, subcutaneous, intravenous, intramuscular, bucal, or intranasal routes. Alternatively, the compound may be administered by continuous infusion.

As used herein the term "patient" refers to a mammal, such as a mouse, guinea pig, rat, dog or human. It is understood that the preferred patient is a human.

The term "treating" (or "treat") as used herein includes its generally accepted meaning which encompasses prohibiting, preventing, restraining, and slowing, stopping, or reversing progression of a resultant symptom. As such, the methods of this invention encompass both therapeutic and prophylactic administration.

JA
The general chemical terms used herein have their usual meanings. For example, the term "(1-6C) alkyl" means a straight or branched group. Examples of values for a (1-6C) alkyl group include (1-4C) alkyl such as methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, and isobutyl. The term "(2-6C) alkenyl" includes (2-4C) alkenyl, such as allyl. The term "(2-6C) alkynyl" includes (2-4C) alkynyl, such as propynyl.

The term "optionally substituted," as used in the terms "optionally substituted (1-6C) alkyl group," "optionally substituted (2-6C) alkenyl group," and "optionally substituted (2-6C) alkynyl group," herein signifies that one or more substituents may be present, preferably one to three, said substituents being selected from atoms and groups which, when present in the compound of Formula 1, do not prevent the compound of Formula 1 from modulating metabotropic glutamate receptor function.

Examples of atoms and groups which may be present in an optionally substituted (1-6C) alkyl group, an optionally substituted (2-6C) alkenyl group, or an optionally substituted (2-6C) alkynyl group are an optionally substituted aromatic group, an optionally substituted heteroaromatic group, a non-aromatic carbocyclic group, a non-aromatic heterocyclic group, a non-aromatic monocyclic carbocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups and a non-aromatic monocyclic heterocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups.

The term "heteroaromatic group" includes an aromatic 5-6 membered ring containing from one to four heteroatoms selected from oxygen, sulfur and nitrogen, and an aromatic bicyclic group consisting of a 5-6 membered ring containing from one to four heteroatoms selected from oxygen, sulfur and nitrogen fused with a benzene ring or a 5-6 membered ring containing from one to four heteroatoms selected from oxygen, sulfur and nitrogen. Examples of heteroaromatic groups are furyl, thiophenyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiazoyl, isothiazolyl, imidazolyl, pyrimidyl, benzofuryl, benzothiophenyl, benzimidazolyl, benzoxazolyl, benzothiazolyl and indolyl.

The term "aromatic group" includes phenyl and a polycyclic aromatic carbocyclic ring such as naphthyl.

The term "optionally substituted," as used in the terms "optionally substituted heteroaromatic group" and "optionally substituted aromatic group," herein signifies that one or more substituents may be present, said substituents being selected from atoms and

groups which, when present in the compound of Formula 1, do not prevent the compound of Formula 1 from modulating metabotropic glutamate receptor function. 26

Examples of atoms and groups which may be present in an optionally substituted heteroaromatic or an optionally substituted aromatic group are amino, hydroxy, nitro, halogeno, (1-6C) alkyl, (1-6C) alkoxy, (1-6C)alkylthio, carboxy, (1-6C) alkoxycarbonyl, carbamoyl, (1-6C) alkanoylamino, (1-6C)alkylsulphonyl, (1-6C) alkylsulphonylamino, optionally substituted phenyl, phenoxy, phenylthio, phenylsulphonyl, phenylsulphonylamino, toluenesulphonylamino, (1-6C)fluoroalkyl and (1-6C)fluoroalkoxy. Examples of particular values are amino, hydroxy, fluoro, chloro, bromo, iodo, methyl, methoxy, methylthio, carboxy, acetylamino, methanesulphonyl, nitro, acetyl, phenoxy, phenylthio, phenylsulphonyl, methanesulphonylamino and trifluoromethyl.

Examples of values for an optionally substituted aromatic group are 1-naphthyl, 2-naphthyl, phenyl, 2-biphenyl, 3-biphenyl, 4-biphenyl, 2-hydroxyphenyl, 3-hydroxyphenyl, 4-hydroxyphenyl, 2-fluorophenyl, 3-fluorophenyl, 4-fluorophenyl, 2,4-difluorophenyl, 3,4-difluorophenyl, pentafluorophenyl, 2-chlorophenyl, 3-chlorophenyl, 4-chlorophenyl, 2,4-dichlorophenyl, 3,4-dichlorophenyl, 3-chloro-4-fluorophenyl, 3,5-dichlorophenyl, 2-bromophenyl, 3-bromophenyl, 4-bromophenyl, 2-methylphenyl, 3-methylphenyl, 4-methylphenyl, 2-methoxyphenyl, 3-methoxyphenyl, 4-methoxyphenyl, 2,3-dimethoxyphenyl, 2,5-dimethoxyphenyl, 3,4-dimethoxyphenyl, 3,5-dimethoxyphenyl, 2-trifluoromethylphenyl, 3-trifluoromethylphenyl, 4-trifluoromethylphenyl, 2-fluoro-3-trifluoromethylphenyl, 3-trifluoromethyl-4-fluorophenyl, 3-trifluoromethyl-5-fluorophenyl, 2-fluoro-5-trifluoromethylphenyl, 2-phenoxyphenyl, 3-phenoxyphenyl, 3-carboxyphenyl, and 4-carboxyphenyl.

The term "non-aromatic carbocyclic group" includes a monocyclic group, for example a (3-10C)cycloalkyl group, such as cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, cyclooctyl, cyclononyl or cyclodecyl, and a fused polycyclic group such as 1-adamantyl or 2-adamantyl, 1-decalyl, 2-decalyl, 4a-decalyl, bicyclo[3,3,0]oct-1-yl, -2-yl or -3-yl, bicyclo[4,3,0]non-1-yl, -2-yl, -3-yl or -7-yl, bicyclo[5,3,0]dec-1-yl, -2-yl, -3-yl, -4-yl, -8-yl or -9-yl and bicyclo[3.3.1]non-1-yl, -2-yl, -3-yl or 9-yl.

21-

The term "non-aromatic heterocyclic group" includes a 4 to 7 membered ring containing one or two heteroatoms selected from oxygen, sulphur and nitrogen, for example azetidin-1-yl or -2-yl, pyrrolidin-1-yl, -2-yl or -3-yl, piperidin-1-yl, -2-yl, -3-yl or -4-yl, hexahydroazepin-1-yl, -2-yl, -3-yl or -4-yl, oxetan-2-yl or -3-yl, tetrahydrofuran-2-yl or -3-yl, tetrahydropyran-2-yl, -3-yl or -4-yl, hexahydrooxepin-2-yl, -3-yl or -4-yl, thietan-2-yl or -3-yl, tetrahydrothiophen-2-yl or -3-yl, tetrahydrothiopyran-2-yl, -3-yl or -4-yl, hexahydrothiepin-2-yl, -3-yl or -4-yl, piperazin-1-yl or -2-yl, morpholin-1-yl, -2-yl or -3-yl, thiomorpholin-1-yl, -2-yl or -3-yl, tetrahydropyrimidin-1-yl, -2-yl, -4-yl or -5-yl, imidazolin-1-yl, -2-yl or -4-yl, imidazolidin-1-yl, -2-yl or -4-yl, oxazolin-2-yl, -3-yl, -4-yl or -5-yl, oxazolidin-2-yl, -3-yl, -4-yl or -5-yl, thiazolin-2-yl, -3-yl, -4-yl or -5-yl, or thiazolidin-2-yl, -3-yl, -4-yl or -5-yl.

The term "a non-aromatic monocyclic carbocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups" includes a (3-10C)cycloalkyl group fused with a benzene ring or a an aromatic 5-6 membered ring containing from one to four heteroatoms selected from oxygen, sulfur and nitrogen, such as indanyl, 1,2,3,4-tetrahydronaphth-1-yl or -2-yl, 5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-yl, -6-yl, -7-yl or 8-yl, 5,6,7,8-tetrahydroisoquinolin-5-yl, -6-yl, -7-yl or 8-yl, 4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophen-4-yl, -5-yl, -6-yl or -7-yl, dibenzo[2,3,6,7]cycloheptan-1-yl or -4-yl, dibenzo[2,3,6,7]cyclohept-4-en-1-yl or -4-yl, or 9-fluorenyl.

The term "a non-aromatic monocyclic heterocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups" includes a 4 to 7 membered ring containing one or two heteroatoms selected from oxygen, sulphur and nitrogen, fused with a benzene ring or a an aromatic 5-6 membered ring containing from one to four heteroatoms selected from oxygen, sulfur and nitrogen, such as 2,3-dihydrobenzopyran-2-yl, -3-yl or -4-yl, xanthen-9-yl, 1,2,3,4-tetrahydroquinolin-1-yl, -2-yl, -3-yl or -4-yl, 9,10-dihydroacridin-9-yl or -10-yl, 2,3-dihydrobenzothiopyran-2-yl, -3-yl or -4-yl, or dibenzothiopyran-4-yl.

The term "nitrogen-protecting group," as used herein and as represented by "Pg^N," refers to those groups intended to protect or block the nitrogen group against undesirable reactions during synthetic procedures. Choice of the suitable nitrogen-protecting group used will depend upon the conditions that will be employed in subsequent reaction steps wherein protection is required, as is well within the knowledge

of one of ordinary skill in the art. Commonly used nitrogen-protecting groups are disclosed in T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protective Groups In Organic Synthesis*, 3rd Ed. (John Wiley & Sons, New York (1999)). A preferred nitrogen-protecting group is tert-butoxycarbonyl.

5 The term "carboxy-protecting group," as used herein and as represented by "Pg^C," refers to one of the ester derivatives of the carboxylic acid group commonly employed to block or protect the carboxylic acid group while reactions are carried out on other functional groups of the compound. Particular values include, for example, methyl, ethyl, tert-butyl, benzyl, methoxymethyl, trimethylsilyl, and the like. Further examples of
10 such groups may be found in T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed. (John Wiley & Sons, New York (1999)). Preferred carboxy-protecting group are methyl and ethyl. The ester is decomposed by using a conventional procedure which does not affect another portion of the molecule.

15 The term "hydroxyl protecting group" denotes a group understood by one skilled in the organic chemical arts of the type described in Chapter 2 of Greene and Wuts. Representative hydroxyl protecting groups include, for example, ether groups, substituted ethyl ether groups, isopropyl ether groups, phenyl and substituted phenyl ether groups, benzyl and substituted benzyl ether groups, alkylsilyl ether groups, ester protecting groups, and the like. The species of hydroxyl protecting group employed is not critical so
20 long as the derivatized hydroxyl group is stable to the conditions of subsequent reaction(s) on other positions of the intermediate molecule and can be selectively removed at the appropriate point without disrupting the remainder of the molecule including any other hydroxyl protecting group(s).

25 The term "amino acyl" means an amino acyl derived from an amino acid selected from the group consisting of natural and unnatural amino acids as defined herein. The natural amino acids may be neutral, positive or negative depending on the substituents in the side chain. "Neutral amino acid" means an amino acid containing uncharged side chain substituents. Exemplary neutral amino acids include alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, phenylalanine, tryptophan, methionine, glycine, serine, threonine,
30 cysteine, glutamine, and asparagine. "Positive amino acid" means an amino acid in which the side chain substituents are positively charged at physiological pH. Exemplary positive amino acids include lysine, arginine and histidine. "Negative amino acid" means

an amino acid in which the side chain substituents bear a net negative charge at physiological pH. Exemplary negative amino acids include aspartic acid and glutamic acid. Preferred amino acids are α -amino acids. The most preferred amino acids are α -amino acids having L stereochemistry at the α -carbon. Exemplary natural α -amino acids are valine, isoleucine, proline, phenylalanine, tryptophan, methionine, glycine, serine, threonine, cysteine, tyrosine, asparagine, glutamine, lysine, arginine, histidine, aspartic acid and glutamic acid.

"Unnatural amino acid" means an amino acid for which there is no nucleic acid codon. Examples of unnatural amino acids include, for example, the D-isomers of the natural α -amino acids as indicated above; Aib (aminobutyric acid), β Aib (3-aminoisobutyric acid), Nva (norvaline), β -Ala, Aad (2-aminoadipic acid), β Aad (3-aminoadipic acid), Abu (2-aminobutyric acid), Gaba (γ -aminobutyric acid), Acp (6-aminocaproic acid), Dbu (2,4-diaminobutyric acid), α -aminopimelic acid, TMSA (trimethylsilyl-Ala), alle (allo-isoleucine), Nle (norleucine), tert-Leu, Cit (citrulline), Orn, Dpm (2,2'-diaminopimelic acid), Dpr (2,3-diaminopropionic acid), α - or β -Nal, Cha (cyclohexyl-Ala), hydroxyproline, Sar (sarcosine), O-methyl tyrosine, phenyl glycine and the like; cyclic amino acids; N^a -alkylated amino acids where N^a -alkylated amino acid is N^a -(1-10C)alkyl amino acid such as MeGly (N^a -methylglycine), EtGly (N^a -ethylglycine) and EtAsn (N^a -ethylasparagine) and amino acids in which the α -carbon bears two side-chain substituents. Exemplary unnatural α -amino acids include D-alanine, D-leucine and phenylglycine. The names of natural and unnatural amino acids and residues thereof used herein follow the naming conventions suggested by the IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (ICBN) as set out in "Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides (Recommendations, 1983)" European Journal of Biochemistry, 138, 9-37 (1984). To the extent that the names and abbreviations of amino acids and residues thereof employed in this specification and appended claims differ from those noted, differing names and abbreviations will be made clear.

Although all of the compounds of Formula I are useful active mGluR2 receptor agonists, certain compounds are preferred. The following paragraphs define preferred classes.

- 5 A) Q is glycyl, alanyl, valyl, leucyl, isoleucyl, prolyl, phenylalanyl, tyrosyl, tryptophyl, methionyl, lysyl, or serinyl.
- B) Q is alanyl.
- C) Q is methionyl.
- D) p is 1.
- E) p is 2.
- 10 F) X is SO₂.
- G) X is CR³R⁴.
- H) R³ is fluoro and R⁴ is hydrogen.
- I) R³ is hydroxy and R⁴ is hydrogen.
- J) R³ and R⁴ together represent =O.
- 15 K) R¹⁰ is hydrogen.
- L) R¹⁰ is fluoro.
- M) R¹¹ is hydrogen.
- N) The compound is a free base.
- O) The compound is a salt.
- 20 P) The compound is the hydrochloride salt.
- Q) The compound is the mesylate salt.
- R) The compound is the esylate salt.
- S) The compound is the tosylate salt.

25 The preceding paragraphs may be combined to define additional preferred classes of compounds.

 The compounds of Formula I are useful for the treatment of disorders of mammals, and the preferred mammal is a human.

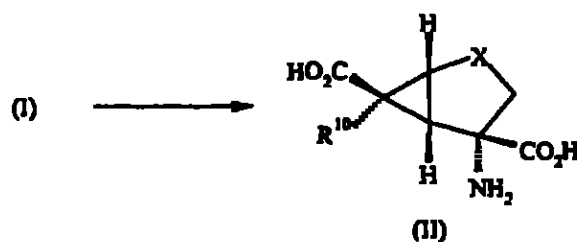
30 The compounds of the present invention can be prepared by a variety of procedures, some of which are illustrated in the schemes below. The particular order of steps required to produce the compounds of Formula I is dependent upon the particular compound being synthesized, the starting compound, and the relative lability of the

substituted moieties. Some substituents may have been eliminated in the following schemes for the sake of clarity, and are not intended to limit the teaching of the schemes in any way. As one of ordinary skill in the art will appreciate, substituents R^{15} and R^{16} represent the appropriate side chain to form the desired amino acyl.

5 If not commercially available, the necessary starting materials for the following schemes may be made by procedures which are selected from standard techniques of organic and heterocyclic chemistry, techniques which analogous to the syntheses of known, structurally similar compounds, and the procedures described in the preparations and examples, including novel procedures.

10

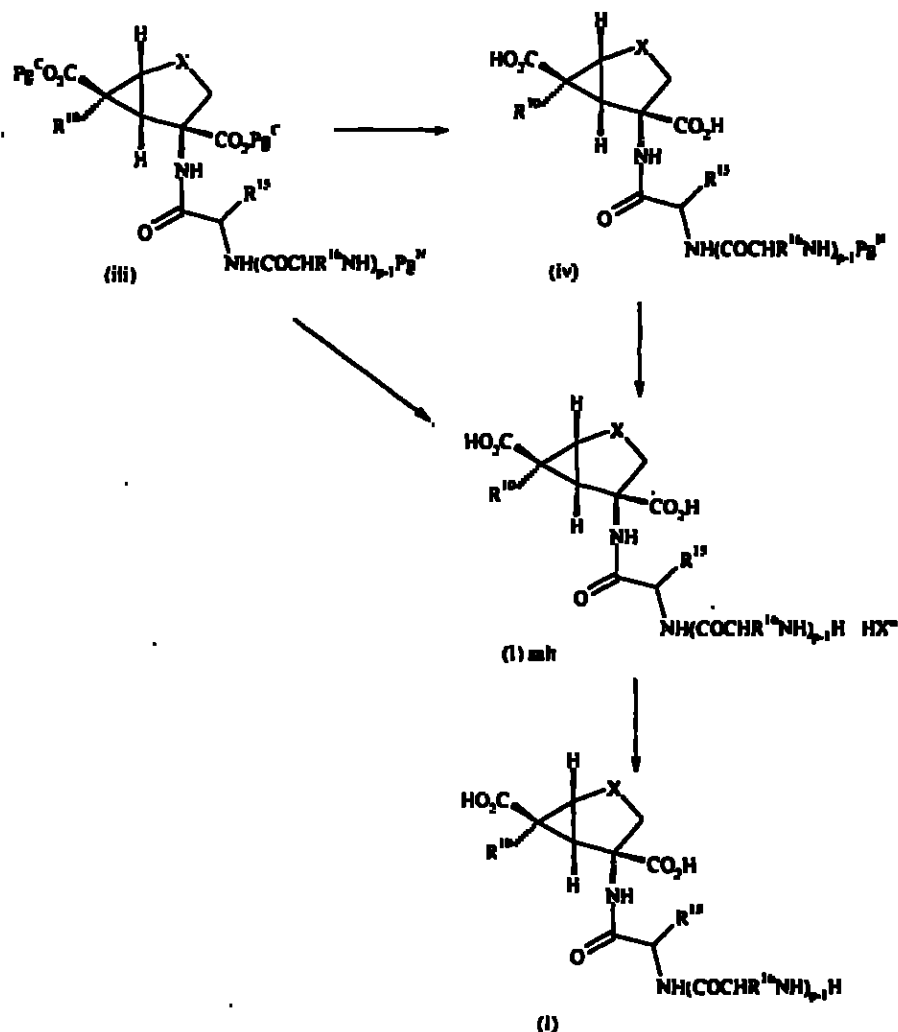
Scheme 1



Compounds of Formula I are converted via enzymatic or hydrolytic process in vivo to form compounds of Formula II, as shown in Scheme 1 above. In particular, a crystalline form of a compound of Formula I may be prepared according to the route outlined in Scheme 2 below.

15

Scheme 2

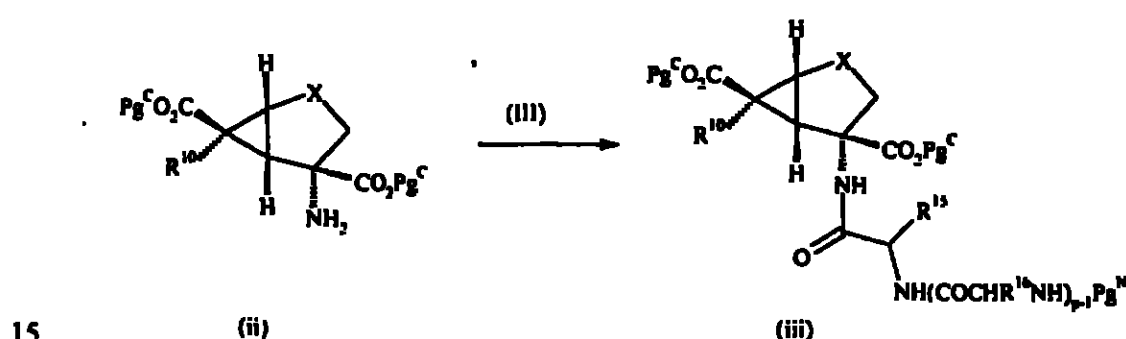


The hydrolysis of the di-ester protected peptidyl compound of formula (iii) with a suitable base such as lithium hydroxide or sodium hydroxide in a suitable solvent, such as THF or THF/water, affords the di-acid protected peptidyl compound of formula (iv). A compound of formula (iv) may be deprotected with a suitable acid in a suitable solvent. Such conditions may produce the corresponding acid salt of the di-acid peptidyl compound, depicted in Formula 1 salt, as an amorphous solid or, directly, a crystalline solid, wherein X⁺ represents the corresponding anion. In the case of an amorphous solid, subsequent crystallization may occur from suitable solvents. Carboxylate salts may be formed by the introduction of a cationic species by a reagent such as sodium acetate.

Finally, the zwitterionic compound may be afforded by treatment of the crystalline salt compound with an appropriate base.

For example, a di-acid protected peptidyl compound of formula (iv) when treated hydrogen chloride gas in suitable solvent provides the deprotected hydrochloride salt as an amorphous solid. The amorphous hydrochloride compound may then be crystallized from acetone and water to afford the crystalline hydrochloride salt compound. In the case of a crystalline solid which is formed directly, filtration of the reaction mixture may afford the crystalline salt. The zwitterionic compound is afforded by treatment of the crystalline hydrochloride salt compound with sodium hydroxide; alternatively, treatment of the mesylate salt compound or the tosylate salt compound with sodium hydroxide will also afford the zwitterionic compound. It will be appreciated by one of ordinary skill in the art that a compound of Formula I may be prepared in one procedure where the indicated intermediates are not isolated.

Scheme 3

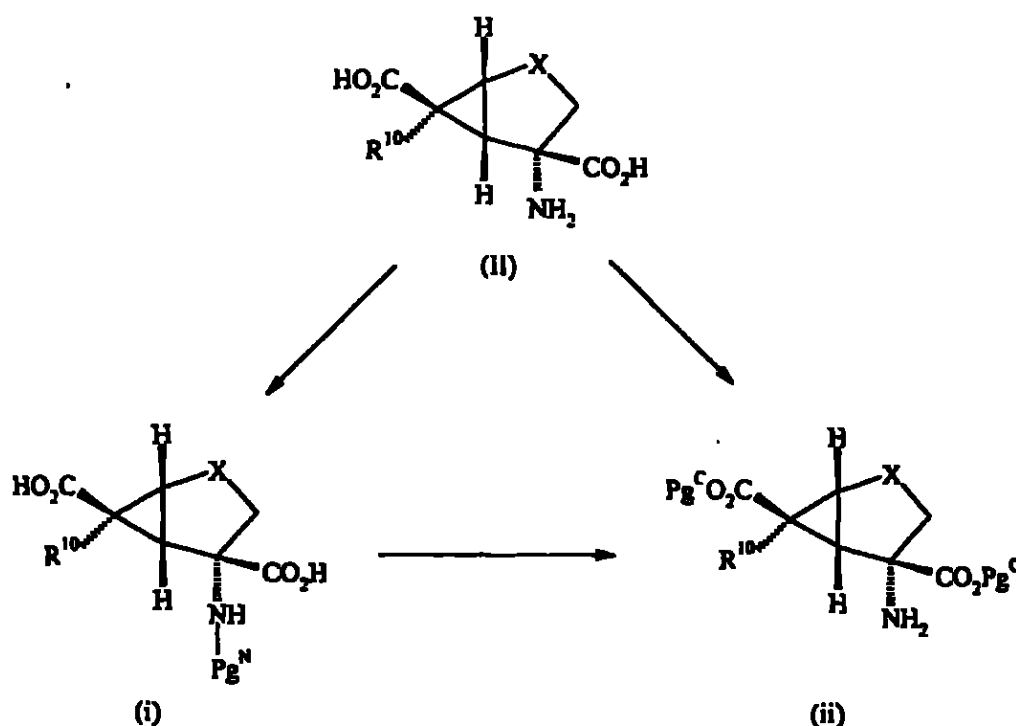


The di-ester of formula (ii) is acylated with a compound of Formula III using a suitable coupling agent to afford a di-ester protected peptidyl compound of formula (iii). Alternatively, this transformation could be achieved using the acid chloride of a compound of Formula III.

Suitable peptide coupling reagents include dicyclohexylcarbodiimide (DCC), 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC), isobutyl chloroformate, diphenyl chlorophosphate, 2-chloro-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazine (CDMT), bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinic chloride, and benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate.

Scheme 4

28



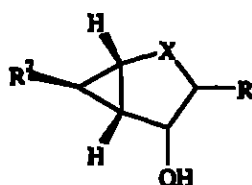
In Scheme 4 above, a compound of Formula II, a di-acid, is treated with a suitable carboxy-protecting agent, such as catalytic hydrochloric acid or thionyl chloride and methanol or ethanol, affording the corresponding di-ester of formula (ii). Alternatively, a compound of Formula II first may be treated with a nitrogen-protecting agent such as BOC_2O to afford a nitrogen-protected compound of formula (i). Next, a compound of formula (i) may be treated with a carboxy-protecting agent such as methyl iodide in the presence of a base such as potassium carbonate, followed then by an nitrogen deprotecting agent such as hydrochloric acid or trifluoroacetic acid to afford a compound of formula (ii).

Additionally, one of ordinary skill in the art would recognize that depending on X , an appropriate protecting agent may be necessary. For example, if X represents CR^3R^4 , R^3 represents hydroxy, and R^4 represents hydrogen, then one of ordinary skill in the art would appreciate that a suitable hydroxyl protecting group may be necessary before proceeding with any of the above schemes.

Compounds of Formula II are known in the art. For example, preparations of these compounds may be found in U.S. Patent Nos. 5,688,826 (the '826 patent) and 5,958,960 (the '960 patent).

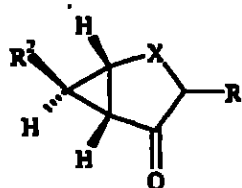
Various improvements upon the synthetic route to compounds of Formula II have been made over the processes previously disclosed. The improvements involve sulfur and alcohol oxidation, as well as optical resolution of various intermediates as described below.

The first improvement relates to the conversion described in the '826 patent at column 8, lines 22-34, and column 7, beginning at column 33 (Formula V), involving oxidation of a compound of Formula VII of the '826 patent



Formula (VII) of the '826 patent

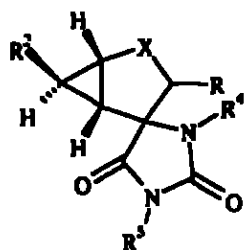
to form a compound of Formula V of the '826 patent



Formula (V) of the '826 patent

It has been discovered that the sulfur trioxide-pyridine complex or trifluoroacetic anhydride in conjunction with DMSO are preferred of the many oxidation methods known in the art.

Second, with respect to the resolution of a compound of Formula III of the '826 patent



Formula (III) of the '826 patent

5 in which R^2 represents a carboxyl group, referred to in column 8, at lines 3-7, and column 6, beginning at line 1 (Formula III), it has been discovered that (*R*)- α -methylbenzylamine and quinine are preferred. (*R*)- α -methylbenzylamine is particularly preferred.

Further, it has been discovered that when oxidizing the sulfide of a compound of Formula III of the '826 patent where X is sulfur to form a compound of Formula III of the
10 '826 patent where X is sulfonyl, as referred to in the '826 patent at column 8, lines 39-53, that a basic aqueous system and hydrogen peroxide used in combination with a catalyst are preferred.

The following Examples further illustrate the compounds of the present invention and the methods for their synthesis. The Examples are not intended to be limiting to the
15 scope of the invention in any respect, and should not be so construed. All experiments are run under a positive pressure of dry nitrogen or argon. All solvents and reagents are purchased from commercial sources and used as received, unless otherwise indicated. Dry tetrahydrofuran (THF) may be obtained by distillation from sodium or sodium benzophenone ketyl prior to use. Proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) spectra
20 are obtained on a Bruker Avance II bay-500 at 500 MHz, a Bruker Avance I bay-200 at 200MHz, or a Varian Inova/Varian 300/Varian 400 at 500 MHz. Electrospray mass spectroscopy (ESI) is performed on a Agilent MSD/B instrument using acetonitrile/aqueous ammonium acetate as the mobile phase. Free atom bombardment mass spectroscopy (FABMS) is performed on a VG ZAB-2SE instrument. Field
25 desorption mass spectroscopy (FDMS) is performed using either a VG 70SE or a Varian MAT 731 instrument. Optical rotations are measured with a Perkin-Elmer 241 polarimeter. Chromatographic separation on a Waters Prep 500 LC is generally carried

31

out using a linear gradient of the solvents indicated in the text. The reactions are generally monitored for completion using thin layer chromatography (TLC). Thin layer chromatography is performed using E. Merck Kieselgel 60 F254 plates, 5 cm X 10 cm, 0.25 mm thickness. Spots are detected using a combination of UV and chemical

5 detection (plates dipped in a ceric ammonium molybdate solution [75 g of ammonium molybdate and 4 g of cerium (IV) sulfate in 500 mL of 10% aqueous sulfuric acid] and then heated on a hot plate). Flash chromatography is performed as described by Still, *et al.* Still, Kahn, and Mitra, *J. Org. Chem.*, 43, 2923 (1978). Elemental analyses for carbon, hydrogen, and nitrogen are determined on a Control Equipment Corporation 440

10 Elemental Analyzer or are performed by the Universidad Complutense Analytical Centre (Facultad de Farmacia, Madrid, Spain). Melting points are determined in open glass capillaries on a Gallenkamp hot air bath melting point apparatus or a Büchi melting point apparatus, and are uncorrected.

The abbreviations, symbols and terms used in the examples have the following

15 meanings.

Ac = acetyl
Anal. = elemental analysis
ATR = attenuated total internal reflection
Bn or Bzl = benzyl
20 Bu = butyl
BOC = t-butoxycarbonyl
calcd = calculated
D₂O = deuterium oxide
DCC = dicyclohexylcarbodiimide
25 DCM = 1,2-dichloromethane
DIBAL-H = diisobutyl aluminum hydride
DMAP = 4-dimethylaminopyridine
DMF = dimethylformamide
DMSO = dimethylsulfoxide
30 DSC = differential scanning calorimetry
EDC = N-ethyl-N'-dimethylaminopropyl carbodiimide hydrochloride
ES = Electrospray

	Et = ethyl
	EtOH = ethanol
	FAB = Fast Atom Bombardment (Mass Spectrascopy)
	FDMS = field desorption mass spectrum
5	FTIR = Fourier transform infrared spectrometry
	HOAt = 1-hydroxy-7-azabenzotriazole
	HOBt = 1-hydroxybenzotriazole
	HPLC = High Performance Liquid Chromatography
	HRMS = high resolution mass spectrum
10	i-PrOH = isopropanol
	IR = Infrared Spectrum
	L = liter
	Me = methyl
	MeOH = methanol
15	MPLC = Medium Pressure Liquid Chromatography
	Mp = melting point
	MTBE = t-butyl methyl ether
	NBS = N-bromosuccinimide
	NMR = Nuclear Magnetic Resonance
20	PC-TLC = preparative centrifugal thin layer chromatography
	Ph = phenyl
	p.o. = oral administration
	i-Pr = isopropyl
	Rochelle's Salt = potassium sodium tartrate
25	rt = room temperature
	SM = starting material
	TBS = tert-butyldimethylsilyl
	TEA = triethylamine
	Temp. = temperature
30	TFA = trifluoroacetic acid
	THF = tetrahydrofuran
	TLC = thin layer chromatography

t-BOC = tert-butoxycarbonyl

33
32

General Procedure A

EDC coupling between amines and N-BOC-(L)-aminoacids

- 5 Suspend the starting amino dialkyl ester (a compound of formula ii, Scheme 3) (1.0 equiv.) in dry dichloromethane under nitrogen. Sequentially add the corresponding N-Boc-(L)-aminoacid (1.5-2.0 equiv), EDC (1.5-2.0 equiv), HOBt (1.5-2.0 equiv), and dimethylaminopyridine (DMAP, 0.1-0.2 equiv). Stir the reaction mixture at room temperature until judged complete by TLC unless otherwise noted. Dilute the reaction mixture with ethyl acetate and wash sequentially with saturated aqueous NaHCO₃ and/or aqueous NaHSO₄, and brine. After drying over sodium sulfate and evaporation *in vacuo* purify the crude residue (a compound of formula iii) by silica gel chromatography using the appropriate eluent (typically ethyl acetate/hexanes).
- 10

15 General Procedure B

Anhydride coupling between amine and N-BOC-(L)-aminoacid isobutyl anhydrides

- To a solution of the corresponding N-Boc-(L)-aminoacid (1.5 equiv) in dry dichloromethane (10 mL) at -20°C under nitrogen add N-methyl morpholine (NMM, 1.5 equiv, in 1 mL CH₂Cl₂) followed by dropwise addition of *iso*-butyl chloroformate (IBCF, 1.5 equiv, in 5 mL CH₂Cl₂) at a rate so the internal reaction temperature does not exceed -15°C. Stir the resulting reaction mixture at -20°C for 30 minutes then add a -20°C solution of (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (1.0 equiv) in dichloromethane (10 mL) at a rate so the internal reaction temperature does not exceed -15°C. Upon complete addition, remove the cooling bath and stir the reaction mixture at room temperature until judged complete by TLC. Dilute the reaction mixture with ethyl acetate and sequentially wash with saturated aqueous NaHCO₃, aqueous NaHSO₄, and brine. After drying over magnesium sulfate and evaporation *in vacuo* purify the crude residue by silica gel chromatography using the appropriate eluent (typically hexanes/ethyl acetate).
- 20
- 25
- 30

34

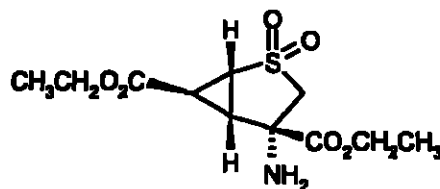
General Procedure C

Sequential N-Boc and ester protecting group removal

Stir the corresponding N-Boc diester peptide derivative (a compound of formula iii, Scheme 2) (1.0 equiv) in a 1:1 mixture of THF/2.5 N LiOH (10-20 equiv) at room temperature for up to 4 hours. Dilute the reaction with H₂O and wash with ethyl acetate. Discard the organic layer. Adjust the aqueous phase to pH 2 with 1 N HCl (NaCl added to aqueous phase to enhance extractability as needed) and exhaustively extract the N-boc dicarboxylic acid product (a compound of formula iv) with ethyl acetate. Combine all organics, wash with brine, dry over MgSO₄, and concentrate to dryness *in vacuo* to afford the desired carboxylate product as a foamy solid. Dissolve in ethyl acetate and chill to 0°C. Purge the reaction mixture with anhydrous HCl gas until saturated with HCl. Stir the resulting reaction mixture at 0°C for up to 4 hours. Isolate the fully deprotected peptide derivative (a compound of Formula I) as its hydrochloride salt by filtration under N₂ or by concentration of the reaction mixture to dryness followed by trituration with ethyl acetate or Et₂O and concentration to a white powder. Optionally, to remove residual solvent and excess HCl, reconstitution of the products in H₂O, freezing, and subsequent lyophilization afford the desired hydrochloride products.

Preparation 1

(1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester



To a slurry of (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (10 g, 42.5 mmol, U.S. Patent No. 5,688,826) in 100 mL of 2B ethanol at room temperature is added thionyl chloride (15.5 mL, 212.6 mmol) dropwise over 20 minutes followed by rinsing with 40 mL of ethanol. Heat the slurry to reflux and stir overnight. Analysis via 500 MHz 1H NMR (CD₃OD) of a concentrated aliquot reveals complete consumption of starting material and intermediate monoester. Allow the

35
resultant solution to cool to room temperature, then concentrate to a gelatinous residue. Add EtOAc (50 mL) to the gelatin that was further concentrated to a solid, then dilute with another 94 mL of EtOAc. Add 15% aqueous sodium carbonate (70 mL) slowly to the mixture with swirling by hand to gradually afford dissolution, giving a final pH of 5 7.95. Filter the resulting sodium carbonate precipitation before extracting the layers. Back extract the aqueous layer with EtOAc (2 x 100 mL). Wash the combined organic extracts with brine (1 x 100 mL), dry (MgSO₄), filter, and concentrate *in vacuo* to provide a faint yellow oil that solidified to give the title compound as an off-white solid (11.71 g, 95% yield).

10

Recrystallization

A mixture of the title compound (200 mg) in EtOAc (800 μ L) is heated to 56 °C at which time dissolution occurs. After stirring for 15 minutes at 56 °C, heptane (1 mL) is added dropwise to the solution. The heat is turned off. Allow the solution to cool to 15 °C at which time precipitation occurs. Upon cooling and further dilution with heptane (600 μ L), the slurry forms. Stir the resultant slurry at room temperature for 1 hour before filtering, washing with heptane (2 x 500 μ L), and drying at 45 °C overnight to give 145 mg (73% recovery) of the title compound as a white solid.
mp 80-83 °C.

20 $[\alpha]_{25}^D -57.7^\circ$ (c 1.04, CH₃OH).

500 MHz ¹H NMR (CD₃Cl₃) δ 4.31 (q, 2H, J = 7.0 Hz), 4.20 (m, 2H), 3.78 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 3.36 (dd, 1H, J = 4.0, 7.0 Hz), 2.93 (dd, 1H, J = 4.0, 7.0 Hz), 2.81 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 2.46 (t, 1H, J = 4.0), 1.34 (t, 3H, J = 7.0), 1.30 (t, 3H, J = 7.0).

25 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃Cl₃) δ 171.68, 168.57, 63.26, 62.42, 59.96, 56.06, 43.78, 32.25, 22.49, 14.31, 14.25.

FTIR (ATR) 3364.15 (s), 1725.95 (s), 1304.91 (s), 1259.24 (s), 1200.84 (s), 1104.91 (s), 1022.99 (s), 896.45 (s), 851.21 (s) cm⁻¹.

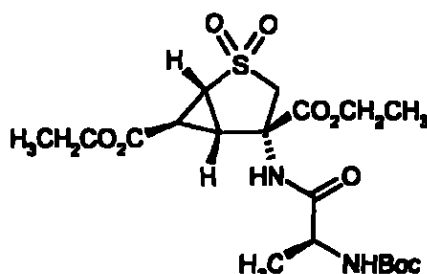
Anal. Calcd for C₁₁H₁₇NO₆S: C, 45.35; H, 5.88; N, 4.81. Found: C, 45.02; H, 5.75; N, 4.82.

30

36

Preparation 2

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

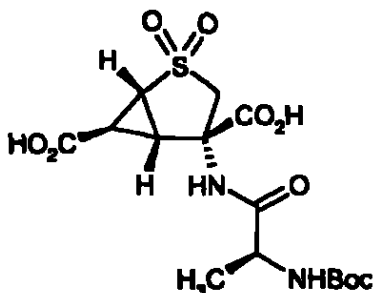
To a solution of N-Boc-L-alanine (43.52 g, 230 mmol) and N-methyl morpholine (25.5 mL, 232 mmol) in 457 mL of methylene chloride at -30 °C under nitrogen add *iso*-butyl chloroformate (30.4 mL, 234 mmol) dropwise over 10 minutes. Stir the resultant thin slurry at -25 to -30 °C for 30 min at which time a solution of (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester (63.90 g, 219 mmol, Preparation 1) in 213 mL of methylene chloride is added over 25 minutes such that the reaction temperature does not exceed -25 °C. Upon completion of the addition, remove the cooling bath and allow to stir at ambient temperature for 60 minutes at which time the reaction temperature reached 19 °C and the color became faint orange. Treat the reaction with 350 mL of 1 N HCl and separate the layers. Wash the organic layer with saturated aqueous NaHCO₃ (1 x 350 mL) and brine (1 x 350 mL), dry (Na₂SO₄), filter, and concentrate *in vacuo* to a white foam (105.2 g, 104%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.62 (brs, 1H), 4.90 (brd, 1H, *J* = 7.1 Hz), 4.34-4.10 (m, 6H), 3.39 (ddd, 1H, *J* = 7.2, 3.9, 1.0 Hz), 3.00 (dd, 1H, *J* = 7.1, 3.9 Hz), 2.90 (brd, 1H, *J* = 14.9 Hz), 2.43 (t, 1H, *J* = 4.1 Hz), 1.46 (s, 9H), 1.31 (m, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 173.0, 168.6, 167.6, 80.9, 76.5, 63.3, 62.3, 59.9, 55.7, 42.8, 31.5, 28.2, 22.7, 16.6, 14.0, 13.9. MS (ES) *m/z* 461.0 [M-H]⁻.

Preparation 3

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid

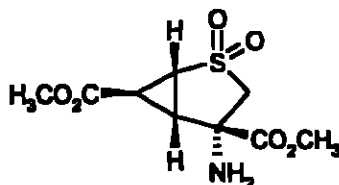


5

- To a solution of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester (181.4 g, 392 mmol theoretical, Preparation 2) in 292 mL of THF at room temperature add 490 mL (980 mmol) of 2N sodium hydroxide. Allow the biphasic mixture to stir vigorously at room temperature for 1.25 hours at which time the reaction is homogeneous. Dilute the mixture with 490 mL of ethyl acetate and separate the layers. Dilute the aqueous layer with 490 mL of ethyl acetate, and lower the pH of the mixture to 1.5 with concentrated HCl. Separate the layers and back-extract the aqueous layer with 245 mL of ethyl acetate. Dry the combined organic layers (Na₂SO₄), filter, and concentrate to provide 167.9 g (105%) of the title compound as a white foam. This material was used without characterization in Examples 1 and 2.
- 10
- 15

Preparation 4

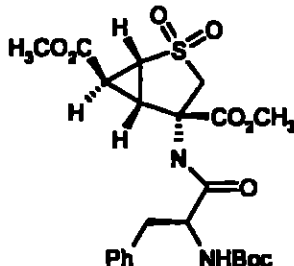
(1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



- 5 Add thionyl chloride (6.2 mL, 85.0 mmol) dropwise to a rapidly stirred suspension of (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (10.0 g, 42.5 mmol, U.S. Patent No. 5,688,826) in MeOH (170 mL, 5 °C). Upon complete addition, allow the reaction mixture to warm slowly to room temperature, then warm under reflux for 48 h. Remove the volatiles under reduced
- 10 pressure, and partition the residue between a saturated solution of NaHCO₃ (200 mL) and ethyl acetate (400 mL). Separate the layers and extract the aqueous one with ethyl acetate (2 x 400 mL each time). Dry the combined organic layers over K₂CO₃, and concentrate under reduced pressure to afford 8.10 g (30.8 mmol) of the title compound in 72% yield.
- $[\alpha]_D^{23} = -84^\circ$ (c = 0.5, MeOH).
- 15 Anal Calcd for C₉H₁₃NO₆S: C, 41.06; H, 4.98; N, 5.32. Found: C, 40.94; H, 4.93; N, 5.30.
- MS (ES) m/z 264.0 [M+H]⁺.

Preparation 5

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-phenyl-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-(L)-Phenylalanine and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 4). Reflux reaction mixture overnight. Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate).

10 Yield 0.85 g (88 %, 1.67 mmol) of a white foam.

$[\alpha]_D^{23} = -35.2^\circ$ (c = 0.45, CHCl₃).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.43 (9H, s), 2.38-2.40 (1H, m), 2.86 (1H, d, J = 15.0 Hz), 2.91 (1H, dd, J = 4.4, 7.3 Hz), 3.04 (2H, d, J = 7.3 Hz), 3.35-3.39 (1H, m), 3.77 (3H, s), 3.84 (3H, s), 4.11 (1H, d, J = 14.3), 4.30 (1H, app. q, J = 7.3), 4.96 (1H, bd, J = 6.6 Hz), 6.96 (1H, bs), 7.22-7.36 (5H, m).

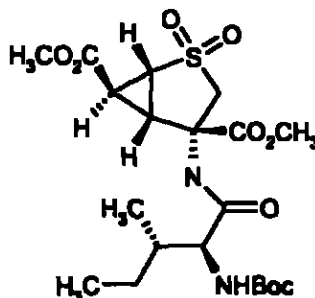
15

Anal Calcd for C₂₃H₃₀N₂O₉S·0.1H₂O: C, 53.92; H, 5.94; N, 5.47. Found: C, 53.62; H, 5.90; N, 5.28.

MS (ES) m/z 509.16 [M - H]⁻; 411.2 [M - Boc]⁺.

Preparation 6

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'S-methyl-pentanoylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-(L)-Isoleucine and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 4). Reflux reaction mixture overnight.

Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate).

10 Yield 0.75 g (83 %, 1.57 mmol) of a white foam.

$[\alpha]_D^{23} = -32.65^\circ$ (c = 0.49, CHCl₃).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.91 (3H, t, J = 7.3 Hz), 0.93 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.10-1.18 (1H, m), 1.46 (9H, s), 1.42-1.52 (1H, m), 1.81-1.86 (1H, bm), 2.51 (1H, t, J = 4.0 Hz), 2.95 (1H, d, J = 15.0 Hz), 3.06 (1H, dd, J = 4.4, 7.3 Hz), 3.43 (3H, dd, J = 3.7, 7.0 Hz), 3.78 (3H, s), 3.85 (3H, s), 3.82-3.90 (1H, m), 4.20 (1H, d, J = 14.7 Hz), 4.94 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.19 (1H, bs).

15

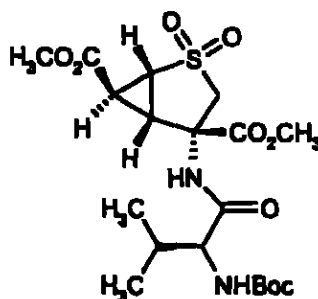
Anal Calcd for C₂₀H₃₂N₂O₉S: C, 50.41; H, 6.77; N, 5.88. Found: C, 50.32; H, 6.92; N, 5.76.

MS (ES) m/z 475.1 [M - H]⁻.

20

Preparation 7

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-methyl-butylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-(L)-Valine and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 4). Reflux reaction mixture overnight. Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate).

10 Yield 0.41 g (47 %, 0.89 mmol) of a white foam.

$[\alpha]_D^{23} = -35.36^\circ$ (c = 0.51, CHCl₃).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.93 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.96 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.46 (9H, s), 2.06-2.13 (1H, m), 2.50 (1H, t, J = 4.0 Hz), 2.94 (1H, d, J = 15.0 Hz), 3.04 (1H, dd, J = 4.4, 7.3 Hz), 3.43 (1H, dd, J = 3.3, 6.6), 3.78 (3H, s), 3.80-3.86 (1H, m), 3.86 (3H, s), 4.24 (1H, d, J = 15.0 Hz), 4.94 (1H, d, J = 8.1 Hz), 7.15 (1H, bs).

15

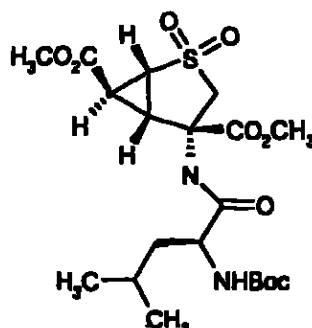
Anal Calcd for C₁₉H₃₀N₂O₉S: C, 49.34; H, 6.54; N, 6.06. Found: C, 49.33; H, 6.44; N, 6.05.

MS (ES) m/z 461.2 [M - H]⁻

42

Preparation 8

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-4'-methyl-pentanoylamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester

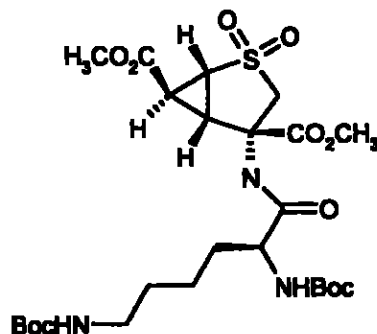


- 5 Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-(L)-Leucine monohydrate and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 4). Reflux the reaction mixture overnight. Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate). Yield 0.85 g (94 %, 1.78 mmol) of a white foam.
- 10 $[\alpha]_D^{23} = -46.15^\circ$ (c = 1.04, CHCl₃).
- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.92 (3H, d, J = 6.2 Hz), 0.95 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.47 (9H, s), 1.42-1.47 (1H, m), 1.63-1.67 (1H, m), 2.46 (1H, t, J = 3.7 Hz), 2.87 (1H, d, J = 15.0 Hz), 3.04 (1H, dd, J = 4.4, 7.3 Hz), 3.41 (1H, dd, J = 3.7, 7.0), 3.78 (3H, s), 3.86 (3H, s), 4.00-4.05 (1H, m), 4.20 (1H, d, J = 15.0 Hz), 4.75 (1H, d, J = 6.6 Hz), 7.43 (1H,
- 15 bs).
- Anal Calcd for C₂₀H₃₂N₂O₆S: C, 50.41; H, 6.77; N, 5.88. Found: C, 50.30; H, 6.82; N, 5.75.
- MS (ES) m/z 475.2 [M - H]⁻.

43

Preparation 9

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-bis-*tert*-butoxycarbonylamino-hexanoylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-Lys(BOC)-OH and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 4). Reflux the reaction mixture overnight. Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate).

10 Yield 1.04 g (93 %, 1.76 mmol) of a white foam.

$[\alpha]_D^{23} = -32.0^\circ$ (c = 0.5, CHCl₃).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (9H, s), 1.46 (9H, s), 1.39-1.53 (3H, m), 1.56-1.65 (1H, m), 1.77-1.84 (2H, m), 2.50 (1H, t, J = 4.4 Hz), 2.98-3.20 (4H, m), 3.42 (1H, dd, J = 3.7, 7.0 Hz), 3.76 (3H, s), 3.86 (3H, s), 4.01 (1H, dd, J = 7.7, 13.2 Hz), 4.09-4.19 (1H, m), 4.71 (1H, t, J = 7.3 Hz), 5.13 (1H, bs), 7.59 (1H, bs).

15

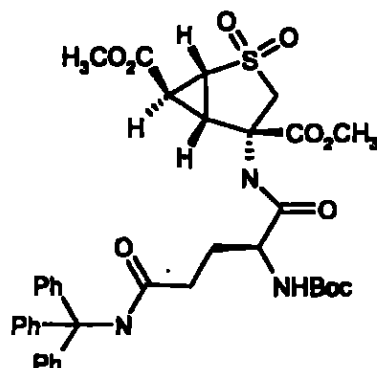
Anal Calcd for C₂₅H₄₁N₃O₁₁S: C, 50.75; H, 6.98; N, 7.10. Found: C, 50.36; H, 6.99; N, 6.87.

MS (ES) m/z 590.2 [M - H]⁺.

44

Preparation 10

(1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-tert-Butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butyrylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-(L)-Glutamine (Trt)-OH and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 4). Reflux the reaction mixture overnight. Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate). Yield 0.53 g (48 %, 0.72 mmol) of a white foam.

10

$[\alpha]_D^{23} = -8.0^\circ$ (c = 0.50, MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.42 (9H, s), 1.83-1.88 (1H, m), 2.03-2.18 (1H, m), 2.16 (1H, t, J = 4.0 Hz), 2.57-2.64 (1H, m), 2.60 (1H, d, J = 15.0 Hz), 2.64-2.80 (1H, m), 2.88 (1H, dd, J = 4.4, 7.3 Hz), 3.26 (1H, dd, J = 4.0, 7.0 Hz), 3.47 (3H, s), 3.76-3.90 (1H, m), 3.81 (3H, s), 4.05 (1H, d, J = 15.0 Hz), 5.47 (1H, bs), 7.02 (1H, bs), 7.20-7.35 (15H, m), 8.68 (1H, bs).

15

Anal Calcd for C₃₈H₄₃N₃O₁₀S: C, 62.20; H, 5.91; N, 5.73. Found: C, 61.83; H, 6.09; N, 5.57.

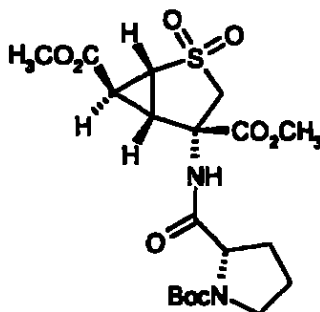
MS (ES) m/z 731.9 [M - H]⁻;

20

HRMS calcd for C₃₈H₄₃N₃O₁₀S [M + Na]⁺, 756.2567. Found, 756.2585.

Preparation 11

(1R,4S,5S,6S)-4-[(1'-*tert*-Butoxycarbonyl-pyrrolidine-2'-S-carbonyl)-amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available Boc-(L)-proline (0.61 g, 2.9 mmol) and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.5 g, 1.9 mmol, Preparation 4). Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.87 gram (99.2%) of the title compound.

10

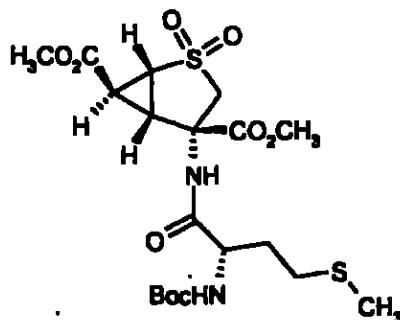
$[\alpha]_D^{23} = -61.2$ ($c=0.49$, CHCl_3).

¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.51 (9H, s), 1.75-1.98 (3H, m), 2.35-2.5 (2H, m), 2.84 (1H, d, $J=14.7$ Hz), 2.9-3.03 (1H, m), 3.25-3.4 (1H, m), 3.3-4.1 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.86 (3H, s), 4.14-4.31 (2H, m), 8.66 (1H, s).

15 MS (ES) m/z 459.2 $[\text{M}-1]^-$.

Preparation 12

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-4'-methylsulfanyl-butylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available Boc-(L)-Methionine (0.71 g, 2.9 mmol) and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.5 g, 1.9 mmol, Preparation 4). Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.85 gram (90.5%) of the title compound.

10

$[\alpha]_D^{23} = -20.4$ (c=0.49, CHCl₃).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.46 (9H, s), 1.69 (1H, s), 1.8-2.05 (2H, m), 1.9-2.0 (1H, m), 1.95-2.3 (3H, bs), 2.0-2.2 (1H, m), 2.4-2.8 (2H, m), 2.48 (1H, t, J=4.0 Hz), 2.58 (1H, bs), 2.92 (1H, d, J=14.7 Hz), 3.01 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.42 (1H, dd, J=3.7, 7.3 Hz), 3.78 (3H, s), 3.87 (3H, s), 4.22-4.24 (2H, m), 5.06 (1H, d, J=7.7 Hz), 7.27 (1H, s).

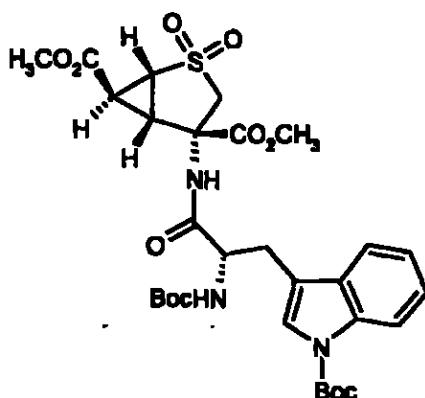
15

MS (ES) m/z 493.1 [M-1]⁻.

Preparation 13

(1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-(1-*tert*-butoxycarbonyl-1H-indol-3-yl)-propionylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester

5



Prepare according to General Procedure A using commercially available Boc-(L)-Tryptophan(Boc) (1.1 g, 2.8 mmol) and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.5 g, 1.9 mmol, Preparation 10 4). Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.7 g (56.7%) of the title compound.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (9H, s), 1.67 (9H, s), 2.37 (1H, bs), 2.86 (1H, d, J=15.0 Hz), 2.88 (1H, t, J=4.4 Hz), 3.15 (2H, d, J=6.6 Hz), 3.39 (1H, dd, J=3.7, 7.0 Hz), 3.73 (3H, s), 3.83 (3H, s), 4.18 (1H, d, J=14.7 Hz), 4.37-4.44 (1H, m), 5.01 (1H, bd, J=8.1 Hz), 7.11 (1H, bs), 7.25-7.59 (4H, m), 8.14 (1H, bd, J=8.4 Hz).

²³[α]_D = -19.6 (c=0.51, CHCl₃).

Anal. Calcd. For C₃₀H₃₉N₃O₁₁S·1.0 C₄H₉O₂: C, 55.35; H, 6.42; N, 5.70. Found: C, 54.98; H, 6.09; N, 6.07.

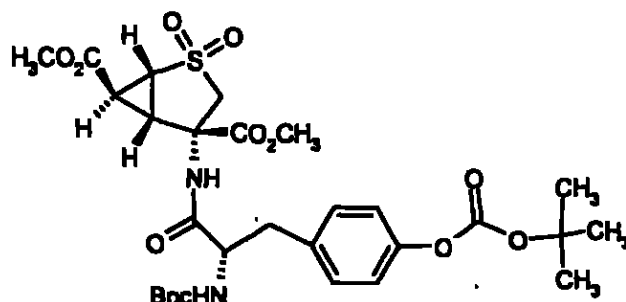
HRMS calcd for C₃₀H₃₉N₃O₁₁Na₁S, 672.2203. Found, 672.2180.

20

Preparation 14

(1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-tert-Butoxycarbonylamino-3'-(4-tert-butoxycarbonyloxy-phenyl)-propionylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester

5



- Prepare according to General Procedure A using commercially available 2S-tert-butoxycarbonylamino-3-(4-tert-butoxycarbonyloxy-phenyl)-propionic acid (1.1 g, 2.9 mmol) and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.5 g, 1.9 mmol, Preparation 4). Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.94 g (79.0%) of the title compound.

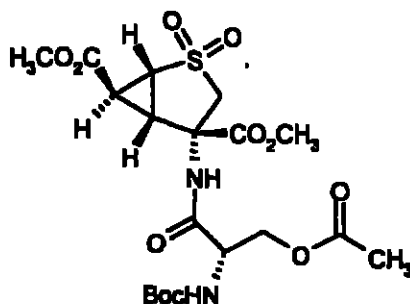
$[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=1.00, CH₃OH).

- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (9H, s), 1.56 (9H, s), 2.44 (1H, t, J=4.0 Hz), 2.88 (1H, d, J=14.7 Hz), 2.98 (1H, dd, J=4.4, 7.3 Hz), 3.04 (2H, d, J=7.3 Hz), 3.38 (1H, dd, J=4.0, 7.3 Hz), 3.77 (3H, s), 3.83 (3H, s), 4.11 (1H, d, J=14.3 Hz), 4.22-4.29 (1H, app q, J=7.3 Hz), 4.92 (1H, bd, J=7.7 Hz), 7.07 (1H, bs), 7.1-7.26 (4H, m).

HRMS calcd for C₂₈H₃₈N₂O₁₂SN_a, 649.2043. Found, 649.2001.

Preparation 15

(1R,4S,5S,6S)-4-(3'-Acetoxy-2'S-tert-butoxycarbonylamino-propionyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thiabicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using 3-acetoxy-2S-(tert-butoxycarbonylamino)propionic acid (0.25 g, 1.0 mmol, Preparation 44) and (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.2 g, 0.8 mmol, Preparation 4) with the exception that DMAP is not used.

10 Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.19 g (48.2%) of the title compound.

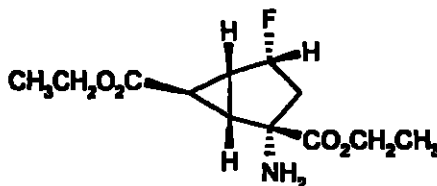
$[\alpha]_D^{23} = -24$ (c=1.0, CH₃OH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.47 (9H, s), 2.10 (3H, s), 2.51 (1H, t, J=4.4 Hz), 2.99-3.07(2H, m), 3.43 (1H, dd, J=4.0, 7.3 Hz), 3.77(3H, s), 3.86 (3H, s), 4.14-4.40 (4H, m),

15 5.29 (1H, bd, J=7.3 Hz), 7.64 (1H, bs).

HRMS calcd for C₁₉H₂₈N₂O₁₁SN_a, 515.1312. Found, 515.1305.

Preparation 16

(1R,2S,4R,5R,6R)-2-Amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

5

To a slurry of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (14.45 g, 71.12 mmol, U.S. Patent No. 5,958,960) in 202 mL of absolute ethanol at room temperature add thionyl chloride (26 mL, 356 mmol) dropwise over 20 minutes. Heat the slurry to reflux and allow to stir for 3 hours. Allow to cool to room temperature and stir overnight. Concentrate the resultant solution *in vacuo* to a residue then dilute with 136 mL of ethyl acetate and treat with 306 mL of 10% aqueous sodium carbonate over 15 minutes with swirling by hand such that the final pH is 10. Separate the layers and wash the aqueous layer with ethyl acetate (1 x 136 mL). Wash the combined organic extracts with brine (1 x 136 mL), dry (MgSO₄), filter, and concentrate *in vacuo* to provide 17.07 g (93%) of the title compound as white solid.

$[\alpha]_D^{23} = +20.37^\circ$ (c = 1.1, MeOH).

m.p. = 64-66 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.28 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.31 (3H, t, J = 6.8 Hz), 1.34-1.45 (1H, m), 1.85 (2H, bs), 2.17-2.21 (2H, m), 2.32-2.34 (1H, m), 2.49 (1H, dd, J = 7.8, 14.1 Hz), 4.24 (2H, dq, J = 1.5, 7.3 Hz), 5.33-5.52 (1H, m). Anal. calcd. for C₁₂H₁₃FNO₄: C, 55.59; H, 7.00; N, 5.40. Found: C, 55.29; H, 6.75; N, 5.45.

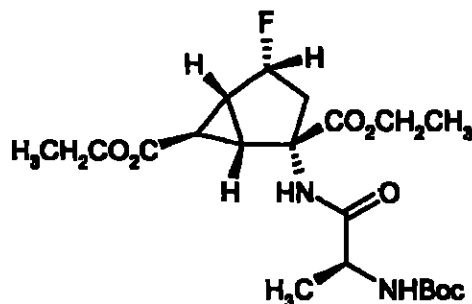
MS (ES) m/z found 260.3 [M+H]⁺.

20

Preparation 17

(1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxycarbonylamino)propionyl]amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

5



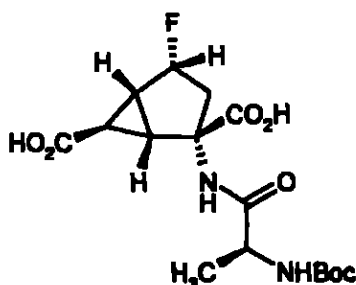
5

- To a solution of N-Boc-L-alanine (38.62 g, 204 mmol) in 396 mL of methylene chloride at -22 °C under nitrogen add N-methyl morpholine (22.44 mL, 204 mmol) followed by *iso*-butyl chloroformate (26.48 mL, 204 mmol) dropwise over 15 min such that the reaction temperature does not exceed -18°C. Allow the resultant thin slurry to stir
- 10 at -20°C for 30 minutes at which time a solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (49.46 g, 191 mmol, Preparation 16) in 247 mL of methylene chloride is added over 40 min such that the reaction temperature does not exceed -16°C. Upon completion of the addition, remove the reaction from the cooling bath and allow to stir at ambient temperature for 70 minutes
- 15 at which time the reaction temperature reached 15 °C and the color became faint orange. Treat the reaction with 408 mL of 1 N HCl and stir for 5 minutes then separate the layers. Wash the organic layer with saturated aqueous sodium bicarbonate (1 x 408 mL), dry (Na₂SO₄), filter, and concentrate *in vacuo* to a white foam (88.16 g).
- Anal. calcd. For C₂₀H₃₁FN₂O₇·0.1 CH₂Cl₂: C, 55.00; H, 7.16; N, 6.38. Found: C, 55.18; H, 7.18; N, 6.49.
- 20 MS (ES) *m/z* 431.3 [M+H]⁺, 331.2 [M+H-Boc]⁺.

Preparation 18

(1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid

52

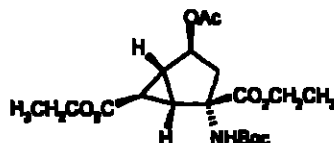


5

To a solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (88.16 g, 191 mmol, Preparation 17) in 238 mL of THF at room temperature add 238 mL (477 mmol) of 2N sodium hydroxide. Allow the biphasic mixture to stir vigorously at room temperature for 2.5 hours at which time the reaction is homogeneous. Dilute the mixture with 238 mL of *t*-butyl methyl ether followed by mixing and separation of the layers. Further dilute the aqueous layer with 238 mL of water and filter to remove particulate matter. Treat the solution with concentrated HCl (42.9 mL, 515 mmol) over 30 minutes optionally followed by seeding with the title compound and stirring for 1 hour. Filter the resultant slurry, wash with water (2 x 100 mL), and vacuum dry at 45 °C for 40 hours to provide 72.2 g of the title compound as a white solid. Stir a portion of the solid (69.5 g) with 490 mL of acetone for 1 hour to produce a hazy solution; filter and wash with acetone (2 x 100 mL). Concentrate the filtrate in vacuo to a white foam which is further dried *in vacuo* at 45 °C for 16 hours to provide 61.8 g (86%, corrected for 12% wt/wt acetone) of the title compound. This material was used in Examples 14-18 without characterization.

15

20

Preparation 19(1S,2S,4S,5R,6R)-4-Acetyloxy-2-(tert-butoxycarbonyl)aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

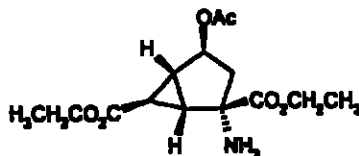
5

To a solution of (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonyl)amino-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (1.50 g, 4.20 mmol, US 5958960), pyridine (0.365 mL, 4.62 mmol) and DMAP (0.513 g, 4.20 mmol) in dichloromethane (40 mL) under nitrogen add acetic anhydride (0.514 mL, 5.0 mmol). Stir at room temperature for 16 hours, dilute with dichloromethane, and pour into 10 % aqueous citric acid solution (50 mL). Wash the organic layer with water (50 mL) and brine (50 mL). Dry over MgSO_4 , filter and concentrate *in vacuo*, to produce the title compound as a white solid (1.295 g, 75 %).

10

LCMS: m/z 400 $[\text{M} + \text{H}]^+$ and m/z 300 $[\text{M} + \text{H} - \text{CO}_2^t\text{Bu}]^+$ @ R_T 1.39 min.

15

Preparation 20(1S,2S,4S,5R,6R)-4-Acetyloxy-2-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

20

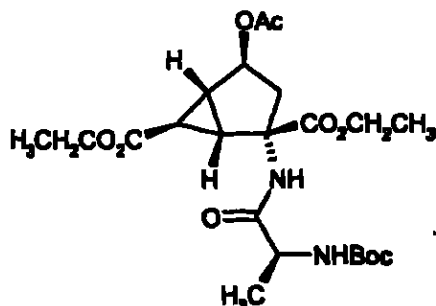
Dissolve (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetyloxy-2-(tert-butoxycarbonyl)aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (1.25 g, 3.13 mmol, Preparation 19) in a solution of 95 % TFA in dichloromethane (60 mL) and stir under nitrogen at room temperature for 5 minutes. After this time remove the TFA/ dichloromethane *in vacuo*. Dissolve the crude product in a suspension of NaHCO_3 (1.00 g) in dichloromethane (50 mL) and stir for 30 minutes. Filter the suspension, wash with dichloromethane (3 x 25 mL), and concentrate *in vacuo* to afford 916 mg (98 %) of the product as a yellow oil.

25

LCMS: m/z 300 $[M + H]^+$ @ R_T 0.92 min.

Preparation 21

(1S,2S,4S,5R,6R)-4-Acetyloxy-2-[2'S-(tert-butoxy)carbonylaminopropionyl]-
aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

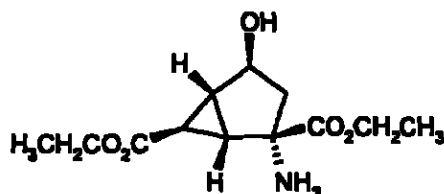


To a suspension of (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetyloxy-2-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (0.80 g, 1.94 mmol, Preparation 20) and Boc-L-Ala (0.477 g, 2.52 mmol) in anhydrous dichloromethane (50 mL) under nitrogen sequentially add EDC (0.519 g, 2.72 mmol), HOBt (0.314 g, 2.32 mmol), catalytic DMAP (0.024 g, 0.19 mmol), and triethylamine (1.08 mL, 7.76 mmol). After stirring at room temperature for *ca.* 15 minutes, the initial white suspension dissolves completely. Stir the reaction for 16 hours, dilute with dichloromethane, and wash with saturated aqueous NaHCO_3 solution (50 mL), 1.0 N aqueous HCl solution (3 x 20 mL), and saturated brine solution (40 mL). Dry the organic layer over MgSO_4 and filter, and concentrate *in vacuo*. Purify the resulting crude amide by column chromatography using a (4:1) mixture of ethyl acetate and hexanes as eluent to afford 638 mg (75 %) of the product as a white solid.

^1H NMR (CD_3OD)*: δ 5.05 (1H, d, 5.7 Hz), 4.09 (2H, q, 7.3 Hz), 4.02 (2H, q, 7.3 Hz), 4.01-3.94 (1H, m), 2.65-2.59 (2H, m), 2.38 (1H, d, 14 Hz), 2.10-2.03 (3H, m), 1.91 (3H, s), 1.78 (1H, dd, 5.9 Hz, 16 Hz), 1.59 (1H, br s), 1.34 (9H, s), 1.16 (6H, 2 x t, 7.3 Hz);

*N.B. Exchangeable protons not observed by NMR = 2.

LCMS: m/z 471 $[M + H]^+$ and m/z 371 $[M + H - \text{CO}_2^t\text{Bu}]^+$ @ R_T 1.30 min.
 R_T 0.50 (80% ethyl acetate : heptane).

Preparation 22(1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

5

Cool a solution of (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-*tert*-butoxycarbonylamino- 4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (5.0 g, 14.0 mmol, US 5958960) in ethyl acetate to 0°C. Bubble anhydrous HCl (g) into the solution until saturated and stir for 0.5 hour. Allow the reaction to warm to room temperature and stir for 1 hour.

- 10 Concentrate the reaction mixture and partition between ethyl acetate and H₂O. Treat the aqueous layer with NaHCO₃ (aq) and extract with ethyl acetate. Dry the organics with K₂CO₃ and concentrate to yield 2.2 g (59.7%) of white solids.

$[\alpha]_D^{23} = -30.8$ ($c=0.52$, CH₃OH).

- 15 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.26 (3H, t, J=7.33 Hz), 1.36 (3H, t, 7.33 Hz), 1.60 (1H, dd, J=5.87, 15.40 Hz), 1.64 (1H, t, J=2.93 Hz), 2.27 (2H, bs), 2.15-2.29 (3H, m), 3.93 (1H, bs), 4.13 (2H, q, J=6.97 Hz), 4.27-4.36 (3H, m).

Anal. Calcd. For C₁₂H₁₉NO₅: C, 56.02; H, 7.44; N, 5.44. Found: C, 55.75; H, 7.36; N, 5.40.

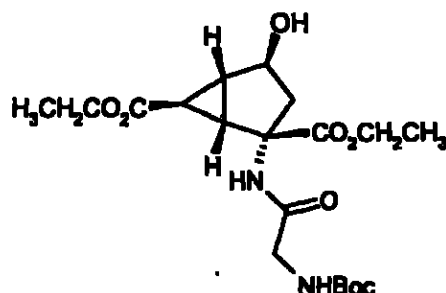
MS (ES) m/z 258.1 [M+H]⁺.

20

55

Preparation 23

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-*tert*-Butoxycarbonylamino-acetyl-amino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-Glycine (458 mg, 2.62 mmol, Aldrich) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (450 mg, 1.75 mmol, Preparation 22). Purify on 35 g of silica eluting with a gradient from 50/50 to 20/80 hexanes/ethyl acetate. Yield: 560 mg (77%).

10

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.28 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.29 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.48 (9H, s), 1.57 (2H, m), 2.21 (1H, m), 2.41 (1H, dd, J=2.9, 5.8 Hz), 2.81 (1H, d, J=15.6 Hz), 3.76 (1H, d, J=5.8 Hz), 4.10-4.18 (3H, m), 4.26 (2H, q, J=7.3 Hz), 4.33 (1H, m), 5.10 (1H, bs), 6.86 (1H, bs).

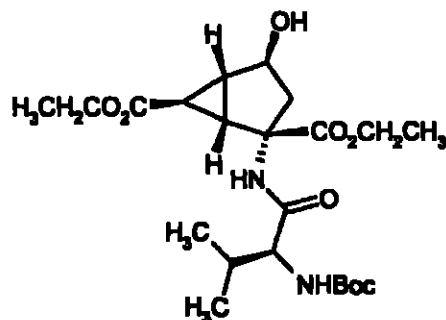
15

Anal Calcd for C₁₉H₃₀N₂O₈: C, 55.06; H, 7.30; N, 6.76. Found: C, 55.24; H, 7.50; N, 6.76.

MS (ES) m/z 415.2 [M+H]⁺, 437.2 [M+Na]⁺.

Preparation 24

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-methyl-butylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-Valine (569 mg, 2.62 mmol, Sigma) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (450 mg, 1.75 mmol, Preparation 22). Purify the crude material on 35 g of silica; elute with a gradient from 70/30 to 20/80 hexanes/ethyl acetate.

10 Yield: 694 mg (87%) of a white foam.

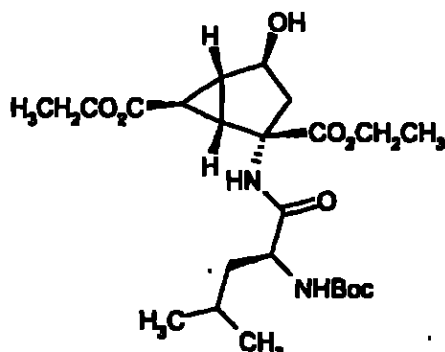
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.95 (3H, d, J=6.8 Hz), 1.00 (3H, d, J=6.8 Hz), 1.29 (6H, t, J=7.3 Hz), 1.45 (9H, s), 1.52-1.60 (2H, m), 2.08 (1H, m), 2.20 (1H, m), 2.42 (1H, m), 2.81 (1H, d, J=15.6 Hz), 3.86 (1H, dd, J=6.3, 8.8 Hz), 4.14 (2H, q, J=7.3 Hz), 4.21-4.32 (4H, m), 5.00 (1H, d, J=8.3 Hz), 6.63 (1H, s).

15 Anal Calcd for C₂₂H₃₆N₂O₈: C, 57.88; H, 7.95; N, 6.14. Found: C, 57.87; H, 8.03; N, 6.12.

MS (ES) m/z 457.2 [M+H]⁺, 479.2 [M+Na]⁺.

Preparation 25

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-4'-methyl-pentanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-Leucine (606 mg, 2.62 mmol, Chemlog) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl (450 mg, 1.75 mmol, Preparation 22). Purify the crude material on 35 g of silica; elute with a gradient from 70/30 to 20/80 hexanes/ethyl acetate. Yield 689 mg (84%) of a white foam.

10

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.96 (6H, m), 1.28 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.29 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.46 (9H, s), 1.45-1.73 (5H, m), 2.20 (1H, m), 2.42 (1H, m), 2.80 (1H, d, J=16.1 Hz), 4.07-4.35 (7H, m), 4.81 (1H, bd), 6.86 (1H, bs).

Anal Calcd for C₂₃H₃₈N₂O₈·0.1H₂O: C, 58.48; H, 8.15; N, 5.93. Found: C, 58.22; H,

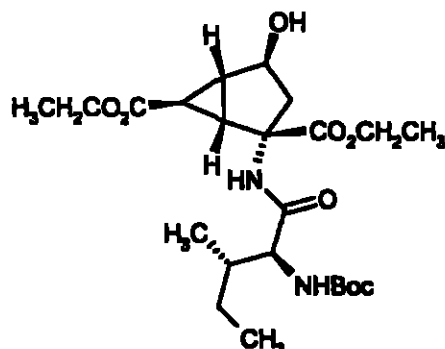
15

7.94; N, 5.92.

MS (ES) m/z 471.2 [M+H]⁺, 493.2 [M+Na]⁺.

Preparation 26

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'S-methyl-pentanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-Isoleucine (606 mg, 2.62 mmol, Aldrich) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (450 mg, 1.75 mmol, Preparation 22). Purify the crude material on 35 g of silica eluting with a gradient from 70/30 to 20/80 hexanes/ethyl acetate. Yield: 731 mg (89%).

10

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.92 (3H, t, J=7.3 Hz), 0.97 (3H, d, J=6.8 Hz), 1.17 (1H, m), 1.29 (6H, t, J=6.8 Hz), 1.46 (9H, s), 1.53 (1H, dd, J=5.8, 15.6 Hz), 1.58 (1H, t, J=2.4 Hz), 1.74 (1H, m), 1.83 (1H, m), 2.20 (1H, m), 2.43 (1H, m), 2.80 (1H, d, J=15.6 Hz), 3.88 (1H, dd, J=7.3, 8.8 Hz), 4.12-4.32 (6H, m), 4.98 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.60 (1H, s).

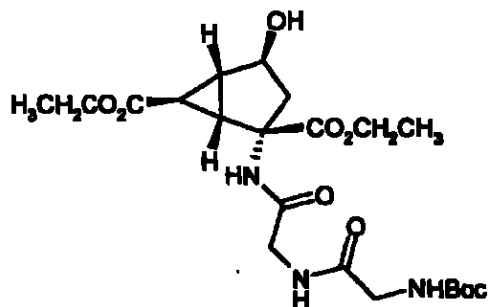
15

Anal Calcd for C₂₃H₃₈N₂O₈·0.2H₂O: C, 58.25; H, 8.16; N, 5.91. Found: C, 58.17; H, 8.11; N, 5.91.

MS (ES) m/z 471.2 [M+H]⁺, 493.2 [M+Na]⁺.

Preparation 27

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-*tert*-Butoxycarbonylamino-acetyl-amino)-acetyl-amino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-Gly-Gly (474 mg, 2.04 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (400 mg, 1.36 mmol, Preparation 22 without basic work-up) with the following exceptions. No DMAP is used. Add one equivalent of triethylamine. Purify the crude material on 35 g of silica; elute with ethyl acetate. Yield: 517 mg (81%).

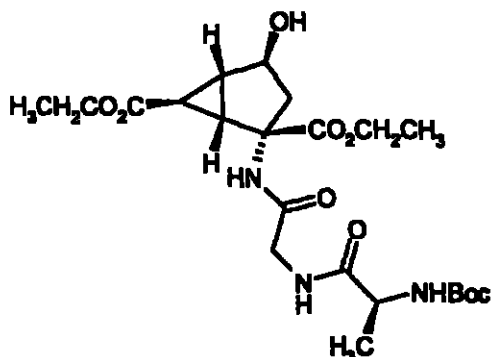
$[\alpha]_D^{23} = -18.18$ ($c=0.55$, MeOH).
 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.26 (3H, t, $J=6.8$ Hz), 1.27 (1H, t, $J=7.3$ Hz), 1.28 (3H, t, $J=6.8$ Hz), 1.46 (9H, s), 1.59 (1H, t, $J=3.4$ Hz), 1.62 (1H, dd, $J=6.3, 16.1$ Hz), 2.21 (1H, dd, $J=2.9, 5.8$ Hz), 2.46 (1H, dd, $J=2.4, 5.8$ Hz), 2.73 (1H, d, $J=15.6$ Hz), 3.78-3.91 (3H, m), 4.01-4.15 (3H, m), 4.24 (2H, q, $J=6.8$ Hz), 4.32 (1H, d, $J=5.8$ Hz), 5.28 (1H, b), 6.87 (1H, bt, $J=4.9$ Hz), 7.39 (1H, bs).

HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_9$, 472.2295. Found, 472.2303.
HPLC: 16.755 min. Column: Symmetry C18, 3.5 μm , 4.6X150 mm. $\lambda = 230$ nm. Flow Rate: 1 mL/min. Gradient: 10% to 50% ACN/water containing 0.1%TFA over 25 min.

20

Preparation 28

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-Butoxycarbonylamino-propionylamino)-acetylaminol]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-Ala-Gly (502 mg, 2.04 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (400 mg, 1.36 mmol, Preparation 22 without basic work-up) with the following exceptions. No DMAP is used. Add one equivalent of triethylamine. Purify the crude material on 35 g of silica eluting with ethyl acetate. Yield: 500 mg (76%).

$[\alpha]_D^{23} = -31.37 (c=0.55, \text{MeOH})$.

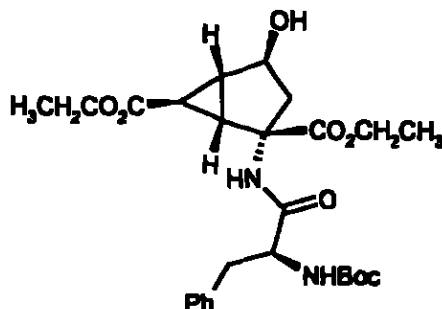
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.27 (3H, t, $J=6.8$ Hz), 1.28 (3H, t, $J=6.8$ Hz), 1.42 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.45 (9H, s), 1.58 (1H, t, $J=3.4$ Hz), 1.64 (1H, dd, $J=5.8, 15.6$ Hz), 2.23 (1H, dd, $J=3.4, 5.8$ Hz), 2.50 (1H, dd, $J=2.9, 6.3$ Hz), 2.69 (1H, d, $J=15.6$ Hz), ABq of doublets (2H, $\nu_A = 3.87, \nu_B = 3.98, J_{AB} = 17.1$ Hz, $J_d = 6.3$ Hz), 3.92 (1H, m), 4.07-4.16 (3H, m), 4.24 (2H, q, $J=7.3$ Hz), 4.32 (1H, b), 5.08 (1H, b), 6.84 (1H, bt, $J=4.88$ Hz), 7.14 (1H, bs). HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_9$, 486.2452. Found, 486.2451.

15

61

Preparation 29

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-tert-Butoxycarbonylamino-3'-phenyl-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



62

Prepare according to the General Procedure A using Boc-L-phenylalanine (772 mg, 2.91 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (480 mg, 1.94 mmol, Preparation 22). Concentrate the crude reaction mixture, dissolve in dichloromethane, flash through a short silica gel plug with ethyl acetate/DCM (1:1), and concentrate *in-vacuo* to give a yellow oil. Further purify the material by silica gel chromatography eluting with 30% ethyl acetate/hexanes to 80% ethyl acetate/hexanes to afford 852 mg (87%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -23.66$ ($c=0.93$, MeOH).

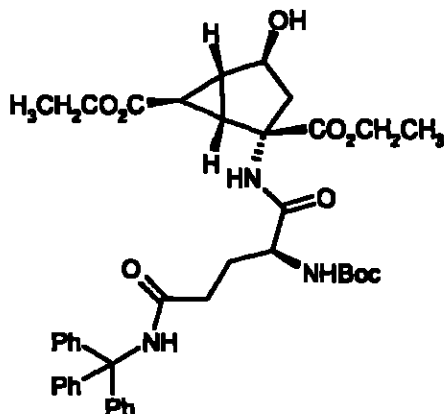
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.22 – 1.30 (6H, m), 1.35 (9H, s), 1.59 (1H, t, $J = 2.9$ Hz), 1.70 (1H, dd, $J = 5.5, 15.4$ Hz), 2.06 (1H, m), 2.40 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 2.63 (1H, dd, $J = 2.9, 5.9$ Hz), 2.76 (1H, dd, $J = 9.2, 13.9$ Hz), 4.08 – 4.33 (6H, m), 7.20 – 7.29 (5H, m).

MS found 505.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_8$, 505.2550. Found, 505.2559.

Preparation 30

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-Butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butyrylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-glutamine(Trityl)-OH (1.40 g, 2.86 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (490 mg, 1.90 mmol, Preparation 22), with the exception that DMAP is not used. Concentrate the crude reaction mixture, dissolve in dichloromethane, flash through a short silica gel plug with ethyl acetate, and concentrate in-vacuo to give a yellow oil. Further purify by silica gel chromatography eluting with 30% ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate/hexanes to afford 1.3 g (94%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -21.28$ ($c=0.94$, MeOH).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 1.18 – 1.26 (6H, m), 1.44 (9H, s), 1.62 – 1.74 (3H, m), 1.91 – 2.00 (1H, m), 2.05 (1H, m), 2.38 – 2.48 (3H, m), 2.54 (1H, m), 4.00 – 4.27 (6H, m), 7.18 – 7.30 (15H, m).

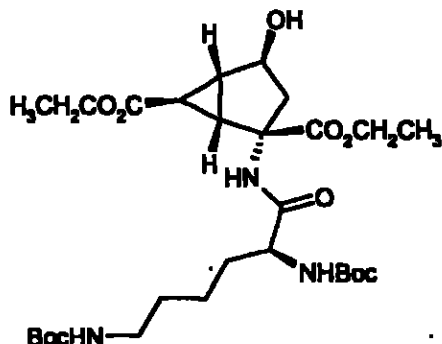
MS found 728.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_9$, 728.3547. Found, 728.3533.

20

Preparation 31

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S,6'-Bis-*tert*-butoxycarbonylamino-hexanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



6A

5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-lysine(Boc)-OH (910 mg, 2.63 mmoles) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0.]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (450 mg, 1.75 mmoles, Preparation 22), with the exception that DMAP is not added to the reaction mixture. Concentrate the crude reaction mixture, dissolve in dichloromethane, flash through a short silica gel plug with ethyl acetate, and concentrate in-vacuo to give a yellow oil. Further purify the material by silica gel chromatography eluting with ethyl acetate/hexanes (1:1) to afford 800 mg (78%) of the title compound.

15 $[\alpha]_D^{23} = -30.19$ ($c=0.53$, MeOH).
 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.21 – 1.24 (6H, m), 1.26 – 1.77 (27H, m), 2.07 (1H, m), 2.42 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 2.59 (1H, dd, $J = 2.6, 5.5$ Hz), 3.03 (1H, t, $J = 6.2$ Hz), 3.99 (1H, m), 4.07 – 4.28 (5H, m).

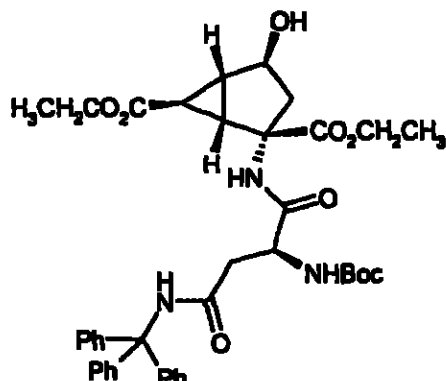
MS found 586.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{10}$, 586.3340. Found, 586.3348.

20

Preparation 32

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-(trityl-carbamoyl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-Asparagine(Trityl)-OH (1.35 g, 2.84 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (476 mg, 1.85 mmol, Preparation 22), with the exception that DMAP is not added to the reaction mixture. Concentrate the crude reaction mixture, dissolve in dichloromethane, flash through a short silica gel plug with ethyl acetate, and concentrate in-vacuo to give a yellow oil. Further purify the material by silica gel chromatography eluting with 20% ethyl acetate/hexanes to 50% ethyl acetate/hexanes to afford 1.07 g (81%) of the title compound.

15 $[\alpha]_D^{23} = -25.45$ ($c=0.55$, MeOH).
 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 1.19 – 1.26 (6H, m), 1.45 (9H, s), 1.61 – 1.69 (2H, m), 2.05 (1H, m), 2.44 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 2.51 – 2.72 (3H, m), 4.02 – 4.21 (4H, m), 4.25 (1H, d, $J = 5.5$ Hz), 4.36 (1H, dd, $J = 4.8, 8.8$ Hz), 7.18 – 7.30 (15H, m).

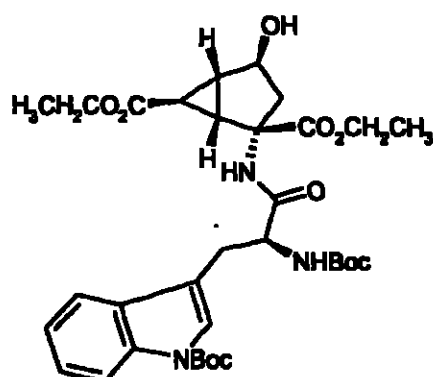
MS found 714.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_9$, 714.3391. Found, 714.3380.

20

Preparation 33

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-(1'-*tert*-butoxycarbonyl-1H-indol-3'-yl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



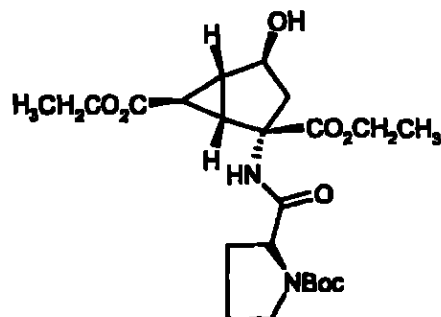
Prepare according to General Procedure A using Boc-L-tryptophan(Boc)-OH (1.18 g, 2.91 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (520 mg, 1.90 mmol, Preparation 22). Concentrate the crude reaction mixture, dissolve in dichloromethane, flash through a short silica gel plug with ethyl acetate, and concentrate in-vacuo to give a yellow oil. Further purify the material by silica gel chromatography eluting with ethyl acetate/DCM (1:1) to afford 1.2 g (92%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -12.5$ ($c=0.96$, MeOH).

- ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.18 – 1.27 (6H, m), 1.34 (9H, s), 1.62 (1H, t, $J = 2.9$ Hz), 1.67 (9H, s), 1.74 (1H, dd, $J = 5.9, 15.2$ Hz), 2.07 (1H, m), 2.46 (1H, d, $J = 15.7$ Hz), 2.60 (1H, d, $J = 2.9, 5.9$ Hz), 2.89 (1H, dd, $J = 9.3, 15.0$ Hz), 3.16 (1H, dd, $J = 4.9, 15.2$ Hz), 4.04 – 4.12 (2H, m), 4.18 – 4.24 (2H, m), 4.27 (1H, d, $J = 5.4$ Hz), 4.43 (1H, dd, $J = 5.4, 9.3$ Hz), 7.26 (2H, m), 7.52 (1H, s), 7.64 (1H, d, $J = 7.3$ Hz), 8.10 (1H, d, $J = 8.3$ Hz).
- MS found 644.8 $[M+H]^+$, 666.8 $[M+Na]^+$.
- HRMS calcd for C₃₃H₄₄N₃O₁₀, 666.3002. Found, 666.2988.

Preparation 34

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(1'-*tert*-Butoxycarbonyl-pyrrolidine-2'S-carbonyl)-4-hydroxy-
bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



67

5

Prepare according to General Procedure A using Boc-L-Proline and
 (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid
 diethyl ester (Preparation 22). Purify the crude material on 110 g of silica on an ISCO
 system eluting with a gradient of 80% ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate to
 10 afford 699 mg (84%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -52.53$ ($c=0.99$, MeOH).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.26 (6H, m), 1.44 (9H, s), 1.62 (1H, m), 1.73 (1H, dd, $J=$
 5.4, 15.3 Hz), 1.84 (1H, m), 1.97 (1H, m), 2.07 (4H, m), 2.41 (1H, d, $J= 15.3$ Hz), 2.50
 (1H, m), 2.59 (1H, m), 4.12 (2H, m), 4.20 (1H, q, $J= 7.4$ Hz), 4.27 (1H, d, $J= 5.4$ Hz).

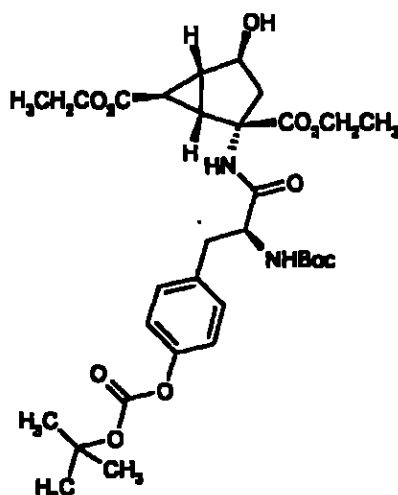
15 MS found 454.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 476.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calcd $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$, 477.2213. Found, 477.2210

Preparation 35

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-(4-*tert*-butoxycarbonyloxy-phenyl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

69



Prepare the title compound according to General Procedure A using 2S-*tert*-butoxycarbonylamino-3-(4-*tert*-butoxycarbonyloxy-phenyl)-propionic acid and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 22). Purify the crude material on 110 g of silica on an Isco system eluting with a gradient of 60% ethyl acetate/hexane to 90% ethyl acetate/hexane to afford 1.09 g (91%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -12$ ($c=1.0$, MeOH).

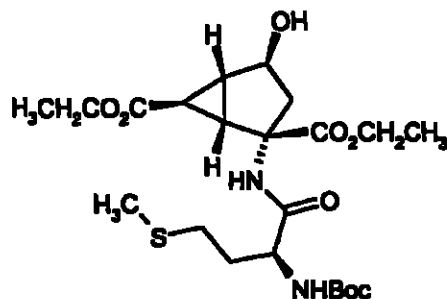
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.25 (6H, m), 1.37 (9H, s), 1.52 (9H, s), 1.68 (1H, dd, $J=5.4, 15.3$ Hz), 2.06 (1H, m), 2.38 (1H, d, $J=15.3$ Hz), 2.64 (1H, m), 2.79 (1H, dd, $J=8.4, 13.9$ Hz), 3.05 (1H, dd, $J=5.4, 13.9$ Hz), 4.20 (6H, m), 7.04 (2H, d, $J=8.4$ Hz), 7.26 (2H, d, $J=8.4$ Hz).

MS found 621.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 643.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{Na}$, 643.2843. Found, 643.2845.

Preparation 36

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-4'-methylsulfanyl-butylramino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

The title compound was prepared according to General Procedure A using (Boc-L-methionine) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 22). The crude material was purified on 110 g of silica on an Iaco system eluting with a gradient of 80% ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate to afford 1.0 g (92%) of the title compound.

$$[\alpha]_D^{23} = -30 \text{ (c=1.0, MeOH).}$$

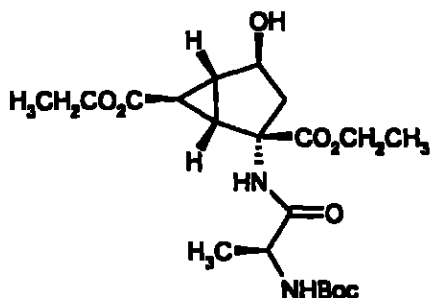
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.26 (6H, m), 1.43 (9H, s), 1.84 (6H, m), 2.06 (1H, m), 2.2 (1H, m), 2.48 (1H, m), 2.61 (1H, m), 3.37 (1H, m), 2.49 (1H, m), 4.2 (6H, m).

MS found 488.8 [M+H]⁺, 510.8 [M+Na]⁺.

15 HRMS calcd for $C_{22}H_{36}N_2O_8SNa$, 511.2090. Found, 511.2071.

Preparation 37

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-propionylamino)-4-hydroxy-
bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using commercially available N-BOC-
 (L)-Alanine and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0.]hexane-2,6-
 dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 22). Reflux reaction mixture overnight.
 Purify by prep HPLC, 1 X 500 g SiO₂ column, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl
 10 acetate). Yield 3.0 g (90 %, 7.00 mmol) of a white foam.

$[\alpha]_D^{23} = -32.31^\circ$ (c = 0.37, CHCl₃).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.28 (6H, t, J = 7.3 Hz), 1.34 (3H, d, J = 7.3 Hz), 1.46 (9H, s), 1.51-1.58 (2H, m), 1.64 (1H, s), 2.19 (1H, dd, J = 3.3, 6.2 Hz), 2.40 (1H, dd, J = 2.9, 6.2 Hz), 2.80 (1H, d, J = 15.8 Hz), 4.10-4.36 (6H, m), 4.92 (1H, bs), 6.94 (1H, bs).

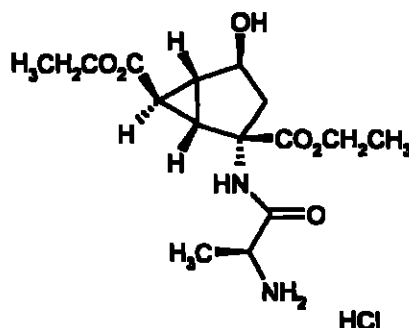
15 Anal Calcd for C₂₉H₃₂N₂O₈·0.1H₂O: C, 55.83; H, 7.54; N, 6.51. Found: C, 55.57; H, 7.64; N, 6.44.

MS (ES) m/z 429.2 [M + H]⁺, 329.1 [M - Boc]⁺.

70

Preparation 38

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride



5

Purge a solution of (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-tert-Butoxycarbonylamino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (2.95 g, 6.88 mmol, Preparation 37) in ethyl acetate (30 mL) at 0°C with anhydrous HCl gas until the solution is saturated with HCl. Stir the resulting reaction mixture at 0°C until the reaction is judged complete by TLC. Purge the reaction mixture for 30 minutes with N₂ to remove excess HCl gas. Concentrate the resulting suspension to dryness in vacuo to afford 2.47 g (98%, 6.78 mmol) of the desired amino hydrochloride salt. No further purification is necessary.

$[\alpha]_D^{23} = -28.0^\circ$ (c = 0.50, MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.24 (3H, t, J = 7.0 Hz), 1.28 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.50 (3H, d, J = 7.3 Hz), 1.61 (1H, t, J = 2.9 Hz), 1.76 (1H, dd, J = 5.9, 15.8 Hz), 2.10 (1H, dd, J = 3.3, 5.9 Hz), 2.43 (1H, d, J = 15.4 Hz), 2.60 (1H, dd, J = 2.9, 6.2 Hz), 3.90 (1H, q, J = 7.0, 13.9 Hz), 4.15 (2H, q, J = 7.3 Hz), 4.14-4.31 (3H, m).

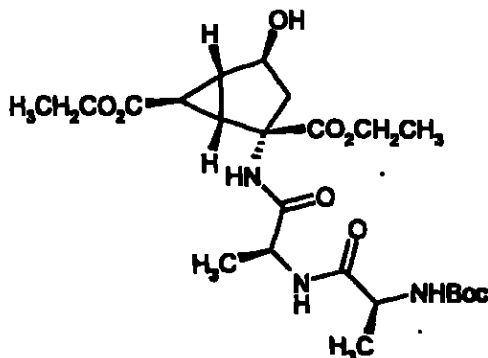
Anal Calcd for C₁₅H₂₄N₂O₆·HCl·0.7H₂O: C, 47.73; H, 7.05; N, 7.42. Found: C, 47.96; H, 6.91; N, 7.04.

MS (ES) m/z 329.1 [M + H]⁺.

71

Preparation 39

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2S-*tert*-Butoxycarbonylamino-propionylamino)
propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (0.2 g, 0.55 mmol, Preparation 38) and Boc-(L)-alanine (0.16 g, 0.82 mmol) with the exception that no DMAP is used. Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.13 g (47.3%) of the title compound.

10

$[\alpha]_D^{23} = -46.2$ ($c=0.52$, CHCl_3).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.27 (3H, t, $J=7.0$ Hz), 1.28 (3H, t, $J=7.0$ Hz), 1.36 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.37 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.44 (9H, s), 1.58-1.65 (2H, m), 2.19 (1H, dd, $J=3.0$, 5.9 Hz), 2.46 (1H, dd, $J=2.6$, 5.9 Hz), 2.70 (1H, d, $J=15.4$ Hz), 4.09-4.33 (7H, m), 4.48 (1H, app p, $J=7.0$ Hz), 5.05 (1H, bd, $J=6.6$ Hz), 6.79 (1H, bd, $J=7.7$ Hz), 7.26 (1H, s).

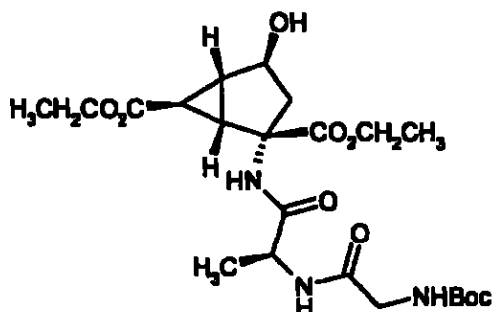
15

HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_9$, 500.2608. Found, 500.2598.

72

Preparation 40

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-*tert*-Butoxycarbonylamino-acetyl-amino)-propionyl-amino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure A using Boc-glycine (0.29 g, 1.6 mmol) and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (0.4 g, 1.1 mmol, Preparation 38) with the exception that DMAP is not used. Purify using PC-TLC (ethyl acetate/hexanes) to yield 0.14 g (26.2%) of the title compound.

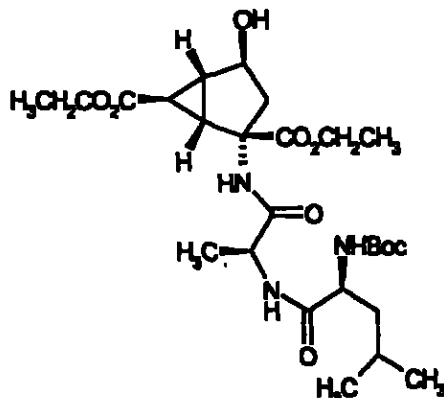
$$[\alpha]_D^{23} = -14 \text{ (c=1.00, CCl}_4\text{)}.$$

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.27 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.29 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.38 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.45 (9H, s), 1.57-1.65 (2H, m), 2.19 (1H, dd, J=3.3, 5.9 Hz), 2.44 (1H, dd, J=2.9, 5.9 Hz), 2.74 (1H, d, J=15.8 Hz) 3.70-3.86 (2H, m), 4.08-4.34 (6H, m), 4.56 (1H, app p, J=7.0 Hz), 5.31 (1H, bs), 6.88 (1H, bd, J=7.0 Hz), 7.50 (1H, s).

HRMS calcd for C₂₂H₃₆N₃O₉, 486.2452. Found, 486.2444.

Preparation 41

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-Butoxycarbonylamino-4-methyl-pentanoylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure B using commercially available N-BOC-(*L*)-leucine monohydrate and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-S-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (0.2 g, 0.55 mmol, Preparation 38). Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate). Yield 0.54 g (62%, 1.00 mmol) of a white foam.

10 $[\alpha]_D^{23} = -61.2^\circ$ (c = 0.49, MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.93 (3H, d, J=6.2 Hz), 0.94 (3H, d, J=6.2 Hz), 1.25 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.27 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.36 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.43 (9H, s), 1.53 (1H, d, J=9.5 Hz), 1.55-1.69 (5H, m), 2.18 (1H, dd, J=2.9, 5.9 Hz), 2.44 (1H, dd, J=2.9, 6.2 Hz), 2.70 (1H, d, J=15.8 Hz), 4.06 (1H, bs), 4.13 (4H, q, J=7.3 Hz), 4.18-4.28 (2H, m), 4.31 (1H, d, J=5.9 Hz), 4.41-4.45 (1H, m), 4.85 (1H, bs), 6.57 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.97 (1H, bs).

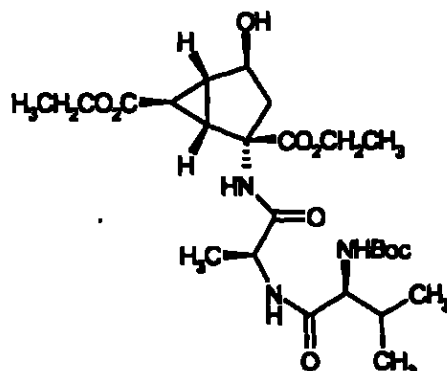
15 Anal Calcd for C₂₆H₄₃N₃O₉·0.1H₂O: C, 57.46; H, 8.01; N, 7.73. Found: C, 57.18; H, 8.00; N, 7.64.

HRMS calcd for C₂₆H₄₃N₃O₉ [M + Na]⁺, 564.2897. Found, 564.2922.

20

Preparation 42

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3-methyl-butrylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester



5

Prepare according to General Procedure B using commercially available N-BOC-(L)-Valine and (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (0.2 g, 0.55 mmol, Preparation 38). Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 67% ethyl acetate). Yield 0.36 g (43%, 0.68 mmol) of a white foam.

10

$[\alpha]_D^{23} = -65.5^\circ$ (c = 0.58, MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.91 (3H, d, J=7.0 Hz), 0.97 (3H, d, J=6.6 Hz), 1.27 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.28 (3H, t, J=7.0 Hz), 1.37 (3H, d, J=17.3 Hz), 1.44 (9H, s), 1.54-1.61 (3H, m), 2.12-2.20 (2H, m), 2.42 (1H, dd, J=2.6, 5.9 Hz), 2.70 (1H, d, J=15.4 Hz), 3.90 (1H, t, J=6.6 Hz), 4.13 (2H, q, J=7.0 Hz), 4.20-4.29 (2H, m), 4.31 (1H, d, J=5.9 Hz), 4.40-4.48 (1H, m), 4.93 (1H, bs), 6.41 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.91 (1H, bs).

15

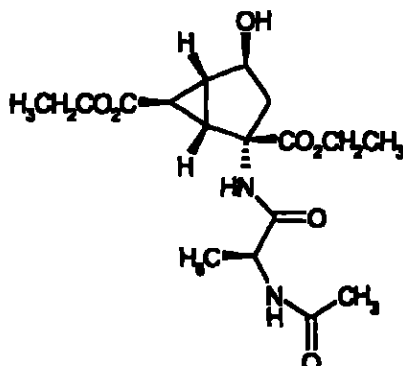
Anal Calcd for C₂₅H₄₁N₃O₉•0.2CH₂Cl₂: C, 55.58; H, 7.66; N, 7.72. Found: C, 55.76; H, 7.27; N, 7.49.

MS (ES) m/z 528.3 [M + H]⁺.

20

Preparation 43(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Acetylamino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester

76



5

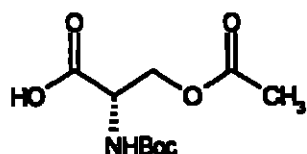
Stir a solution of (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester hydrochloride (0.30 g, 0.82 mmol, Preparation 38) in CH₂Cl₂ (30 mL) at 0 °C as triethylamine (0.16 g, 1.6 mmol) then acetyl chloride (0.10 g, 1.18 mmol) is added sequentially. Allow the reaction mixture to warm as it stirs overnight. Dilute the reaction mixture with ethyl acetate (700 mL) and wash with aqueous NaHSO₄ and brine. Dry the organic layer over magnesium sulfate. Purify by PC-TLC, 4 mm SiO₂ rotor, (10 % ethyl acetate/hexanes to 100% ethyl acetate) to afford 0.24 g (79%, 0.65 mmol) of a white foam.

$[\alpha]_D^{23} = -48^\circ$ (c = 0.5, MeOH).

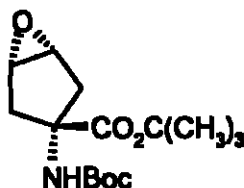
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.27 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.28 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.37 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.55-1.62 (2H, m), 1.99 (3H, s), 2.19 (1H, dd, J=3.3, 6.6 Hz), 2.40 (1H, dd, J=2.6, 5.9 Hz), 2.77 (1H, d, J=15.8 Hz), 4.07 (2H, q, J = 7.0 Hz), 4.21-4.31 (2H, m), 4.33 (1H, d, J=6.2 Hz), 4.43-4.47 (1H, m), 6.13 (1H, bs), 7.06 (1H, bs).

Anal Calcd for C₁₇H₂₆N₂O₇: C, 55.13; H, 7.08; N, 7.56. Found: C, 55.05; H, 7.12; N, 7.29.

HRMS calcd for C₁₇H₂₆N₂O₇ [M + Na]⁺, 393.1638. Found, 393.1644.

Preparation 443-acetoxy-2S-(tert-butoxycarbonylamino)propionic acid

- 5 Add N-methyl morpholine (2.8 g, 27.2 mmol) and di-tert-butyl dicarbonate (5.8g, 25.2 mmol) to a solution of O-acetyl-L-serine (3.7 g, 25.2 mmol) in 1:1 dioxane:water. Stir the reaction for 24 hours then partition between ethyl acetate and water. Extract the aqueous with ethyl acetate and discard the organics. Adjust the pH to 0-1 with aqueous NaHSO₄. Extract the aqueous with ethyl acetate, dry over Na₂SO₄,
 10 filter, and concentrate in vacuo. Purify via flash chromatography yielding 2.6 g (41.7%). Material was used in Preparation 15 without characterization.

Preparation 45(1S,5R)-3-(tert-Butoxycarbonylamino)-3-(tert-butoxycarbonyl)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexane

- 15 Add a solution of t-butyl methylmalonate (129 g, 0.75 mol) in THF (385 mL) to a slurry of LiH (14.9 g, 1.875 mol) in THF (900 mL) and N,N-dimethylpropylene urea (DMPU, 155 g, 1.2 mol) over 30 minutes while maintaining the temperature at 0-5 °C.
 20 Heat the reaction mixture to 65 °C and add a solution of cis-1,4-dichloro-2-butene (95%, 100 g, 0.8 mol, 1.08 eq) in THF (100 mL) over 5.5 hours, maintaining the temperature at 63-67 °C. Stir the reaction for 4 hours at 65 °C. A water/MTBE work-up of the reaction mixture yields 1-(methoxycarbonyl)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene.
 25 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.57 (s, 2H, CH=CH), 3.71 (s, 3H, CH₃), 2.95 (s, 4H, 2CH₂), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃).

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

Cool the reaction solution containing 1-(methoxycarbonyl)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene to 10-15 °C and add to a cooled solution (10-15 °C) of 1 N NaOH (1.3 L, 1.3 mol) over 30 minutes. Stir the reaction solution at 25 °C for 24 hours and monitored by GC assay. When the hydrolysis reaction is complete, add MTBE (645 mL) to the reaction mixture and stir the solution for 5 minutes. Allow the layers to settle and separate. Discard the organic layer. Add 1.5 M NaHSO₄ solution (1470 mL) to make the aqueous layer acidic (pH 2-3). Add MTBE (1.3 L) and separate the layers. Extract the aqueous layer with MTBE (385 mL) and wash the combined organic layers with 5% LiCl solution. Concentrate the organic layer under vacuum and dilute with heptane (780 mL). Concentrate the solution to approximately 500 mL and stir the resulting slurry 1 hour at ambient temperature. Filter the solid, wash with heptane (250 mL), and vacuum dry at 35 °C to give 103.29 g (61% yield) of 1-(carboxylic acid)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene as a white solid.

mp = 119 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ 5.61 (s, 2H, CH=CH), 3.00 (s, 4H, 2CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃).

IR: 3800-3000 (br, COOH), 1741 (CO₂R), 1705 (CO₂H), 1283, 1149 cm^{-1} .

Dissolve 1-(carboxylic acid)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene (50 g, 236 mmol) in 850 mL of 70:30 toluene:MTBE under nitrogen in a 1 L flask with mechanical stirrer. Add thionyl chloride (33.6 g, 283 mmol, 1.2 equiv) to the stirred reaction mixture, maintaining the temperature at 23 °C. Cool the reaction solution to 0-5 °C and add triethylamine (32.2 g, 318 mmol, 1.35 equiv) dropwise over 30 minutes. Warm the reaction mixture to 23 °C and stir for 1 hour. Add the reaction mixture rapidly dropwise to deionized water (625 mL), maintaining the temperature at 20-25 °C. Separate the layers and wash the organic layer with 500 mL 1 M NaHCO₃ solution. Concentration of the organic layer isolates 1-(chlorocarbonyl)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene as a light yellow liquid.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.61 (s, 2H, CH=CH), 3.04 (app q, J = 15.1 Hz, 4H, 2CH₂), 1.49 (s, 9H, C(CH₃)₃).

IR (film) 1796 (COCl), 1743 (CO₂R), 1274, 1233, 1158 cm^{-1} .

- Add a solution of tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate (0.81 g, 2.4 mmol) in deionized water (700 mL) to sodium azide (20.16 g, 310 mmol). Add the solution containing 1-(chlorocarbonyl)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene in MTBE/toluene to the azide solution over 45 minutes. Stir the reaction mixture for 3 hours at 23 °C until the 1-(chlorocarbonyl)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene is consumed, as confirmed by GC analysis of the reaction solution. Separate the layers and wash the organic layer with 1 M NaHCO₃ (540 mL) and deionized water (540 mL, then 270 mL). Dry the organic layer with Na₂SO₄ and filter. Concentrate the solution under vacuum to yield 1-(acyl azide)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene as an oil.
- 5
- 10 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.58 (s, 2H, CH=CH), 2.96 (app t, J = 2.3 Hz, 4H, 2CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃).
- IR (film) 2137 (CON₃), 1720 (CO₂R), 1246 (s, 1185, 1136 cm⁻¹).

- Add the solution of 1-(acyl azide)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene over 1 hour to 110 mL of toluene at 95 °C. Evolution of nitrogen gas is addition rate controlled under these conditions. Distill MTBE from the reaction during the addition. Stir the reaction for 1 hour at 95 °C, and allow to cool to 23 °C overnight. Concentration of the solvent under vacuum yields 1-(isocyanate)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene as an oil.
- 15
- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.67 (s, 2H, CH=CH), 3.01 (d, J = 15.6 Hz, 2H), 2.61 (d, J = 15.6 Hz, 2H), 1.50 (s, 9H, C(CH₃)₃).
- 20
- IR (film) 2258 (-NCO), 1732 (-CO₂R), 1157 cm⁻¹.

- Add t-butanol (35 g, 471 mmol) to a solution of potassium t-butoxide (1M in THF, 471 mL, 471 mmol) under nitrogen. Cool the reaction solution was cooled to 0-5 °C and add the toluene solution containing 1-(isocyanate)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene over 60 minutes, maintaining the temperature at 0-10 °C. Warm the reaction to 23 °C, stir for 2 hours, and assay by GC for the disappearance of the isocyanate starting material. Add the reaction mixture to a mixture of deionized water (1.2 L) and MTBE (1.2 L) at 15 °C. Stir the solution for 20 minutes and separate the layers. Wash the organic layer with a 20 % brine solution (250 mL) and separate the layers. Transfer the organic layer concentrated via distillation, to approximately 250 mL. Add heptane (500 mL) and concentrate the solution to a total volume of 250 mL. Cool the resulting slurry solution to 0 °C, stir for 2 hours, and filter. Wash the filter cake with
- 25
- 30

cold heptane (2 x 100 mL) and vacuum dry to give 34.54 g (52% yield from 1-(carboxylic acid)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene) of 1-(tert-butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene as a white solid.

m.p. 87-89 °C.

5 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.63 (s, 2H, CH=CH), 5.1 (bs, ¹H, NH), 2.99 (d, *J* = 17.2 Hz, 2H), 2.57 (d, *J* = 16.0 Hz, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.44 (s, 9H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ 173.3, 154.9, 127.7, 81.1, 64.5, 44.8, 28.3, 27.8.

IR (KBr): 3451, 2981, 2932, 1712, 1489, 1369, 1154 cm⁻¹.

MS (FIA) *m/e* (% relative intensity) 284.2 (M⁺ + 1, 56), 228.2 (73), 172.1 (97), 128.0

10 (100).

Add a solution of 1-(tert-butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)cyclopent-3-ene (20.00 g, 71 mmol) in 100 mL of EtOAc to a mixture of tetrabutylammonium hydrogensulfate (4.08 g, 10 mmol, 0.17 equiv), magnesium monoperoxyphthalate hydrate (MMPA, 52.4 g, 4.76 % active oxygen = 2.1 equiv), and
15 deionized water (100 mL). Stir the reaction was stirred with a mechanical stirrer for 19 hours. Add a solution of sodium sulfite (18 g) in deionized water (100 L) to the reaction mixture over 30 minutes. Dilute the mixture with 100 mL of EtOAc and separate the layers. Wash the organic layer with deionized H₂O (100 mL), 2N NaOH (2 x 100 mL), and deionized H₂O (2 x 100 mL). Distill the organic layer at 75-90 °C at atmospheric
20 pressure until the volume reaches 40 mL. Cool the solution to 75 °C and add hot heptane (120 mL). Cool the solution to 65 °C and optionally seed with the desired product.

Allow the resulting slurry to cool to ambient temperature and then cool in an ice bath for 1 hour. Filter the product and wash with 80 mL of cold 4:1 heptane:EtOAc, then vacuum dry at 40 °C to obtain 15.45 g (73% yield) of the title compound as a white solid. The

25 compound may be further purified by recrystallization from 2:1 isopropanol:water.

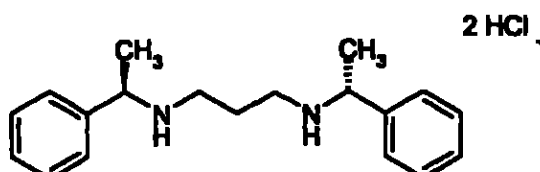
m.p. 130-133 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.0 (bs, 1H), 3.58 (s, 2H), 2.41 (d, *J* = 15.3 Hz, 2H), 2.20 (d, *J* = 15.2 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.40 (s, 9H).

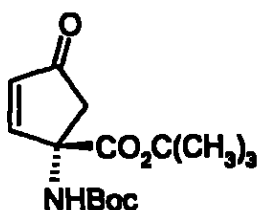
¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.3, 154.3, 81.2, 79.5, 62.8, 57.0, 38.6, 28.3, 27.7.

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

MS (FIA) *m/e* (% relative intensity) 300.3 (M⁺ + 1, 65), 244.4 (68), 188.2 (100) 144.1 (99).

Preparation 46(1R,3R)-1,3-Di(methylbenzylamino)propane dihydrochloride

- 5 Heat (*R*)- α -methylbenzylamine (98% ee, 121 g, 1 mol) to 100 °C under nitrogen. Add dibromopropane (25.4 mL, 50.5 g, 250 mmol) dropwise over 70 min. Heat the mixture for another 3 hours and then cool to 80 °C. Add concentrated (50%) NaOH solution (30 mL) dropwise over 10 minutes. Add water (30 mL) to dissolve the solids and allow the mixture to cool to room temperature over 30 minutes. Add MTBE (100
- 10 mL). Dissolve the precipitate by adding 100 mL of water, and separate the layers. Wash the organic layer with 50 mL of brine, dry (Na₂SO₄), and concentrate under vacuum to give 126.0 g of light yellow oil. Distill the oil under vacuum at 70 °C (head temperature), using a 12-inch column, to remove excess (*R*)- α -methylbenzylamine. Dissolve the pot residue (68 g of crude diamine) in 1 L of *i*-PrOH in a 2 L flask with a mechanical stirrer.
- 15 Add concentrated HCl (12 M, 45 mL, 540 mmol) dropwise over 10 minutes. Add an additional 100 mL of *i*-PrOH to ensure thorough mixing of the thick slurry. Stir the mixture for 90 minutes and filter. Wash the cake with *i*-PrOH and vacuum dry at 40 °C to obtain 64.32 g (72% yield, based on dibromopropane) of the title compound as a white solid.
- 20 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.93 (bs, 2H), 9.47 (bs, 2H), 7.56 (d, *J* = 7.0 Hz, 4H), 7.37 (m, 6H), 4.27 (m, 2H), 2.84 (m, 2H) 2.48 (m, 2H), 2.1 (m, 2H), 1.56 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

Preparation 47(1S)-1-(tert-Butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)-cyclopent-4-en-3-one

82

5 Dissolve (1R,3R)-1,3-di(methylbenzylamino)propane dihydrochloride (24.65 g, 69.3 mmol, Preparation 46) in 150 mL of water with stirring. Add to the solution 35 mL (175 mmol) of 5 N NaOH solution, followed by 150 mL of MTBE. After stirring 15 minutes, separate the layers and extract the aqueous layer with 100 mL of MTBE. Wash the combined organic layers with 100 mL of brine, dry with Na₂SO₄, and concentrate under vacuum to give 18.06 g (92% yield) of 1R,3R-di(methylbenzylamino)propane as a colorless oil.

10 In a 500 mL four-neck flask with overhead stirrer, dissolve 20.59 g (73.5 mmol) of 1R, 3R-di(methylbenzylamino)propane in 30 mL each of dry MTBE and THF, under N₂ flow. Cool the solution to -45 °C and add 59 mL (147 mmol) of n-BuLi solution (2.5 M in hexanes) dropwise over 17 minutes. Stir the light yellow solution for 2 hours at -45 °C. Add a solution of (1S,3S,5R)-3-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(tert-butoxycarbonyl)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexane (10.00 g, 33.4 mmol) in 55 mL of dry THF dropwise over 28 minutes, keeping the temperature below -40 °C. Rinse the addition funnel with an additional 5 mL of THF. Stir the reaction mixture for 18 hours at -45 °C and then quench via the dropwise addition of 4 N aqueous sulfuric acid (75 mL). Remove the cooling bath after the acid addition is complete. Separate the layers and extract the aqueous layer with 50 mL of MTBE. Wash the combined organic layers with 50 mL each of water and brine, dry with Na₂SO₄, and concentrate under vacuum to give 9.78 g of crude 578242 as a white solid. Dissolve the solid in 33 mL of hot MTBE and add heptane (66 mL) portionwise. Allow the stirred solution to cool to room temperature, then stir the mixture for 1 hour at 0 °C. Filter the solid, wash with 2 x 10 mL of cold 2:1 heptane:MTBE, and vacuum dry for 4 hours at 35 °C to provide 8.52 g (85% yield) of (1S,3R)-1-(tert-

butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)-3-hydroxycyclopent-4-ene as a white solid.

m. p. 111-112 °C.

Chiral HPLC assay: 99.7% ee.

5 $[\alpha]_D = +114$ (c 1, MeOH).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.1 (bs, 1H), 5.9 (bs, 1H), 5.55 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.8 (m, 1H), 4.44 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 2.87 (dd, $J = 14.5, 7.5$ Hz, 1H), 2.00 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.42 (s, 9H).

IR (KBr): 3413, 2983, 1703, 1491, 1370, 1309, 1255, 1155, 1055 cm^{-1} .

10 MS (FIA) m/e (% relative intensity) 300.3 ($M^+ + 1$, 15), 226.2 (29), 170.1 (100), 126.1 (89), 108.3 (20).

Add 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperdinyloxy (free radical) (TEMPO) (0.84 g, 5.3 mmol) and KBr (0.63 g, 5.3 mmol, in 2 mL of water) to a solution of (1S,3R)-1-(tert-butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)-3-hydroxycyclopent-4-ene (20 g, 66.8 mmol) in MTBE (200mL). Cool the reaction mixture to 0 °C and add a solution of NaOCl (3.14%, 240 g, 100 mmol) containing NaHCO_3 (8.4 g) dropwise, keeping the temperature below 5 °C. Stir the reaction 1 hour at 0 °C and allow to warm to room temperature. Separate the layers and extract the aqueous layer with MTBE (2 x 200 mL). Wash the combined organic layers with 200 mL of 1N HCl solution containing 2.21 g of KI followed by 10% Na_2SO_3 solution (200 mL). Wash the organic layer with water (2 x 200 mL) and concentrate to dryness under vacuum. Dissolve the crude product in MTBE (60 mL) at 50 °C and crystallize by addition of heptane (200 mL) over 1 h. Cool the mixture was cooled to 0 °C over 2 hours and then filter. Wash the filter cake with 100 mL of cold heptane:MTBE (65:35) and vacuum dry to give 16.99 g (89% yield) of the title compound as a white solid.

m.p. 116-118 °C.

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

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.4 (bs, 1H), 6.32 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 5.6 (bs, 1H), 2.87 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H), 2.9 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H), 1.43 (s, 18H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 206.1, 170.2, 160.8, 154.9, 136.1, 84.5, 66.1, 46.6, 28.9, 28.4.

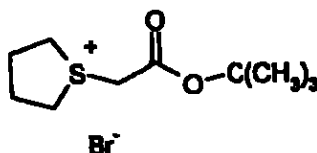
IR (KBr): 3419, 2983, 1722, 1487, 1730, 1300, 1259, 1151, 1012 cm^{-1} .

83

MS (FIA) m/e (% relative intensity) 254.2 ($M^+ + 1$, 11), 242.3 (18), 228.2 (13), 186.1 (76), 143.2 (11), 242.3 (100).

Preparation 48

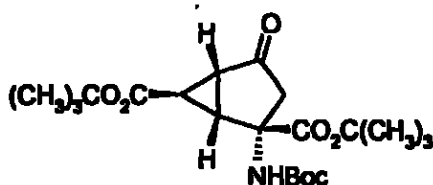
5 1-(2-tert-butoxy-2-oxoethyl)tetrahydrothiophenium bromide



Add t-butyl bromoacetate (2.44 L, 16.52 mole, 1 eq) to a solution of tetrahydrothiophene (2.19 L, 24.8 mole, 1.5 eq) in acetone (11.38 L), in a 22 L flask over 10 30-60 minutes while maintaining the temperature between 15-25 °C using a water bath. Stir the reaction for 22 hours and assay a sample by ^1H NMR to confirm the completion of the reaction. Filter the precipitate, wash with acetone (2 L), and vacuum dry for 3 days at 28-33 °C to give 4.328 Kg (92.5 % yield) of the title compound. ^1H NMR (500 MHz, DMSO *d*-6) δ 4.40 (s, 1H), 3.51 (m, 2H), 3.48 (m, 2H), 2.23 (m, 15 2H), 2.13 (M, 2H), 1.42 (s, 9H).

Preparation 49

20 (1S,2S,5R,6R)-2-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester



Add KOtBu (42 mL, 42 mmol, 1 M solution in THF, 2.5 equiv) to a 0 °C solution of 1-(2-tert-butoxy-2-oxoethyl)tetrahydrothiophenium bromide (11.9 g, 42 mmol, 2.5 equiv., Preparation 48) in acetonitrile (30 mL) under N_2 over 10 minutes keeping the 25 temperature below 5° C. Stir the milky solution cold for 1.5 hours. Add trifluoroethanol (6.9 g, 69 mmol, 4.1 equiv) dropwise. Add a solution of (1S)-1-(tert-

butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)-cyclopent-4-en-3-one (5 g, 16.8 mmol, Preparation 47) and trifluoroethanol (13.3 g, 132 mmol, 7.9 equiv) in acetonitrile (20 mL), over 5 minutes, maintaining the temperature at 3-5° C. Stir the solution for 4.5 hours at 0-5 °C. Add MTBE (155 mL) and H₂O (80 mL) to the cold reaction mixture.

- 5 Separate the layers and wash the organic layer with H₂O (50 mL), then 20% brine (50 mL). Concentrate the organic layer via atmospheric pressure distillation to approximately 30 mL. Add heptane (100 mL) and concentrate the solution. Add additional heptane as needed until the vapor temperature of the distillate reaches 93 °C. Add THF (65 mL) to yield a solution of the title compound.

10

Preparation 50

(1S,2S,5R,6R)-2-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester

- 15 Add 1.7 L of saturated aqueous K₂CO₃ solution to a 0 °C solution of 1-(2-tert-butoxy-2-oxoethyl)tetrahydrothiophenium bromide (757 g, 2.67 mol, Preparation 48) in 2.2 L of CH₂Cl₂, keeping the temperature below 10 °C. After stirring the biphasic mixture 1.5 hours, add 223 mL of 50% NaOH solution portionwise, keeping the temperature below 5 °C. Stir the mixture 3 hours and filter. Rinse the salts with CH₂Cl₂.
- 20 Separate the layers and extract the aqueous layer with 600 mL of CH₂Cl₂. Dry the combined organic layers over solid K₂CO₃ and concentrate under vacuum to give 533.3 g (98% yield) of (2-tert-butoxy-2-oxoethyl)tetrahydrothiophenium as a pale yellow oil. Upon storage in the freezer, the oil crystallizes giving an off-white solid. mp 48-50 °C.

- 25 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.12 (m, 2H), 3.00 (m, 2H), 2.85 (s, 1H), 2.41 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.38 (s, 9H).

- Add 474 mL (6.5 mol, 10 equiv) of trifluoroethanol to a 0 °C solution of (1S)-1-(tert-butoxycarbonylamino)-1-(tert-butoxycarbonyl)-cyclopent-4-en-3-one (194 g, 653 mmol) in 650 mL of CH₂Cl₂. Add a solution of (2-tert-butoxy-2-oxoethyl)tetrahydrothiophenium (396 g, 1.96 mol) in 325 mL CH₂Cl₂ dropwise over 40 minutes keeping the temperature below 10 °C. Remove the ice bath after 1 hour. Add deionized water (680 mL) and separate the layers. Extract the aqueous layer with 400 mL
- 30

CH₂Cl₂. Wash the combined organic layers with 500 mL of brine, dry with Na₂SO₄, and concentrate under vacuum to obtain 587 g of an amber, oily solid. Dissolve the solid in 400 mL of CH₂Cl₂ and elute through a 1.6 Kg silica gel plug using 5:1:1 hexanes: methyl *t*-butylether:CH₂Cl₂ as eluent to yield a total of 13.2 L of eluent. Concentrate the eluent to give 398.7 g of white solid. Dissolve the solid in 3 L of refluxing 70:30 hexanes: MTBE. Allow the solution to cool to room temperature overnight, then cool in an ice bath for 1 hour. Filter the solid, rinse with cold solvent (approximately 700 mL), and vacuum dry at 35 °C to obtain 173 g (64% yield) of (1S,2S,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester as a white solid.

mp 144-46 °C.

$[\alpha]_D^{25} = +30.5$ (c 1, CHCl₃).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.36 (d, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.64 (dd, J = 5.2, 3.2 Hz, 1H), 2.37 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 2.23 (bs, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.43 (s, 18H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 206.2, 171.2, 168.5, 155.3, 83.4, 82.7, 80.7, 61.2, 43.2, 36.0, 34.3, 28.4, 28.2, 28.0, 25.3.

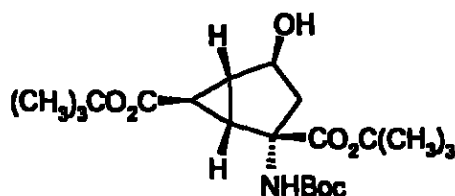
IR (CHCl₃): 2982, 1744, 1719, 1485, 1394, 1309 cm⁻¹.

MS (ES+) m/e (% relative intensity) 412.2 (M⁺ + 1, 79), 356.2 (50), 300.1 (97), 276.1 (68), 244.1 (100). Anal. Calcd. for C₂₁H₃₃NO₇ (411.29): C, 61.30; H, 8.08; N, 3.40.

Found: C, 61.32; H, 8.04; N, 3.51.

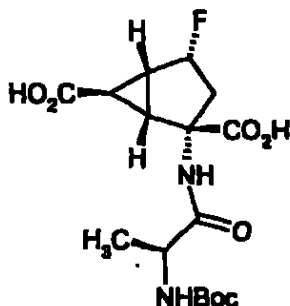
Preparation 51

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester



Cool the solution from Preparation 49 to 0 °C under nitrogen and add lithium tri-*sec*-butylborohydride (L-Selectride™, 1 M in THF, 21 mL, 21 mmol) dropwise. Stir the

- reaction mixture for 45 minutes at 0 °C. Add a solution of 2 M sodium carbonate (31 mL) dropwise, keeping the temperature below 8 °C. Add a solution of 30% H₂O₂ (7.15 g, 63 mmol) in 20 mL of water, keeping the temperature below 15 °C. After stirring 10 min, add MTBE (210 mL) and deionized water (100 mL). Separate the layers were separated and wash the organic layer with saturated Na₂SO₃ solution (40 mL) and 1M NaHSO₄ solution (40 mL). Concentrate the organic layer by distillation at atmospheric pressure to a volume of approximately 90 mL. Continue the distillation and add heptane to maintain a constant volume. When the vapor temperature of the distillate reaches 93 °C, cool the solution to 70 °C and add 7 mL of THF. Cool the solution to 0 °C and stir for 1 hour.
- 10 Filter the solid, wash with cold heptane (10 mL), and vacuum dry at 50 °C to obtain 4.68 g (67% yield) of (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester as a white solid. m.p. 187-88 °C.
- ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 5.31 (bs, 1H), 4.38 (d, J_{AB} = 10.5 Hz, 1H), 4.30 (dd, J = 11.0, 6.0 Hz, 1H), 2.68 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.07 (m, 1H), 1.58 (m, J = 15.2 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.44 (s, 9H), 1.43 (s, 9H).
- 15 ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 175.2, 170.5, 155, 83.2, 81.3, 80.1, 73.7, 66.9, 43.1, 36.0, 34.4, 29.3, 28.3, 28.1, 27.4, 22.1.
- IR (CHCl₃): 3445, 2982, 1714, 1485, 1361 cm⁻¹.
- 20 MS (ES+) m/e (% relative intensity) 414.2 (M⁺ + 1, 58), 358.1 (75), 302.1 (78), 246.0 (100).
- [α]_D = -28.6 (c 1, MeOH).
- 87

Preparation 52(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(tert-Butoxycarbonylamino)propionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid

5

- Add a solution of (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester (25.00 g, 60.5 mmol, Preparation 51) in CH_2Cl_2 (230 mL) to a -78°C solution of DeoxofluorTM (16.05 g, 72.6 mmol, 1.2 equiv) in CH_2Cl_2 (105 mL) over 2 h. Stir the reaction mixture for 1.5 hours, and add an additional 1.66 g of DeoxofluorTM. Stir the solution 30 minutes and allow to warm to -10°C . Add a solution of saturated NaHCO_3 (105 mL) dropwise over 20 minutes, keeping the temperature below 5°C . Adjust the pH of the aqueous layer to 7 by adding 160 mL of saturated NaHCO_3 solution. Allow the mixture to warm to ambient temperature and separate the layers. Extract the aqueous layer with 100 mL of CH_2Cl_2 .
- Wash the combined organic layers with 250 mL of brine, then dry with Na_2SO_4 . Remove the solvent under vacuum and add heptane (75 mL) to the crude product. Heat the resulting mixture to 50°C until all solids are dissolved and stir at ambient temperature for 24 hours. Cool the mixture to 0°C in an ice bath and filter. Rinse the product with cold heptane and vacuum dry to give 20.23 g (80% yield) of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester as a white solid.

- m.p. $140-143^\circ\text{C}$.
 $[\alpha]_D = +20.6$ (c 1, CHCl_3).
 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 5.45 (dd, $J_{\text{H-F}} = 56$, $J_{\text{H-H}} = 4.8$ Hz, 1H), 5.28 (bs, 1H), 3.00 (m, 1H), 2.23 (bs, 1H), 2.11 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.43 (s, 9H), 1.37 (m, 1H).

25

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 177.7, 170.5, 155.0, 94.4, 92.0, 82.2, 81.5, 80.2, 64.7, 37.7, 33.2, 29.7, 29.3, 28.3, 28.1, 27.8, 20.4.

MS (ES+) m/e (% relative intensity) 416.2 ($\text{M}^+ + 1$, 66), 360.1 (67), 304.1 (100), 248.0 (60).

5 IR (CHCl_3): 3444, 2981, 1715, 1485, 1369 cm^{-1} .

Add SOCl_2 (21.29 g, 13.05 mL, 0.179 mole, 5 eq) to a solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid di-tert-butyl ester (14.87 g, 0.036 mole) in EtOH (abs, 149 mL) dropwise over 10 minutes without cooling to produce a gently refluxing solution. Reflux the solution overnight. Remove the solvent from the reaction under vacuum. Dissolve the residue in EtOAc (150 mL) and add a solution of 10% Na_2CO_3 (75 mL) dropwise over 5-10 minutes with stirring. Separate the layers and extract the aqueous layer with EtOAc (50 mL). Wash the combined organic extracts with brine (1 x 50 mL), dry over Na_2SO_4 , filter and concentrate the product, (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester, in vacuo to a thick liquid which solidifies upon standing (11.02 g).

Add N-methylmorpholine (22.44 mL, 204 mmol) to a solution of N-Boc-L-alanine (38.62 g, 204 mmol) in 396 mL of methylene chloride at -22°C under nitrogen, followed by the addition of *iso*-butyl chloroformate (26.48 mL, 204 mmol) dropwise over 15 minutes such that the reaction temperature does not exceed -18°C . Stir the resultant thin slurry at -20°C for 30 minutes, then add a solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (49.46 g, 191 mmol) in 247 mL of methylene chloride over 40 minutes such that the reaction temperature does not exceed -16°C . Remove the reaction from the cooling bath and stir at ambient temperature for 70 minutes. Add 408 mL of 1 N hydrochloric acid, stir for 5 minutes, and separate the layers. Wash the organic layer with saturated aqueous sodium bicarbonate (1 x 408 mL), dry (Na_2SO_4), filter, and concentrate the product, (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester, in vacuo to a white foam (88.16 g).

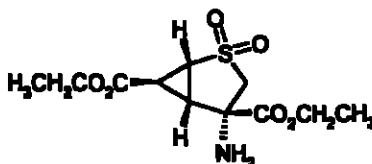
30 Add 46.7 mL (93.4 mmol) of 2N sodium hydroxide to a solution of crude (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (17.5 g, 37.3 mmol theoretical)

89

in 46.6 mL of tetrahydrofuran at room temperature. Stir the biphasic mixture vigorously at room temperature until homogeneous, then stir for another hour (three hours total). Dilute the mixture with 46 mL of *t*-butyl methyl ether, then mix for 10 minutes and separate the layers. In a separate flask, add 93 mL of water, then 8.4 mL (101 mmol) of concentrated HCl. Optionally add (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'-S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid seed crystals to the acid solution, followed by the aqueous layer from above. Add the aqueous layer slowly at first, so that a moderately thick slurry forms. At this time, increase the rate of addition (40 minutes total addition time). Rinse the addition funnel with water (16 mL). Stir the resultant slurry for 2 hours, filter, wash with water (2 x 32 mL), and vacuum-dry at 45 °C to constant weight to provide 13.9 g (99%) of the title compound as a white solid.

Preparation 53

(1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester



Add thionyl chloride to a slurry of (1R,4S,5S,6S)-4-Amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (10 g, 42.5 mmol, U.S. Patent No. 5,688,826) in 100 mL of 2B ethanol at room temperature (15.5 mL, 212.6 mmol) dropwise over 20 minutes followed by rinsing with 40 mL of ethanol. Heat the slurry to reflux and stir overnight. Cool the resultant solution to room temperature and concentrate to a gelatinous residue. Add ethyl acetate (50 mL) to the residue, followed by dilution with another 94 mL of ethyl acetate. Slowly add 15% aqueous sodium carbonate (70 mL) to the mixture with swirling by hand to gradually afford dissolution giving a final pH of 7.95. Filter and separate the layers. Extract the aqueous layer with ethyl acetate (2 x 100 mL). Wash the combined organic extracts with brine (1 x 100 mL), dried (MgSO₄), filter,

and concentrate *in vacuo* to provide the title compound as a faint yellow oil that solidifies to an off-white solid (11.71 g, 95% yield).

m.p. 80-83 °C.

$[\alpha]_D^{25}$ -57.7 (c 1.04, CH₃OH).

5 500 MHz ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.31 (q, 2H, J = 7.0 Hz), 4.20 (m, 2H), 3.78 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 3.36 (dd, 1H, J = 4.0, 7.0 Hz), 2.93 (dd, 1H, J = 4.0, 7.0 Hz), 2.81 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 2.46 (t, 1H, J = 4.0), 1.34 (t, 3H, J = 7.0), 1.30 (t, 3H, J = 7.0).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.68, 168.57, 63.26, 62.42, 59.96, 56.06, 43.78, 32.25, 22.49, 14.31, 14.25.

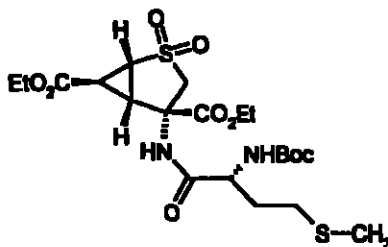
10 FTIR (ATR) 3364.15 (s), 1725.95 (s), 1304.91 (s), 1259.24 (s), 1200.84 (s), 1104.91 (s), 1022.99 (s), 896.45 (s), 851.21 (s) cm⁻¹.

Anal. Calcd for C₁₁H₁₇NO₆S: C, 45.35; H, 5.88; N, 4.81. Found: C, 45.02; H, 5.75; N, 4.82.

15

Preparation 54

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester



20

Add N-methyl morpholine (14.4 mL, 130.9 mmol) to a clear solution of N-Boc-L-methionine (32.64g, 130.9 mmol) in 110 mL of methylene chloride at -22 °C under nitrogen, followed by addition of *iso*-butyl chloroformate (17 mL, 130.9 mmol) dropwise over 7 minutes to maintain the reaction temperature at -22 °C. Upon completion of the addition, a resultant thin slurry was forms. Stir at -22 to -26 °C for 30 minutes. Add a

25

solution of (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester (35.65 g, 122.4 mmol, Preparation 53) in 107 mL of methylene chloride during 15 minutes, followed by a rinse of 36 mL of methylene

chloride. Remove the reaction from the cooling bath and stir at room temperature for 70 minutes. Add 51 mL of 5 N hydrochloric acid to the solution, then separate the layers.

Back extract the aqueous layer with methylene chloride (2 x 107 mL). Wash the combined organic layers with saturated aqueous sodium bicarbonate (1 x 107 mL), dried (MgSO₄), filter, and concentrate *in vacuo* to furnish 65.82 g (103% weight yield) of the title compound as a white foam.

[α]_D²⁵ -12.7 (c 1.2, CH₃OH).

500 MHz ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.53 (s, 1H), 5.06 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 4.34 - 4.20 (m, 6H), 3.41 (dd, 1H, J = 4.0, 7.0), 2.97 - 2.89 (m, 2H), 2.64 - 2.59 (m, 2H, J = 4.0), 2.12 - 1.89 (m, 5H), 1.47 (s, 9H), 1.32 (t, 6H, J = 7.0).

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 172.53, 169.03, 167.88, 156.00, 80.62, 63.45, 62.56, 60.20, 55.33, 52.78, 42.81, 31.52, 31.38, 30.12, 28.49, 22.69, 15.44, 14.23, 14.143.

FTIR (ATR) 3341.88 (w), 2979.38 (s), 1733.03 (s), 1674.92 (s), 1514.58 (s), 1315.80 (s), 1255.15 (s), 1161.47 (s), 1142.63 (s), 1025.68 (s), 854.85 (s), 763.53 (s) cm⁻¹.

Preparation 55

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid monosodium salt

Add 141 mL (282 mmol) of 2N sodium hydroxide to a solution of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester (58.95 g, 112.8 mmol theoretical, Preparation 54) in 141 mL of tetrahydrofuran at room temperature. Stir the mixture vigorously at room temperature for two minutes. Dilute the solution with 141 mL of *tert*-butyl methyl ether, then separate the layers. Further dilute the aqueous layer with 141 mL of water and add concentrated hydrochloric acid dropwise to lower the pH to 4.46. Stir for 10 minutes to obtain a thin slurry. Add more concentrated hydrochloric acid to the slurry to drop the pH to 1.4 (total use of 17 mL of conc. HCl, 204 mmol). After stirring for 2 hours, filter the slurry. Wash the cake with water (2 x 118 mL) and dry *in vacuo* at 45 °C for 1 hour before transferring to a weighing pan. Dry the cake again *in vacuo* at 45 °C for 16 hours and at 58 °C for 5 hours to provide 52.96 g (96% weight yield) of the title compound as a white solid.

mp (decomposed) 258 °C.

$[\alpha]_{25}^D - 25.2$ (c 1.03, H₂O).

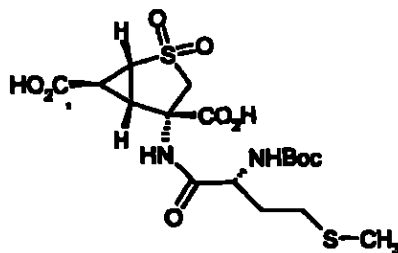
500 MHz ¹H NMR (D₂O) δ 4.07 - 4.01 (m, 2H), 3.45 - 3.43 (m, 1H), 3.11 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 2.85 (m, 1H), 2.71 (s, 3H), 2.47 - 2.35 (m, 3H), 1.96 - 1.90 (m, 4H), 1.78 - 1.72 (m, 1H), 1.28 (s, 9H).

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 174.45, 173.58, 172.80, 157.46, 81.71, 61.41, 55.04, 53.24, 42.29, 31.71, 30.85, 29.41, 27.79, 23.65, 14.41.

FTIR (ATR) 3287.62 (s), 1698.00 (s), 1528.91 (s), 1327.36 (s), 1283.74 (s), 1245.90 (s), 1174.81 (s), 1109.06 (s), 1053.05 (s), 874.27 (s), 808.95 (s) cm⁻¹.

Preparation 56

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid



15

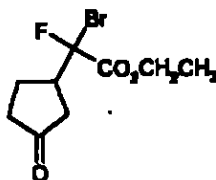
Add 397 mL (795 mmol) of 2N sodium hydroxide to a solution of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid diethyl ester (166.15 g, 318 mmol, Preparation 54) in 480 mL of tetrahydrofuran at room temperature. Stir the mixture vigorously at room temperature for two minutes, at which time the reaction becomes homogeneous to form a clear faint yellow/green solution. Stir for an additional two hours at room temperature. Dilute the solution with 480 mL of *tert*-butyl methyl ether, then separate the layers. Add the aqueous layer dropwise to a solution of concentrated hydrochloric acid (71.5 mL, 858 mmol) in water (960 mL). Add ethyl acetate (500 mL) followed by the rest of the aqueous layer to result an emulsion, and further dilute with ethyl acetate (460 mL). Stir the emulsion for 40 minutes, filter, and wash with water (2 x 250 mL). Separate the layers of the filtrate and back extract the aqueous layer with ethyl

93

acetate (500 mL). Wash the combined organic layers with brine (75 mL), dry (MgSO_4), filter, and concentrate *in vacuo* to provide 125.26 g (84% corrected yield) of the title compound as a white foam.

Preparation 57

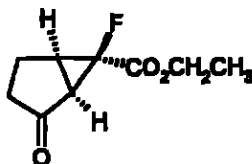
Ethyl 2-Bromo-2-fluoro-2-(3-oxocyclopentyl)acetate



Add 8.45 mL (50.4 mmol) of triethylsilyl chloride to a suspension of 2.99 g of activated Zn (45.8 mmol) in anhydrous acetonitrile (100 mL) at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and stir the mixture for 5 minutes. Add 8.0 mL (57.3 mmol) of ethyl 2,2-dibromo-2-fluoroacetate and stir the mixture for 90 minutes at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Add 1.86 mL (22.9 mmol) of 2-cyclopenten-1-one, and stir the reaction mixture overnight, allowing the temperature to rise slowly to room temperature. Add HCl 1N (125 mL) and EtOAc (100 mL). Wash the organic layer with saturated NaHCO_3 (2x150 mL), water (2x150 mL) and brine (2x150 mL), dry over anhydrous MgSO_4 , filter and concentrate under reduced pressure. Purify the residue by column chromatography using EtOAc/hexane (1:8) as eluent to give the title compound (5.36 g, 88% overall yield) as a colorless oil as a mixture of diastereoisomers.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1.34-1.41 (m, 6H), 1.91-1.95 (m, 1H), 2.04-2.68 (m, 11H), 3.12-3.31 (m, 2H), 4.33-4.43 (m, 4H).

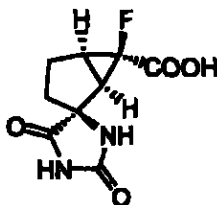
Zn activation: Add 10 mL of concentrated HCl to a suspension of 100 g of Zn dust in water (900 mL). Stir the mixture for 20 minutes at room temperature. Decant the water, and wash the residue with water (3x250 mL), acetone (3x150 mL), and ether (2x100 mL). Dry the residue under reduced pressure at $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ overnight.

Preparation 58Ethyl (1*RS*, 5*RS*, 6*RS*)-6-fluoro-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate

95

- 5 Add 13.0 mL (75.0 mmol) of ethyldiisopropylamine to a solution of 2.0 g (7.5 mmol) of ethyl 2-bromo-2-fluoro-2-(3-oxocyclopentyl)acetate (Preparation 57) in DMF (8 mL), at 0°C, and stir the mixture overnight at room temperature. Add a solution of HCl 1N (20 mL), water (15 mL), and EtOAc (75 mL). Extract the organic layer, wash with saturated NaHCO₃ (2x100 mL), water (2x100 mL), and brine (2x100 mL), dry over
- 10 anhydrous MgSO₄, filter and concentrate under reduced pressure. Purify the residue by column chromatography using EtOAc/hexane (1:4) as eluent to give the title compound (1.17 g, 84% yield) as a mixture *trans:cis* 5:1 of isomers as a colorless oil.
- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.33 (t, 3H, J = 7.1 Hz), 2.19-2.34 (m, 3H), 2.41-2.49 (m, 1H), 2.59 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 2.71-2.76 (m, 1H), 4.29 (q, 2H, J = 7.1 Hz).

15

Preparation 59(1*RS*, 2*SR*, 5*RS*, 6*RS*)-2-Spiro-5'-hydantoin-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid

20

- 20 Stir a mixture of ethyl (1*RS*, 5*RS*, 6*RS*)-6-fluoro-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (0.1 g, 0.54 mmol, Preparation 58) and 1N NaOH (0.55 mL, 0.55 mmol) in EtOH (1 mL) for 10 min with ice cooling. Add 1 N HCl to the mixture dropwise until pH 1, and partition the resulting mixture between EtOAc and brine. Extract the aqueous
- 25 phase with EtOAc twice, and dry the combined organic layers over MgSO₄ and then concentrated under reduced pressure. Stir a mixture of the residue, (NH₄)₂CO₃ (0.31 g,

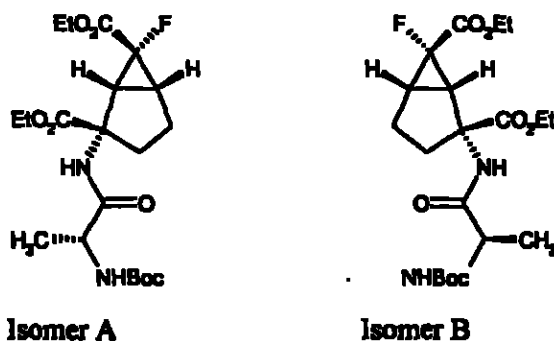
3,2 mmol), and KCN (0,11 g, 1,62 mmol) in EtOH and water (1:1) (2 mL) at 60°C overnight. Cool in an ice bath and acidify the mixture by treatment with 1 N KHSO₄. Remove the solvent under reduced pressure and redissolve the residue in MeOH, filter and concentrate in vacuo. The crude may be used without further purification.

5

Preparation 60

(1R, 2S, 5R, 6R)-Diethyl-2-(2'R-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate and (1S, 2R, 5S, 6S)-Diethyl-2-(2'R-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

10



Add 1.59 g (5.0 mmol) of Ba(OH)₂ to a solution of 0.32 g (1.5 mmol) of (1R*, 2S*, 5R*, 6R*)-2-spiro-5'-hydantoin-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid (Preparation 59) in water (10 mL), and stir the mixture at 105 °C overnight. Acidify the solution to pH 1 with 1N HCl at 0 °C, then concentrate under reduced pressure. Redissolve the residue and concentrate under reduced pressure with absolute EtOH several times until the solid is perfectly dried. Add 0.37 mL (5.0 mmol) of SOCl₂ to the residue dissolved in absolute EtOH (20 mL) at 0°C, then stir the mixture at reflux for 5 hours. Basify the solution with saturated NaHCO₃ and add EtOAc (25 mL). Separate the organic layer, and extract the aqueous layer with more EtOAc (2x25 mL). Dry the combined organic layers over anhydrous MgSO₄, filter and concentrate at reduced pressure. Dissolve the residue in 20 mL of a mixture of DCM-DMF (4:1), 0.73 g (1.9 mmol) of HATU, 0.26 g (1.9 mmol) of H_oAt, 0.35 g (1.8 mmol) of L-Ala. Add 2.7 mL (15.3 mmol) of diisopropylethylamine and stir the mixture under Ar overnight. Add DCM (15 mL), separate and wash with saturated NaHCO₃ (2x25 mL), water (2x25 mL),

96

and brine (2x25 mL). Wash the organic layer over anhydrous MgSO_4 , filter, and concentrate at reduced pressure. Purify the residue by column chromatography using EtOAc/hexane (1:2) as eluent to give the title compound (0.33 g, 51% overall yield) as a mixture of 1:1 of diastereomers as colorless oil.

- 5 The mixture of diastereomers were separated by chiral HPLC using the following analytical method: Chiralpak AD 10m, 4.6 x 250mm; Eluent: 10% IPA in Hexane; Flow: 1.0mL/min; UV: 215nm. Isomer A retention time = 5.9 min. Isomer B retention time = 9.2 min.

Isomer A: (1*R*, 2*S*, 5*R*, 6*R*, 2'*R*)-Diethyl-2-(2'-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): 1.18 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 1.23 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 1.36 (s, 9H), 1.56-1.68 (m, 1H), 2.03-2.11 (m, 2H), 2.21-2.31 (m, 1H), 2.37-2.45 (m, 1H), 2.61-2.63 (m, 1H), 4.09-4.16 (m, 5H), 5.10 (bd, 1H, $J = 6.6$ Hz), 7.11 (bs, 1H).

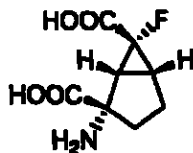
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl_3): 13.9, 14.0, 17.7, 24.9 (d, $J = 1.0$ Hz), 28.1, 31.5 (d, $J = 10.9$ Hz), 34.9 (d, $J = 9.4$ Hz), 36.4 (d, $J = 8.8$ Hz), 49.1, 61.5, 61.8, 67.4, 77.2, 81.5 (d, $J = 242.6$ Hz), 155.4, 168.6 (d, $J = 25.1$ Hz), 171.8 and 172.7ppm.

Isomer B: (1*S*, 2*R*, 5*S*, 6*S*, 2'*R*)-Diethyl-2-(2'-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

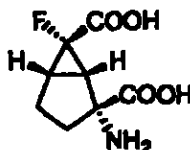
¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): 1.13 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 1.18 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 1.31 (s, 9H), 1.51-1.60 (m, 1H), 1.98-2.07 (m, 2H), 2.15-2.22 (m, 1H), 2.26-2.39 (m, 1H), 2.55-2.60 (m, 1H), 4.07-4.12 (m, 5H), 5.20 (sd, 1H), 7.22 (bs, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl_3): 13.7, 13.8, 18.0, 24.7, 28.0, 31.4 (d, $J = 10.9$ Hz), 34.5 (d, $J = 8.9$ Hz), 36.3 (d, $J = 9.4$ Hz), 49.1, 61.4, 61.7, 67.3, 77.2, 81.4 (d, $J = 242.6$ Hz), 155.2, 168.5 (d, $J = 25.1$ Hz), 171.7 and 172.8 ppm.

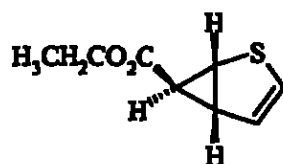
97

Preparation 61**(1R, 2S, 5R, 6R)-2-Amino-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid**

- 5 Reflux a solution of 30 mg (0.07 mmol) of Isomer A of Preparation 60 in 6N HCl (2 mL) overnight. Remove the solvent under reduced pressure, wash the residue with ether, dissolve in MeOH (1 mL), and add propylene oxide (2 mL). Stir the mixture at room temperature overnight. Decant the solvent, wash the residue with ether, and dry with an Ar stream to give the title compound (12 mg, 85%) as a white solid.
- 10 $[\alpha]_D = -25.0$ ($c=0.80$ mg/mL, H_2O).

Preparation 62**(1S, 2R, 5S, 6S)-2-Amino-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid**

- 15 Beginning with a solution Isomer B of Preparation 60, the title compound is prepared essentially as Preparation 61.
- 20 $[\alpha]_D = 21.7$ ($c=0.46$ mg/mL, H_2O).

Preparation 63Ethyl (6S)-4-thiabicyclo[3.1.0]hex-2-ene-6-carboxylate

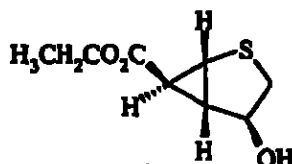
- 5 A 3-neck, 5 liter flask is fitted with a stirrer, a thermocouple, and a teflon addition tube, and a N₂ inlet is charged 2000 ml of thiophene (d = 1.05g / mL, 25.0 mol at beginning and increasing to 45 mol with addition of ethyl diazoacetate solution in thiophene, 17.1 equiv based upon total addition of ethyl diazoacetate and not corrected for potency of EDA, 19.0 equiv based upon potency corrected ethyl diazoacetate). To
- 10 this is added, under N₂, 0.968 g of Rh₂(octanoate)₄ (1.24 mmols, 0.0472 mol % based upon g of ethyl diazoacetate not corrected for potency, 0.052 mole % based upon moles of pure ethyl diazoacetate, Johnson Matthey: Lot No. 059255001). The suspension is heated to 46°C and stirred at 46°C for 10 minutes to affect dissolution to a green solution. To the solution is added, by a positive displacement pump, a solution of 300 g of ethyl
- 15 diazoacetate (90% pure, 2.63 moles, 2.37 moles *pura*, 1.00 equiv, Aldrich: Lot No. 17603PI) dissolved in 1600 mL of thiophene. The rate of addition is such that the total addition time is 8 hours; the slow rate of addition suppresses formation of the maleate and fumarate ethyl esters. When no ethyl diazoacetate remains (approximately thirty minutes), the dark amber reaction (3,985 g) is cooled to 23°C. The reaction mixture is
- 20 split into portions and the larger portion (3,240 g of 3,985 g total = 81.3%) is directly concentrated to an oil. The crude product is passed through the wiped film distillation apparatus at 1.5 torr and 23°C to degas the product and to remove residual amount of thiophene. The product is then distilled at 120°C and 1.3 torr. The title compound (faint yellow) is collected in two fractions, 155.0 g and 32.2 g. Analysis by HPLC determines a
- 25 potency of 78% and 76% for the two lots respectively. Crystallization of the distillate from above is accomplished by dissolution in methanol (2 mL per 1 g of distillate) and cooling to -10°C, at which time the solution is optionally seeded if crystal growth is not observed. Once crystal growth has commenced, the mixture is further cooled to -45°C and stirred for 2-3 hours, filtered, and washed with cold (-45°C) methanol (1 x 1 mL per 1

99

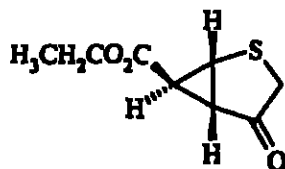
g of distillate). The material is dried *in vacuo* at 24°C to provide the title compound as a white to off-white solid in 80-85% recovery and >98% potency.

Preparation 64

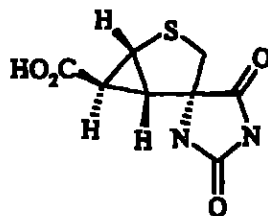
5 Ethyl (4S,6S)-4-hydroxy-2-thiabicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate



To a solution of ethyl (6S)-4-thiabicyclo[3.1.0]hex-2-ene-6-carboxylate (22.2 g, 131 mmol) in 136 mL of tetrahydrofuran under nitrogen at 0°C is added borane-THF complex (98 mL, 98 mmol) over 15-20 minutes. After stirring at 0°C for 30 minutes, the reaction is allowed to warm to 15°C and stir until complete by HPLC (1.5-2 hours). The reaction is cooled to 0°C and transferred over 10-15 minutes to 111 mL of a pre-cooled (0°C) 1 N pH 7 buffer solution while maintaining the temperature at 0°C. To the mixture is added sodium perborate monohydrate (15.6 g, 157 mmol) as a solid in five portions such that the temperature is maintained below 20°C. The solution is allowed to warm to room temperature and stir for 1 hour followed by the addition of 222 mL of water. After stirring for 2 hours, the peroxides are quenched by adding sodium thiosulfate pentahydrate (9.7 g) dissolved in 24 mL of water followed by stirring for 10 minutes. The mixture is extracted with ethyl acetate (2 x 222 mL). The combined organic extracts are washed with saturated aqueous sodium bicarbonate (1 x 222 mL) followed by brine (1 x 222 mL) and concentration *in vacuo* to dryness. The crude product is dissolved in 1,2-dichloroethane (1 mL per 1 g of crude oil) and loaded onto a silica gel column (4 g of silica gel per 1 g of crude oil slurried and packed in 15% ethyl acetate-heptane). The column is eluted with 15% ethyl acetate-heptane until product is visible by TLC, at which time the solvent is switched to 50% ethyl acetate-heptane. All fractions containing the title product are combined and concentrated *in vacuo* to an oil. Overall yield is in the 55-65% range.

Preparation 65Ethyl (6S)-4-oxo-2-thiabicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate

- 5 To a solution of dimethylsulfoxide (33.4 mL, 471 mmol) in 194 mL of methylene chloride at -70°C is slowly added a solution of trifluoroacetic anhydride (33.2 mL, 235 mmol) in 73 mL of methylene chloride over 30 minutes (temperature maintained below -66°C). After stirring for 20 min, a solution of ethyl (4S,6S)-4-hydroxy-2-
- 10 -thiabicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (34.1 g, 181 mmol) in 194 mL of methylene chloride is added over 60 minutes such that the temperature is maintained below -60°C . After stirring for 1 hour, the reaction is treated with triethylamine (75.7 mL, 543 mmol) over 35 minutes such that the temperature remains below -50°C . The reaction is allowed to stir an additional 1 hour, at which time the cooling bath is removed and 400 mL of 2 N hydrochloric acid is added. Upon warming to 0°C , the layers are separated and the
- 15 organic layer is washed with 2N hydrochloric acid (1x 300 mL), 1N aqueous sodium bicarbonate (1 x 670 mL), and water (1 x 300 mL) followed by drying over sodium sulfate, filtering, and concentrating *in vacuo* to a red oil which solidifies upon standing. The crude product is applied to a pad of silica gel (2 g per 1 g of starting alcohol packed with methylene chloride) and eluted with methylene chloride (200-300 mL). All fractions
- 20 containing product are collected and concentrated to provide the title compound as an orange/brown solid. Typical corrected yields are in the 85-90% range.

Preparation 66**(6S,11S)-8,10-dioxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexane-4,5'-imidazolidine]-6-carboxylic acid**

5

Ammonium carbonate (2.46 g, 25.6 mmol) and potassium cyanide (0.817 mg, 12.5 mmol) are combined in 19.9 mL of methanol and allowed to stir for 30 minutes. The mixture is treated with a solution of ethyl (6S)-4-oxo-2-thiabicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (2.39 g, 12.8 mmol) in 19.9 mL of methanol and the reaction is heated to 30°C and stirred for 23 hours. The volatiles are evaporated and the residue is dissolved in 2.75N sodium hydroxide (13.1 mL) and stirred for 1 hour. After dilution with 13.1 mL of water, the pH is lowered to 3.1 with concentrated hydrochloric acid and optionally seeded with (6S,11R)-8,10-dioxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexane-4,5'-imidazolidine]-6-carboxylic acid. The pH is lowered to 1.0 and the suspension is cooled to 0°C and stirred for 1.25 hours. The tan solid is collected, washed with cold water (2.3 mL and 0.8 mL), and dried overnight *in vacuo* at 40°C giving 2.00 g (55% corrected for purity) of (6S,11R)-8,10-dioxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexane-4,5'-imidazolidine]-6-carboxylic acid. The filtrate is diluted with 50 mL of ethyl acetate and treated with 18 g of sodium chloride. After stirring for 15 minutes, the layers are separated and the aqueous layer is further washed with ethyl acetate (2 x 50 mL). The combined organic extracts are dried with sodium sulfate, filtered, and concentrated *in vacuo* to a slurry (ca. 5 mL) to which is added *tert*-butyl methyl ether (25 mL) followed by stirring overnight. The solid is collected, washed with *tert*-butyl methyl ether, and dried *in vacuo* at 40°C for 2 hours to provide 0.64 g (10% corrected for purity) of the title compound as a 1:1 mixture of diastereomeric hydantoins. This second crop of hydantoins is combined with the first crop and subjected to the next step.

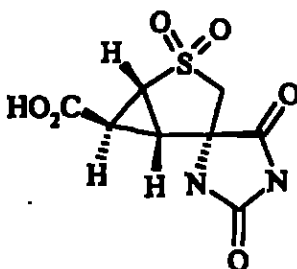
10
15
20
25

Resolution

To a slurry of racemic acid (15 g, 65.7 mmol, *ca.* 6:1 ratio of diastereomeric hydantoins) in 300 mL of ethanol and 75 mL of water is added (*R*)-phenylglycinol (9.0 g, 65.7 mmol). The mixture is heated to *ca.* 80°C to effect dissolution. The dark solution is allowed to cool slowly and precipitation was observed at 40-45°C. The slurry is further cooled 0°C and held for 1-1.5 hours. The solid is collected, washed (with stirring) with 4:1 ethanol:water (1 x 60 mL, pre-chilled to 0 °C), and dried *in vacuo* at 65°C for 12-24 hours. Typical yields of the resolved salt are in the 37-45% range with >98% de and >98% ee observed. The resolved salt is dissolved in 6 volumes (mL per g) of water followed by treatment with 1.1 equivs. of conc HCl. The slurry is cooled to 0°C and allowed to stir for 1 hour followed by filtration, rinsing with 1 volume of cold water, and drying *in vacuo* at 60°C. Typical yields of the title compound are >90 % with % de and % ee >99%.

Preparation 67

(6*S*,11*S*)-2,2,8,10-Tetraoxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexane-4,5'-imidazolidine]-6-carboxylic acid



To a mixture of 6.8 mL of water, 0.7 mL of 50% aqueous sodium hydroxide, and 186 mg (0.74 mmol) of tungstic acid is added (6*S*,11*S*)-8,10-dioxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexane-4,5'-imidazolidine]-6-carboxylic acid (3.4 g, 14.9 mmol). The resulting solution is heated to 50°C and treated with 35% hydrogen peroxide (7.7 mL, 74.5 mmol) slowly over 66 minutes. The reaction is allowed to stir thereafter at 47-48°C for 5 hours, followed by cooling to 0°C, filtering over a thin pad of Celite, and rinsing with cold water (1 x 2 mL). The filtrate is heated to 50°C and treated with concentrated hydrochloric acid to pH = 1.5. The slurry is allowed to cool to room

temperature and stir over night. Upon cooling to 0°C, the slurry is filtered, washed with cold water (2 x 2 mL), and vacuum dried at 55°C to a constant weight, providing 3.19 g (82%) of the title compound as a white solid:

$[\alpha]_D^{25} -48.6$ (c, 1.19, 1 N NaOH).

5 mp 275 °C (gray), 295 °C (brown).

500 MHz ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13.15 (br s, 1H), 10.99 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 3.85 (d, 1H, $J = 15.0$ Hz), 3.74 (dd, 1H, $J = 7.0, 4.0$ Hz), 3.03 (d, 1H, $J = 15.5$ Hz), 2.80 (dd, 1H, 7.0, 4.0 Hz), 2.39 (t, 1H, $J = 4.0$ Hz).

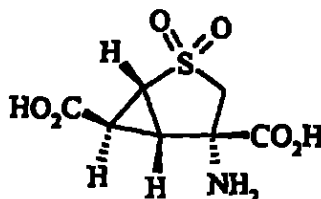
^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 174.39, 169.87, 156.35, 62.67, 52.59, 44.16, 31.69, 21.92; FTIR (KBr) 3317 (s), 3250 (s), 3211 (s), 3086 (w), 1791 (s), 1742 (s), 1713 (s), 1327 (s), 1192 (s), 1140 (s) cm^{-1} .

Anal. Calcd for $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 36.93; H, 3.10; N, 10.77. Found: C, 36.76; H, 3.07; N, 10.60.

15

Preparation 68

(1R,4S,5S,6S)-4-[(2'S)-(2'-Amino)-propionyl]amino-(2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane)-4,6-dicarboxylic acid



20

To a stainless steel Parr reactor is added (6S,11S)-2,2,8,10-Tetraoxo-2-thiaspiro[bicyclo[3.1.0]hexane-4,5'-imidazolidine]-6-carboxylic acid (2.50 g, 9.60 mmol) and 2N sodium hydroxide (24.0 mL, 48.0 mmol). After the mixture is heated to 95°C and stirred for 21 hours, the mixture is cooled to room temperature and treated with activated charcoal (1.25 g). The mixture is filtered through Celite and the filtrate is concentrated to 17 g and diluted with H_2O to afford a weight of 24 g. The pH is lowered to 6.5 using conc. HCl and the mixture heated to 62°C. After the pH is lowered to 2.5 using conc. HCl, crystallization occurred. The suspension is allowed to cool to 30°C before the pH is

25

104

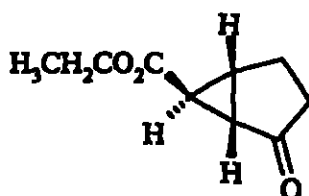
adjusted to 1.7 and its temperature lowered to 5°C. After the suspension is held at this temperature for 18 hours, the solid is collected and washed with cold H₂O (2 x 2.9 mL). The white solid is dried in vacuo at 45°C to afford the title compound (1.81 g, 80%). The title compound is slurried in 10 volumes of water and heated to 85°C for 3-4 hours, cooled to room temperature, stirred for 2-3 hours, filtered, and washed with water (1 x 1 volume). Recovery is >95%.

105

Preparation 69

Ethyl (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate

10

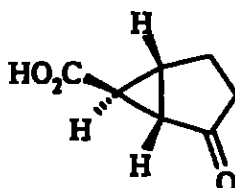


To a suspension of (ethoxycarbonylmethyl)dimethyl sulfonium bromide (134 g, 585 mmol) in 486 mL of acetonitrile at room temperature is added 87.4 mL (585 mmol) of 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene dropwise over 15 minutes. After stirring for 1 hour, the yellow mixture is treated with 40 g (487 mmol) of 2-cyclopenten-1-one over 10 minutes. The mixture is allowed to stir over night at which time 480 mL of *tert*-butyl methyl ether is added, followed by washing with 1N hydrochloric acid (1 x 240 mL). The aqueous layer was washed with *tert*-butyl methyl ether (1 x 240 mL). The combined organic extracts were washed with brine (1 x 400 mL), dried (MgSO₄), filtered, and concentrated in vacuo to provide crude ethyl (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate as an orange solid (84.8 g). The crude material may be purified through distillation (~138°C, 10 mm Hg), followed by slurrying the solidified distillate in heptane, filtering, and drying.

25

Preparation 70(±) (6S)-2-Oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid

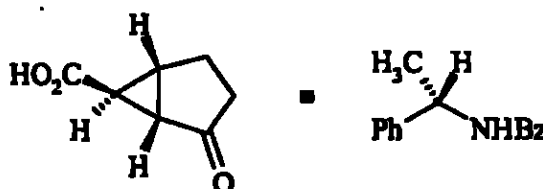
106



- 5 To a solution of crude ethyl (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (30.2 g, 180 mmol, uncorrected) in 30 mL of ethanol at room temperature is added 89 mL (178 mmol) of 2N sodium hydroxide. Upon stirring for 80 minutes, the reaction mixture is washed with *tert*-butyl methyl ether (1 x 90 mL) and the aqueous layer is treated with conc. hydrochloric acid (18 mL) to reach a pH = 1.0. The mixture is treated with 15 g of
- 10 sodium chloride followed by washing with ethyl acetate (3 x 90 mL). The combined organic extracts are dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated in vacuo to give 23.8 g (94%, uncorrected) of the title compound as an off-white solid.

Preparation 71

- 15 (+)- (6S)-2-Oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid N-benzyl-α-methylbenzylamine salt



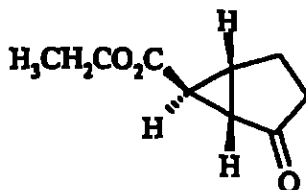
- 20 To a solution of crude (±) (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid (11.9 g, 84.9 mmol, assume 100% potency) in 119 mL of 6:1 ethyl acetate:ethanol at reflux is added 18 g (85.1 mmol) of (S)-N-benzyl-α-methylbenzyl-amine. Upon dissolution, the mixture is allowed to cool optionally followed by seeding at 52°C. Upon cooling to room temperature and stirring an additional 13.5 h, the crystals are collected and washed with 6:1 ethyl acetate:ethanol (2 x 48 mL). Drying in vacuo gave 10.8 g (36%, 77% de) of the
- 25 resolved salt as a solid.

The de of the salt is determined by chiral GC analysis of the derived methyl ester prepared as follows: 150 mg of the resolved salt is dissolved in 5 mL of methylene chloride and is washed with 1N sulfuric acid (2 x 1 mL). The organic layer is dried, filtered, diluted with 2 mL of methanol, and treated with 1 mL of 2 M trimethylsilyl diazomethane in hexanes. After stirring at room temperature for 15 minutes, the mixture is concentrated in vacuo to provide the methyl ester suitable for chiral GC analysis. GC conditions: 30 m X 0.25 mm X 0.25 μ β -DEX 325 column, 140°C oven temperature, helium carrier gas @ 1 mL/min, FID detection at 250 °C, 1 μ L split 1:100, sample @ 1mg/mL in methylene chloride.

10

Preparation 72

Ethyl (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate



To a suspension of 46.3 g (132 mmol) of (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid N-benzyl- α -methylbenzylamine salt in 200 mL of ethyl acetate is added 198 mL (198 mmol) of 2N sodium hydroxide. After mixing well, the layers are separated and the aqueous layer is washed with ethyl acetate (1 x 200 mL). The aqueous layer is treated with 18 mL (211 mmol) of conc. hydrochloric acid and 100 g of sodium chloride. The mixture is allowed to stir for 30 minutes followed by washing with ethyl acetate (2 x 200 mL). The combined organics are dried (MgSO₄), filtered, and concentrated in vacuo to provide 18.3 g (99%) of the resolved acid [(+)- (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylic acid] as a white solid.

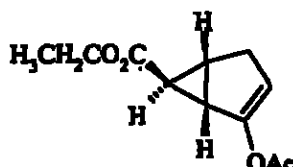
Next, 10 g (71 mmol) of crude resolved acid product from above is dissolved in 42 mL of ethanol and treated with 4 mL (71 mmol) of conc. sulfuric acid dropwise. The mixture is heated to 45°C and is allowed to stir for 75 minutes. Upon cooling to room temperature, 42 mL of water is added along with 20 mL of ethyl acetate and 12 g of sodium bicarbonate. Upon stirring for several minutes, the mixture is washed with ethyl acetate (2 x 50 mL). The combined organics are dried (MgSO₄), filtered, and

concentrated in vacuo to provide 11 g (92%) of crude ethyl (6*S*)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate as a white solid. Crystallization from 6:1/heptane:*tert*-butyl methyl ether (3.5 mL per g of substrate) provided this title compound in approximately 80% yield and >98% ee as determined by chiral GC analysis.

108

Preparation 73

(6*S*)-6-(Ethoxycarbonyl)bicyclo[3.1.0]hex-2-en-2-yl acetate



10 A mixture of ethyl (6*S*)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (380.1 g, 2.26 mol) and sulfuric acid (18 M, 6.3 mL, 0.11 mol) in isopropenyl acetate (2.26 L) is heated at reflux using a Dean-Stark apparatus for 2.5 hours, at which time GC analysis revealed a 9:1 mixture of the title compound versus ethyl (6*S*)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate. After the removal of 950 mL of solvent by distillation over 1 hour, GC

15 shows that the product/starting material ratio is 17:1. Additional isopropenyl acetate (900 mL) and conc. H₂SO₄ (3.15 mL) are added, and the mixture is stirred at reflux for another 15 hours, at which time GC shows 27:1 product/starting material. After another 1.35 L of solvent is distilled off, the mixture is cooled to room temperature before it is diluted with MTBE (2 L), H₂O (250 mL), and aqueous saturated NaHCO₃ (600 mL). The layers are

20 separated and the organic layer is washed with brine (400 mL). The combined aqueous layers are extracted with MTBE (400 mL), and the combined organic layers are dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated to a dark red/brown oil (540 g). The crude oil is split into two equal portions and filtered through a pad of flash SiO₂ (713 g for each batch), eluting with 10:1/heptane:ethyl acetate. The product-containing fractions from both plugs

25 are combined and concentrated to afford the title compound as a yellow oil (460 g, 97%; 90% corrected for solvent by NMR). Column chromatography on silica gel eluting with ethyl acetate/hexanes (1:5) provides an analytically pure sample of the title compound as a colorless oil.

[α]_D²⁵ +185 (c 1.48, CHCl₃).

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 5.19-5.18 (m, 1H), 4.12 (q, 1H, $J = 7.0$ Hz), 4.11 (q, 1H, $J = 7.0$ Hz), 2.74-2.69 (m, 1H), 2.48-2.43 (m, 2H), 2.22-2.19 (m, 1H), 2.16 (s, 3H), 1.39 (dd, 1H, $J = 2.5, 2.5$ Hz), 1.25 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.37, 169.01, 152.26, 111.56, 61.28, 32.47, 32.40,

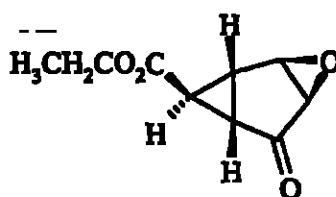
5 29.72, 24.97, 21.67, 14.95.

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

ES HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 228.1236, found 228.1252.

Preparation 74

10 Ethyl (3*S*,1*R*,6*R*)-7-oxa-5-oxotricyclo[4.1.0.0<2.4>]heptane-3-carboxylate



A mixture of (6*S*)-6-(ethoxycarbonyl)bicyclo[3.1.0]hex-2-en-2-yl acetate (212.2 g, 1.01 mol) and 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (252.0 g, 1.11 mol) in 2.02 L of 1,4-dioxane is heated to reflux and stirred for 17 hours, at which time GC analysis shows complete conversion to ethyl (6*S*)-4-oxobicyclo[3.1.0]hex-2-ene-6-carboxylate. The mixture is cooled to room temperature and diluted with THF (564 mL). After the mixture is cooled to 8°C, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (377 mL, 2.52 mol) is added over 30 minutes such that the reaction temperature is maintained below 10°C. The mixture is then cooled to 5°C, and *tert*-butyl hydroperoxide (70 wt% in water, 210 mL, 1.51 mol) is added over 50 minutes, maintaining the reaction temperature below 9°C. After the mixture stirred another 50 minutes, the reaction is filtered and the brown cake is washed with MTBE (2 x 800 mL). To the filtrate is added 1.20 L of 1N HCl and, after mixing well, the layers are separated. The organic layer is washed sequentially with aqueous saturated NaHCO_3 (1.20 L), aqueous saturated $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (1.20 L), and brine (600 mL). After the solution is dried (Na_2SO_4), it is concentrated to an orange sludge which is diluted with 200 mL of heptane. The volatiles are evaporated to produce an orange solid that is triturated with 350 mL of heptane and filtered, washing the cake with additional heptane (2 x 175 mL). The collected solid is dried *in vacuo* at room temperature for 17

hours to provide 138.7 g (75%) of the title compound as a brown-yellow solid.

Crystallization from MTBE provides an analytically pure sample of the title compound as a white solid.

$[\alpha]_D^{25} +2.3$ (c 1.20, CHCl_3), $+8.4^\circ$ (c 1.28, acetone); mp 129-130 °C.

5 500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.16 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 3.99 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz), 3.24-3.23 (m, 1H), 2.96-2.94 (m, 1H), 2.21- 2.19, (m, 1H), 2.08 (t, 1H, $J = 3.0$ Hz), 1.26 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

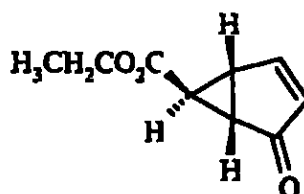
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 201.19, 168.84, 62.42, 57.04, 51.25, 31.16, 30.54, 29.60, 14.79.

10 FTIR (KBr) 3087 (w), 3059 (w), 3051 (w), 3007 (w), 2993 (w), 2963 (w), 1753 (s), 1719 (s), 1273 (s), 1191 (s), 1009 (m), 848 (m) cm^{-1} .

Anal. Calcd for $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$: C, 59.34; H, 5.53. Found: C, 59.32; H, 5.43.

Preparation 75

15 Ethyl (6S)-4-oxobicyclo[3.1.0]hex-2-ene-6-carboxylate



Although the title compound is typically used *in situ* in the preparation of ethyl (3S,1R,6R)-7-oxa-5-oxotricyclo[4.1.0.0<2,4>]heptane-3-carboxylate, an analytically pure sample of the title compound is obtained by filtering the reaction mixture containing this compound and evaporating the filtrate to give a brown solid. The solid is resuspended in ethyl acetate, the suspension filtered, and the filtrate concentrated. Chromatography of the residue on silica gel with ethyl acetate /hexanes (1:5 to 1:2) gives the title compound, which is recrystallized from hot ethyl acetate and chromatographed again using the previous conditions to give the title compound as a white solid.

25 $[\alpha]_D^{25} -268$ (c 1.17, CHCl_3).

mp 97-98 °C.

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.60 (ddd, 1H, $J = 5.5, 2.5, 0.75$ Hz), 5.73 (dd, 1H, $J = 5.0, 0.5$ Hz), 4.15 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.96-2.94 (m, 1H), 2.63-2.61 (m, 1H), 2.60 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz), 1.26 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

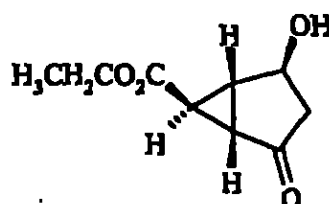
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 203.96, 168.61, 160.33, 130.29, 62.03, 46.53, 30.72, 29.62, 14.82.

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

Anal. Calcd for $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$: C, 65.05; H, 6.07. Found: C, 64.97; H, 6.01.

Preparation 76

Ethyl (4*S*,6*S*)-4-hydroxy-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate



A stirred solution of ethyl (3*S*,1*R*,6*R*)-7-oxa-5-oxatricyclo[4.1.0.0<2,4>]heptane-3-carboxylate (36.3 g, 0.20 mol) in 667 mL of acetone is treated sequentially with sodium acetate (36.1 g, 0.44 mol), sodium iodide (65.8 g, 0.44 mol), and acetic acid (27.5 mL, 0.48 mol). The mixture is allowed to stir at 30°C for 15 hours before the acetone is removed *in vacuo* leaving behind a brown solid that is partitioned between ethyl acetate (323 mL) and H_2O (323 mL). The layers are separated and the aqueous layer is washed with ethyl acetate (3 x 323 mL). The combined organics are washed sequentially with aqueous saturated $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (364 mL) and aqueous saturated NaHCO_3 (364 mL). Each aqueous wash is back-extracted with ethyl acetate (323 mL). The combined organics are dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated to a red-brown oil which was dissolved in 300 mL of ethanol. Evaporation of the volatiles affords the title product as a red-brown oil (41.8 g, 114 %). Column chromatography on silica gel using ethyl acetate/hexanes (1:2 to 2:1) followed by crystallization from hot MTBE provides an analytically pure sample of the title compound as a white solid.

$[\alpha]_D^{25} +3.9$ (c 1.39, CHCl_3), $+6.0^\circ$ (c 1.69, MeOH).

mp 81-82 °C.

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.60 (br s, 1H), 4.16 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.66 (dd, 1H, $J = 5.0, 4.0$ Hz), 2.42-2.40 (m, 1H), 2.34 (dd, 1H, $J = 19.0, 5.5$ Hz), 2.24, (br d, 1H, $J = 3.0$ Hz), 2.07 (d, 1H, $J = 19.0$ Hz), 1.91 (t, 1H, $J = 3.0$ Hz), 1.27 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

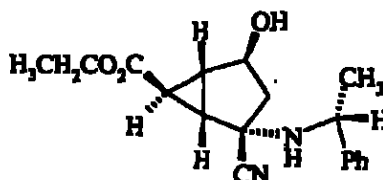
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 209.74, 170.07, 69.04, 62.32, 43.47, 36.89, 34.95, 26.14, 14.83.

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

Anal. Calcd for $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4$: C, 58.69; H, 6.57. Found: C, 58.48; H, 6.63.

Preparation 77

Ethyl 2-(((1*R*)-1-phenylethyl)amino)(2*S*,4*S*,6*R*)-2-cyano-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate



To a solution of ethyl (4*S*,6*S*)-4-hydroxy-2-oxobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (68.2 g corrected to 60.0 g due to ethanol contamination, 0.326 mol) in ethanol (332 mL) and H_2O (332 mL) is added (*R*)-methylbenzylamine (46.3 mL, 0.359 mol) and NaCN (20.8 g, 0.424 mol), maintaining the temperature between 20 and 25 °C. Conc. HCl (35.3 mL, 0.424 mol) is then added over 10 min while maintaining the above reaction temperature. The dark brown mixture is stirred for 1 hour before it is optionally seeded with the title compound to initiate crystallization. The suspension is stirred for 1 hour before H_2O (664 mL) is added. After the suspension stirs another 1.75 hours, the title compound is collected as a tan solid which is washed with H_2O (332 mL). Air is pulled through the wetcake on the filter for 25 minutes before the material is used directly in the nitrile hydrolysis (wetcake weight 145 g). Although the title compound quickly decomposes during *in vacuo* drying at temperatures greater than 25°C, it is possible to dry small samples *in vacuo* at room temperature without decomposition.

$[\alpha]_D^{25} +81.6$ (c 1.18, CHCl_3).

mp 70-72 °C (decomp).

500 MHz ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.39 (d, 2H, $J = 7.0$ Hz), 7.26-7.16 (m, 3H), 4.31 (d, 1H, $J = 5.0$ Hz), 4.22 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz), 3.93-3.85 (m, 2H), 2.33 (d, 1H, $J = 15.0$ Hz), 2.01 (br t, 1H, $J = 4.5$ Hz), 1.64 (dd, 1H, $J = 15.0, 5.0$ Hz), 1.55-1.54 (m, 1H), 1.40-1.39 (m, 4H), 1.17 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

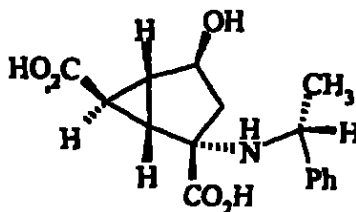
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.54, 144.85, 128.61, 127.45, 127.38, 121.88, 72.17, 61.02, 60.66, 56.57, 45.82, 36.70, 34.45, 25.83, 21.75, 14.22.

FTIR (KBr) 3568 (m), 3489 (m), 3285 (m), 2923 (m), 2228 (w), 1712 (s), 1298 (m), 1197 (m) cm^{-1} .

10 FAB HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.1709, found 315.1704.

Preparation 78

2-[(1*R*)-1-Phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



To a solution of ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-2-cyano-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate wetcake (0.326 mmol theory) in DMSO (220 mL) is slowly added 30% H_2O_2 (44.5 mL, 0.426 mol), maintaining the temperature below 27°C. The temperature is lowered to 19°C and 5*N* NaOH (52.3 mL, 0.262 mol) is carefully and slowly added at first over 15 minutes, maintaining the temperature between 22 and 27°C. An ice bath of appropriate capacity is required to handle the exotherm of this reaction. After the brown, heterogeneous mixture is stirred for 20 minutes at the above temperature range, HPLC showed that the starting material had been consumed to give an amide intermediate. After the reaction is stirred another 1.5 hours, Na_2SO_3 (13.7 g, 0.109 mol) is added and the mixture stirs for 15 minutes, at which time the mixture tests negatively for peroxides by starch-iodide paper. Following the addition of 3*N* NaOH (291 mL, 0.873 mol), the mixture is heated to 85°C and stirred for 18 hours. The homogeneous brown mixture is cooled to 30°C and conc. HCl is added to lower the pH to

3.6 while maintaining the temperature between 30 and 35°C. After crystallization begins at pH 3.6, the suspension is stirred for 15 minutes before the pH is lowered to 2.5. After the mixture is stirred for 10 additional minutes, it is cooled to 2°C and stirred for 2 hours before the gray solid is collected and washed with cold H₂O (400 mL) and EtOH (300 mL). The collected solid is dried *in vacuo* at 45°C for 17 hours to provide 42.9 g (43% from the start of Preparation 18) of the title compound. In order to forward process all of the title compound produced in the reaction, it is recovered from the mother liquor in the following manner. The ethanol portion of the mother liquor is evaporated and the residue is combined with the aqueous portion of the mother liquor. Following the distillation of H₂O (485 mL) under reduced pressure, the pH of the mother liquor is adjusted to 12.9 with 70 mL of 5N NaOH and 5 mL of 50% NaOH. After the solution is washed with *n*-BuOH (3 x 800 mL), its pH is adjusted to 2.5 with conc. HCl and the solution is concentrated. The residue is diluted with EtOH (100 mL) and the volatiles evaporated (2X). The residue is diluted with EtOH (150 mL) and the tan solid containing additional title compound and salts is washed with EtOH (75 mL) and dried at 50°C *in vacuo* to a weight of 102 g. Both crops of the title compound were used in the subsequent esterification.

$[\alpha]_D^{25} +4.5$ (c 1.41, 1 N NaOH).

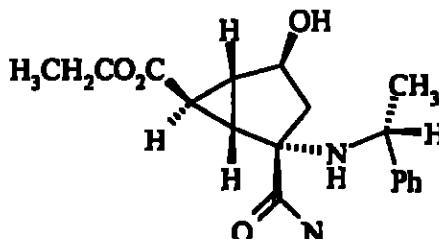
mp 220 °C (gray from off-white), 280 °C (brown).

500 MHz ¹H NMR (D₂O, KOD) δ 7.39 (d, 2H, J = 7.0 Hz), 7.19-7.04 (m, 5H), 3.92 (d, 1H, J = 5.0 Hz), 3.67 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 1.76 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 1.54-1.52 (m, 1H), 1.37 (dd, 1H, J = 15.0, 5.0 Hz), 1.15 (d, 3H, J = 6.5 Hz), 1.12 (dd, 1H, J = 6.0, 3.0 Hz), 0.92 (t, 1H, J = 3.3 Hz).

¹³C NMR (125 MHz, D₂O, KOD) δ 185.82, 182.96, 148.01, 131.31, 129.97, 129.78, 74.99, 73.84, 58.78, 46.91, 38.05, 35.02, 27.34, 27.15.

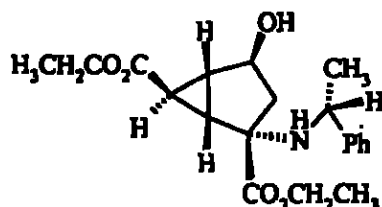
FTIR (KBr) 3366 (m), 3072 (s), 2886 (s), 1696 (m), 1611 (m), 1560 (m), 1455 (m), 1377 (m), 1278 (m), 1202 (m), 1188 (m) cm⁻¹.

Anal. Calcd for C₁₆H₁₉NO₅: C, 62.94; H, 6.27; N, 4.59. Found: C, 62.70; H, 6.21; N, 4.67.

Preparation 79Ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-2-carbamoyl-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate

115

- 5 Although the title compound is typically used *in situ* in the preparation of 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid, the compound could be isolated albeit with some yield loss due to accompanying ester hydrolysis during the nitrile hydrolysis. In the isolation, the nitrile hydrolysis
- 10 reaction mixture is partitioned between CH₂Cl₂ and H₂O as soon as ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-2-cyano-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate is consumed. After the organic layer is dried (MgSO₄) and concentrated, the residue is purified by silica gel column chromatography using EtOAc/hexanes (2:1) to EtOAc to afford the title compound as a white foam.
- 15 $[\alpha]^{25}_D +61.3$ (c 1.20, CHCl₃).
- 500 MHz ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.32-7.20 (m, 5H), 7.19 (br d, 1H, J = 4.0 Hz), 5.49 (br d, 1H, J = 4.0 Hz), 4.88 (d, 1 H, J = 11.5 Hz), 4.24 (dd, 1H, J = 11.5, 6.0 Hz), 4.06-4.00 (m, 2H), 3.77 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 2.21 (d, 1H, J = 15.0 Hz), 2.18-2.15 (m, 2H), 1.71 (br s, 1H), 1.54 (dd, 1H, J = 14.5, 6.0 Hz), 1.38, (d, 3H, J = 6.5 Hz), 1.32 (t, 1H, J = 3.3 Hz),
- 20 1.24 (t, 3H, J = 7.0 Hz).
- ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 180.42, 171.47, 146.05, 128.97, 127.43, 126.48, 73.16, 70.76, 61.08, 56.00, 42.82, 35.97, 35.67, 26.13, 21.53, 14.34.
- FTIR (CHCl₃) 3441 (m), 3345 (m), 2975 (w), 1725 (s), 1665 (s), 1288, 1186 (m) cm⁻¹.
- Anal. Calcd for C₁₈H₂₄N₂O₄: C, 65.04; H, 7.28; N, 8.43. Found: C, 65.41; H, 7.58; N,
- 25 8.32.

Preparation 80**Ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-2-(ethoxycarbonyl)-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate**

116

5

To a suspension of 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*S*,6*R*)-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (4 g, 13 mmol) in 48 mL of ethanol at room temperature is added acetyl chloride (11.2 mL, 157 mmol) via an addition funnel such that a gentle reflux is maintained. The resulting mixture is allowed to stir another 16 hours at reflux and upon cooling to room temperature is concentrated in vacuo to a solid residue. The solid is treated slowly with a solution of sodium bicarbonate (6.6 g) in 100 mL of water followed by washing with ethyl acetate (2 x 100 mL). The combined organics are dried (MgSO₄), filtered, and concentrated in vacuo to give 4.7 g (99%) of the title compound as a solid. Column chromatography on silica gel eluting with

15 CH₂Cl₂/MeOH (95:5) followed by crystallization from Et₂O provides an analytically pure sample of the title compound as a white solid.

$[\alpha]_D^{25} +52.5$ (c 1.30, CHCl₃).

mp 73-74 °C.

500 MHz ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.29-7.14 (m, 5H), 4.25 (dq, 1H, 11.0, 7.0 Hz), 4.18 (dd, 1H, J = 9.5, 5.5 Hz), 4.10 (dq, 1H, J = 11.0, 7.0 Hz), 3.92 (dq, 1H, J = 11.0, 7.0 Hz) 3.82 (dq, 1H, J = 11.0 Hz, 7.0 Hz), 3.67 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 2.73 (d, 1H, J = 9.5 Hz), 2.15-2.12 (m, 2H), 2.01-1.99 (m, 1H), 1.89 (dd, 1H, J = 6.0, 3.0 Hz), 1.61 (dd, 1H, J = 15.0, 6.0 Hz), 1.36 (t, 1H, J = 3.5 Hz), 1.33-1.30 (m, 6H), 1.18 (t, 3H, J = 7.0 Hz).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 178.11, 171.59, 146.32, 128.41, 127.07, 126.85, 73.33, 70.15, 62.07, 60.75, 56.66, 44.72, 36.78, 33.61, 26.24, 20.07, 14.37, 14.23.

FTIR (KBr) 3492 (s), 3303 (m), 3055 (w), 2981 (w), 2896 (w), 1722 (s), 1705 (s), 1289 (m), 1251 (m), 1177 (m) cm⁻¹.

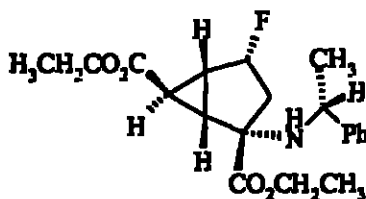
25

Anal. Calcd for $C_{20}H_{27}NO_5$: C, 66.46; H, 7.52; N, 3.88. Found: C, 66.42; H, 7.44; N, 3.92.

Preparation 81

5 Ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethyl]amino](2*S*,4*R*,6*R*)-2-(ethoxycarbonyl)-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate

117



To a solution of ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethyl]amino](2*S*,4*S*,6*R*)-2-(ethoxycarbonyl)-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (59.0 g crude, 0.163 mol) in CH_2Cl_2 (690 mL) at $-20^\circ C$ is added Deoxo-Fluor[®] (45.1 mL, 0.245 mol) over 15 minutes, maintaining the temperature between -15 and $-20^\circ C$. The mixture is stirred for 20 minutes at this temperature and at $0^\circ C$ for 15 minutes before aqueous 15% Na_2CO_3 (650 mL) is slowly added while maintaining the temperature below $10^\circ C$. The layers are

15 separated and the aqueous layer back extracted with CH_2Cl_2 (150 mL). The combined organic layers are dried (Na_2SO_4) and concentrated to a brown oil (73 g). The oil is purified on a pad of silica gel (400 g) eluting with EtOAc/heptane (1:6) to afford the title compound as a yellow oil (49.7 g, 84%).

$[\alpha]_D^{25} +36.2$ (c 1.30, $CHCl_3$).

20 500 MHz ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7.29-7.14 (m, 5H), 5.22 (ddt, 1H, $J = 8.0, 4.5$ Hz, $J_{HF} = 56.0$ Hz), 4.16 (dq, 1H, $J = 11.0, 7.0$ Hz), 4.05 (dq, 1H, $J = 11.0, 7.0$ Hz), 3.96 (dq, 1H, $J = 10.5, 7.0$ Hz), 3.85 (dq, 10.5, 7.0 Hz), 3.66 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz), 2.45 (dd, 1H, $J = 14.0, 8.0$ Hz), 2.16-2.12 (m, 1H), 1.95 (t, 1H, $J = 3.5$ Hz), 1.81 (dt, 1H, $J = 3.5$ Hz, $J_{HF} = 3.5$ Hz), 1.51 (ddd, 1H, $J = 14.0, 8.0$ Hz, $J_{HF} = 22.0$ Hz), 1.32 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz), 1.27 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz), 1.21 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 175.29, 171.66, 146.21, 128.45, 127.03, 126.90, 92.65 (d, $J_{CF} = 182$ Hz), 68.68 (d, $J_{CF} = 4.9$ Hz), 61.70, 60.92, 56.13, 38.60 (d, $J_{CF} = 23.0$ Hz), 33.07 (d, $J_{CF} = 7.6$ Hz), 32.23 (d, $J_{CF} = 22.0$ Hz), 26.26, 20.22 (d, $J_{CF} = 3.9$ Hz), 14.41, 14.24.

FTIR (CHCl₃) 3028 (w), 2983 (w), 1724 (s), 1705 (s), 1293 (m), 1242 (m), 1190 (m), 1037 (m), 1013 (m) cm⁻¹.

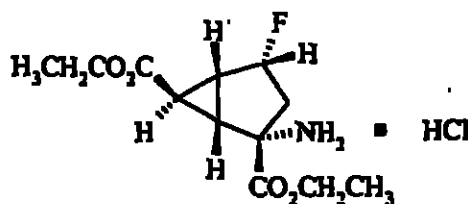
Anal. Calcd for C₂₀H₂₆FNO₄: C, 66.10; H, 7.21; N, 3.85. Found: C, 66.02; H, 7.00; N, 3.95.

5

Preparation 82

1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride

118



10

A mixture of ethyl 2-[(1*R*)-1-phenylethylamino](2*S*,4*R*,6*R*)-2-(ethoxycarbonyl)-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-6-carboxylate (68.4 g, 0.188 mol), conc. HCl (15.7 mL, 0.188 mol), and 10% Pd/C (dry, 13.7 g) in EtOH (400 mL) is placed under hydrogen (50 psi) for 18 hours. The catalyst is filtered off and the filtrate is evaporated to give the title compound as an off-white foam (59.2 g, 106% corrected to 97% due to EtOH contamination). Crystallization from EtOAc/MTBE provides an analytically pure sample of the title compound as a white solid.

15

[α]_D²⁵ +55.6 (c 1.17, CHCl₃).

mp 86-88 °C.

20

500 MHz ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.20 (br s, 2H), 5.50 (ddt, 1H, J = 8.0, 4.5 Hz, J_{HF} = 56.0 Hz), 4.31 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 4.20-4.07 (m, 3H), 2.88 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 2.71 (dd, 1H, J = 14.5, 8.0 Hz), 2.48-2.43 (m, 2H), 2.16 (ddd, 1H, J = 14.5, 7.5 Hz, J_{HF} = 22.0 Hz), 1.34 (t, 3H, J = 7.0 Hz), 1.25 (t, 3H, J = 7.0 Hz)

25

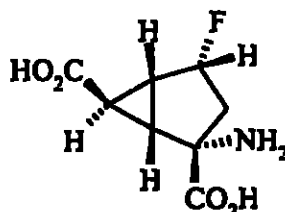
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.12, 169.41, 91.94 (d, J_{CF} = 189 Hz), 63.85, 63.66 (d, J_{CF} = 3.8 Hz), 61.73, 34.55 (d, J_{CF} = 26.4 Hz), 31.58 (d, J_{CF} = 7.8 Hz), 30.80 (d, J_{CF} = 24.1 Hz), 20.22, 14.31, 14.21.

FTIR (KBr) 3353 (m), 3173 (w), 2745 (m), 1729 (s), 1547 (m), 1294 (m), 1269 (m), 1195 (m), 1011 (m) cm⁻¹.

Anal. Calcd for $C_{12}H_{18}FNO_4$: C, 48.74; H, 6.48; N, 4.74. Found: C, 48.80; H, 6.41; N, 4.76.

Preparation 83

5 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



A solution of 3N NaOH (251 mL, 0.753 mol) is slowly added to 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride (59.2 g crude, 0.188 mol theory), maintaining the temperature below 26°C. After the mixture is stirred for 10 minutes, it is homogeneous. The mixture is stirred for 1.25 hours at room temperature before the pH is slowly lowered to pH 2.8 using conc. HCl while maintaining the temperature between 20 and 26°C. At pH 2.8, the mixture begins crystallizing, and the suspension is stirred at this pH for 10 minutes before the pH is lowered to 2.1 with conc. HCl. After another 15 minutes of stirring, *i*-PrOH (67 mL) is added and the suspension is cooled to 0°C and stirred for 2 hours. The solid is collected and washed with 37 mL of cold H₂O/ *i*-PrOH (4:1). The collected solid is dried *in vacuo* at 40 °C for 18 hours, affording the title compound as a white solid (33.1 g, 87% from the start of Preparation 23).

20

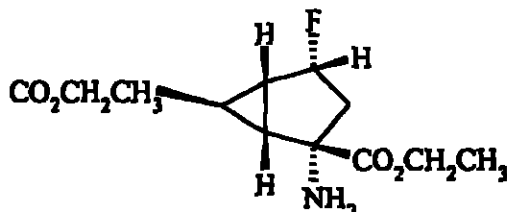
Preparation 84

Reslurry of 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid

A stirred suspension of 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (33.0 g, 0.162 mmol) in H₂O (165 mL) is warmed to 89°C over 1 hour, and *i*-PrOH (41 mL) is added. The mixture is then stirred for 5 minutes at reflux (83°C) before it is allowed to cool to room temperature and stir for 4 hours. The product is collected, washed with *i*-PrOH/H₂O (1:4, 40 mL) and *i*-PrOH (25 mL), and dried *in vacuo* at 40 °C for 18 hours to afford the title compound as a white solid (30.6 g, 93%).

25

119

Preparation 851R,2S,4R,5R,6R-2-Amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid ethyl ester

5 To a slurry of 1R,2S,4R,5R,6R-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (14.45 g, 71.12 mmol) in 202 mL of absolute ethanol at room temperature is added thionyl chloride (26 mL, 356 mmol) dropwise over 20 minutes. The slurry is heated to reflux and allowed to stir for 3 hours followed by cooling to room temperature overnight. The resultant solution is concentrated *in vacuo* to a residue that is

10 diluted with 136 mL of ethyl acetate and treated with 306 mL of 10% aqueous sodium carbonate over 15 minutes with swirling by hand such that the final pH is 10. The layers are separated and the aqueous layer is washed with ethyl acetate (1 x 136 mL). The combined organic extracts are washed with brine (1 x 136 mL), dried (MgSO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to provide 17.07 g (93%) of the title compound as white solid.

15 FDMS: $M^+ + 1 = 260$.

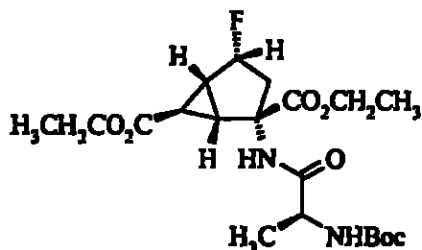
Anal. calcd. For C₁₂H₁₈FN O₄·0.1 H₂O: C, 55.21; H, 7.03; N, 5.37. Found: C, 55.10; H, 6.96; N, 5.22.

m.p. = 64-66 °C.

$[\alpha]_D^{25} = +20$ (c = 0.96, MeOH), $[\alpha]_D^{25} = +15$ (c = 1.21, DMSO)

20

120

Preparation 86**1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid ethyl ester**

5

To a solution of N-Boc-L-alanine (38.62 g, 204 mmol) in 396 mL of methylene chloride at -22 °C under nitrogen is added N-methyl morpholine (22.44 mL, 204 mmol) followed by *iso*-butyl chloroformate (26.48 mL, 204 mmol) dropwise over 15 min such that the reaction temperature did not exceed -18 °C. The resultant thin slurry is allowed to stir at -20 °C for 30 minutes at which time a solution of 1R,2S,4R,5R,6R-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid ethyl ester (49.46 g, 191 mmol) in 247 mL of methylene chloride is added over 40 min such that the reaction temperature did not exceed -16 °C. Upon completion of the addition, the reaction is removed from the cooling bath and is allowed to stir at ambient temperature for 70 minutes at which time the reaction temperature had reached 15 °C and the color became faint orange. The reaction is treated with 408 mL of 1 N hydrochloric acid followed by stirring for 5 minutes and separation of the layers. The organic layer is washed with saturated aqueous sodium bicarbonate (1 x 408 mL), dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to a white foam (88.16 g).

20 FDMS: M⁺+1 = 260.

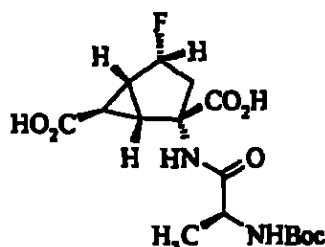
Anal. calcd. For C₁₂H₁₈FNO₄·0.1 H₂O: C, 55.21; H, 7.03; N, 5.37. Found: C, 55.10; H, 6.96; N, 5.22.

m.p. = 64-66 °C.

[α]_D²⁵ = +20 (c = 0.96, MeOH), [α]_D²⁵ = +15 (c = 1.21, DMSO).

25

121

Preparation 87**1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid**

5

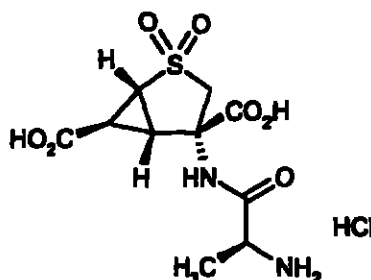
To a solution of 1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid ethyl ester (88.16 g, 191 mmol) in 238 mL of tetrahydrofuran at room temperature is added 238 mL (477 mmol) of 2N sodium hydroxide. The biphasic mixture is allowed to stir vigorously at room temperature for 2.5 hours at which time the reaction is homogeneous. The mixture is diluted with 238 mL of *t*-butyl methyl ether followed by mixing and separation of the layers. The aqueous layer is further diluted with 238 mL of water and filtered to remove particulate matter. The solution is treated with concentrated HCl (42.9 mL, 515 mmol) over 30 minutes optionally followed by seeding with the title compound and stirring for 1 hour. The resultant slurry is filtered, washed with water (2 x 100 mL), and vacuum dried at 45 °C for 40 hours to provide 72.2 g of the title compound as a white solid. A portion of the solid (69.5 g) is allowed to stir with 490 mL of acetone for 1 hour to produce a hazy solution that is filtered, washing with acetone (2 x 100 mL). The filtrate is concentrated in vacuo to a white foam which is further dried *in vacuo* at 45 °C for 16 hours to provide 61.8 g (corrected for 12% wt/wt acetone) of the title compound.

20

122
121

Example 1

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Aminopropionyl)amino-1,2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



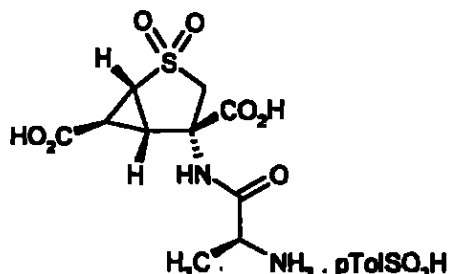
5

To a suspension of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (110.0 g, 271 mmol, Preparation 3) in 563 mL of ethyl acetate added a solution of hydrogen chloride in ethyl acetate (3.7 M, 514 mL) over 20 minutes. After the suspension stirs for 2.5 h, filter and wash the cake with ethyl acetate (1 x 200 mL, 1 x 115 mL). After vacuum drying at 46 °C for 18 hours, the title compound is collected as a white solid (85.77 g, 92%).

¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ: 4.12 (brd, 1H, J = 14.6 Hz), 3.94 (q, 1H, J = 7.1 Hz), 3.52 (ddd, 1H, J = 7.0, 3.9, 0.9 Hz), 3.16 (d, 1H, J = 14.6 Hz), 3.02 (dd, 1H, J = 7.0, 4.4 Hz), 2.49 (t, 1H, J = 4.1 Hz), 1.52 (d, 3H, J = 7.1 Hz).

15

123

Example 2**(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-2'-Aminopropionyl)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid tosylate**

5

A suspension of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (300 mg, 0.738 mmol, Preparation 3) and toluenesulfonic acid monohydrate (140 mg, 0.738 mmol) in toluene (3 mL) is heated to 75 °C and stirred for 45 min before it is allowed to cool to

10 room temperature and stir for 16 hours. Filter the suspension and wash the cake with toluene (2 x 1 mL). After vacuum drying at 45 °C for 1 hour, 307 mg (87%) of the title compound is collected as a white solid.

mp (DSC) 233 °C.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.70 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 7.24 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 4.11 (d, 1H, J = 15 Hz), 3.94 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 3.53 (dd, 1H, J = 7.0, 4.0 Hz), 3.13 (dd, 1H, J = 14, 1.0 Hz), 3.02 (dd, 1H, J = 7.0, 4.5 Hz), 2.48 (t, 1H, J = 4.5 Hz), 2.37 (s, 3H), 1.52 (d, 3H, J = 7.5 Hz).

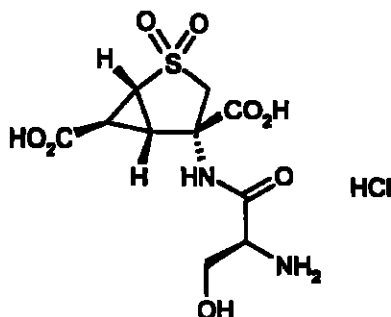
15

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 170.70, 170.32, 169.80, 142.04, 140.78, 128.79, 125.79, 60.20, 54.73, 48.77, 42.44, 30.84, 22.22, 20.20, 16.09.

20

Example 3

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-3'-hydroxy-propionyl)-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloric acid



125

5

... Prepare according to General Procedure C using (1R,4S,5S,6S)-4-(3'-acetoxy-2'S-tert-butoxycarbonylamino-propionyl)-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thiabicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (380 mg, 0.77 mmoles, Preparation 15).

$[\alpha]_D^{23} = -19.23$ (c=0.52, MeOH).

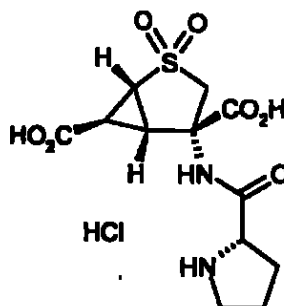
- 10 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 2.48 (1H, t, J=4.0 Hz), 3.04 (1H, dd, J=4.4, 7.3 Hz), 3.17 (1H, d, J=14.7 Hz), 3.51 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.77 (1H, dd, J=7.0, 10.6 Hz), 3.94-4.12 (3H, m).

Anal Calcd for C₁₀H₁₄N₂O₈S·HCl·H₂O: C, 31.88; H, 4.55; N, 7.44; Cl, 9.41. Found: C, 31.53; H, 4.40; N, 7.32; Cl, 9.24.

- 15 HRMS calcd for C₁₀H₁₃N₂O₈S, 323.0549. Found, 323.0533.

Example 4

(1R,4S,5S,6S)-4-[(Pyrrolidine-2'S-carbonyl)-amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-
bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C employing (1R,4S,5S,6S)-4-[(1'-tert-butoxycarbonyl-pyrrolidine-2'S-carbonyl)-amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.8 g, 1.7 mmol, Preparation 11) to yield 0.42 g (67.0%) of the title compound.

10 $[\alpha]_D^{23} = -32$ (c=1.00, CH₃OH).

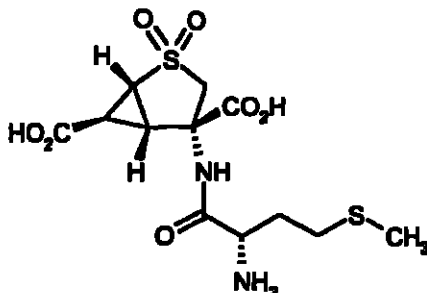
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 1.98-2.12 (3H, m), 2.40-2.50 (1H, m), 2.52 (1H, t, J=4.4 Hz), 2.99 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.2 (1H, d, J=14.7 Hz), 3.29-3.42 (3H, m), 3.54 (1H, m), 4.13 (1H, d, J=15.8 Hz), 4.30 (1H, dd, J=6.2, 9.2 Hz).

HRMS calcd for C₁₂H₁₇N₂O₇S, 333.0756. Found, 333.0740.

15

122
127Example 5

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-4'-methylsulfanyl-butylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-
bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C employing (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-tert-butoxycarbonylamino-4'-methylsulfanyl-butylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.77 g, 1.6 mmol, Preparation 12) to yield 0.41 g (54.9%) of the title compound.

10 $[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=1.00, MeOH).

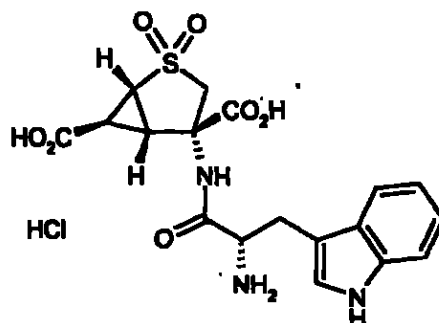
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 2.1-2.2 (2H, m), 2.13 (3H, s), 2.47 (1H, t, J=4.4 Hz), 2.58-2.63 (2H, m), 3.02 (1H, dd, J=4.0, 7.0 Hz), 3.12 (1H, d, J=14.7 Hz), 3.52 (1H, dd, J=3.3, 6.6 Hz), 3.98 (1H, t, J=6.2 Hz), 4.14 (1H, d, J = 14.7 Hz).

HRMS calcd for C₁₂H₁₉N₂O₇S₂, 367.0634. Found, 367.0634.

15

Example 6

(1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-Amino-3'-(1H-indol-3-yl)-propionylamino]-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C employing (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-tert-butoxycarbonylamino-3'-(1-tert-butoxycarbonyl-1H-indol-3-yl)-propionylamino]-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.54 g, 0.83 mmol, Preparation 13) to yield 0.28 g (73.6%) of the title compound.

10 $[\alpha]_D^{23} = +7.8$ ($c=1.02$, CH₃OH).

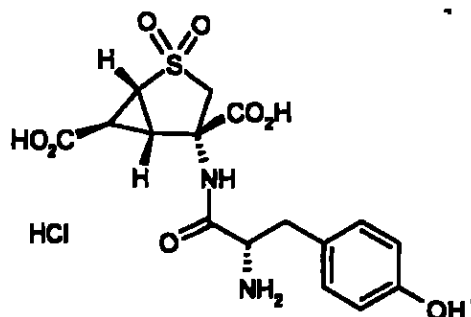
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 2.47-2.53 (1H, m), 3.05-3.18 (3H, m), 3.44-3.57 (2H, m), 4.13-4.23 (2H, m), 7.07-7.41 (3H, m), 7.71-7.78 (2H, m), 8.22 (1H, app d, $J=7.7$ Hz).

Anal Calcd for C₁₈H₁₉N₃O₇S·HCl: C, 47.22; H, 4.40; N, 9.18. Found: C, 46.51; H, 3.96; N, 8.54.

15 MS (ES) m/z 420.1 [M-1].

Example 7

(1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-Amino-3'-(4-hydroxy-phenyl)-propionylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C employing (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-tert-butoxycarbonylamino-3'-(4-tert-butoxycarbonyloxy-phenyl)-propionylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.33 g, 0.53 mmol, Preparation 14) to yield 0.13 g (56.4%) of the title compound.

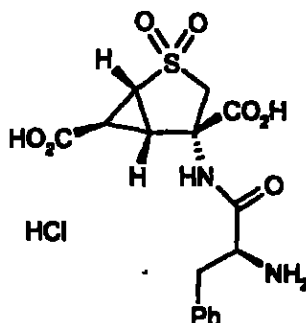
10 $[\alpha]_D^{23} = -6$ (c=1.00, H₂O).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 2.47 (1H, t, J=4.0 Hz), 2.87 (1H, dd, J=9.2, 14.7 Hz), 3.05-3.12 (2H, m), 3.23 (1H, dd, J=5.1, 14.7 Hz), 3.55 (1H, dd, J=4.0, 7.0 Hz), 4.00 (1H, dd, J=4.8, 9.2 Hz), 4.13 (1H, d, J=14.7 Hz), 6.80 (2H, d, J=8.4 Hz), 7.13 (2H, d, 8.8 Hz). HRMS calcd for C₁₈H₁₉N₂O₈S, 399.0862. Found, 399.0844.

15

Example 8

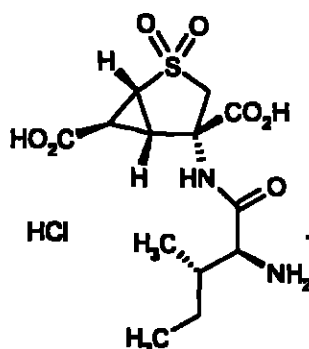
(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-3'-phenyl-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

—Prepare according to General Procedure C using (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-tert-butoxycarbonylamino-3'-phenyl-propionylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 5). Yield 0.55 g (85 %, 1.31 mmol) of a white solid.

- 10 $[\alpha]_D^{23} = +4.17$ (c = 0.48, MeOH).
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 2.45 (1H, t, J=4.0 Hz), 2.98 (1H, dd, J=9.2, 14.7 Hz), 3.06 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.10 (1H, d, J=14.6 Hz), 3.33 (1H, dd, J=4.8, 13.6 Hz), 3.52 (1H, dd, J=3.3, 7.3 Hz), 4.08 (1H, dd, J=5.1, 8.8 Hz), 4.10 (1H, d, J=15.4 Hz), 7.31-7.42 (5H, m).
 15 ¹³C NMR (300 MHz, D₂O w/ 1,4-dioxane): δ 172.55, 171.94, 170.01, 134.31, 130.39, 130.27, 130.01, 129.00, 61.38, 54.76, 54.37, 43.07, 37.36, 31.57, 23.18.
 Anal Calcd for C₁₆H₁₉N₂O₇S·1.5 HCl: C, 43.97; H, 4.50; N, 6.41. Found: C, 43.59; H, 4.17; N, 6.46.
 MS (ES) m/z found 383.1 [M+H]⁺.
 20 HRMS calcd for C₁₆H₁₉N₂O₇S [M + H]⁺: 383.0913. Found: 383.0923.

Example 9**(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-3'S-methyl-pentanonylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride**

5

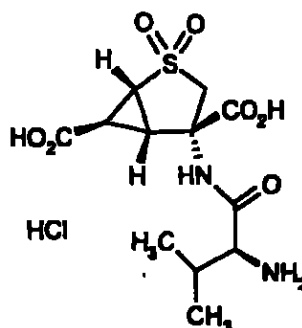
Prepare according to General Procedure C using (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-tert-butoxycarbonylamino-3'S-methyl-pentanoylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 6). Yield 0.43 g (80 %, 1.12 mmol) of a white solid.

- 10 $[\alpha]_D^{23} = +4.08$ (c = 0.49, MeOH).
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 0.98 (3H, t, J=7.3 Hz), 1.07 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.15-1.24 (1H, m), 1.53-1.62 (1H, m), 1.95-2.04 (1H, m), 2.44 (1H, t, J=4.0 Hz), 3.06 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.14 (1H, d, J = 15.0 Hz), 3.52 (1H, dd, J=3.7, 7.0 Hz), 3.73 (1H, d, J=5.1 Hz), 4.10 (1H, d, J=14.7 Hz).
- 15 Anal Calcd for C₁₃H₂₀N₂O₇S·HCl·0.5 H₂O: C, 39.64; H, 5.63; N, 7.11. Found: C, 39.38; H, 5.39; N, 7.04.
 MS (ES) m/z found 349.1 [M+H]⁺.
 HRMS (ES) calcd for C₁₃H₂₁N₂O₇S [M + H]⁺, 349.1069. Found, 349.1086.

20

Example 10

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-3'-methyl-butyrylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C using (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-tert-butoxycarbonylamino-3'-methyl-butyrylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 7). Yield 0.18 g (88 %, 0.49 mmol) of a white solid as the HCl salt.

10 $[\alpha]_D^{23} = +7.84$ (c = 0.51, MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 1.04 (3H, d, J=6.6 Hz), 1.09 (3H, d, J=7.0 Hz), 2.22-2.29 (1H, m), 2.44 (1H, t, J=4.0 Hz), 3.05 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.10 (1H, d, J=14.7 Hz), 3.52 (1H, dd, J=4.0, 7.3 Hz), 3.67 (1H, d, J=5.5 Hz), 4.10 (1H, d, J=14.7 Hz).

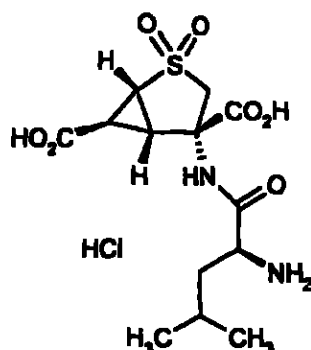
Anal Calcd for C₁₂H₁₈N₂O₇S·HCl·0.4H₂O: C, 38.12; H, 5.20; N, 7.41. Found: C, 37.78;

15 H, 4.90; N, 7.15.

MS (ES) m/z found 335.1 [M+H]⁺.

Example 11

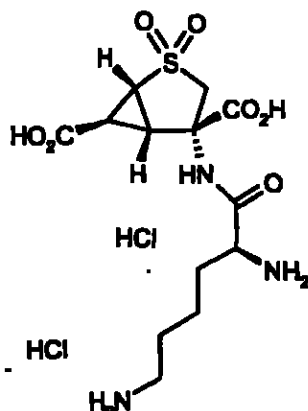
(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-4'-methyl-pentanoylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-
bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C using (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-4'-methyl-pentanoylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 8). Yield 0.50 g (76 %, 1.30 mmol) of a white solid as the HCl salt.

- 10 $[\alpha]_D^{23} = -4.0$ ($c = 0.50$, MeOH).
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 1.00 (3H, d, $J=5.5$ Hz), 1.02 (3H, d, $J=5.9$ Hz), 1.62-1.79 (3H, m), 2.42 (1H, t, $J=4.0$ Hz), 3.04 (1H, dd, $J=4.4, 7.3$ Hz), 3.13 (1H, d, $J=15.0$ Hz), 3.52 (1H, dd, $J=3.3, 7.0$ Hz), 3.84-3.89 (1H, m), 4.10 (1H, d, $J=15.0$ Hz).
 Anal Calcd for C₁₃H₂₀N₂O₇·HCl·0.3H₂O: C, 40.01; H, 5.58; N, 7.18. Found: C, 39.66;
 15 H, 5.57; N, 6.99.
 MS (ES) m/z found 349.1 $[M+H]^+$.

Example 12**(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-Diamino-hexanoylamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid bis hydrochloride**

5

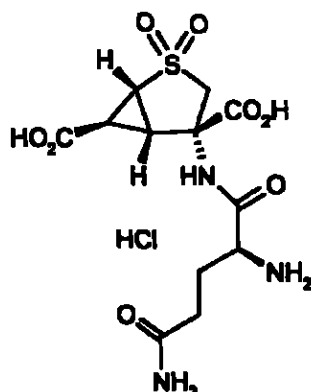
Prepare according to General Procedure C using (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-bis-tert-butoxycarbonylamino-hexanoylamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (Preparation 9). Yield 0.56 g (86 %, 1.28 mmol) of a white solid as the bis hydrochloride salt.

10 $[\alpha]_D^{23} = -4.0$ (c = 0.50, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1.48-1.55 (2H, m), 1.67-1.74 (2H, m), 1.89-1.97 (2H, m), 2.47 (1H, t, J=4.0 Hz), 2.97 (2H, app t, J=4.0), 3.08 (1H, dd, J=4.4, 7.0 Hz), 3.20 (1H, d, J=15.0 Hz), 3.53 (1H, dd, J=3.7, 7.0 Hz), 3.93 (1H, app. t, J=6.2 Hz), 4.08 (1H, d, J=14.7 Hz).

15 Anal Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7\text{S} \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$: C, 35.49; H, 5.36; N, 9.55. Found: C, 35.30; H, 5.48; N, 9.42.

MS (ES) m/z found 364.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Example 13**(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Amino-4'-carbamoyl-butyrylamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride**

5

Stir (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butyrylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid dimethyl ester (0.48 g, 0.65 mmol, Preparation 10) in a 1:1 mixture of 2.5 N LiOH and THF (6 mL total volume) at room temperature for 4 hours. Adjust the reaction mixture to pH = 2 with 1N HCl and extract the product with ethyl acetate. Combine all organics, wash with brine, dry over MgSO₄ and concentrate to yield 0.46 g of (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butyrylamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid as a white foam. Dissolve the diacid in DCM and stir at room temperature as anisole (0.28 g, 2.6 mmol) and then TFA (3.70 g, 32.5 mmol) are consecutively added. Stir the resulting reaction mixture at room temperature for 2 hours and concentrated in vacuo. Triturate the resulting yellow oil in Et₂O until a freely flowing white precipitate forms. Collect the TFA salt by vacuum filtration under N₂ blanket. Dissolve product in 1mL 1N HCl and subject to lyophilization to afford the desired product as the HCl salt. Yield 0.16 g (62 %, 0.40 mmol) of a white solid.

20 $[\alpha]_D^{23} = +8.0$ (c = 1.0, H₂O).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 2.00-2.08 (2H, m), 2.37-2.41 (3H, m), 2.93 (1H, dd, J=4.4, 7.3 Hz), 3.04 (1H, d, J=14.7 Hz), 3.45 (1H, dd, J=3.7, 7.0 Hz), 3.86 (1H, app. t, J=5.9 Hz), 4.05 (1H, d, J=14.7 Hz).

Anal Calcd for $C_{12}H_{17}N_3O_8S \cdot HCl \cdot 2.0H_2O$: C, 33.07; H, 5.09; N, 9.64. Found: C, 33.37; H, 4.69; N, 9.39.

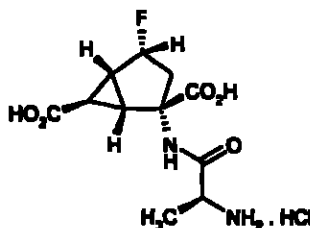
MS (ES) m/z found 363.9 $[M+H]^+$.

HRMS (ES) calcd for $C_{12}H_{18}N_3O_8S [M + H]^+$: 364.0815. Found: 364.0825.

5

Example 14

(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride



- 10 Stir a slurry of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (53.0 g corrected for acetone, 142 mmol) in 447 mL of acetone at 50 °C for 35 minutes. Filter the hazy solution to clarify the solution, followed by rinsing with 100 mL of acetone. Add 22.1 mL (265 mmol) of concentrated hydrochloric acid dropwise to the
- 15 clear, off-white filtrate over 5 minutes. Warm the mixture to 45-50 °C and stir for 90 minutes. Optionally seed the mixture with (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride, followed by turning off the heat and allowing to gradually cool to room temperature. After 2 hours the temperature reaches 25 °C and acetone (942 mL) is added
- 20 to the slurry over 90 minutes. Stir the slurry an additional 16 hours, followed by filtration, washing with acetone (2 x 200 mL), and vacuum drying at 45 °C for 9 hours and at room temperature for another 64 hours to produce 40.2 g (91%) of the title compound as a white solid.

Recrystallization

- 25 Dissolve 1.06 g in 0.5 mL of water and 2.12 mL of acetone with heating at 50 °C followed by dilution with another 5.3 mL of acetone and optionally seeding. Add another 4.2 mL of acetone to the faintly cloudy mixture optionally followed again by seeding, turning off the heat, and allowing gradual cooling to room temperature over 1 hour.

Dilute the resultant slurry further with another 9.5 mL of acetone over 30 minutes followed by stirring for 15 hours. Upon filtering, washing with acetone (2 x 5 mL), and vacuum drying at 45 °C for 10 hours and at room temperature for 60 hours, 0.905 g (85% recovery) of the title compound is obtained as a white solid.

5 mp (DSC) 183 °C.

$[\alpha]_D^{25} +33^\circ$ (c 1.06, CH₃OH).

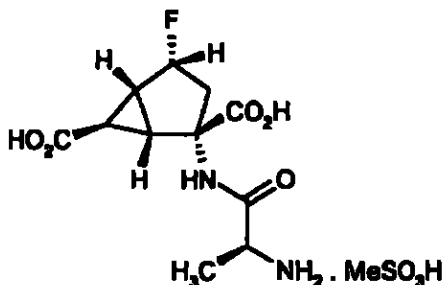
500 MHz ¹H NMR (CD₃OD) δ 5.58-5.42 (m, 1H), 3.92 (q, 1H, J = 7.0Hz), 2.96 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.41-2.39 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 2.10 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.52 (d, 3H, J = 7.5 Hz), 1.51-1.42 (m, 1H).

10 ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 173.74, 173.62, 170.00, 93.48 and 92.04 (C-F splitting), 63.95 and 63.92 (C-F splitting), 48.80, 36.89 and 36.70 (C-F splitting), 32.97 and 32.91 (C-F splitting), 30.05 and 29.87 (C-F splitting), 19.37, 16.28.
FTIR (DRIFT) 3430 (w), 3016 (s), 1721 (s), 1662 (s), 1496 (s), 1190 (m), 1024 (m), 637 (w) cm⁻¹.

15

Example 15

(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid mesylate



20

A slurry of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (1.87 g corrected, 4.98 mmol, Preparation 18) in 16.8 mL of acetone is allowed to stir at 50 °C for 15 minutes. The hazy solution is filtered to clarify the solution followed by rinsing with acetone (3 x 1.25 mL). The clear filtrate is diluted with 0.935 mL of water, placed in a heating bath at 50 °C, and treated with 0.647 mL (9.97 mmol) of methanesulfonic acid dropwise (gas

25

evolution observed). A white slurry is produced after 25 minutes. After stirring a total of 2 hours, another 35.5 mL of acetone is added over 5-10 minutes. The heat is turned off and the slurry is allowed to cool gradually to room temperature over 2 hours followed by filtration, washing with acetone (2 x 8 mL), and vacuum drying at 45 °C for 14 hours to give 1.77 g (95%) of the title compound as a faint pink solid. A sample of this material is recrystallized as follows: 1.65 g is dissolved in 1.16 mL of water and 4.95 mL of acetone with heating at 50 °C followed by dilution with another 1.65 mL of acetone and optionally seeding. The heat is turned off and the mixture is allowed to gradually cool to room temperature. Acetone (26.4 mL) is added simultaneously over 40 min. The resultant slurry is allowed to stir an additional 3 hours. Upon filtering, washing with acetone (2 x 6 mL), and vacuum drying at 45 °C for 6 h and at room temperature for 60 hours, 1.59 g (96% recovery) of the title compound is obtained as a white solid: mp (DSC) 206 °C.

$[\alpha]_D^{25} +30$ (c 1.05, CH₃OH).

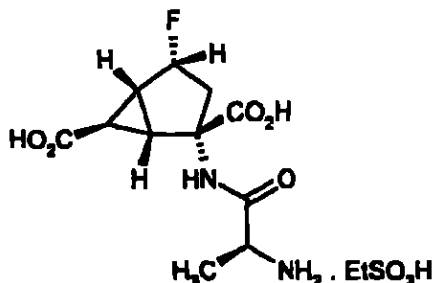
¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 5.58-5.42 (m, 1H), 3.92 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 2.96 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.70 (s, 3H), 2.41-2.39 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 2.10 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.52 (d, 3H, J = 7.5 Hz), 1.51-1.42 (m, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 173.73, 173.61, 170.02, 93.50 and 92.05 (C-F splitting), 63.91, 48.79, 38.30, 36.89 and 36.70 (C-F splitting), 32.97 and 32.91 (C-F splitting), 30.02 and 29.84 (C-F splitting), 19.37, 16.26.

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

Anal. Calcd for C₁₂H₁₉FN₂O₄S: C, 38.92; H, 5.17; N, 7.56. Found: C, 38.96; H, 4.97; N, 7.51.

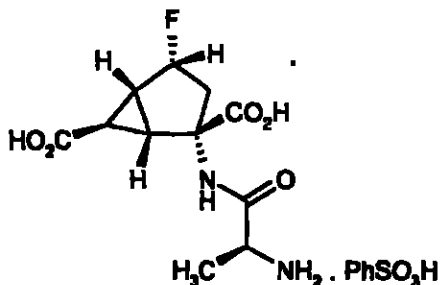
Example 16

(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid esylate

5 A slurry of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (0.2 g, 0.534 mmol, Preparation 18) in 1.8 mL of acetone is allowed to stir at 50 °C for 5 minutes. The hazy solution is filtered to clarify the solution followed by rinsing with acetone (1 x 0.4 mL).
 10 The clear filtrate is diluted with 0.1 mL of water, placed in a heating bath at 50 °C, and treated with 0.124 mL (1.07 mmol) of ethanesulfonic acid dropwise (gas evolution observed). A white slurry is produced after 90 minutes. After stirring a total of 2 hours, another 1.8 mL of acetone is added over 5 min. The heat is turned off and the slurry is allowed to cool gradually to room temperature over 1 hours followed by stirring an
 15 additional 2 hours. Filtration, washing with acetone (2 x 1 mL), and vacuum drying at 45 °C for 4 hours and at room temperature for 60 hours afforded 0.173 g (84%) of the title compound as a white solid.

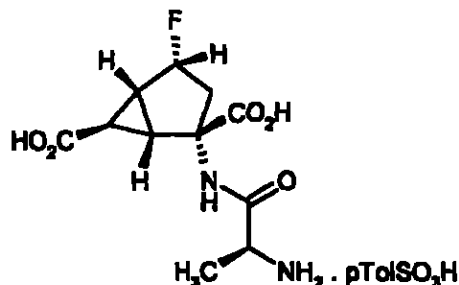
mp (DSC) 210 °C (decomp).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 5.58-5.42 (m, 1H), 3.92 (q, 1H, J = 7.0Hz), 2.96 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.80 (q, 2H, 7.3 Hz), 2.42-2.37 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 2.09 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.52 (d, 3H, J = 7.5 Hz), 1.51-1.40 (m, 1H), 1.30 (t, 3H, J = 7.5 Hz).

Example 17**(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid besylate**

- 5 A slurry of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (0.402 g 1.07 mmol, Preparation 18) in 3.6 mL of acetone is allowed to stir at 50 °C for 10 minutes. The hazy solution is treated with a small scoop of celite and filtered to clarify the solution followed by rinsing with acetone (2 x 0.4 mL). The clear filtrate is placed in a heating bath at 50 °C, and treated with 226 mg (90%, 1.29 mmol) of benzenesulfonic acid as a solution in 0.113 mL of water followed by a rinse with 0.4 mL of acetone (gas evolution observed). After stirring at gentle reflux for 4 hours, the heat is turned off and the reaction is treated with 8 mL of acetone over 10 minutes optionally followed by seeding. A slurry had
- 15 formed over 1 hour which is diluted with 3.2 mL of acetone followed by stirring at room temperature an additional 15.5 hours. Filtration, washing with acetone (2 x 10 mL) and drying in vacuo at 45 °C for 24 h provided 313 mg (62% corrected for 10 wt% acetone) of the title compound as a white solid.
- mp (DSC) 132 °C.
- 20 ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.86-7.80 (m, 2H), 7.46-7.37 (m, 3H), 5.58-5.42 (m, 1H), 3.92 (q, 1H, J = 7.0Hz), 2.96 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.42-2.37 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 2H), 2.09 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.52 (d, 3H, J = 7.5 Hz), 1.51-1.40 (m, 1H).

141

Example 18**(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid tosylate**

5

A slurry of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl]-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (1.04 g corrected, 2.78 mmol, Preparation 18) in 9.36 mL of acetone is allowed to stir at 50 °C for 15 minutes. The hazy solution is treated with a small scoop of celite and filtered to clarify the solution followed by rinsing with acetone (1 x 2.08 mL then 1 x 1.04 mL). The clear filtrate is placed in a heating bath at 50 °C, and treated with 634 mg (3.33 mmol) of *p*-toluenesulfonic acid monohydrate as a solution in 0.317 mL of water followed by a rinse with 0.317 mL of acetone (gas evolution observed). After stirring at gentle reflux for 4 hours, the reaction is removed from the heating bath and treated with 10.4 mL of acetone over 10 minutes. The clear, colorless solution is optionally seeded and a precipitate is observed to form over 30 min at which time another 10.4 mL of acetone is introduced over 20 minutes. The slurry is allowed to stir an additional 4 hours followed by filtration, washing with acetone (2 x 10 mL) and drying in vacuo at 45 °C for 14 hours to provide 995 mg (78% corrected for 3 wt% acetone) of the title compound as a white solid.

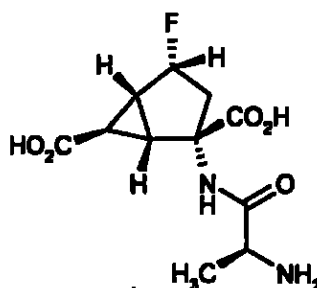
mp (DSC) 155 °C.

20

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.70 (d, 2H, J = 7.5 Hz), 7.34 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 5.58-5.42 (m, 1H), 3.92 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 2.96 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.42-2.30 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.09 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.52 (d, 3H, J = 7.5 Hz), 1.51-1.40 (m, 1H).

25

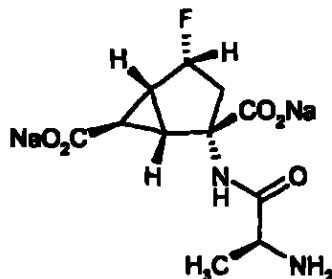
142

Example 19**(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid**

5 To solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid mesylate (0.5 g, 1.35 mmol, Example 15) in 1 mL of water at 50 °C is added 5 mL of 3A ethanol followed after a few minutes by 0.27 mL (1.35 mmol) of 5 N aqueous sodium hydroxide. The heat is turned off and
10 the clear colorless solution is diluted with 2.5 mL of ethanol, optionally seeded, and diluted further with 7.5 mL of ethanol over 30 min. The resulting slurry is allowed to stir thereafter with cooling to room temperature over 1 h and subsequently at room temperature for 2 hours. The solid is collected and washed with ethanol (1 x 10 mL) followed by drying in vacuo at 45 °C for 18.5 hours to afford 0.301 g (78% yield
15 corrected for 1.6 wt% sodium methanesulfonate and 3 wt% ethanol) of the title compound as a white solid.

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 5.45-5.30 (m, 1H), 3.88 (q, 1H, J = 7.0 Hz), 2.58 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.33-2.30 (m, 1H), 2.27-2.26 (m, 1H), 1.92 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.36 (d, 3H, J = 7.1 Hz), 1.41-1.32 (m, 1H).

20 ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 177.46, 176.92, 170.42, 94.56 and 93.19 (C-F splitting), 65.36, 49.01, 36.75 and 36.57 (C-F splitting), 33.61 and 33.55 (C-F splitting), 30.54 and 30.36 (C-F splitting), 20.27, 16.67.

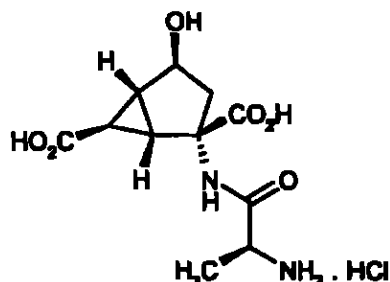
Example 20(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic disodium salt

5

To a solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid mesylate (70 mg, 0.19 mmol, Example 15) in 420 μ L of methanol at 60 $^{\circ}$ C is added a warm solution of sodium acetate (46.5 mg, 0.57 mmol) in 470 μ L of methanol with a rinse of 230 μ L of methanol. The heat is turned
10 off. The stirring hazy solution is diluted with 280 μ L of methanol optionally followed by seeding to aid the crystallization. The resulting slurry is slowly cooled to ambient temperature over 1 hour and stirred for 2 hours at ambient temperature. The product is isolated by filtration, washed with methanol (2 x 280 μ L), and dried in vacuo at 45 $^{\circ}$ C for 15 hours to furnish 52.5 mg (85% yield corrected for 2.3 wt% sodium methanesulfonate
15 and 0.2 wt% methanol) of the title compound as a white solid.

^{1} H NMR (500 MHz, D_2O) δ 5.44-5.29 (m, 1H), 3.89 (q, 1H, $J = 7.0$ Hz), 2.65 (s, 3H), 2.56 (dd, 1H, $J = 14, 8.0$ Hz), 2.16-2.13 (m, 1H), 2.10-2.09 (m, 1H), 1.74 (t, 1H, $J = 3.1$ Hz), 1.38 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz), 1.36-1.28 (m, 1H).

^{13} C NMR (125 MHz, D_2O) δ 180.00, 178.72, 170.13, 95.40 and 93.99 (C-F splitting),
20 65.97, 49.06, 37.25 and 37.07 (C-F splitting), 33.01 and 32.94 (C-F splitting), 29.64 and 29.46 (C-F splitting), 22.48, 16.68.

Example 21(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionyl)amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride

5

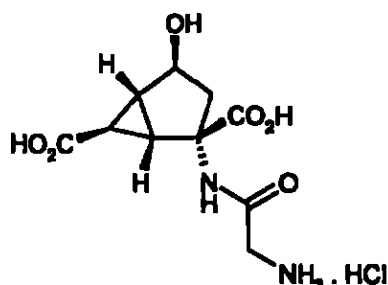
To a solution of (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetyloxy-2-[2'S-(*tert*-butoxy)carbonylamino-2-propionyl]-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (0.600 g, 1.28 mmol, Preparation 21) in THF (30 mL) and water (30 mL) is added lithium hydroxide monohydrate (0.535 g, 12.8 mmol). After stirring at room temperature for 3 hours, the reaction is diluted with water and washed with ethyl acetate (2 x 25 mL). The aqueous layer is acidified to pH 1 with aqueous 1N HCl solution and extracted with ethyl acetate (3 x 30 mL). The combined organic extracts are concentrated, redissolved in 1N HCl in ethyl acetate (60 mL), then stirred under nitrogen at room temperature for 16 hours. The solvent is removed *in vacuo* to afford 400 mg (99%) of the product as a white solid.

15

LCMS: m/z 273 $[M + H]^+$ @ R_T 0.20 min.

^1H NMR (CD_3OD): 4.13 (1H, d, 5.9 Hz), 3.80 (1H, q, 6.7 Hz), 2.41-2.31 (2H, m), 1.93 (1H, dd, 6.0 Hz, 2.7 Hz), 1.62 (1H, dd, 5.9 Hz, 15.5 Hz), 1.44 (1H, t, 3.0 Hz), 1.38 (3H, d, 6.8 Hz); *N.B. Exchangeable protons not observed by NMR = 6.

20

Example 22**(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-Amino-acetylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride**

5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-*tert*-butoxycarbonylamino-acetylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (300 mg, 0.84 mmoles, Preparation 23), with the exception that the *tert*-butoxycarbonyl protecting group is removed by treating with 4M HCl in dioxane. Yield

10 156 mg (63%).

$[\alpha]_D^{23} = -36$ ($c=0.5$, MeOH).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.56 (1H, t, $J=2.9$ Hz), 1.74 (1H, dd, $J=5.8, 15.4$ Hz), 2.12 (1H, m), 2.48 (1H, d, $J=15.4$ Hz), 2.61 (1H, m), 3.62 (2H, s), 4.32 (1H, d, $J=5.49$ Hz).

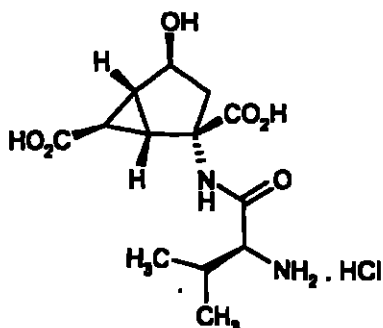
15

Anal Calcd for C₁₀H₁₄N₂O₆·1.3HCl·H₂O: C, 37.11; H, 5.39; N, 8.66. Found: C, 37.36; H, 4.99; N, 8.30.

MS (ES) m/z 258.8 [M+H]⁺.

Example 23

**(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-3'-methyl-butyrylamino)-4-hydroxybicyclo[3.1.0]-
hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloric acid**



5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-3'-methyl-butyrylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (480 mg, 1.19 mmoles, Preparation 24), with the exception that the *tert*-butoxycarbonyl protecting group is removed by treating with 4M HCl in dioxane. Yield 307 mg (76%).

10

$[\alpha]_D^{23} = +8.33$ (c=0.48, MeOH).

15

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.07 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.11 (3H, d, $J=7.3$ Hz), 1.55 (1H, t, $J=2.9$ Hz), 1.76 (1H, dd, $J=5.8, 15.6$ Hz), 2.14 (1H, dd, $J=3.4, 5.8$ Hz), 2.24 (1H, m), 2.50 (1H, d, $J=15.6$ Hz), 2.64 (1H, dd, $J=2.9, 5.8$ Hz), 3.66 (1H, d, $J=5.4$ Hz), 4.32 (1H, d, $J=5.8$ Hz).

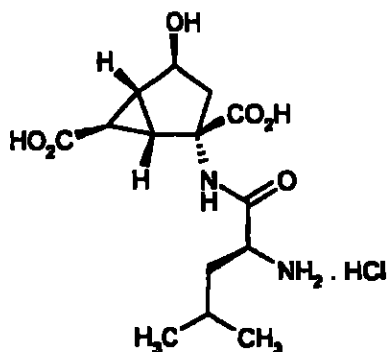
Anal Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 1.1\text{H}_2\text{O}$: C, 43.79; H, 6.56; N, 7.86. Found: C, 43.77; H, 6.20; N, 7.47.

HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$, 301.1400. Found, 301.1400.

20

Example 24

**(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-4'-methyl-pentanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]-
hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloric acid**



5

- Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-tert-butoxycarbonylamino-4'-methyl-pentanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (460 mg, 1.11 mmols, Preparation 25), with the exception that the *tert*-butoxycarbonyl protecting group is removed by treating with 4M HCl in dioxane. Yield 371 mg (95%).

10

$[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=0.5, MeOH).

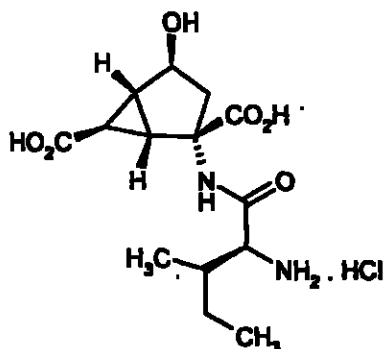
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.01 (3H, d, $J=5.8$ Hz), 1.03 (3H, d, $J=6.3$ Hz), 1.54 (1H, t, $J=2.9$ Hz), 1.63-1.82 (4H, m), 2.14 (1H, dd, $J=2.9, 5.8$ Hz), 2.49 (1H, d, $J=15.6$ Hz), 2.62 (1H, dd, $J=2.9, 5.8$ Hz), 3.83-3.86 (1H, m), 4.32 (1H, d, $J=5.8$ Hz).

- 15 Anal Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot 1.4\text{H}_2\text{O}$: C, 44.72; H, 6.92; N, 7.45. Found: C, 44.52; H, 6.57; N, 7.13.

HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6$, 315.1556. Found, 315.1569.

Example 25

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-3'S-methyl-pentanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]-
hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloric acid



5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-
 butoxycarbonylamino-3'S-methyl-pentanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-
 dicarboxylic acid diethyl ester (410 mg, 0.99 mmol, Preparation 26), with the exception
 that the *tert*-butoxycarbonyl protecting group is removed by treating with 4M HCl in
 10 dioxane. Yield 330 mg (95%).

$[\alpha]_D^{23} = +8$ ($c=0.5$, MeOH).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0.99 (3H, t, $J=7.3$ Hz), 1.08 (3H, t, $J=7.3$ Hz), 1.17-1.27
 (1H, m), 1.53 (1H, t, $J=2.9$ Hz), 1.59-1.65 (1H, m), 1.76 (1H, dd, $J=5.8, 15.6$ Hz), 1.96-
 2.00 (1H, m), 2.14 (1H, dd, $J=2.9, 5.8$ Hz), 2.46 (1H, d, $J=15.6$ Hz), 2.66 (1H, dd, $J=2.9,$
 15 5.8 Hz), 3.70 (1H, d, $J=5.4$ Hz), 4.31 (1H, d, $J=5.8$ Hz).

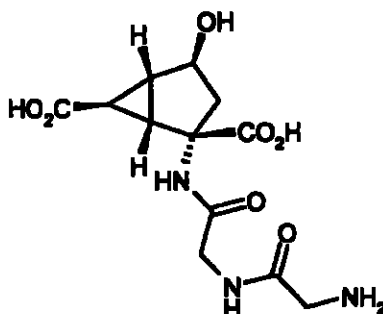
Anal Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 1.1\text{HCl} \cdot 1.2\text{H}_2\text{O}$: C, 44.71; H, 6.83; N, 7.45. Found: C,
 44.38; H, 6.51; N, 7.08.

HRMS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$, 315.1556. Found, 315.1566.

20

Example 26

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-Amino-acetyl-amino)-acetyl-amino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



5

Treat (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-*tert*-butoxycarbonylamino-acetyl-amino)-acetyl-amino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (360 mg, 0.77 mmols, Preparation 27) with an excess of 4M HCl in dioxane and stir for 40 minutes; concentrated in vacuo. Add ethyl acetate and concentrated. Treat the solid with

10 THF (3M) and 1N LiOH (3.0 equiv.). Stir for 1 hour then add 1N HCl until pH=3. Concentrated the reaction in vacuo. Purify via DOWEX® 50WX8-100 ion-exchange resin. Yield 188 mg (78%).

$[\alpha]_D^{23} = +3.92$ (c=0.51, H₂O).

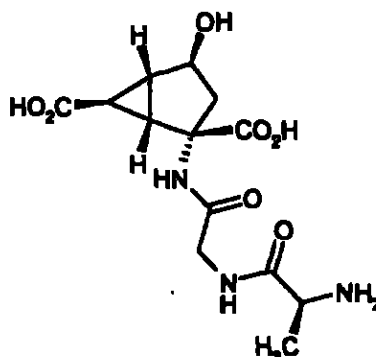
¹H NMR 300 MHz, D₂O) δ 1.43 (1H, t, J=2.9 Hz), 1.53 (1H, dd, J=5.9, 15.4 Hz), 1.98 (1H, m), 2.23-2.31 (2H, m), 3.70 (2H, s), 3.82 (2H, app d, J=1.1 Hz), 4.16 (1H, d, J=5.9 Hz).

15

HRMS calcd for C₁₂H₁₈N₃O₇, 316.1145. Found, 316.1123.

Example 27

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-Amino-propionylamino)-acetylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



5

Prepare according to the general procedure outlined in Example 26 using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino)-acetylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (410 mg, 0.84 mmol, Preparation 28). Yield 200 mg (72%).

10 $[\alpha]_D^{23} = +23.53$ (c=0.51, H₂O).

¹H NMR 300 MHz, D₂O) δ 1.36 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.37 (1H, t, J=3.3 Hz), 1.49 (1H, dd, J=5.9, 15.4 Hz), 1.91 (1H, dd, J=2.9, 5.9 Hz), 2.15 (1H, dd, J=2.9, 5.9 Hz), 2.27 (1H, d, J=15.4 Hz), 3.79 (2H, s), 3.95 (1H, q, J=7.0 Hz), 4.13 (1H, d, J=5.5 Hz).

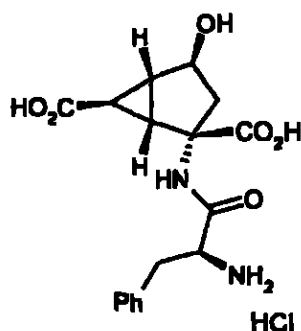
HRMS calcd for C₁₃H₁₉N₃O₇, 330.1301. Found, 330.1290.

15

151

Example 28

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-S-Amino-3'-phenyl-propionylamino)-4-hydroxy-
bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride



5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-*tert*-butoxycarbonylamino-3'-phenyl-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (400 mg, 0.89 mmol, Preparation 29). Yield 290 mg (85%).

10 $[\alpha]_D^{23} = +3.64$ ($c=0.55$, MeOH).

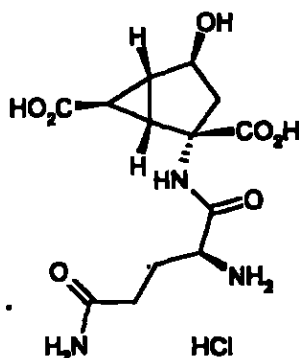
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.45 (1H, t, $J = 3.3$ Hz), 1.60 (1H, dd, $J = 5.5, 15.4$ Hz), 2.03 (1H, dd, $J = 2.6, 5.9$ Hz), 2.37 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 2.55 (1H, dd, $J = 2.9, 5.9$ Hz), 2.90 (1H, dd, $J = 8.4, 14.3$ Hz), 3.22 (1H, dd, $J = 5.1, 14.7$ Hz), 3.97 (1H, dd, $J = 5.5, 8.8$ Hz), 4.21 (1H, d, $J = 5.5$ Hz), 7.19 – 7.31 (5H, m).

15 HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6$, 349.1400. Found, 349.1388.

Anal. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 50.69; H, 5.76; N, 6.95; Cl, 8.80. Found: C, 50.66; H, 5.65; N, 6.85; Cl, 8.20.

MS found 349.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20

Example 29**(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-4'-carbamoyl-butyrylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride**

5

Prepare the title compound by dissolving (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-butoxycarbonylamino-4'-(trityl-carbamoyl)-butyrylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (1.18 mmol, Preparation 30) in THF (10 mL) and treating the solution with 2.5 N LiOH (12 mL). Allow the solution to stir 3 hours and then adjust to pH = 2 with 2.5 N HCl. Extract the product four times with ethyl acetate, dry over anhydrous sodium sulfate and concentrate *in-vacuo* to give a white powder. Dissolve the di-acid product (0.74 mmol) in 1,2-dichloroethane (3.7 mL) and treat with anisole (0.3 mL) and trifluoroacetic acid (3.72 mL). Stir the reaction mixture at 23°C for 2.5 hours and then concentrate *in-vacuo* to give a brown oil. Dissolve the brown oil in water, extract five times with dichloromethane, concentrate the aqueous layer *in-vacuo*, treat with 1 N HCl (0.74 mL), and lyophilize. Treat the solid with another portion of 1 N HCl (2 mL) and lyophilize again to afford 446 mg (quant) of the title compound.

15

$[\alpha]_D^{23} = +8.16$ ($c=0.49$, MeOH).

20

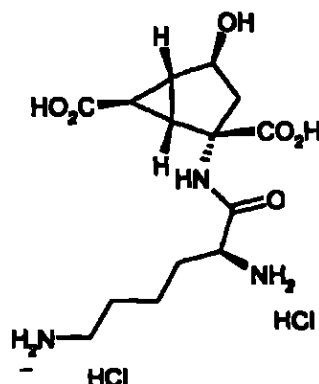
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.60 (1H, t, $J = 3.3$ Hz), 1.79 (1H, dd, $J = 5.5, 15.4$ Hz), 2.10 – 2.17 (3H, m), 2.46 – 2.55 (3H, m), 2.60 (1H, dd, $J = 2.9, 5.9$ Hz), 3.94 (1H, t, $J = 6.2$ Hz), 4.33 (1H, d, $J = 5.5$ Hz).

MS found 330.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 351.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7$, 330.1301. Found, 330.1295.

Example 30

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S,6'-Diamino-hexanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid bis hydrochloride



5

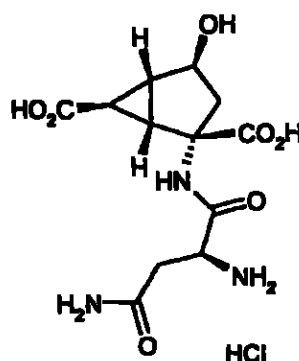
Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S,6'-bis-*tert*-butoxycarbonylamino-hexanoylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 31).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.47-1.59 (3H, m), 1.66-1.78 (2H, m), 1.84 (1H, dd, J=5.4, 15.2 Hz), 1.91 (2H, m), 2.16 (1H, dd, J=3.4, 5.7 Hz), 2.45 (1H, d, J=15.7 Hz), 2.66 (1H, dd, J=2.9, 5.9 Hz), 2.97 (2H, t, J=7.3 Hz), 3.92 (1H, t, J=6.4 Hz), 4.33 (1H, d, J=5.4 Hz).

10

MS found 330.0 [M+H]⁺.

15

Example 31**(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-3'-carbamoyl-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid**

5

Prepare the title compound by dissolving (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-butoxycarbonylamino-3'-(trityl-carbamoyl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (1.07 mmoles, Preparation 32) in THF (12 mL) and treating the solution with 2.5 N LiOH (12 mL). Allow the solution to stir 3 hours and adjust to pH = 2 with 2.5 N HCl. Extract the product four times with ethyl acetate, dry over anhydrous sodium sulfate and concentrate *in-vacuo* to give a white powder. Dissolve the di-acid product (1.22 mmol) in 1,2-dichloroethane (6 mL) and treat with anisole (1 mL) and trifluoroacetic acid (6 mL). Allow the reaction mixture to stir at 23°C for 10 hours then concentrate *in-vacuo* to give a brown oil. Dilute the brown oil with diethyl ether and the product crystallized out as a white solid. Filter and wash with copious portions of ether. Dissolve the solid in a minimal amount of water, treat with 0.5 N HCl (5 mL), and lyophilize 3 times to afford 386 mg (90%) of the title compound.

15

$[\alpha]_D^{23} = 0$ (c=0.5, MeOH).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 1.59 (1H, t, 3.4 Hz), 1.76 (1H, dd, $J = 5.9, 16.1$ Hz), 2.11 (1H, dd, $J = 2.9, 5.9$ Hz), 2.53 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 2.55 (1H, dd, $J = 2.9, 5.9$ Hz), 2.74 (1H, dd, $J = 9.8, 17.1$ Hz), 2.95 (1H, dd, $J = 3.9, 17.1$ Hz), 4.19 (1H, dd, $J = 3.9, 9.8$ Hz), 4.32 (1H, d, $J = 5.9$ Hz).

20

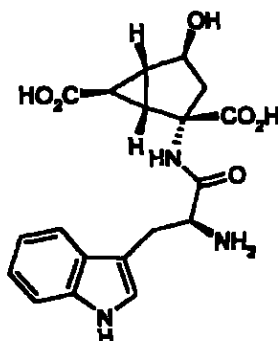
MS found 316.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 337.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$, 338.0964. Found, 338.0953.

25

Example 32

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-Amino-3'-(1H-indol-3-yl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



5

Prepare by dissolving 2-[2'-*tert*-butoxycarbonylamino-3'-(1'-*tert*-butoxycarbonyl-1H-indol-3'-yl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (0.93 mmoles, Preparation 33) in THF (11 mL) and treating the solution with 2.5 N LiOH (11 mL). Allow the solution to stir 3 h and then adjust to pH=2 with 2.5 N HCl. Extract the product four times with ethyl acetate, dry over anhydrous sodium sulfate and concentrate *in-vacuo* to give a white powder. Dissolve the di-acid product (0.78 mmol) in a solution of 4M HCl in dioxane (20 mL) and allow the reaction mixture to stir for 3 hours at 23°C. Concentrate the reaction mixture, dilute with dichloromethane, and concentrate again *in-vacuo*. Dissolve the crude product in methanol, apply to a radial chromatography (silica gel) plate, allow to spin dry, and elute with MeOH (10%)/NH₄OH (1%)/CHCl₃ to MeOH (60%)/NH₄OH (2%)/CHCl₃. Dissolve the product in water and lyophilize two times to afford 139 mg (46%) of the title compound.

15

$[\alpha]_D^{23} = +19.23$ (c=0.52, MeOH).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.43 (1H, t, J = 2.9 Hz), 1.57 (1H, dd, J = 5.9, 15.2 Hz), 2.05 (1H, dd, J = 3.4, 6.4 Hz), 2.41 (1H, d, J = 14.7 Hz), 2.46 (1H, dd, J = 2.4, 5.9 Hz), 3.15 (1H, dd, J = 5.4, 14.7 Hz), 3.49 (1H, dd, J = 5.4, 14.7 Hz), 4.05 (1H, dd, J = 5.4, 9.3 Hz), 4.17 (1H, d, J = 5.4 Hz), 7.09 (2H, m), 7.27 (1H, s), 7.37 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.75 (1H, d, J = 7.8 Hz).

20

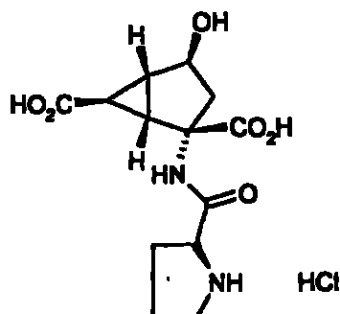
MS found 388.0 [M+H]⁺, 409.9 [M+Na]⁺.

25

HRMS calcd for C₁₉H₂₁N₃O₆, 388.1508. Found, 388.1502.

Example 33

(1S,2S,4S,5R,6R)-4-hydroxy-2-[(pyrrolidine-2'S-carbonyl)-amino]-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride salt.



5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(1'-*tert*-butoxycarbonyl-pyrrolidine-2'S-carbonyl)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 34), with the exception that the *tert*-butoxycarbonyl protecting group is removed by treating with 4M HCl in dioxane.

10 $[\alpha]_D^{23} = -40$ (c=0.5, MeOH).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 1.59 (1H, t, $J = 3$ Hz), 1.78 (1H, dd, $J = 5.9, 15.3$ Hz), 2.06 (4H, m), 2.42 (1H, m), 2.59 (2H, m), 3.35 (m, 3H), 4.27 (1H, m), 4.32 (1H, d, $J = 5.9$ Hz).

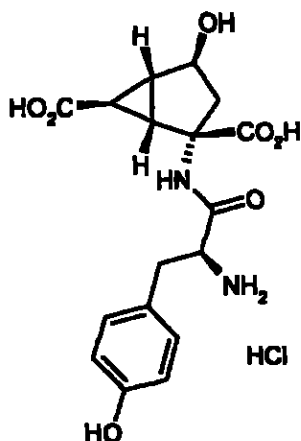
HRMS calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_6$, 299.1243. Found, 299.1242.

Anal. Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 44.26; H, 6.00; N, 7.94. Found: C, 44.13; H,

15 5.78; N, 7.62.

Example 34

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-Amino-3'-(4-hydroxy-phenyl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride salt.



5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3'-(4-*tert*-butoxycarbonyloxy-phenyl)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 35), with the exception that the *tert*-butoxycarbonyl protecting group was removed by treating with
10 4M HCl in dioxane. Yield 199 mg (50%).

$[\alpha]_D^{23} = +8$ ($c=0.5$, MeOH).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1.48 (1H, t, $J = 3$ Hz), 1.62 (1H, dd, $J = 5.9, 15.3$ Hz), 2.03 (1H, m), 2.38 (1H, d, $J = 15.3$ Hz), 2.55 (1H, m), 2.8 (1H, dd, $J = 8.9, 14.4$ Hz), 3.12 (1H, dd, $J = 5.4, 14.4$ Hz), 3.90 (1H, q, $J = 5.4$ Hz), 4.21 (1H, d, $J = 5.9$ Hz), 6.7 (2H, d, $J =$
15 8.4 Hz), 7.05 (2H, d, $J = 8.4$ Hz).

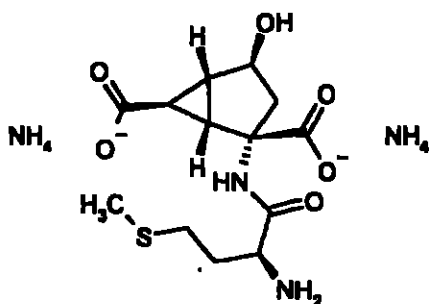
HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7$, 365.1349. Found, 365.1374.

Anal. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7 \cdot 1.1 \text{ HCl} \cdot 1.1 \text{ H}_2\text{O}$: C, 48.12; H, 5.54; N, 6.60. Found: C, 47.89; H, 5.37; N, 6.50.

20

Example 35

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-Amino-4'-methylsulfanyl-butrylamino)-4-hydroxy-
bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid bis ammonium salt



5

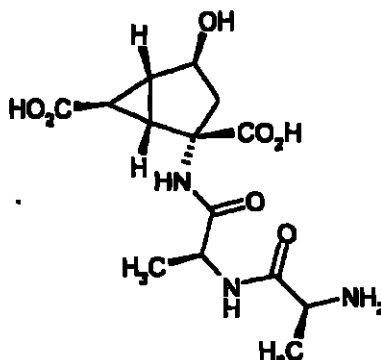
Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-
 Butoxycarbonylamino-4'-methylsulfanyl-butrylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-
 2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 36), with the exception that the *tert*-
 butoxycarbonyl protecting group was removed by treating with 4M HCl in dioxane. The
 10 final compound was loaded with MeOH onto a 2mm Chromatotron plate and eluted with
 50/49.5/0.5 CHCl₃/MeOH/NH₄OH. The amount of NH₄OH was increased to 1% over the
 course of the elution to give the zwitterionic compound. Yield 136 mg (37%).

$[\alpha]_D^{23} = +28$ (c=1.0, MeOH).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.63 (1H, dd, J= 6.0, 15.6 Hz), 2.03 (2H, m), 2.12 (3H,
 15 s), 2.18 (1H, m), 2.35 (1H, m), 2.49 (1H, d, J= 15.6 Hz), 2.65 (2H, t, J= 8.4 Hz), 3.84
 (1H, t, J= 6.0 Hz), 4.19 (1H, d, J= 6.0 Hz). HRMS calcd for C₁₃H₂₁N₃O₆S, 333.1120.
 Found, 333.1105.

Example 36

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2S-Amino-propionylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



5

Stir (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-[2'S-(2S-*tert*-butoxycarbonylamino-propionylamino) propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (0.045 g, 0.1 mmol, Preparation 39) in 1 ml of 4N HCl in dioxane for 40 min then concentrate the reaction in vacuo. Stir the crude material in THF (5 ml) and 0.5N LiOH (0.35 mmol) for 1 hour. Adjust the pH=2 with 0.5 N HCl and concentrate the reaction. Purify the crude product using cation exchange chromatography (Dowex® 50X8-100; elute with 10% pyridine/H₂O) to yield 19 mg (55.3%) of the title compound.

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1.23 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.36 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.40-1.45 (1H, m), 1.50 (1H, dd, J=5.5, 15.4 Hz), 1.90-1.96 (1H, m), 2.20 (1H, dd, J=2.6, 5.9 Hz), 2.29 (1H, d, J=15.4 Hz), 3.90 (1H, q, J=7.3 Hz), 4.15-4.22 (2H, m).

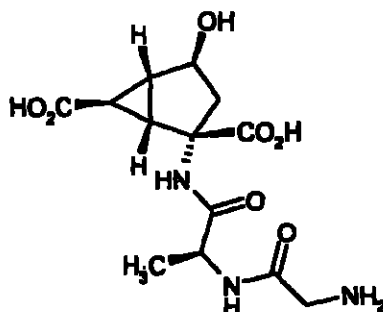
MS (ES) m/z 342.1 [M-1]⁻.

HRMS calcd for C₁₄H₂₂N₃O₇, 344.1458. Found, 344.1457.

15

Example 37

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-Amino-acetyl-amino)-propionyl-amino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



5

(1S,2S,4S,5R,6R)- 2-[2'S-(2-*tert*-butoxycarbonylamino-acetyl-amino)-propionyl-amino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester
 (0.12 g, 0.25 mmol, Preparation 40) in THF (5 ml) and 1N LiOH (1.0 mmol) for 1 hour. Adjust the mixture to pH=2 using 1N HCl and concentrate. Stir the crude material in a
 10 saturated HCl (g) ethyl acetate solution at 0°C. Remove excess HCl (g) by purging with N₂ and concentrate the reaction. Purify the crude product using cation exchange chromatography (Dowex® 50X8-100; elute with 10% pyridine/H₂O) to yield 0.06 g (72.9%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -42.11$ (c = 0.57, H₂O).

15 **¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1.21 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.39 (1H, m), 1.50 (1H, dd, J=5.7, 15.8 Hz), 1.91 (1H, m), 2.15 (1H, dd, J=2.6, 5.9 Hz), 2.28 (1H, d, J=15.0 Hz), 3.65 (2H, s), 4.14 (1H, app d, J=5.9 Hz), 4.20 (1H, app q, J=7.3 Hz).**

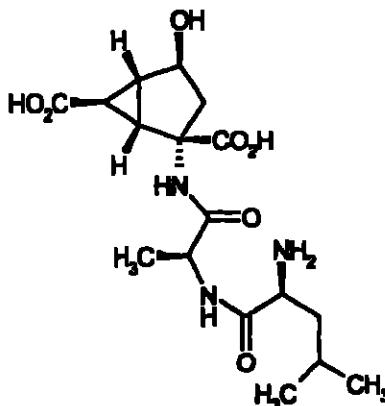
HRMS calcd for C₁₃H₂₀N₃O₇, 330.1301. Found, 330.1299.

20

161

Example 38

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2S-Amino-4-methyl-pentanoylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-butoxycarbonylamino-4-methyl-pentanoylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 41). Yield 0.21 g (57 %, 0.50 mmol) of a white solid.

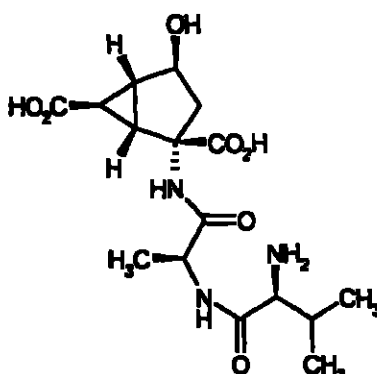
10 $[\alpha]_D^{23} = -3.64^\circ$ (c = 0.55, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 0.89 (3H, d, $J=4.4$ Hz), 0.91 (3H, d, $J=4.0$ Hz), 1.29 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.52 (1H, t, $J=3.3$ Hz), 1.55-1.67 (4H, m), 1.97 (1H, dd, $J=2.9, 5.9$ Hz), 2.38 (1H, dd, $J=2.9, 5.9$ Hz), 2.45 (1H, d, $J=15.4$ Hz), 3.75-3.80 (1H, m), 4.18 (1H, d, $J=5.9$ Hz), 4.33 (1H, app. q, $J=7.0$ Hz),

15 Anal Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7 \cdot 1.0 \text{ HCl} \cdot 1.6 \text{ H}_2\text{O}$: C, 45.30; H, 6.98; N, 9.32; Cl, 7.87.

Found: C, 44.95; H, 6.54; N, 9.12; Cl, 7.53.

HRMS (ES) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 386.1927. Found, 386.1911.

Example 39**(1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-S-(2-Amino-3-methyl-butyrylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid**

5

Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-Butoxycarbonylamino-3-methyl-butyrylamino)-propionylamino]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (Preparation 42). Yield 0.15 g (88 %, 0.37 mmols) of a white solid.

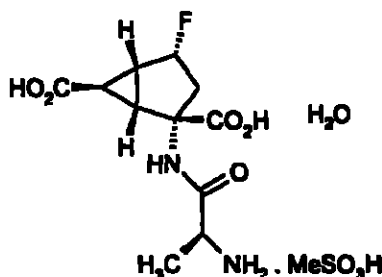
10 $[\alpha]_D^{23} = -15.69^\circ$ (c = 0.51, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 0.92 (3H, d, J=7.0 Hz), 0.95 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.28 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.52 (1H, t, J=2.9 Hz), 1.60 (1H, dd, J=5.9, 15.4 Hz), 1.98 (1H, dd, J=3.3, 5.9 Hz), 2.03-2.15 (1H, m), 2.39 (1H, dd, J=2.9, 6.2 Hz), 2.45 (1H, d, J=15.4 Hz), 3.56 (1H, d, J=5.5 Hz), 4.18 (1H, d, J=5.9 Hz), 4.33 (1H, app. q, J=7.0 Hz), 8.82 (1H, s).

15 Anal Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7 \cdot 1.0 \text{ HCl} \cdot 1.5 \text{ H}_2\text{O}$: C, 44.19; H, 6.72; N, 9.66; Cl, 8.15.

Found: C, 44.32; H, 6.48; N, 9.14; Cl, 7.66.

HRMS (ES) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 372.1771. Found, 372.1758.

Example 40**(1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid mesylate monohydrate**

- 5 Add 16 mL of water followed by 11.4 mL (175 mmol) of methanesulfonic acid to a hazy solution of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(tert-butoxycarbonylamino)propionyl)amino-4-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (32.8 g, 87.5 mmol, Preparation 52) in 295 mL of acetone at gentle reflux dropwise
- 10 to give a clear, faint yellow solution which yields a slurry after 5 minutes. Stir for 130 minutes, remove the heat source, and add another 295 mL of acetone over 30 minutes. Cool the slurry to room temperature, then stir an additional 2 hours. Filter the slurry, wash with acetone (2 x 82 mL), and vacuum dry at 45 °C for 16 hours to give 31.5 g (93%) of the title compound as a white solid.
- 15 The material may be further recrystallized. Mix 30.5 g of the above crude product with 152.5 mL of acetone and 35 mL of water. Heat to 55 °C, and add water (3.66 mL) to effect complete dissolution. Dilute the solution with 61 mL of acetone and optionally seed. Remove the heat source and allow the mixture to gradually cool until good nucleation had commenced. Add 396 mL of acetone to the slurry over 70 minutes, then
- 20 stir at room temperature for an additional 3 hours. Filter, wash with acetone (3 x 91 mL), and vacuum dry at 45 °C several hours (typically overnight) to yield 27.7 g (91% recovery) of the title compound as a white solid.
- mp (DSC) 200 °C.
- $[\alpha]_D^{25} +34^\circ$ (c 1.0, CH₃OH)
- 25 400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 12.76 (br s, 2H), 9.18 (s 1H), 8.07 (br s, 3H), 5.50-5.36 (m, 1H), 3.87 (d, 1H, J = 6.8 Hz), 2.82 (dd, 1H, J = 14, 8.0 Hz), 2.38 (s, 3H), 2.25 (m, 2H), 1.96 (t, 1H, J = 3.0 Hz), 1.39 (m, 1H), 1.37 (d, 3H, J = 6.8 Hz).

100 MHz ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 173.1, 172.3, 169.7, 92.8 (d, C-F splitting), 63.2 (d, C-F splitting), 48.0, 39.7, 36.4 (d, C-F splitting), 32.5 (d, C-F splitting), 29.3 (d, C-F splitting), 19.3 (d, C-F splitting), 16.9.

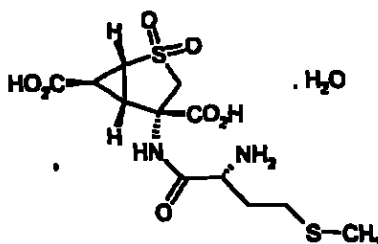
FTIR (KBr) 3461 (w), 3379 (w), 3269 (m), 2653 (s), 2591 (s), 2529 (s), 1724 (s), 1691 (s), 1353 (m), 1287 (s), 1271 (s), 1256 (s), 1212 (s), 1147 (s), 1052 (s), 1024 (s), 787 (m) cm^{-1} .

Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 37.11; H, 5.45; N, 7.21. Found: C, 37.12; H, 5.45; N, 7.16.

10

Example 41

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid monohydrate



15

Heat a slurry of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid monosodium salt (110.04 g, 225.3 mmol, Preparation 55) in acetone (110 mL) and water (550 mL) to 55 °C. Add concentrated hydrochloric acid (56 mL, 675.8 mmol) dropwise to the stirring slurry to gradually afford dissolution. Upon completion of the addition, stir the solution at 55 °C for 2 hours. Remove the heat source and allow the solution to cool to room temperature. Filter the solution and rinse with 20 mL of water. Slowly add 2N sodium hydroxide (165 mL, 330 mmol) to the solution to raise pH to 1.71 at which time precipitation occurs. Stir for 10 minutes; a thin slurry forms and the pH drops to 0.98. Add more 2N sodium hydroxide (62 mL, 124 mmol) to the resultant slurry to raise the pH to 3.06 followed by stirring for 3 hours giving a final pH of 3.24. Filter the slurry, wash with water (2 x 165 mL), and dry at 45 °C for 15 hours to afford 73.27 g (85% weight yield) of the title compound as a white solid. mp (DSC) 203 °C.

20

25

$[\alpha]_{25}^D +13.4$ (c 1.19, 1N HCl).

500 MHz ^1H NMR (D_2O) δ 3.99 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz), 3.93 (d, 1H, $J = 15.0$ Hz), 3.50 (dd, 1H, $J = 1.0, 4.0$ Hz), 3.12 (d, 1H, $J = 15.0$ Hz), 2.95 (dd, 1H, $J = 4.0, 7.0$ Hz), 2.48 (t, 2H, $J = 8.0$ Hz), 2.33 (t, 1H, $J = 4.0$), 2.09 - 1.98 (m, 5H).

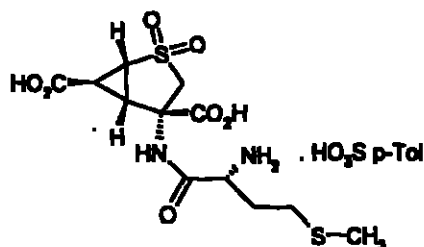
5 ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 173.50, 172.60, 169.18, 61.66, 54.76, 52.19, 42.55, 31.70, 30.10, 28.09, 23.53, 14.14.

FTIR (ATR) 3558.54 (s), 3024.05 (s), 2959.87 (s), 1748.83 (s), 1692.89 (s), 1681.99 (s), 1617.50 (s), 1567.63 (s), 1497.65 (s), 1314.11 (s), 1282.22 (s), 1263.26 (s), 1239.01 (s), 1101.46 (s), 884.62 (s), 809.95 (s), 773.46 (s) cm^{-1} .

10 Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 37.49; H, 5.24; N, 7.29. Found: C, 37.34; H, 5.04; N, 7.15.

Example 42

15 (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid tosylate



Heat a mixture of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (118.09 g corrected, 253 mmol, Preparation 56) and *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (54 g, 278 mmol) in toluene (1180 mL) to 75 °C, which results in a thick slurry. Stir the slurry at reflux for 165 minutes. Remove the heat source and allow the slurry to cool to room temperature followed by stirring overnight. Filter the slurry, wash with toluene (3 x 240 mL), and dry *in vacuo* at 45 °C for 22 hours to provide 134.92 g (98% yield) of the title compound.

mp (DSC) 255 °C.

$[\alpha]_{25}^D +8.3$ (c 1.2, CH_3OH).

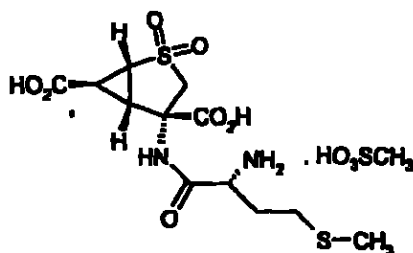
500 MHz ^1H NMR (CD_3OD) δ 7.71 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.24 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 4.14 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 4.00 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz), 3.54 (dd, 1H, $J = 4.0, 7.0$ Hz), 3.13 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 3.01 (dd, 1H, $J = 4.0, 7.0$ Hz), 2.60 (t, 2H, $J = 8.0$ Hz), 2.49 (t, 1H, $J = 4.0$ Hz), 2.37 (s, 3H), 2.19 – 2.12 (m, 5H).

5 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 170.49, 169.69, 168.99, 142.18, 140.67, 182.73, 125.79, 60.26, 54.76, 52.21, 42.44, 30.90, 30.77, 27.20, 22.33, 20.17, 13.96.
FTIR (ATR) 3091.19 (w), 1730.91 (s), 1668.22 (s), 1563.97 (s), 1518.49 (s), 1312.69 (m), 1247.46 (s), 1212.05 (s), 1156.33 (s), 1123.09 (s), 1035.95 (s), 1011.36 (s), 892.41 (s), 814.02 (s), 683.69 (s) cm^{-1} .

10

Example 43

(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid mesylate



15

Heat a slurry of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-methylthio-2'-(tert-butoxycarbonyl)aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (1.08 g, 2.31 mmol, Preparation 56) in 13 mL of propionitrile to 85 °C. Add water (540 μL) to the slurry, then add methanesulfonic acid dropwise (225 μL , 3.47 mmol). Stir the slurry for 90 minutes. Remove the heat source and add propionitrile (30 mL). Cool the slurry to room temperature and stir for 90 minutes. Filter, wash with propionitrile (3 x 2.7 mL), and dry at 45 °C overnight to give 1.04 g (97%) of the title compound.

20

mp (DSC) 244 °C.

25 $[\alpha]_{25\text{D}} +10.2$ (c 1.16, CH_3OH).

500 MHz ^1H NMR (CD_3OD) δ 4.16 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 4.00 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz), 3.54 (dd, 1H, $J = 4.0, 7.0$ Hz), 3.15 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 3.01 (dd, 1H, $J = 4.0, 7.0$ Hz), 2.71 (s, 3H), 2.61 (t, 2H, $J = 8.0$), 2.51 (t, 1H, $J = 4.0$), 2.20 - 2.14 (m, 5H).

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 170.50, 169.71, 169.00, 60.27, 54.78, 52.18, 42.43,

5 38.35, 30.90, 30.78, 28.20, 22.35, 13.96.

FTIR (ATR) 3055.57 (m), 1725.90 (s), 1693.60 (s), 1527.33 (s), 1528.96 (s), 1320.89 (s),

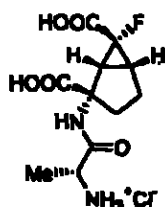
1176.86 (s), 1152.70 (s), 1118.55 (s), 1051.42 (s), 816.49 (s), 786.63 (s) cm^{-1} .

Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2\cdot\text{CH}_4\text{O}_3\text{S}$: C, 33.76; H, 4.79; N, 6.06. Found: C, 33.98; H, 4.82; N, 5.98.

10

Example 44

(1R,2S,5R,6R)-2-(2'R-aminopropionyl)amino-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-
dicarboxylic acid hydrochloride



15

Add 1.13 mL (2.8 mmol) of 2.5 N LiOH to a solution of 0.20 g (0.47 mmol) of Isomer A from Preparation 60 in THF (1.2 mL) and stir the resulting mixture overnight at room temperature. Wash the solution with ether, neutralize at 0°C with 1N HCl, and extract with EtOAc (3x3 mL). Dry the combined organic layers over anhydrous MgSO_4 and concentrate under reduced pressure. Dissolve the crude in 3.76 mL of 1N HCl in EtOAc and stir overnight. Decant the solvent, wash with ether, and dry the product with an Ar stream to give the title compound (83 mg, 57% yield) as a white solid.

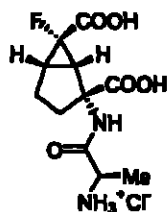
20

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): 1.28 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz), 1.64-1.69 (m, 1H), 1.86-2.02 (m, 1H), 2.11-2.21 (m, 3H), 2.54 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz), 3.84 (q, 1H, $J = 7.1$ Hz).

25

Example 45

(1S,2R,5S,6S)-2-(2'R-aminopropionyl)amino-6-fluoro-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride

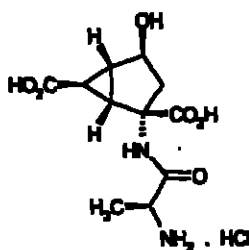


Beginning with a solution Isomer B of Preparation 60, the title compound is prepared essentially as Example 44.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.30 (d, 3H, J = 7.1 Hz), 1.59-1.65 (m, 1H), 1.85-2.03 (m, 1H), 2.05-2.25 (m, 3H), 2.53 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 3.85 (q, 1H, J = 7.1 Hz).

Example 46

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionyl)amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride



Prepare according to General Procedure C using (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-tert-butoxycarbonylamino-propionylamino)-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid diethyl ester (0.47 g, 1.1 mmol, Preparation 37) to yield 0.23 g (67.7%) of the title compound.

$[\alpha]_D^{23} = -4.1$ (c=0.49, MeOH).

¹H NMR (CD₃OD) δ 1.51 (3H, d, J=7.0 Hz), 1.56 (1H, t, J=2.9 Hz), 1.77 (1H, dd, J=5.8, 15.8 Hz), 2.1-2.13 (1H, m), 2.52 (1H, d, J=16.1 Hz), 2.57 (1H, dd, J=2.9, 5.9 Hz), 3.88 (1H, dd, J=7.0, 14.3 Hz), 4.32 (1H, d, J=5.5 Hz).

Anal. Calcd for $C_{11}H_{17}N_2O_6 \cdot 1.1 \text{ HCl} \cdot 0.9 \text{ H}_2\text{O}$: C, 40.12; H, 5.80; N, 8.53. Found: C, 39.85; H, 5.41; N, 8.36.

HRMS calcd for $C_{11}H_{16}N_2O_6\text{Na}$, 295.0906. Found, 295.0883.

5 Prodrug compounds of the present invention may be evaluated against the corresponding parent compound through various cellular uptake assays. These assays can provide comparative data to permit one of ordinary skill in the art to identify compounds which are readily absorbed into the cell to provide superior exposure. Two such assays include the Gly-Sar Uptake Assay and the Caco-2 Assay, described below.

10

Gly-Sar Uptake Assay

It has been realized that some orally administered peptidomimetic drugs are absorbed through the intestinal peptide transport system. *Yang, et al.*, *Pharm. Res.* 16(9) (1999). In particular, the intestinal peptide transporter hPepT1 has been studied for its expression of inhibition of peptidyl uptake and its corresponding level of recognition within a cell. *Meredith, et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 267, 3723-3728 (2000). Further, characterizing the intestinal absorption mechanism of amino acids in the hPepT1 transporter has been targeted as an effective strategy for identifying improved oral drug absorptions. *Han, et al.*, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem)* 40(1): 259-260 (1999); *Sawada, et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 291(2): 705-709 (1999).

20

U.S. Patent No. 5,849,525 describes methods which could be used to measure the level of affinity of compounds of the present invention with the hPepT1 transporter.

For example, stably transfected Chinese Hamster Ovary (CHO) cells over-expressing the hPepT1 transporter could be used to test compounds of the present invention. The CHO cells would monitored for the uptake of Gly-Sar, which when uptake in the presence of the prodrug compounds of the present invention is in amounts greater than when the cell is free from prodrug compounds of the present invention would be indicative of agonist activity; and which when uptake of the prodrug compounds of the present invention is less than the uptake in the absence of prodrug compounds of the present invention would be indicative of inhibitory activity. Compounds of the present invention generally exhibit EC_{50} values of less than 5 mM.

30

Caco-2 Assay

Another particular method for measuring the uptake of compounds of the present invention into cells is to study the peptide transport carrier of human intestinal cell line Caco-2. Human adenocarcinoma cells (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Rye, NY, and/or ATCC, Rockville, MD) are passaged in Dulbecco's Modified Eagle medium containing 10% fetal calf serum and 1% Minimal Essential Media non-essential amino acid solution without addition of sodium pyruvate or antibiotics. These cells were mycoplasma-free and were used between passage numbers 28 and 40. For flux measurements, between 5 to 10 x 10⁴ cells are grown in collagen-coated multiwell dishes for 13-18 days and the medium is replaced every two to three days.

Drug uptake is measured at 37°C using a test compound employing a cluster-tray technique (see Gazzola, et al., Anal. Biochem. 115, 368-74 (1981)). The flux buffer is bicarbonate-free Earle's balanced salt solution containing 25 mM Mes titrated to pH 6.0 with KOH, and choline chloride in place of sodium chloride. The osmolality of the flux buffer is adjusted to 300±5 mosmol/kg with choline chloride. [³H]inulin is used as a marker for the extracellular fluid that adheres to cells during the washing procedure to estimate the zero time for determining the rate of uptake. Fresh solutions of the test compounds and dipeptides are prepared daily. At the end of the experiment cells are lysed in water, test compounds can be detected in cell lysates using LC/MS/MS. Protein is measured by the method described in Smith, et al., Anal. Biochem. 150, 76-85 (1985).

Uptake is measured over a 40 minute. Initial uptake rates are calculated in the linear region of the time course regression and an estimated zero time as described above using linear regression. Percent inhibition is calculated based on the control uptake rate measured in the absence of a dipeptide. For examples of this Caco-2 assay, see Dantzig & Bergin, Biochim. Biophys. Acta 1027, 211-17 (1990).

In Vivo Exposure as Measured by Rat Plasma Concentration

To study the in vivo exposure of compounds of Formula II following oral dosing of compounds of Formula I in comparison to compounds of Formula II, studies measuring the plasma concentrations of the respective compound of Formula II in rats are performed. Mature Fischer 344 male rats (190-270 gram) are obtained from Harlan Sprague-Dawley, Cumberland, IN, USA, and acclimated in the study housing for 3 days. On day 4, test compounds are dissolved in buffered water (1mg/ml = test compound/20mM potassium dihydrogen phosphate, pH=2) and given orally as a single 5mg/kg dose. Blood samples are collected through orbital sinus or cardiac puncture (last time point) at 0.5 and 1 hour or, alternatively, at 1 and 3 hours. Plasma samples are stored at -20°C in the presence of phenylmethylsulfonyl fluoride, a protease inhibitor, prior to analysis. Plasma samples and internal standard compounds are pretreated by solid phase extraction (SAX support, methanol/water/dilute acetic acid).

As shown in Tables 1A and 1B below, the plasma concentrations (ng/ml) of the respective compound of Formula II for each test compound are determined by LC/MS/MS and are presented as a sum of the concentrations at the 0.5 and 1 hour or, alternatively, at the 1 and 3 hour sample time points.

Table 1A In Vivo Exposure Assay	
Compound	Rat Exposure (ng/ml of (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-Aminopropionyl)amino-]-2,2-dioxo-2 λ ⁶ -thia-bicyclo[3.1.0.]hexane-4,6-dicarboxylic acid hydrochloride)
Example 1	2251 ng/ml (following 10 mg/kg p.o.)
Non-prodrug form of Example 1	1521 ng/ml (following 5 mg/kg p.o.) 3981 ng/ml (following 10 mg/kg p.o.)

Table 1B In Vivo Exposure Assay	
Compound	Rat Exposure (ng/ml of (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino- propionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6- dicarboxylic acid hydrochloride)
Example 14	5271 ng/ml (following 5 mg/kg p.o.)
Non-prodrug form of Example 14	1162 ng/ml (following 5 mg/kg p.o.) 1342 ng/ml (following 10 mg/kg p.o.)

As shown above in Tables 1A and 1B, when given orally to rats, the compounds of the current invention exhibit comparable plasma concentration of the parent compound. This demonstrates compounds of the present invention are converted to the parent compounds, compounds of Formula II, in vivo.

The compounds of the present invention are preferably formulated prior to administration. Therefore, another aspect of the present invention is a pharmaceutical formulation comprising a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a pharmaceutically-acceptable carrier, diluent, or excipient. The pharmaceutical formulations may be prepared by procedures well-known by one of ordinary skill in the art. In making the compositions of the present invention, the active ingredient will usually be mixed with a carrier, or diluted by a carrier, or enclosed within a carrier, and may be in the form of a capsule, sachet, paper, or other container. When the carrier serves as a diluent, it may be a solid, semi-solid, or liquid material which acts as a vehicle, excipient, or medium for the active ingredient. The compositions can be in the form of tablets, pills, powders, lozenges, sachets, cachets, elixirs, suspensions, emulsions, solutions, syrups, aerosols, ointments containing, for example, up to 10% by weight of active compound, soft and hard gelatin capsules, suppositories, sterile injectable solutions, and sterile packaged powders.

Some examples of suitable carriers, excipients, and diluents include lactose, dextrose, sucrose, sorbitol, mannitol, starches, gum, acacia, calcium phosphate, alginates, tragacanth, gelatin, calcium silicate, microcrystalline cellulose, polyvinylpyrrolidone, cellulose, water syrup, methyl cellulose, methyl and propyl hydroxybenzoates, talc, magnesium stearate, and mineral oil. The formulations can additionally include lubricating agents, wetting agents, emulsifying and suspending agents, preserving agents,

sweetening agents, or flavoring agents. Compositions of the invention may be formulated so as to provide quick, sustained, or delayed release of the active ingredient after administration to the patient by employing procedures well-known in the art.

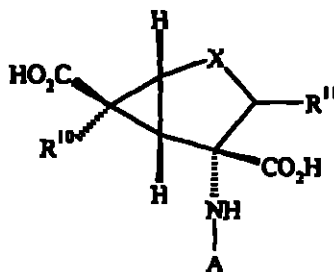
5 The compositions are preferably formulated in a unit dosage form, each dosage containing from about 5 mg to about 500 mg active ingredient, preferably about 25 mg to about 300 mg active ingredient. As used herein the term "active ingredient" refers to a compound included within the scope of Formula I.

10 The term "unit dosage form" refers to a physically discrete unit suitable as unitary dosages for human subjects and other mammals, each unit containing a predetermined quantity of active material calculated to produce the desired therapeutic effect, in association with a suitable pharmaceutical carrier, diluent, or excipient.

174

CLAIMS

1. A compound of Formula I



(I)

wherein:

A is $H-(Q)_p$;

Q is independently selected, each time taken, from the group amino acyl;

p is an integer from 1 to 10;

10 X is O, S, SO, SO₂, or CR³R⁴;

R³ is fluoro, X'OR⁵, SO₃H, tetrazol-5-yl, CN, PO₃R⁶₂, hydroxy, NO₂, N₃,

(CH₂)_mCOOR^{5a}, (CH₂)_mPO₃R^{6a}₂, NHCONHR^{5b}, or NHSO₂R^{5c} and R⁴ is hydrogen;

or R³ and R⁴ each represent fluoro; or R³ and R⁴ together represent =O, =NOR⁷,

=CR⁸R⁹, =CHCOOR^{5b}, =CHPO₃R^{6a}₂, or =CHCN; or one of R³ or R⁴ represents

15 amino and the other represents carboxyl;

X' represents a bond, CH₂, or CO;

m is an integer from 1 to 3;

R⁵, R^{5a}, R^{5b}, R^{5c}, R⁷, R⁸, and R⁹ are independently a hydrogen atom; an

optionally substituted (1-6C) alkyl group; an optionally substituted (2-6C) alkenyl group;

20 an optionally substituted (2-6C) alkynyl group; an optionally substituted aromatic group;

an optionally substituted heteroaromatic group; a non-aromatic carbocyclic group; a non-

aromatic heterocyclic group; a non-aromatic monocyclic carbocyclic group fused with

one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups; or a non-aromatic monocyclic

heterocyclic group fused with one or two monocyclic aromatic or heteroaromatic groups;

25

175

R^6 and R^{6a} independently represent hydrogen or a (1-6C)alkyl group;

R^{10} is hydrogen or fluoro; and

R^{11} is hydrogen, fluoro, or hydroxy;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

5

2. A compound or salt according to Claim 1, provided that the compound or salt is not one in which X is CR^3R^4 wherein R^3 is fluoro and R^4 is hydrogen, p is 1, and Q is L-alanyl; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10

3. A compound or salt according to Claim 1 or 2 wherein

A is $H-(Q)_p$;

Q is independently selected, each time taken, from the group amino acyl;

p is an integer from 1 to 3;

X is O, S, SO, SO_2 , or CR^3R^4 ;

15

R^3 is fluoro or hydroxy, and R^4 is hydrogen; or R^3 and R^4 together represent $=O$;

R^{10} is hydrogen or fluoro; and

R^{11} is hydrogen, fluoro, or hydroxy.

20

4. A compound or salt according to any one of Claims 1-3 wherein Q is an amino acyl derived from a natural amino acid.

5. A compound or salt according to any one of Claims 1-4 wherein X is SO_2 .

25

6. A compound or salt according to any one of Claims 1-4 wherein X is CR^3R^4 , R^3 is fluoro, and R^4 is hydrogen.

7. A compound or salt according to any one of Claims 1-4 wherein X is CR^3R^4 , R^3 is hydroxy, and R^4 is hydrogen.

176

8. A pharmaceutically acceptable salt according to Claim 1 that is an acid-addition salt made with an acid which provides a pharmaceutically acceptable anion; a base-addition salt made with a base which provides a pharmaceutically acceptable anion for a compound which contains an acidic moiety; or a zwitterionic compound which
5 contains oppositely charged groups.

9. A compound according to Claim 1 wherein
A is H-(Q)_p;
Q is L-alanyl;
10 p is 1;
X is SO₂ or CR³R⁴;
R³ is fluoro and R⁴ is hydrogen;
R¹⁰ is hydrogen; and
R¹¹ is hydrogen;
15 or the hydrochloride salt, tosylate salt, mesylate salt, esylate salt, besylate salt, or monosodium salt thereof.

10. The pharmaceutically acceptable salt according to Claim 9 which is
(1*R*,4*S*,5*S*,6*S*)-4-(2'-*S*-Aminopropionyl)amino]-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-
20 4,6-dicarboxylic acid hydrochloride or (1*R*,4*S*,5*S*,6*S*)-4-(2'-*S*-2'-Aminopropionyl)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid tosylate.

11. The compound according to Claim 1 which is (1*R*,4*S*,5*S*,6*S*)-4-(2'-*S*-4'-methylthio-2'-aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-
25 dicarboxylic acid or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

12. The compound according to Claim 11 which is (1*R*,4*S*,5*S*,6*S*)-4-(2'-*S*-4'-methylthio-2'-aminobutanonyl)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-thia-bicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid monohydrate.
30

177

13. The pharmaceutically acceptable salt according to Claim 1 that is 1*S*,2*S*,4*S*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-aminopropionyl)amino-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride.

5 14. A compound according to Claim 1 wherein

A is H-(Q)_p;

Q is L-alanyl;

p is 1;

X is CR³R⁴;

10 R³ is fluoro and R⁴ is hydrogen;

R¹⁰ is hydrogen; and

R¹¹ is hydrogen;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15 15. The compound or salt according to Claim 14 which is selected from the group consisting of:

a) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride;

20 b) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid mesylate;

c) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid esylate;

d) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid besylate;

25 e) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid tosylate;

f) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid; and

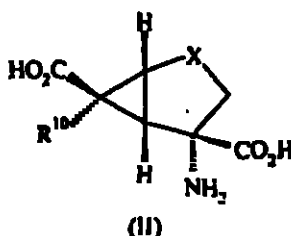
30 g) 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-Aminopropionyl)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic monosodium salt.

179

19. A method for affecting the cAMP-linked metabotropic glutamate receptors in a patient, which comprises administering to a patient requiring modulated excitatory amino acid neurotransmission a pharmaceutically effective amount of a compound of Claim 1.

5

20. A method of administering an effective amount of a compound of Formula II,



wherein X and R¹⁰ are defined as in Claim 1,

10

which comprises administering to a patient requiring modulated excitatory amino acid neurotransmission a pharmaceutically effective amount of a compound of Claim 1.

15

21. A method for treating a neurological disorder in a patient which comprises administering to the patient in need of treatment thereof a pharmaceutically-effective amount of a compound of Claim 1.

20
25

22. The method of Claim 21 wherein said neurological disorder is cerebral deficits subsequent to cardiac bypass and grafting; cerebral ischemia; spinal cord trauma; head trauma; Alzheimer's Disease; Huntington's Chorea; amyotrophic lateral sclerosis; AIDS-induced dementia; perinatal hypoxia; hypoglycemic neuronal damage; ocular damage and retinopathy; cognitive disorders; idiopathic and drug-induced Parkinson's Disease; muscular spasms; migraine headaches; urinary incontinence; drug tolerance, withdrawal, cessation, and craving; smoking cessation; emesis; brain edema; chronic pain; sleep disorders; convulsions; Tourette's syndrome; attention deficit disorder; and tardive dyskinesia.

23. The method of Claim 22 wherein said neurological disorder is drug tolerance, withdrawal, cessation, and craving; or smoking cessation.

24. A method for treating a psychiatric disorder in a patient which
5 comprises administering to the patient in need of treatment thereof a pharmaceutically-effective amount of a compound of Claim 1.

25. The method of Claim 24 wherein said psychiatric disorder is schizophrenia, anxiety and related disorders, depression, bipolar disorders,
10 psychosis, and obsessive compulsive disorders.

26. The method of Claim 25 wherein said psychiatric disorder is anxiety and related disorders.

15 27. A pharmaceutical formulation comprising in association with a pharmaceutically acceptable carrier, diluent or excipient, a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

**(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA BAJO EL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)**

(19) Organización mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de publicación internacional
18 de diciembre de 2003 (18/12/2003)

(10) Número de publicación internacional
WO 03/104217 A2

(51) Clasificación internacional de patentes⁷: C07D 333/00

(21) Número de solicitud internacional: PCT/US03/15405

(22) Fecha de presentación internacional: 6 de junio de 2003 (06/06/2003)

(25) Idioma de presentación: Inglés

(26) Idioma de publicación: Inglés

(30) Fecha de prioridad:

02380120.2	11 de junio de 2002 (11/06/2002) EP
02380121.0	11 de junio de 2002 (11/06/2002) EP
60/415.936	3 de octubre de 2002 (03/10/2002) EE.UU.
60/415.937	3 de octubre de 2002 (03/10/2002) EE.UU.

(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto Estados Unidos): ELI LILLY AND COMPANY [EE.UU./EE.UU.]; Lilly Corporate Center, Indianápolis, IN 46285 (EE.UU.)

(72) Inventor(es); y

(75) Inventores/solicitantes (solo para EE.UU.): MOHER, Eric, David [EE.UU./EE.UU.]; 492 Oak Brook Lane, Greenwood, IN 46142 (EE.UU.). MONN, James, Allen [EE.UU./EE.UU.]; 7518 Allenwood Court, Indianápolis, IN 46142 (EE.UU.). PEDREGAL-TERCERO, Concepción [ES/ES]; Lilly, S.A., Avenida de la Industria 30, E-28100 Alcobendas (ES).

(74) Agentes: LEE, Kirby, W. et al.; ELI LILLY AND COMPANY, p.o. Box 6288, Indianapolis, IN 46206-6288 (EE.UU.).

(81) Estados designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT (modelo de utilidad), AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ (modelo de utilidad), CZ, DE (modelo de utilidad), DE, DK (modelo de utilidad), DK, DM, DZ, EC, EE (modelo de utilidad), EE, ES, FI (modelo de utilidad), 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 (modelo de utilidad), SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (regional): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (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).

Declaraciones según Reglamento 4.17:

- en lo que se refiere al derecho del solicitante a solicitar y recibir una patente (Reglamento 4.17(ii)) para las denominaciones siguientes 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, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (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)
- en lo que se refiere al derecho del solicitante a reivindicar la prioridad de la solicitud anterior (Reglamento 4.17(iii)) para las denominaciones siguientes 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, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (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)

- en lo que se refiere al derecho del solicitante a reivindicar la prioridad de la solicitud anterior (Reglamento 4.17(iii)) para las denominaciones siguientes 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, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (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)

Publicado:

- *sin informe de búsqueda internacional y para volver a publicarse*

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, consulte las "Notas de orientación sobre códigos y abreviaturas" que aparece al principio de cada apartado regular de la *Gazette PCT*.

(54) Título: PROFÁRMACOS DE AMINOÁCIDOS ESTIMULANTES

(57) Resumen: esta invención está relacionada con los profármacos de aminoácidos estimulantes sintéticos y los procedimientos para su fabricación. Esta invención está relacionada con los métodos de uso, comprendidos los compuestos farmacéuticos, de los compuestos para el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos.

PROFÁRMACOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES

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

Antecedentes de la invención

10

El tratamiento de trastornos neurológicos o psiquiátricos, tales como trastornos de ansiedad, se ha asociado a la activación selectiva de receptores de aminoácidos excitadores metabotrópicos. Por ejemplo, el ácido (+)-4-amino-2-sulfonilbicyclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico se describe como un agonista
15 del receptor mGluR2 activo en la patente de Estados Unidos Nº 5.688.826 (la patente '826), expedida el 18 de noviembre de 1997. Además, el ácido (+)-2-amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico se describe como agonista del receptor mGluR2 activo en la patente de Estados Unidos Nº 5.958.960 (la patente '960), expedida el 28 de septiembre de 1999.

20

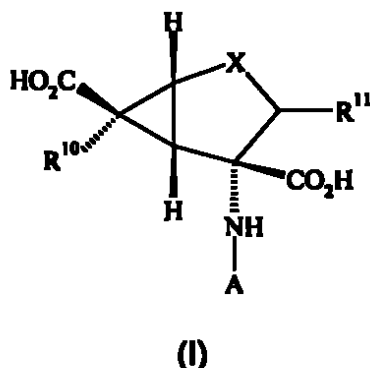
La presente invención proporciona formas profármaco de compuestos agonistas del receptor mGluR2, que mejoran la potencia *in vivo* del compuesto precursor respectivo y producen mayor exposición oral del compuesto precursor. Los compuestos de la presente invención representan la mejor técnica para mantener la seguridad y eficacia de agonistas del receptor
25 mGluR2 descrito con anterioridad con una mayor biodisponibilidad oral.

En las solicitudes PCT números de serie PCT/US01/45866 y PCT/US02/00488 se describen profármacos de aminoácidos excitadores sintéticos y procedimientos para su preparación.

5

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I



en la que

10

A es H-(Q)_p;

Q se selecciona independientemente, en cada aparición, del grupo aminoácido;

p es un número entero de 1 a 10;

X es O, S, SO, SO₂ o CR³R⁴;

15

R³ es fluoro, X'OR⁵, SO₃H, tetrazol-5-ilo, CN, PO₃R⁶₂, hidroxilo o NO₂, y R⁴ es hidrógeno; o cada uno de R³ y R⁴ representa fluoro; o R³ y R⁴ representan juntos =O, =NOR⁷ o =CR⁸R⁹; o uno de R³ o R⁴ representa amino y el otro representa carboxilo; o R³ representa N₃, (CH₂)_mCOOR^{5a}, (CH₂)_mPO₃R^{6a}₂, NHCONHR^{5b} o NHSO₂R^{5c}, y R⁴ representa hidrógeno; o

20

R³ y R⁴ representan juntos =CHCOOR^{5b}, =CHPO₃R^{6a}₂ o =CHCN;

X' representa un enlace, CH₂ o CO;

m es un número entero de 1 a 3;

R⁵, R^{5a}, R^{5b}, R^{5c}, R⁷, R⁸ y R⁹ son, de forma independiente, un átomo de hidrógeno; un grupo alquilo (1-6C) opcionalmente sustituido; un grupo alquenilo (2-6C) opcionalmente sustituido; un grupo alquinilo (2-6C) opcionalmente sustituido; un grupo aromático opcionalmente sustituido; un grupo heteroaromático opcionalmente sustituido; un grupo carbocíclico no aromático; un grupo heterocíclico no aromático; un grupo carbocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos; o un grupo heterocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos;

R⁶ y R^{6a} representan independientemente hidrógeno o un grupo alquilo (1-6C);

R¹⁰ es hidrógeno o fluoro; y

R¹¹ es hidrógeno, fluoro o hidroxil;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona también un compuesto de Fórmula I en la que los sustituyentes son como se han definido antes, con tal que el compuesto no sea uno en el que X es CR³R⁴, siendo R³ fluoro y R⁴ es hidrógeno, p es 1 y Q es L-alanilo; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona también un compuesto de Fórmula I en la que A es H-(Q)_p; Q se selecciona independientemente, en cada aparición, del grupo aminoácido; p es un número entero de 1 a 3; X es O, S, SO, SO₂ o CR³R⁴; R³ es fluoro o hidroxil, y R⁴ es hidrógeno; o R³ y R⁴

representan juntos =O; R¹⁰ es hidrógeno o fluoro; y R¹¹ es hidrógeno, fluoro o hidroxilo; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona también un compuesto de Fórmula I en la que A es H-(Q)_p; Q es L-alanilo; p es 1; X es CR³R⁴; R³ es fluoro y R⁴ es hidrógeno; R¹⁰ es hidrógeno; y R¹¹ es hidrógeno; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Se apreciará que los compuestos de Fórmula I contienen al menos cuatro átomos de carbono asimétricos. La presente invención incluye todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de Fórmula I, incluyendo cada uno de los enantiómeros individuales y sus mezclas tales como formas profármaco de compuestos descritos en la patente '826 tales como, por ejemplo, ácido 1SR,4RS,5RS,6RS-4-amino-(2-sulfonilbicyclo[3.1.0]hexano)-4,6-dicarboxílico.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende, en asociación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, un compuesto de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento para afectar a los receptores de glutamato metabotrópico ligados a cAMP en un paciente, que comprende administrar a un paciente que requiere una neurotransmisión modulada de aminoácidos excitadores una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I. Esta invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la fabricación de un medicamento para afectar a los receptores de glutamato metabotrópico ligados a cAMP en un paciente.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento de administración de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula II que comprende administrar a un paciente que requiere neurotransmisión modulada de aminoácidos excitadores una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I. Esta invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la fabricación de un medicamento para administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula II.

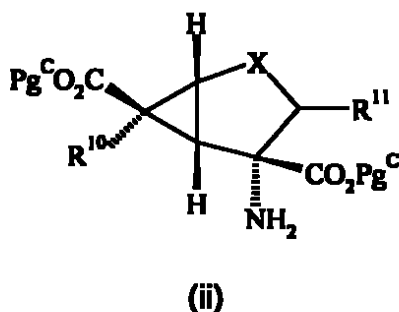
Otro aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento para tratar un trastorno neurológico en un paciente que comprende administrar al paciente que necesite el tratamiento una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I. Esta invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno neurológico en un paciente.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento para tratar un trastorno psiquiátrico en un paciente que comprende administrar al paciente que necesite el tratamiento una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I. Esta invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno psiquiátrico en un paciente.

Los compuestos de Fórmula I se pueden preparar por un procedimiento que es análogo a uno conocido en la técnica química para la producción de compuestos heterocíclicos estructuralmente análogos o por un nuevo procedimiento descrito en la presente memoria. Dichos procedimientos e intermedios útiles para la fabricación de un compuesto de Fórmula I como se ha definido antes se ilustran por los siguientes procedimientos en los que, a no

ser que se indique de otro modo, los significados de los radicales genéricos son como se definen en la presente memoria.

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar compuestos de Fórmula I que comprende acilar un compuesto de fórmula (ii):



con un aminoacilo correspondiente de Fórmula III



en la que Pg^{N} es un grupo protector de nitrógeno y A es como se ha definido antes;

a continuación, para cualquiera de los procedimientos anteriores, cuando se protege un grupo funcional usando un grupo protector, retirar el grupo protector;

a continuación, para cualquiera de los procedimientos anteriores: cuando se requiere una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmula I, hacer reaccionar la forma básica de dicho compuesto de Fórmula I con un ácido proporcionando un contraión farmacéuticamente aceptable; o para un compuesto de Fórmula I que tiene un resto ácido, hacer reaccionar la forma ácida de dicho compuesto de Fórmula I con una base que proporciona el catión farmacéuticamente aceptable; o para un compuesto bipolar de Fórmula

I, neutralizar la forma de sal de adición de ácidos o la forma sal de adición de bases de dicho compuesto de Fórmula I; o por cualquier otro procedimiento convencional.

La presente invención también proporciona compuestos de Fórmula I, en la que X es CH², R¹⁰ es fluoro, y el resto de variables son como se han definido antes.

Descripción detallada de la invención

Se ha encontrado que los compuestos de la invención son profármacos útiles de compuestos que son agonistas selectivos de receptores de glutamato metabotrópicos y, por tanto, son útiles en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central tales como enfermedades neurológicas, por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas y como agentes antipsicótico, ansiolítico, para el abandono de drogas, antidepresivo, anticonvulsivo, analgésico y antiemético.

Se apreciará que los compuestos de Fórmula I contienen al menos cuatro átomos de carbono asimétricos, estando tres en el anillo ciclopropano y uno en el carbono α del grupo aminoácido. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden existir en y aislarse en forma enantioméricamente pura, en forma racémica o en una mezcla diastereoisomérica.

El resto aminoácido tiene preferiblemente la configuración de aminoácidos natural, es decir, la configuración L relativa al aldehído D-glicerol.

La presente invención incluye sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de Fórmula I. Estas sales pueden existir en combinación con la porción ácida o básica de la molécula y pueden existir en forma de sales de

adición de ácidos, de amonio primario, secundario, terciario o cuaternario, de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos. Por lo general, las sales de adición de ácidos se pueden preparar por la reacción de un ácido con un compuesto de Fórmula I. De forma alternativa, las sales de adición de ácidos se pueden preparar haciendo reaccionar el penúltimo compuesto (intermedio protegido) con equivalentes apropiados de ácido para producir la forma de sal correspondiente que, a su vez, se puede hacer reaccionar para producir un compuesto de Fórmula I u otras sales. Las sales de metales alcalinos y de metales alcalinotérreos se preparan por lo general por la reacción de la forma hidróxido de la sal del metal deseado con un compuesto de Fórmula I.

Algunas sales particulares proporcionan ciertas ventajas de formulación debido a su forma cristalina. Las formas amorfas no cristalinas de compuestos pueden ser higroscópicas. Las formas cristalinas de compuestos farmacéuticos son a menudo más deseables debido a que presentan propiedades en estado sólido favorables.

Los ácidos empleados corrientemente para formar tales sales incluyen ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, sulfúrico o fosfórico, o con ácidos orgánicos, tales como ácidos carboxílicos orgánicos, por ejemplo, ácidos glicólico, maleico, hidroximaleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, salicílico, o-acetoxibenzoico u orgánico sulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, tolueno-p-sulfónico, metanosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, bencenosulfónico o etanosulfónico.

Además de las sales farmacéuticamente aceptables, en la invención se incluyen otras sales. Estas pueden servir como intermedios en la purificación de compuestos o en la preparación de otras sales de adición de ácidos

farmacéuticamente aceptables, o son útiles para identificar, caracterizar o purificar.

En la presente invención, los compuestos de Fórmula I incluyen solvatos de los mismos. En particular, los compuestos de Fórmula I incluyen sus
5 hidratos.

Además, la presente invención contempla profármacos de compuestos fluorados como se describe en las solicitudes internacionales números PCT/JP99/03984, PCT/JP99/00324 y PCT/JP01/05550. Véanse las publicaciones internacionales números WO/0012464, WO/9938839 y
10 WO/0200605, respectivamente. Por ejemplo, la presente invención contempla profármacos de ácido 1S,2R,5S,6S-2-amino-6-fluoro-4-oxobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico; ácido 1S,2R,4S,5S,6S-2-amino-6-fluoro-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico; ácido 1S,2R,3R,5S,6S-2-amino-3-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico; y ácido 1S,2R,3S,5S,6S-2-amino-6-
15 fluoro-3-hidroxiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico.

Se ha demostrado que una diversidad de funciones fisiológicas están sujetas a la influencia de una estimulación excesiva o inapropiada de la transmisión de aminoácidos excitadores. Se cree que los compuestos de Fórmula I de la presente invención tienen la capacidad de tratar una diversidad
20 de trastornos neurológicos en mamíferos asociados con este estado, incluyendo trastorno neurológico agudo tal como deficiencias cerebrales después de cirugía de derivación cardíaca o injerto, ictus, isquemia cerebral, traumatismo de la médula espinal, traumatismo craneal, hipoxia perinatal, parada cardíaca y lesión neuronal hipoglucémica. Se cree que los compuestos
25 de Fórmula I tienen la capacidad de tratar una diversidad de trastornos

neurrológicos crónicos tales como enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, demencia inducida por SIDA, lesión ocular y retinopatía, trastornos cognitivos y Parkinson idiopático e inducido por fármacos. La presente invención también proporciona procedimientos para
5 tratar estos trastornos que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de Fórmula I de la presente invención tratan una diversidad de trastornos neurológicos diferentes en pacientes que están
10 asociados con disfunción del glutamato, incluyendo espasmos musculares, convulsiones, cefaleas migrañosas, incontinencia urinaria, dolor, trastorno disfórico premenstrual (PDD), psicosis (tal como esquizofrenia), tolerancia, deshabitación, abandono y deseo de drogas (tales como nicotina, opiáceos, cocaína, benzodiazepinas y etanol), ansiedad y trastornos relacionados,
15 emesis, edema cerebral, dolor crónico y discinesia tardía. Los compuestos de Fórmula I también son útiles como antidepresivos y analgésicos. Por tanto, la presente invención también proporciona procedimientos para tratar estos trastornos que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de compuesto de Fórmula I, o una de sus sales
20 farmacéuticamente aceptables.

Las siguientes definiciones se dan para explicar el significado y alcance de diversos términos usados en la presente memoria. Los términos generales usados en la presente memoria tienen sus significados habituales.

El término "afectar" se refiere a un compuesto de Fórmula II que actúa
25 como agonista en un receptor de aminoácido excitador. El término "receptor de

aminoácido excitador" se refiere a un receptor de glutamato metabotrópico, un receptor que se acopla a efectores celulares a través de proteínas que se unen a GTP. El término "receptor de glutamato metabotrópico ligado a cAMP" se refiere a un receptor metabotrópico que está acoplado para inhibir la actividad
5 de adenilato ciclasa.

El término "trastorno neurológico" se refiere a estados patológicos neurodegenerativos agudos y crónicos, incluyendo deficiencias cerebrales después de cirugía de derivación cardiaca o injerto, isquemia cerebral (por ejemplo ictus derivado de parada cardiaca), traumatismo de la médula espinal,
10 traumatismo craneal, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, demencia inducida por SIDA, hipoxia perinatal, lesión neuronal hipoglucémica, lesión ocular y retinopatía, trastornos cognitivos, Parkinson idiopático e inducido por fármacos. Este término incluye también otros estados patológicos neuronales que están causados por disfunción del
15 glutamato, incluyendo espasmos musculares, cefaleas migrañosas, incontinencia urinaria, tolerancia, deshabitación, abandono y deseo de drogas (en concreto, opiáceos, benzodiazepinas, nicotina, cocaína o etanol), abandono del tabaco, emesis, edema cerebral, dolor crónico, trastornos del sueño, convulsiones, síndrome de Tourette, trastorno por déficit de atención y
20 discinesia tardía.

El término "trastorno psiquiátrico" se refiere a estados patológicos psiquiátricos agudos y crónicos incluyendo esquizofrenia, ansiedad y trastornos relacionados (por ejemplo, ataques de pánico, y trastornos cardiovasculares relacionados con el estrés), depresión, trastornos bipolares, psicosis, trastornos
25 obsesivo-compulsivos, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de estrés

agudo y trastorno de pánico.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto, tras la administración única o múltiple al paciente, que proporciona el efecto deseado en el paciente bajo
5 diagnóstico o tratamiento.

Se puede determinar una cantidad eficaz por el médico encargado, como experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Al determinar la cantidad o dosis eficaz de compuesto administrado, se considerarán una
10 serie de factores por el médico encargado, incluyendo, aunque sin quedar limitados a los mismos: la especie de animal; su tamaño, edad y salud general; la enfermedad específica en cuestión; el grado de implicación o la intensidad de la enfermedad; la respuesta del paciente particular; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de
15 biodisponibilidad de la preparación administrada; la pauta de dosificación seleccionada; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes. Por ejemplo, una dosis diaria típica puede contener de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 300 mg del ingrediente activo. Los compuestos se pueden administrar por una diversidad de vías que incluyen las
20 vías oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, bucal o intranasal. Como alternativa, el compuesto se puede administrar por infusión continua.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, cobaya, rata, perro o ser humano. Se
25 sobreentiende que el paciente preferido es un ser humano.

El término "tratamiento" (o "tratar") tal y como se usa en la presente memoria incluye su significado aceptado generalmente que incluye impedir, prevenir, limitar, y ralentizar, detener o invertir la progresión de un síntoma resultante. Como tales, los procedimientos de la presente invención incluyen
5 tanto la administración terapéutica como profiláctica.

Los términos químicos generales usados en la presente memoria tienen sus significados habituales. Por ejemplo, el término "alquilo (1-6C) se refiere a un grupo lineal o ramificado. Ejemplos de valores para un grupo alquilo (1-6C) incluyen alquilo (1-4C) tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo e
10 isobutilo. El término "alquenilo (2-6C) " incluye alquenilo (2-4C), tal como alilo. El término "alquinilo (2-6C) " incluye alquinilo (2-4C), tal como propinilo.

El término "opcionalmente sustituido", tal como se usa en los términos "grupo alquilo (1-6C) opcionalmente sustituido," "grupo alquenilo (2-6C) opcionalmente sustituido" y "grupo alquinilo (2-6C) opcionalmente sustituido,"
15 significa en la presente que uno o más sustituyentes pueden estar presentes, preferiblemente de uno a tres, estando seleccionados dichos sustituyentes de átomos y grupos que, cuando están presentes en el compuesto de Fórmula I, no impiden que el compuesto de Fórmula I module la función del receptor de glutamato metabotrópico.

20 Ejemplos de átomos y grupos que pueden estar presentes en un grupo alquilo (1-6C) opcionalmente sustituido, un grupo alquenilo (2-6C) opcionalmente sustituido o un grupo alquinilo (2-6C) opcionalmente sustituido son un grupo aromático opcionalmente sustituido, un grupo heteroaromático opcionalmente sustituido, un grupo carbocíclico no aromático, un grupo
25 heterocíclico no aromático, un grupo carbocíclico monocíclico no aromático

condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos y un grupo heterocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos.

El término "grupo heteroaromático" incluye un anillo aromático de 5 a 6 miembros que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno y un grupo bicíclico aromático que comprende un anillo de 5 a 6 miembros que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno condensado con un anillo benceno o un anillo de 5 a 6 miembros que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno. Ejemplos de grupos heteroaromáticos son furilo, tiofenilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirimidilo, benzofurilo, benzotiofenilo, benzoimidazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo e indolilo.

El término "grupo aromático" incluye fenilo y un anillo carbocíclico aromático policíclico tal como naftilo.

El término "opcionalmente sustituido" tal y como se usa en los términos "grupo heteroaromático opcionalmente sustituido" y "grupo aromático opcionalmente sustituido," significa en la presente memoria que pueden estar presentes uno o más sustituyentes, estando seleccionados dichos sustituyentes de átomos y grupos que, cuando están presentes en el compuesto de Fórmula I, no impiden que el compuesto de Fórmula I module la función del receptor de glutamato metabotrópico.

Ejemplos de átomos y grupos que pueden estar presentes en un grupo heteroaromático opcionalmente sustituido o un grupo aromático opcionalmente sustituido son amino, hidroxilo, nitro, halógeno, alquilo (1-6C), alcoxi (1-6C),

alquiltio (1-6C), carboxi, alcoxi (1-6C)carbonilo, carbamollo, alcanoil (1-6C)amino, alquil (1-6C)sulfonilo, alquil (1-6C)sulfonilamino, fenilo opcionalmente sustituido, fenoxi, feniltio, fenilsulfonilo, fenilsulfonilamino, toluenosulfonilamino, fluoroalquilo (1-6C) y fluoroalcoxi (1-6C). Ejemplos de
5 valores particulares son amino, hidroxí, fluoro, cloro, bromo, yodo, metilo, metoxi, metiltio, carboxi, acetilamino, metanosulfonilo, nitro, acetilo, fenoxi, feniltio, fenilsulfonilo, metanosulfonilamino y trifluorometilo.

Ejemplos de valores para un grupo aromático opcionalmente sustituido son 1-naftilo, 2-naftilo, fenilo, 2-bifenilo, 3-bifenilo, 4-bifenilo, 2-hidroxifenilo, 3-
10 hidroxifenilo, 4-hidroxifenilo, 2-fluorofenilo, 3-fluorofenilo, 4-fluorofenilo, 2,4-difluorofenilo, 3,4-difluorofenilo, pentafluorofenilo, 2-clorofenilo, 3-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2,4-diclorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 3-cloro-4-fluorofenilo, 3,5-diclorofenilo, 2-bromofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 2-metilfenilo, 3-metilfenilo, 4-metilfenilo, 2-metoxifenilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 2,3-
15 dimetoxifenilo, 2,5-dimetoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,5-dimetoxifenilo, 2-trifluorometilfenilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-trifluorometilfenilo, 2-fluoro-3-trifluorometilfenilo, 3-trifluorometil-4-fluorofenilo, 3-trifluorometil-5-fluorofenilo, 2-fluoro-5-trifluorometilfenilo, 2-fenoxifenilo, 3-fenoxifenilo, 3-carboxifenilo y 4-carboxifenilo.

20 El término "grupo carbocíclico no aromático" incluye un grupo monocíclico, por ejemplo un grupo cicloalquilo (3-10C), tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclónonilo o ciclodecilo y un grupo policíclico condensado tal como 1-adamantilo o 2-adamantilo, 1-decalilo, 2-decalilo, 4a-decalilo, biciclo[3,3,0]oct-1-ilo, -2-ilo o -3-
25 ilo, biciclo[4,3,0]non-1-ilo, -2-ilo, -3-ilo o -7-ilo, biciclo[5,3,0]dec-1-ilo, -2-ilo, -3-

ilo, -4-ilo, -8-ilo o -9-ilo y biciclo[3,3,1]non-1-ilo, -2-ilo, -3-ilo o 9-ilo.

El término "grupo heterocíclico no aromático" incluye un anillo de 4 a 7 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno, por ejemplo azetidin-1-ilo o -2-ilo, pirrolidin-1-ilo, -2-ilo o -3-ilo, piperidin-1-ilo, -2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, hexahidroazepin-1-ilo, -2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, oxetan-2-ilo o -3-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo o -3-ilo, tetrahidropiran-2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, hexahidrooxepin-2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, tietan-2-ilo o -3-ilo, tetrahidrotiofen-2-ilo o -3-ilo, tetrahidrotiopiran-2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, hexahidrotiepin-2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, piperazin-1-ilo o -2-ilo, morfolin-1-ilo, -2-ilo o -3-ilo, tiomorfolin-1-ilo, -2-ilo o -3-ilo, tetrahidropirimidin-1-ilo, -2-ilo, -4-ilo o -5-ilo, imidazolin-1-ilo, -2-ilo o -4-ilo, imidazolidin-1-ilo, -2-ilo o -4-ilo, oxazolin-2-ilo, -3-ilo, -4-ilo o -5-ilo, oxazolidin-2-ilo, -3-ilo, -4-ilo o -5-ilo, tiazolin-2-ilo, -3-ilo, -4-ilo o -5-ilo, o tiazolidin-2-ilo, -3-ilo, -4-ilo o -5-ilo.

El término "grupo carbocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos" incluye un grupo cicloalquilo (3-10C) condensado con un anillo benceno o un anillo aromático de 5 a 6 miembros que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno, tal como indanilo, 1,2,3,4-tetrahidronaft-1-ilo o -2-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-ilo, -6-ilo, -7-ilo o 8-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolin-5-ilo, -6-ilo, -7-ilo o 8-ilo, 4,5,6,7-tetrahidrobenzotiofen-4-ilo, -5-ilo, -6-ilo o -7-ilo, dibenzo[2,3,6,7]cicloheptan-1-ilo o -4-ilo, dibenzo[2,3,6,7]ciclohept-4-en-1-ilo o -4-ilo o 9-fluorenilo.

El término "grupo heterocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos" incluye un anillo de 4 a 7 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados

de oxígeno, azufre y nitrógeno, condensado con un anillo benceno o un anillo aromático de 5 a 6 miembros que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre y nitrógeno, tal como 2,3-dihidrobenzopiran-2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, xanten-9-ilo, 1,2,3,4-tetrahidroquinolin-1-ilo, -2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, 9,10-dihidroacridin-9-ilo o -10-ilo, 2,3-dihidrobenzotipiran-2-ilo, -3-ilo o -4-ilo, o dibenzotipiran-4-ilo.

El término "grupo protector de nitrógeno" tal y como se usa en la presente memoria y como se representa por "Pg^N," se refiere a los grupos destinados a proteger o bloquear el grupo nitrógeno contra reacciones indeseables durante los procedimientos de síntesis. La elección del grupo protector de nitrógeno adecuado usado dependerá de las condiciones que se empleen en las posteriores etapas de reacción en las que se requiere protección, como es bien conocido por un experto en la técnica. Grupos protectores de nitrógeno comúnmente usados se describen en T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3^a Ed. (John Wiley & Sons, New York (1999)). Un grupo protector de nitrógeno preferido es *terc*-butoxicarbonilo.

El término "grupo protector de carboxilo," tal y como se usa en la presente memoria y se representa por "Pg^C," se refiere a uno de los derivados éster del grupo ácido carboxílico empleado comúnmente para bloquear o proteger el grupo ácido carboxílico mientras se llevan a cabo reacciones sobre otros grupos funcionales del compuesto. Valores particulares incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, *terc*-butilo, bencilo, metoximetilo, trimetilsililo y similares. Otros ejemplos de dichos grupos se pueden encontrar en T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, 3^a Ed. (John Wiley &

Sons, New York (1999)). Grupos protectores de carboxilo preferidos son metilo y etilo. El éster se descompone usando un procedimiento convencional que no afecta a otra porción de la molécula.

El término "grupo protector de hidroxilo" representa un grupo conocido por un experto en la técnica química orgánica del tipo descrito en el Capítulo 2 de Greene and Wuts. Grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen, por ejemplo, grupos éter, grupos éter etílico sustituido, grupos éter isopropílico, grupos éter fenílico y fenílico sustituido, grupos éter bencílico y bencílico sustituido, grupos éter alquilsililo, grupos protectores éster y similares. La especie de grupo protector de hidroxilo empleado no es crítica con tal que el grupo hidroxilo derivatizado sea estable a las condiciones de las posteriores reacciones en otras posiciones de la molécula intermedia y se pueda retirar selectivamente en el punto apropiado sin alterar al resto de la molécula incluyendo cualquier otro grupo(s) protector de hidroxilo.

El término "aminoácido" se refiere a un aminoácido derivado de un aminoácido seleccionado del grupo formado por aminoácidos naturales y no naturales como se definen en la presente memoria. Los aminoácidos naturales pueden ser neutros, positivos o negativos, dependiendo de los sustituyentes en la cadena lateral. "Aminoácido neutro" se refiere a un aminoácido que contiene sustituyentes de cadena lateral sin carga. Ejemplos de aminoácidos neutros incluyen alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptofano, metionina, glicina, serina, treonina, cisteína, glutamina y asparagina. "Aminoácido positivo" se refiere a un aminoácido en el que los sustituyentes en la cadena lateral están cargados positivamente al pH fisiológico. Ejemplos de aminoácidos positivos incluyen lisina, arginina e histidina. "Aminoácido

negativo" se refiere a un aminoácido en el que los sustituyentes en la cadena lateral tienen una carga negativa neta al pH fisiológico. Ejemplos de aminoácidos negativos incluyen ácido aspártico y ácido glutámico. Aminoácidos preferidos son α -aminoácidos. Los aminoácidos más preferidos son α -aminoácidos que tienen estereoquímica L en el carbono α . Ejemplos de α -aminoácidos naturales son valina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptófano, metionina, glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, lisina, arginina, histidina, ácido aspártico y ácido glutámico.

"Aminoácido no natural" se refiere a un aminoácido para el que no existe codon de ácidos nucleicos. Ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen, por ejemplo, los isómeros D de los α -aminoácidos naturales que se han indicado antes; Aib (ácido aminobutírico), β Aib (ácido 3-aminoisobutírico), Nva (norvalina), β -Ala, Aad (ácido 2-aminoadípico), β Aad (ácido 3-aminoadípico), Abu (ácido 2-aminobutírico), Gaba (ácido γ -aminobutírico), Acp (ácido 6-aminocaproico), Dbu (ácido 2,4-diaminobutírico), ácido α -aminopimélico, TMSA (trimetilsilil-Ala), alle (allo-isoleucina), Nle (norleucina), *tert*-Leu, Cit (citrulina), Orn, Dpm (ácido 2,2'-diaminopimélico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropiónico), α - o β -Nal, Cha (ciclohexil-Ala), hidroxiprolina, Sar (sarcosina), O-metiltirosina, fenilglicina y similares; aminoácidos cíclicos; aminoácidos N^{α} -alquilados en los que el aminoácido N^{α} -alquilado es aminoácido N^{α} -alquilo (1-10C) tal como MeGly (N^{α} -metilglicina), EtGly (N^{α} -etilglicina) y EtAsn (N^{α} -etilasparagina) y aminoácidos en los que el carbono α tiene dos sustituyentes en cadena lateral. Ejemplos de α -aminoácidos no naturales incluyen D-alanina, D-leucina y fenilglicina. Los nombres de aminoácidos naturales y no naturales y sus restos usados en la presente memoria siguen los convenios de nomenclatura

sugeridos por la Comisión Conjunta de Nomenclatura Bioquímica (JCBN) IUPAC-IUB que se describe en "Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides (Recommendations, 1983)" European Journal of Biochemistry, 138, 9-37 (1984). En caso de que los nombres y abreviaturas de aminoácidos y
5 restos de los mismos empleados en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas difieran de los indicados, se explicarán los nombres y abreviaturas diferentes.

Aunque todos los compuestos de Fórmula I son agonistas del receptor de mGluR2 útiles activos, se prefieren ciertos compuestos. Los siguientes
10 párrafos definen las clases preferidas.

- A) Q es glicilo, alanilo, valilo, leucilo, isoleucilo, prolilo, fenilalanilo, tirosilo, triptofilo, metionilo, lisilo o serinilo.
- B) Q es alanilo.
- 15 C) Q es metionilo.
- D) p es 1.
- E) p es 2.
- F) X es SO₂.
- G) X es CR³R⁴.
- 20 H) R³ es fluoro y R⁴ es hidrógeno.
- I) R³ es hidroxilo y R⁴ es hidrógeno.
- J) R³ y R⁴ juntos representan =O.
- K) R¹⁰ es hidrógeno.
- L) R¹⁰ es fluoro.
- 25 M) R¹¹ es hidrógeno.

- N) El compuesto es una base libre.
O) El compuesto es una sal.
P) El compuesto es la sal clorhidrato.
Q) El compuesto es la sal mesilato.
5 R) El compuesto es la sal esilato.
S) El compuesto es la sal tosilato.

Los párrafos anteriores se pueden combinar para definir otras clases preferidas de compuestos.

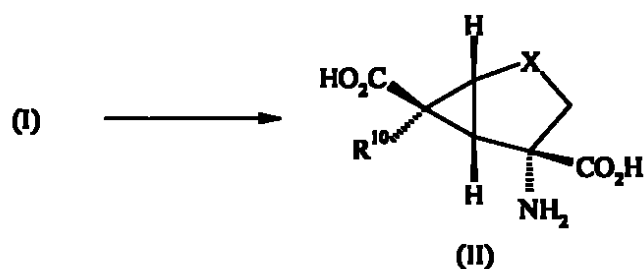
- 10 Los compuestos de Fórmula I son útiles para el tratamiento de trastornos de mamíferos y el mamífero preferido es un ser humano.

- Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por una diversidad de procedimientos, algunos de los cuales se ilustran en los siguientes esquemas. El orden particular de las etapas requerido para producir
15 los compuestos de Fórmula I depende del compuesto particular que se sintetice, del compuesto de partida y del carácter lábil de los restos sustituidos. Algunos sustituyentes pueden haberse eliminado en los siguientes esquemas por motivos de claridad y no pretenden limitar los esquemas en modo alguno. Como apreciará un experto en la técnica, los sustituyentes R^{15} y R^{16}
20 representan la cadena lateral apropiada para formar el aminoácido deseado.

- Si no están disponibles de forma comercial, los materiales de partida necesarios para los siguientes esquemas pueden prepararse por procedimientos que se seleccionan de técnicas convencionales de química orgánica y heterocíclica, técnicas que son análogas a las síntesis de
25 compuestos estructuralmente similares conocidos y los procedimientos

descritos en las preparaciones y ejemplos, incluyendo los nuevos procedimientos.

Esquema 1

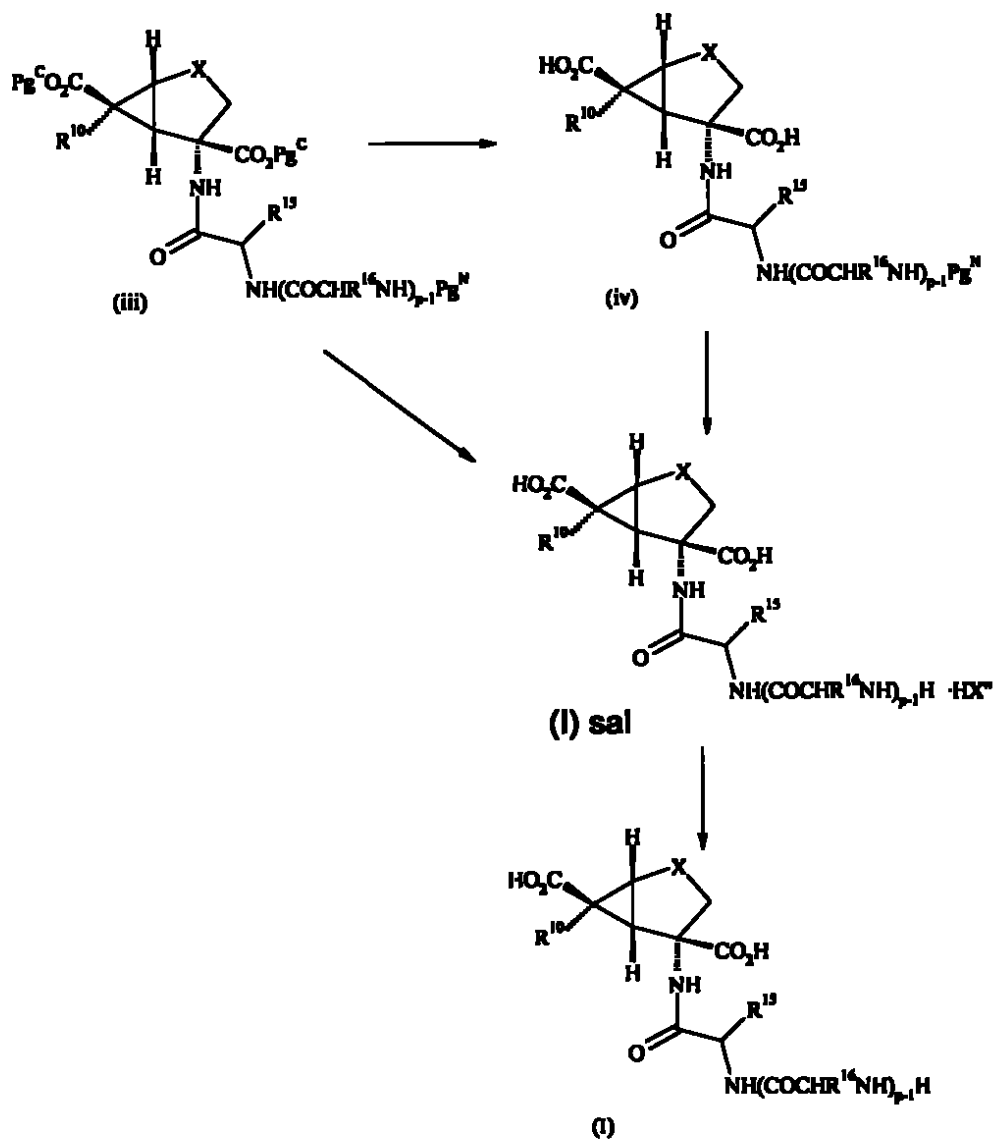


5

Los compuestos de Fórmula I se convierten por procedimientos enzimáticos o hidrolíticos *in vivo* formando compuestos de Fórmula II, como se muestra en el Esquema 1 anterior. En particular, se puede preparar una forma cristalina de un compuesto de Fórmula I de acuerdo con la ruta representada en el Esquema 2 siguiente.

10

Esquema 2

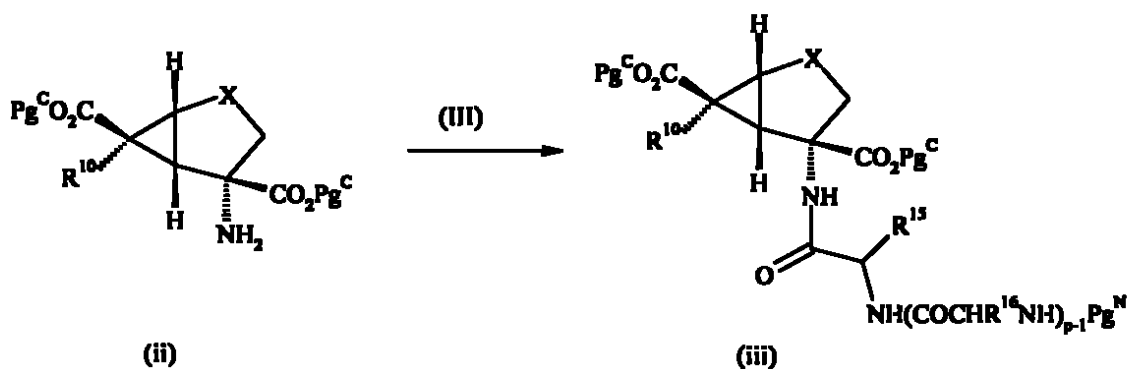


La hidrólisis de los compuestos de peptidilo protegido con diéster de fórmula (iii) con una base adecuada tal como hidróxido de litio o hidróxido sódico en un disolvente adecuado, tal como THF o THF/agua, proporciona el compuesto dipeptidilo protegido diácido de fórmula (iv). Se puede desproteger un compuesto de fórmula (iv) con un ácido adecuado en un disolvente adecuado. Dichas condiciones pueden producir la sal de ácido correspondiente

del compuesto de dipeptidilo diácido, representado en la sal de Fórmula I, como un sólido amorfo o, directamente, un sólido cristalino, en el que X⁻ representa el anión correspondiente. En el caso de un sólido amorfo, puede producirse una posterior cristalización en disolventes adecuados. Se pueden
5 formar sales carboxilato mediante la introducción de una especie catiónica por un reactivo tal como acetato sódico. Finalmente, se puede proporcionar el compuesto bipolar por tratamiento del compuesto sal cristalina con una base apropiada.

Por ejemplo, un compuesto de peptidilo protegido diácido de fórmula (IV)
10 cuando se trata con cloruro de hidrógeno gas en un disolvente adecuado proporciona la sal clorhidrato desprotegida como sólido amorfo. El compuesto clorhidrato amorfo se puede cristalizar entonces en acetona y agua proporcionando el compuesto sal clorhidrato cristalina. En el caso de un sólido cristalino que se forme directamente, la filtración de la mezcla de reacción
15 puede proporcionar la sal cristalina. El compuesto bipolar se proporciona por tratamiento de la sal clorhidrato cristalina con hidróxido sódico; como alternativa, el tratamiento del compuesto sal mesilato o el compuesto sal tosilato con hidróxido sódico también proporciona el compuesto bipolar. Se apreciará por los expertos en la técnica que se puede preparar un compuesto
20 de Fórmula I en un procedimiento en el que los intermedios indicados no se aíslan.

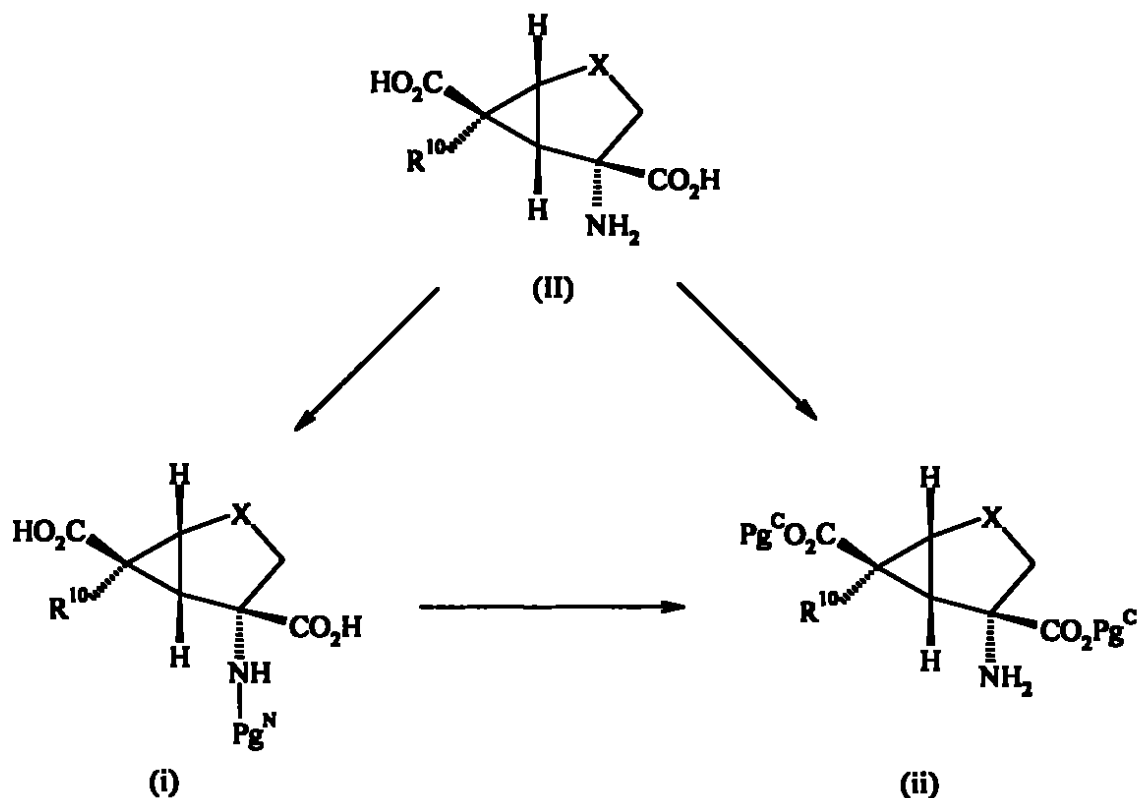
Esquema 3



El diéster de formula (ii) se acila con un compuesto de Fórmula III usando un agente de acoplamiento adecuado para proporcionar un
 5 compuestos de peptidilo protegido con diéster de formula (iii). Como alternativa, esta transformación se podría conseguir usando el cloruro de ácido de un compuesto de Fórmula III.

Reactivos de acoplamiento de péptidos adecuados incluyen
 10 diciclohexilcarbodiimida (DCC), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC), cloroformiato de isobutilo, clorofosfato de difenilo, 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT), cloruro de bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfino y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio.

Esquema 4



En el Esquema 4 anterior, se trata un compuesto de Fórmula II, un diácido, con un agente protector de carboxilo adecuado, tal como ácido clorhídrico catalítico o cloruro de tionilo y metanol o etanol, proporcionando el diéster correspondiente de fórmula (ii). Como alternativa, se puede tratar primero un compuesto de Fórmula II con un agente protector de nitrógeno tal como BOC_2O proporcionando un compuesto protegido en nitrógeno de fórmula (i). A continuación, se puede tratar compuesto de fórmula (i) con un agente protector de carboxilo tal como yoduro de metilo en presencia de una base tal como carbonato potásico, seguido por un agente de desprotección de nitrógeno tal como ácido clorhídrico o ácido trifluoroacético proporcionando un compuesto

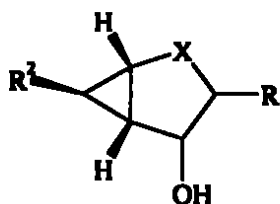
de fórmula (ii).

Además, un experto en la técnica reconocerá que dependiendo de X, puede ser necesario un agente protector apropiado. Por ejemplo, si X representa CR^3R^4 , R^3 representa hidroxilo y R^4 representa hidrógeno, entonces
5 un experto en la técnica apreciará que puede ser necesario un grupo protector de hidroxilo adecuado antes de proceder con los esquemas anteriores.

Los compuestos de Fórmula II son conocidos en la técnica. Por ejemplo, se pueden encontrar preparaciones de estos compuestos en las patentes de Estados Unidos números 5.688.826 (la patente '826) y 5.958.960
10 (la patente '960).

Sobre los procedimientos anteriormente descritos se han realizado diversas mejoras en la ruta de síntesis para los compuestos de Fórmula II. Las mejoras implican oxidación con azufre y alcohol, así como la resolución óptica de diversos intermedios como se describe más adelante.

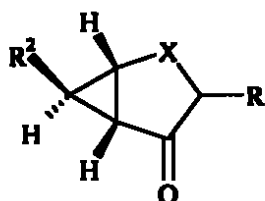
15 La primera mejora se refiere a la conversión descrita en la patente '826, en la columna 8, líneas 22 a 34 y columna 7, comienzo de la columna 33 (Fórmula V), que implica la oxidación de un compuesto de Fórmula VII de la patente '826



Fórmula (VII) de la patente '826

20

para formar un compuesto de Fórmula V de la patente '826

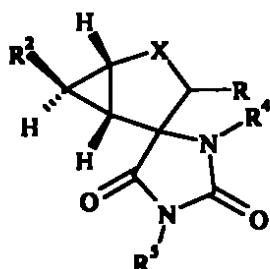


Fórmula (V) de la patente '826

Se ha descubierto que el complejo trióxido de azufre-piridina o anhídrido trifluoroacético en combinación con DMSO son los preferidos entre muchos procedimientos de oxidación conocidos en la técnica.

5

En segundo lugar, con respecto a la resolución de un compuesto de Fórmula III de la patente '826



Fórmula (III) de la patente '826

10 en la que R² representa un grupo carboxilo, a la que se hace referencia en la columna 8, líneas 3 a 7 y columna 6, comenzando en la línea 1 (Fórmula III), se ha descubierto que se prefieren (*R*)- α -metilbencilamina y quinina. Se prefiere de forma particular (*R*)- α -metilbencilamina.

Además, se ha descubierto que cuando se oxida el sulfuro de un
15 compuesto de Fórmula III de la patente '826 en la que X es azufre para formar un compuesto de Fórmula III de la patente '826 en la que X es sulfonilo, como se hace referencia en la patente '826 en la columna 8, líneas 39-53, se prefiere un sistema acuoso básico y peróxido de hidrógeno usado en combinación con un catalizador.

Los siguientes ejemplos ilustran con más detalle los compuestos de la presente invención y los procedimientos para su síntesis. Los ejemplos no pretenden limitar el alcance de la invención en modo alguno y no se interpretarán en este sentido. Todos los experimentos se realizaron en presión

5 positiva de nitrógeno seco o argón. Todos los disolventes y reactivos se adquirieron de suministradores comerciales y se usaron tal y como se recibieron, amenos que se indique lo contrario. Se puede obtener tetrahidrofurano seco (THF) por destilación en sodio o cetil benzofenona sódica antes de usar. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN

10 de ^1H) se obtuvieron en un aparato Bruker Avance II bay-500 a 500 MHz, un Bruker Avance I bay-200 a 200MHz, o un Varian Inova/Varian 300/Varian 400 a 500 MHz. La espectroscopía de masas por electroionización (ESI) se llevó a cabo en un aparato Agilent MSD/B usando acetonitrilo/acetato amónico acuoso como fase móvil. La Espectroscopía de Masas con Bombardeo de Átomos

15 Rápidos (FABMS) se llevó a cabo en un aparato VG ZAB-2SE. La Espectroscopía de Masas de Desorción de Campo (FDMS) se llevó a cabo usando un aparato VG 70SE o un Varian MAT 731. Las rotaciones ópticas se miden con un polarímetro Perkin-Elmer 241. La separación cromatográfica en un Waters Prep 500 LC se lleva a cabo de forma general usando un gradiente

20 lineal de disolventes indicados en el texto. Las reacciones se controlan por lo general para determinar su finalización usando cromatografía de capa fina (TLC). La cromatografía de capa fina se llevó a cabo usando placas E. Merck Kieselgel 60 F254, 5 cm X 10 cm, 0,25 mm de espesor. Las manchas se detectaron usando una combinación de detección UV y química (placas

25 empapadas en una solución de molibdato cérico amónico [75 g de molibdato

amónico y 4 g de sulfato de cerio (IV) en 500 ml de ácido sulfúrico acuoso al 10%] y luego calentado en una placa caliente). La cromatografía ultrarrápida se llevó a cabo como se describe por Still, *et al.* Still, Kahn and Mitra, *J. Org. Chem.*, **43**, 2923 (1978). El análisis elemental para carbono, hidrógeno y nitrógeno se determinó en un analizador elemental Control Equipment Corporation 440 Elemental Analyzer o se realizó por Centro de Análisis de la Universidad Complutense (Facultad de Farmacia, Madrid, España). Los puntos de fusión se determinaron en capilares de vidrio abiertos en un aparato de puntos de fusión en un baño de aire caliente Gallenkamp o en un aparato de puntos de fusión de Büchi y están sin corregir.

Las abreviaturas, símbolos y términos usados en los ejemplos tienen los siguientes significados.

- Ac = acetilo
- Anal. = Análisis elemental
- 15 ATR = Reflexión Interna Total Atenuada
- Bn o Bzl = bencilo
- Bu = butilo
- BOC = t-butoxicarbonilo
- calcd = calculado
- 20 D₂O = óxido de deuterio
- DCC = dicitclohexilcarbodiimida
- DCM = 1,2-diclorometano
- DIBAL-H = hidruro de diisobutil aluminio
- DMAP = 4-dimetilaminopiridina
- 25 DMF = dimetilformamida

	DMSO = dimetil sulfóxido
	DSC = calorimetría de barrido diferencial
	EDC = clorhidrato de N-etil-N'N'-dimetilaminopropil carbodiimida
	ES = Electropulverización
5	Et = etilo
	EtOH = etanol
	FAB = Bombardeo con Átomos Rápidos (Espectroscopía de Masas)
	FDMS = Espectro de Masas de Desorción de Campo
10	FTIR = Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier
	HOAt = 1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	HOBt = 1-hidroxibenzotriazol
	HPLC = Cromatografía Líquida de Alta Resolución
	HRMS = Espectro de Masas de Alta Resolución
15	i-PrOH = isopropanol
	IR = Espectro Infrarrojo
	l = litro
	Me = metilo
	MeOH = metanol
20	MPLC = Cromatografía Líquida de Media Presión
	P.f. = Punto de fusión
	MTBE = t-butil metil éter
	NBS = N-bromosuccinimida
	RMN = Resonancia Magnética Nuclear
25	PC-TLC = Cromatografía de Capa Fina Centrífuga Preparativa

Ph = fenilo

p.o. = administración oral

i-Pr = isopropilo

Sal de Rochelle = tartrato sódico potásico

5 ta = temperatura ambiente

SM = material de partida

TBS = *tert*-butildimetilsililo

TEA = trietilamina

Temp. = temperatura

10 TFA = ácido trifluoroacético

THF = tetrahidrofurano

TLC = Cromatografía de Capa Fina

t-BOC = *tert*-butoxicarbonilo

15 Procedimiento general A

Acoplamiento con EDC entre aminas y N-BOC-(L)-aminoácidos

Se suspende el éster amino éster dialquilico de partida (un compuesto de fórmula ii, Esquema 3) (1,0 equiv.) en diclorometano seco en nitrógeno. Se añade secuencialmente el N-Boc-(L)-aminoácido correspondiente (1,5-2,0 equiv), EDC (1,5-2,0 equiv), HOBt (1,5-2,0 equiv) y dimetilaminopiridina (DMAP, 0,1-0,2 equiv). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se considera completa por TLC a no ser que se especifique de otro modo. Se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo y se lava secuencialmente con NaHCO₃ acuoso saturado y/o NaHSO₄ acuoso y salmuera. Después de secar sobre sulfato sódico y evaporar a vacío se

20

25

purifica el residuo bruto (un compuesto de fórmula iii) por cromatografía sobre gel de sílice usando el eluyente apropiado (de forma típica acetato de etilo/hexanos).

5 Procedimiento general B

Acoplamiento con anhídrido entre amina y anhídridos de isobutílicos N-BOC-(L)-aminoácido

Se añade N-metilmorfolina (NMM, 1,5 equiv. en 1 ml de CH₂Cl₂) a una solución del N-Boc-(L)-aminoácido correspondiente (1,5 equiv) en 10 diclorometano seco (10 ml) a -20°C en nitrógeno seguido por la adición, gota a gota de cloroformiato de *iso*-butilo (IBCF, 1,5 equiv, en 5 ml CH₂Cl₂) a una velocidad tal que la temperatura de reacción interna no sobrepase -15°C. Se agita la mezcla de reacción resultante a -20°C durante 30 minutos y luego se añade una solución a -20°C de clorhidrato del éster dietílico del ácido 15 (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,0 equiv) en diclorometano (10 ml) a una velocidad tal que la temperatura de reacción interna no sobrepase -15°C. Una vez completada la adición, se retira el baño de enfriamiento y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se considera completa por TLC. Se diluye la 20 mezcla de reacción con acetato de etilo y se lava secuencialmente con NaHCO₃ acuoso saturado, NaHSO₄ acuoso y salmuera. Después de secar sobre sulfato de magnesio y evaporar a vacío, se purifica el residuo bruto por cromatografía sobre gel de sílice usando el eluyente apropiado (de forma típica hexanos/acetato de etilo).

Procedimiento general C

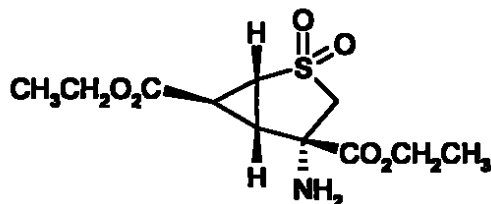
Retirada secuencial del grupo protector N-Boc y éster

Se agita el derivado peptídico diéster N-Boc (un compuesto de fórmula iii, Esquema 2) (1,0 equiv) en una mezcla 1:1 de THF/LiOH 2,5 N (10-20 equiv) a temperatura ambiente durante hasta 4 horas. Se diluye la reacción con H₂O y se lava con acetato de etilo. Se descarta la fase orgánica. Se ajusta la fase acuosa hasta pH 2 con HCl 1 N (NaCl añadido a la fase acuosa para potenciar la capacidad de extracción cuando sea necesario) y se extrae exhaustivamente el producto ácido N-boc dicarboxílico (un compuesto de fórmula iv) con acetato de etilo. Se combinan los extractos orgánicos, se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO₄ y se concentran hasta sequedad a vacío proporcionando el carboxilato producto deseado como un sólido espumoso. Se disuelve en acetato de etilo y se enfría hasta 0°C. Se purga la mezcla de reacción con HCl gas anhidro hasta que se satura de HCl. Se agita la mezcla de reacción resultante a 0°C durante hasta 4 horas. Se aísla el derivado peptídico totalmente desprotegido (un compuesto de Fórmula I) en forma de su sal clorhidrato por filtración en N₂ o por concentración de la mezcla de reacción hasta sequedad seguido por trituración con acetato de etilo o Et₂O y concentración hasta un polvo blanco. De forma opcional, para eliminar el disolvente residual y el HCl en exceso, la reconstitución del producto en agua, congelación y posterior liofilización proporciona los productos clorhidrato deseados.

Preparación 1

25 Éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-

biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



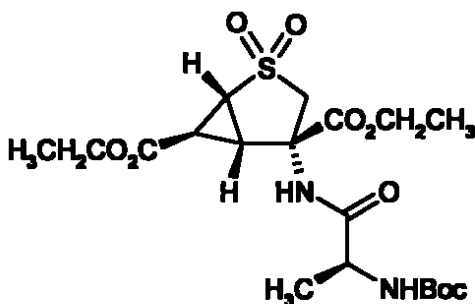
A una suspensión de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-
 biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (10 g, 42,5 mmol, patente de Estados
 5 Unidos N° 5.688.826) en 100 ml de etanol 2B a temperatura ambiente se añade
 cloruro de tionilo (15,5 ml, 212,6 mmol) gota a gota durante 20 minutos,
 seguido por aclarado con 40 ml de etanol. Se calienta la suspensión hasta
 reflujo y se agita durante la noche. El análisis por RMN de ¹H a 500 MHz
 (CD₃OD) de una alícuota concentrada revela el consumo completo del material
 10 de partida y el monoéster intermedio. Se deja que la solución resultante se
 enfríe hasta temperatura ambiente, luego se concentra hasta un residuo
 gelatinoso. Se añade EtOAc (50 ml) a la gelatina que se concentra
 posteriormente hasta un sólido, luego se diluye con otros 94 ml de EtOAc. Se
 añade carbonato sódico acuoso al 15% (70 ml) lentamente a la mezcla con
 15 removido a mano para proporcionar la disolución de forma gradual, dando un
 pH final de 7,95. Se filtra la precipitación de carbonato sódico resultante antes
 de extraer las fases. Se vuelve a extraer la fase acuosa con EtOAc (2 x 100
 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con salmuera (1 x 100 ml), se
 secan (MgSO₄), se filtra y concentran a vacío proporcionando aceite amarillo
 20 apagado que solidifica dando el compuesto del epígrafe como un sólido
 blanquecino (11,71 g, 95% rendimiento).

Recristalización

- Se calienta una mezcla del compuesto del epígrafe (200 mg) en EtOAc (800 μ l) hasta 56 °C, momento en el que se produce la disolución. Después de agitar durante 15 minutos a 56 °C, se añade heptano (1 ml) gota a gota a la disolución. Se desconecta la calefacción. Se deja que la solución se enfríe hasta 52°C momento en el que se produce la precipitación. Después de enfriar y diluir adicionalmente con heptano (600 μ l), se forma una suspensión. Se agita la suspensión resultante a temperatura ambiente durante 1 hora antes de filtrar, se lava con heptano (2 x 500 μ l) y se seca a 45 °C durante la noche dando 145 mg (73% de recuperación) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.
- 10 p.f. 80-83 °C.
- $[\alpha]_{25D} -57,7^\circ$ (c 1,04, CH₃OH).
- RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 4,31 (c, 2H, J = 7,0 Hz), 4,20 (m, 2H), 3,78 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 3,36 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,93 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,81 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,46 (t, 1H, J = 4,0), 1,34 (t, 3H, J = 7,0), 1,30 (t, 3H, J = 7,0).
- 15 RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 171,68, 168,57, 63,26, 62,42, 59,96, 56,06, 43,78, 32,25, 22,49, 14,31, 14,25.
- FTIR (ATR) 3364,15 (s), 1725,95 (s), 1304,91 (s), 1259,24 (s), 1200,84 (s), 1104,91 (s), 1022,99 (s), 896,45 (s), 851,21 (s) cm⁻¹.
- 20 Análisis calculado para C₁₁H₁₇NO₆S: C, 45,35; H, 5,88; N, 4,81. Encontrado: C, 45,02; H, 5,75; N, 4,82.

Preparación 2

- Éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico
- 25



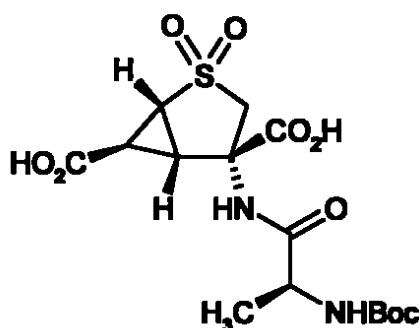
Se añade cloroformiato de iso-butilo (30,4 ml, 234 mmol) gota a gota durante 10 minutos a una solución de N-Boc-L-alanina (43,52 g, 230 mmol) y
5 N-metilmorfolina (25,5 ml, 232 mmol) en 457 ml de cloruro de metileno a -30 °C en nitrógeno. Se agita la suspensión clara resultante a -25 a -30 °C durante 30 minutos momento en el que se añade una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (63,90 g, 219 mmol, Preparación 1) en 213 ml de cloruro de metileno durante
10 25 minutos de tal modo que la temperatura de reacción no sobrepasa -25 °C. Tras completarse la adición, se retira el baño de enfriamiento y se deja agitando a temperatura ambiente durante 60 minutos, momento en el que la temperatura de reacción alcanza 19 °C y el color se vuelve naranja apagado. Se trata la reacción con 350 ml de HCl 1 N y se separan las fases. Se lava la
15 fase orgánica con NaHCO₃ acuosa saturada (1 x 350 ml) y salmuera (1 x 350 ml), se seca (Na₂SO₄), se filtra y se concentra a vacío hasta una espuma blanca (105,2 g, 104%).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,62 (s ancho, 1H), 4,90 (d ancho, 1H, J = 7,1 Hz), 4,34-4,10 (m, 6H), 3,39 (ddd, 1H, J = 7,2, 3,9, 1,0 Hz), 3,00 (dd, 1H, J =
20 7,1, 3,9 Hz), 2,90 (d ancho, 1H, J = 14,9 Hz), 2,43 (t, 1H, J = 4,1 Hz), 1,46 (s, 9H), 1,31 (m, 9H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 173,0, 168,6, 167,6, 80,9, 76,5, 63,3, 62,3, 59,9, 55,7, 42,8, 31,5, 28,2, 22,7, 16,6, 14,0, 13,9. MS (ES) m/z 461,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Preparación 3

5 Ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se añaden 490 ml (980 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de

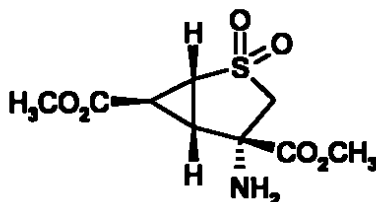
10 éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (181,4 g, 392 mmol teóricos, Preparación 2) en 292 ml de THF a temperatura ambiente. Se deja que la mezcla bifásica se agite vigorosamente a temperatura ambiente durante 1,25 horas momento en el que la reacción es

15 homogénea. Se diluye la mezcla con 490 ml de acetato de etilo y se separan las fases. Se diluye la fase acuosa con 490 ml de acetato de etilo y se reduce el pH de la mezcla hasta 1,5 con HCl concentrado. Se separan las fases y se vuelve a extraer la fase acuosa con 245 ml de acetato de etilo. Se secan las fases orgánicas reunidas (Na_2SO_4), se filtran y se concentran proporcionando

20 167,9 g (105%) del compuesto del epígrafe como una espuma blanca. Este material se usó sin caracterización en los Ejemplos 1 y 2.

Preparación 4

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



5

Se añade cloruro de tionilo (6,2 ml, 85,0 mmol) gota a gota a una suspensión agitada rápidamente de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (10,0 g, 42,5 mmol, patente de Estados Unidos N° 5.688.826) en MeOH (170 ml, 5 °C). Una vez completada la adición, se deja que la mezcla de reacción se caliente lentamente hasta temperatura ambiente, luego se calienta a reflujo durante 48 h. Se eliminan los volátiles a presión reducida y se reparte el residuo entre una solución saturada de NaHCO₃ (200 ml) y acetato de etilo (400 ml). Se separan las fases y se extrae la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 400 ml cada vez). Se secan las fases orgánicas reunidas sobre K₂CO₃ y se concentran a presión reducida proporcionando 8,10 g (30,8 mmol) del compuesto del epígrafe con un rendimiento del 72%.

15

$[\alpha]_D^{23} = -84^\circ$ (c = 0,5, MeOH).

20

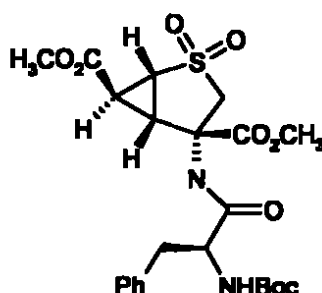
Análisis calculado para C₉H₁₃NO₆S: C, 41,06; H, 4,98; N, 5,32. Encontrado:

C, 40,94; H, 4,93; N, 5,30.

MS (ES) m/z 264,0 [M+H]⁺.

Preparación 5

Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-fenil-propionilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



5

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

10 Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta 100% de acetato de etilo). Rendimiento 0,85 g (88 %, 1,67 mmol) de una espuma blanca.

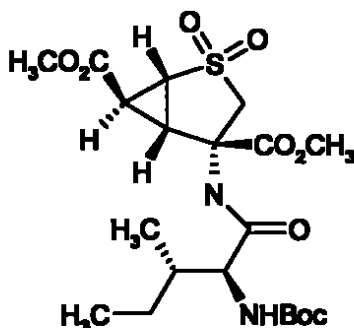
$[\alpha]_D^{23} = -35,2^\circ$ (c = 0,45, CHCl₃).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,43 (9H, s), 2,38-2,40 (1H, m), 2,86 (1H, d, J = 15,0 Hz), 2,91 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,04 (2H, d, J = 7,3 Hz), 3,35-3,39 (1H, m), 3,77 (3H, s), 3,84 (3H, s), 4,11 (1H, d, J = 14,3), 4,30 (1H, c aparente, J = 7,3), 4,96 (1H, d ancho, J = 6,6 Hz), 6,96 (1H, s ancho), 7,22-7,36 (5H, m).

Análisis calculado para C₂₃H₃₀N₂O₉S·0,1H₂O: C, 53,92; H, 5,94; N, 5,47.

Encontrado: C, 53,62; H, 5,90; N, 5,28.

20 MS (ES) m/z 509,16 [M - H]⁻; 411,2 [M - Boc]⁺.

Preparación 6**Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'S-metil-pentanoilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico**

5

Se prepara según el Procedimiento general A usando N-BOC-(L)-isoleucina disponible comercialmente y éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 4). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo durante la noche.

- 10 Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (10 % de acetato de etilo/hexanos hasta 100% de acetato de etilo). Rendimiento 0,75 g (83 %, 1,57 mmol) de una espuma blanca.

$[\alpha]_D^{23} = -32,65^\circ$ (c = 0,49, CHCl₃).

- RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,91 (3H, t, J = 7,3 Hz), 0,93 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,10-1,18 (1H, m), 1,46 (9H, s), 1,42-1,52 (1H, m), 1,81-1,86 (1H, m ancho), 2,51 (1H, t, J = 4,0 Hz), 2,95 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,06 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,43 (3H, dd, J = 3,7, 7,0 Hz), 3,78 (3H, s), 3,85 (3H, s), 3,82-3,90 (1H, m), 4,20 (1H, d, J = 14,7 Hz), 4,94 (1H, d, J = 8,4 Hz), 7,19 (1H, s ancho).

Análisis calculado para C₂₀H₃₂N₂O₉S: C, 50,41; H, 6,77; N, 5,88. Encontrado:

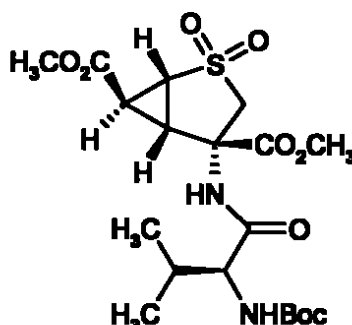
- 20 C, 50,32; H, 6,92; N, 5,76.

MS (ES) m/z 475,1 $[M - H]^+$.

Preparación 7

Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-metil-butirilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

5



Se prepara según el Procedimiento general A usando N-BOC-(*L*)-valina disponible de forma comercial y éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 4).

- 10 Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (10 % de acetato de etilo/hexanos 100% de acetato de etilo). Rendimiento 0,41 g (47 %, 0,89 mmol) de una espuma blanca.

$[\alpha]_D^{23} = -35,36^\circ$ ($c = 0,51$, CHCl₃).

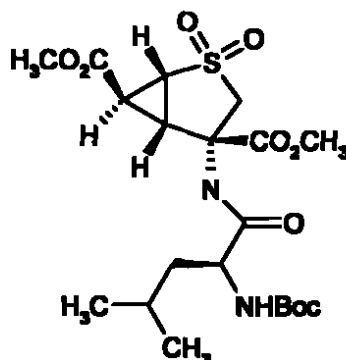
- 15 RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,93 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 0,96 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 1,46 (9H, s), 2,06-2,13 (1H, m), 2,50 (1H, t, $J = 4,0$ Hz), 2,94 (1H, d, $J = 15,0$ Hz), 3,04 (1H, dd, $J = 4,4, 7,3$ Hz), 3,43 (1H, dd, $J = 3,3, 6,6$), 3,78 (3H, s), 3,80-3,86 (1H, m), 3,86 (3H, s), 4,24 (1H, d, $J = 15,0$ Hz), 4,94 (1H, d, $J = 8,1$ Hz), 7,15 (1H, s ancho).
- 20 Análisis calculado para C₁₉H₃₀N₂O₆S: C, 49,34; H, 6,54; N, 6,06. Encontrado:

C, 49,33; H, 6,44; N, 6,05.

MS (ES) m/z 461,2 $[M - H]^+$

Preparación 8

- 5 Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metil-pentanoilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



- Se prepara según el Procedimiento general A usando N-BOC-(*L*)-leucina monohidrato disponible de forma comercial y éster dimetílico del ácido
- 10 (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 4). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%). Rendimiento 0,85 g (94 %, 1,78 mmol) de una espuma blanca.

- 15 $[\alpha]_D^{23} = -46,15^\circ$ ($c = 1,04$, CHCl₃).

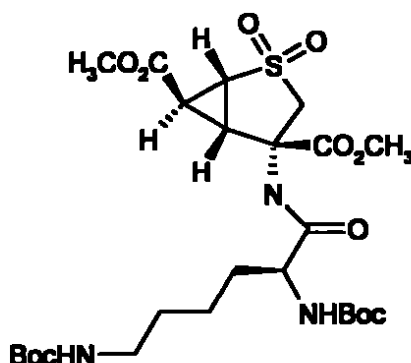
- RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,92 (3H, d, $J = 6,2$ Hz), 0,95 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 1,47 (9H, s), 1,42-1,47 (1H, m), 1,63-1,67 (1H, m), 2,46 (1H, t, $J = 3,7$ Hz), 2,87 (1H, d, $J = 15,0$ Hz), 3,04 (1H, dd, $J = 4,4, 7,3$ Hz), 3,41 (1H, dd, $J = 3,7, 7,0$), 3,78 (3H, s), 3,86 (3H, s), 4,00-4,05 (1H, m), 4,20 (1H, d, $J = 15,0$ Hz),
- 20 4,75 (1H, d, $J = 6,6$ Hz), 7,43 (1H, s ancho).

Análisis calculado para $C_{20}H_{32}N_2O_6S$: C, 50,41; H, 6,77; N, 5,88. Encontrado: C, 50,30; H, 6,82; N, 5,75.

MS (ES) m/z 475,2 $[M - H]^+$.

5 Preparación 9

Éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-bis-*tert*-butoxicarbonilamino-hexanoilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



- 10 Se prepara según el Procedimiento general A usando N-BOC-Lys(BOC)-OH disponible de forma comercial y éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 4). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO_2 , (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%).
- 15 Rendimiento 1,04 g (93 %, 1,76 mmol) de una espuma blanca.

$[\alpha]_D^{23} = -32,0^\circ$ (c = 0,5, $CHCl_3$).

- RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1,44 (9H, s), 1,46 (9H, s), 1,39-1,53 (3H, m), 1,56-1,65 (1H, m), 1,77-1,84 (2H, m), 2,50 (1H, t, J = 4,4 Hz), 2,98-3,20 (4H, m), 3,42 (1H, dd, J = 3,7, 7,0 Hz), 3,76 (3H, s), 3,86 (3H, s), 4,01 (1H, dd, J =
- 20

7,7, 13,2 Hz), 4,09-4,19 (1H, m), 4,71 (1H, t, J = 7,3 Hz), 5,13 (1H, s ancho), 7,59 (1H, s ancho).

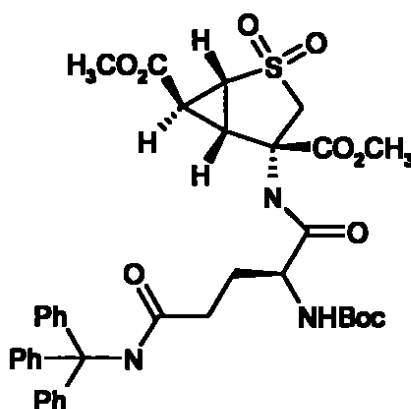
Análisis calculado para $C_{25}H_{41}N_3O_{11}S$: C, 50,75; H, 6,98; N, 7,10. Encontrado: C, 50,36; H, 6,99; N, 6,87.

5 MS (ES) m/z 590,2 $[M - H]^+$.

Preparación 10

Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-(tritol-carbamoyl)-butirilamino]-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-

10 dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando N-BOC-(L)-glutamina (Trt)-OH disponible de forma comercial y éster dimetílico del ácido
 15 (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 4). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO_2 , (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%). Rendimiento 0,53 g (48 %, 0,72 mmol) de una espuma blanca.

$[\alpha]_D^{23} = -8,0^\circ$ (c = 0,50, MeOH).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,42 (9H, s), 1,83-1,88 (1H, m), 2,03-2,18 (1H, m), 2,16 (1H, t, J = 4,0 Hz), 2,57-2,64 (1H, m), 2,60 (1H, d, J = 15,0 Hz), 2,64-2,80 (1H, m), 2,88 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,26 (1H, dd, J = 4,0, 7,0 Hz), 3,47
5 (3H, s), 3,76-3,90 (1H, m), 3,81 (3H, s), 4,05 (1H, d, J = 15,0 Hz), 5,47 (1H, s ancho), 7,02 (1H, s ancho), 7,20-7,35 (15H, m), 8,68 (1H, s ancho).

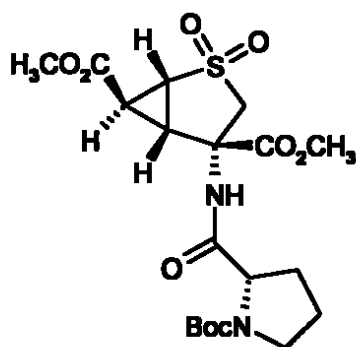
Análisis calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$: C, 62,20; H, 5,91; N, 5,73. Encontrado: C, 61,83; H, 6,09; N, 5,57.

MS (ES) m/z 731,9 [M - H]⁻;

10 HRMS calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$ [M + Na]⁺, 756,2567. Encontrado, 756,2585.

Preparación 11

Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[(1'-*tert*-butoxicarbonil-pirrolidina-
15 2'S-carbonil)-amino]-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-(L)-prolina disponible de forma comercial (0,61 g, 2,9 mmol) y éster dimetílico del ácido
20 (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico

(0,5 g, 1,9 mmol, Preparación 4). Se purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,87 gramos (99,2%) del compuesto del epígrafe.

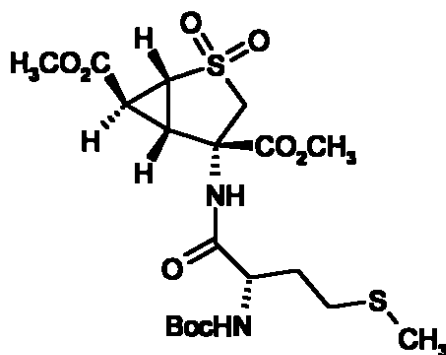
$[\alpha]_D^{23} = -61,2$ (c=0,49, CHCl₃).

5 RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,51 (9H, s), 1,75-1,98 (3H, m), 2,35-2,5 (2H, m), 2,84 (1H, d, J = 14,7 Hz), 2,9-3,03 (1H, m), 3,25-3,4 (1H, m), 3,3-4,1 (2H, m), 3,76 (3H, s), 3,86 (3H, s), 4,14-4,31 (2H, m), 8,66 (1H, s).

MS (ES) m/z 459,2 [M-1]⁻.

10 Preparación 12

Éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metilsulfanil-butilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



15

Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-(L)-metionina disponible de forma comercial (0,71 g, 2,9 mmol) y éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (0,5 g, 1,9 mmol, Preparación 4). Se purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,85 gramos (90,5%) del compuesto del

20

epígrafe.

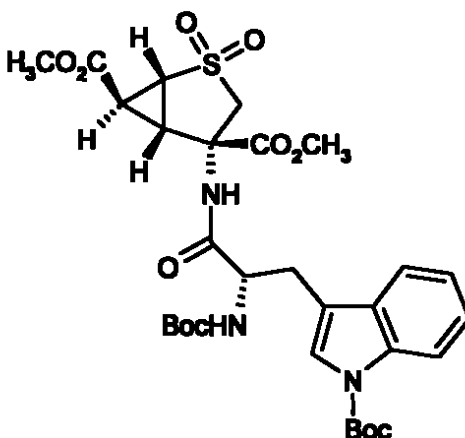
$[\alpha]_D^{23} = -20,4$ ($c=0,49$, CHCl_3).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,46 (9H, s), 1,69 (1H, s), 1,8-2,05 (2H, m), 1,9-2,0 (1H, m), 1,95-2,3 (3H, s ancho), 2,0-2,2 (1H, m), 2,4-2,8 (2H, m), 2,48
5 (1H, t, $J = 4,0$ Hz), 2,58 (1H, s ancho), 2,92 (1H, d, $J = 14,7$ Hz), 3,01 (1H, dd, $J = 4,4, 7,0$ Hz), 3,42 (1H, dd, $J = 3,7, 7,3$ Hz), 3,78 (3H, s), 3,87 (3H, s), 4,22-4,24 (2H, m), 5,06 (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 7,27 (1H, s).

MS (ES) m/z 493,1[M-1].

10 Preparación 13

Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-(1-*tert*-butoxicarbonil-1H-indol-3-il)-propionilamino]-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



15

Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-(L)-triptofano(Boc) disponible de forma comercial (1,1 g, 2,8 mmol) y éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (0,5 g, 1,9 mmol, Preparación 4). Se

purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,7 g (56,7%) del compuesto del epígrafe.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,44 (9H, s), 1,67 (9H, s), 2,37 (1H, s ancho), 2,86 (1H, d, $J = 15,0$ Hz), 2,88 (1H, t, $J = 4,4$ Hz), 3,15 (2H, d, $J = 6,6$ Hz), 3,39 (1H, dd, $J = 3,7, 7,0$ Hz), 3,73 (3H, s), 3,83 (3H, s), 4,18 (1H, d, $J = 14,7$ Hz), 4,37-4,44 (1H, m), 5,01 (1H, d ancho, $J = 8,1$ Hz), 7,11 (1H, s ancho), 7,25-7,59 (4H, m), 8,14 (1H, d ancho, $J = 8,4$ Hz).

$[\alpha]_D^{23} = -19,6$ ($c=0,51$, CHCl_3).

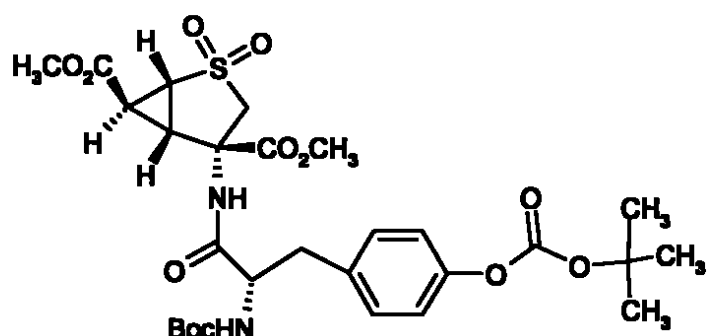
Análisis calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{S} \cdot 1,0 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2$: C, 55,35; H, 6,42; N, 5,70.

10 Encontrado: C, 54,98; H, 6,09; N, 6,07.

HRMS calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{Na}_1\text{S}$, 672,2203. Encontrado, 672,2180.

Preparación 14

15 Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-(4-*tert*-butoxicarboniloxi-fenil)-propionilamino]-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando ácido 2S-*tert*-butoxicarbonilamino-3-(4-*tert*-butoxicarboniloxi-fenil)-propiónico disponible de

20

forma comercial (1,1 g, 2,9 mmol) y éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (0,5 g, 1,9 mmol, Preparación 4). Se purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,94 g (79,0%) del compuesto del epígrafe.

5 $[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=1,00, CH₃OH).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (9H, s), 1,56 (9H, s), 2,44 (1H, t, J = 4,0 Hz), 2,88 (1H, d, J = 14,7 Hz), 2,98 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,04 (2H, d, J = 7,3 Hz), 3,38 (1H, dd, J = 4,0, 7,3 Hz), 3,77 (3H, s), 3,83 (3H, s), 4,11 (1H, d, J = 14,3 Hz), 4,22-4,29 (1H, c aparente, J = 7,3 Hz), 4,92 (1H, d ancho, J = 7,7

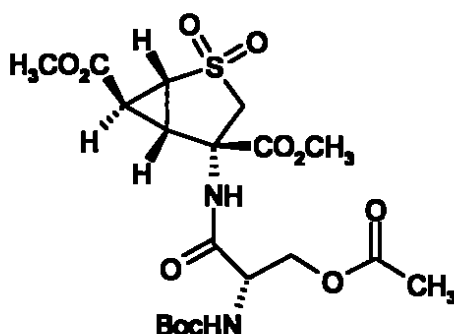
10 Hz), 7,07 (1H, s ancho), 7,1-7,26 (4H, m).

HRMS calculado para C₂₈H₃₈N₂O₁₂Na, 649,2043. Encontrado, 649,2001.

Preparación 15

Éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(3'-acetoxi-2'S-*terc*-butoxicarbonilamino-propionil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tiabicyclo[3.1.0]hexano-4,6-

15 dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando ácido 3-acetoxi-

20 2S-(*terc*-butoxicarbonilamino)propiónico (0,25 g, 1,0 mmol, Preparación 44) y

éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,8 mmol, Preparación 4) con la salvedad de que no se usa DMAP. Se purifica usando PC-TLC (acetato de etilo/hexanos) proporcionando 0,19 g (48,2%) del compuesto del epígrafe.

5 $[\alpha]_D^{23} = -24$ (c=1,0, CH₃OH).

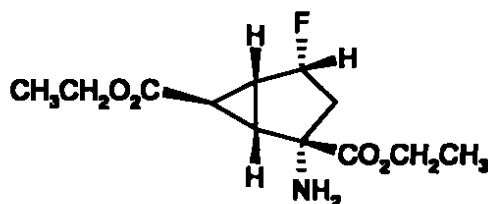
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,47 (9H, s), 2,10 (3H, s), 2,51 (1H, t, J = 4,4 Hz), 2,99-3,07(2H, m), 3,43 (1H, dd, J = 4,0, 7,3 Hz), 3,77(3H, s), 3,86 (3H, s), 4,14-4,40 (4H, m), 5,29 (1H, d ancho, J = 7,3 Hz), 7,64 (1H, s ancho).

HRMS calculado para C₁₉H₂₈N₂O₁₁Na, 515,1312. Encontrado, 515,1305.

10

Preparación 16

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



15

A una suspensión de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (14,45 g, 71,12 mmol, patente de Estados Unidos N° 5.958.960) en 202 ml de etanol absoluto a temperatura ambiente se añadió cloruro de tionilo (26 ml, 356 mmol) gota a gota durante 20 minutos. Se calienta la suspensión a reflujo y se deja agitando durante 3 horas. Se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se agita durante la noche. Se concentra la solución resultante a vacío hasta un residuo y se diluye con 136 ml

20

de acetato de etilo y se trata con 306 ml de carbonato sódico acuoso al 10% durante 15 minutos con agitación a mano de tal modo que el pH final es 10. Se separan las fases y se lava la fase acuosa con acetato de etilo (1 x 136 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con salmuera (1 x 136 ml), se secan
 5 (MgSO₄), se filtran y concentran a vacío proporcionando 17,07 g (93%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23} = +20,37^\circ$ (c = 1,1, MeOH).

p.f. = 64-66 °C.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1,28 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,31 (3H, t, J = 6,8 Hz),
 10 1,34-1,45 (1H, m), 1,85 (2H, s ancho), 2,17-2,21 (2H, m), 2,32-2,34 (1H, m),
 2,49 (1H, dd, J = 7,8, 14,1 Hz), 4,24 (2H, dc, J = 1,5, 7,3 Hz), 5,33-5,52 (1H, m). Análisis calculado para C₁₂H₁₈FNO₄: C, 55,59; H, 7,00; N, 5,40. Encontrado: C, 55,29; H, 6,75; N, 5,45.

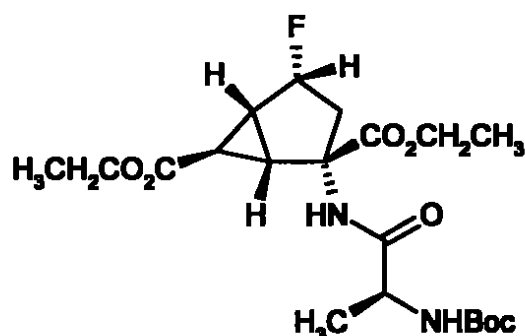
MS (ES) m/z encontrado 260,3 [M+H]⁺.

15

Preparación 17

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

20



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

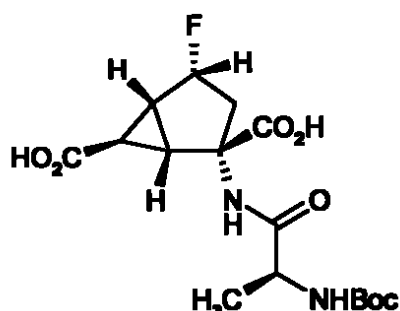
Análisis calculado para C₂₀H₃₁FN₂O₇•0,1 CH₂Cl₂: C, 55,00; H, 7,16; N, 6,38.

Encontrado: C, 55,18; H, 7,18; N, 6,49.

MS (ES) m/z 431,3 [M+H]⁺, 331,2 [M+H-Boc]⁺.

Preparación 18

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



5

Se añaden 238 ml (477 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (88,16 g, 191 mmol, Preparación 17) en 238 ml de THF a temperatura ambiente. Se deja agitando la mezcla bifásica vigorosamente a temperatura ambiente durante 2,5 horas, momento en el que la reacción es homogénea. Se diluye la mezcla con 238 ml de *t*-butil metil éter, seguido por mezclado y separación de las fases. Se diluye adicionalmente la fase acuosa con 238 ml de agua y se filtra para separar el material en partículas. Se trata la solución con HCl concentrado (42,9 ml, 515 mmol) durante 30 minutos, seguido opcionalmente por la adición de cristales iniciadores del compuesto del epígrafe y agitación durante 1 hora. Se filtra la suspensión resultante, se lava con agua (2 x 100 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 40 horas proporcionando 72,2 g del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. Se agita una porción del sólido (69,5 g) con 490 ml de acetona durante 1 hora produciendo una solución turbia; se filtra y se lava con acetona (2 x 100 ml).

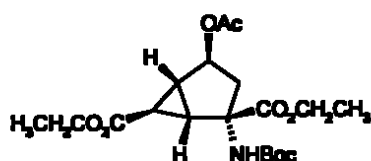
20

Se concentra el filtrado a vacío hasta una espuma blanca que se seca seguidamente a vacío a 45 °C durante 16 horas proporcionando 61,8 g (86%, corregido hasta acetona al 12% p/p) del compuesto del epígrafe. Este material se usó en los ejemplos 14-18 sin caracterización.

5

Preparación 19

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetiloxi-2-(terc-butoxicarbonil)aminobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



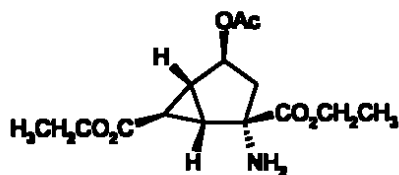
10

Se añade anhídrido acético (0,514 ml, 5,0 mmol) a una solución de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(terc-butoxicarbonil)amino-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,50 g, 4,20 mmol, documento US 5958960), piridina (0,365 ml, 4,62 mmol) y DMAP (0,513 g, 4,20 mmol) en diclorometano (40 ml) en nitrógeno. Se agita a temperatura ambiente durante 16 horas, se diluye con diclorometano y se vierte en solución acuosa de ácido cítrico al 10 % (50 ml). Se lava la fase orgánica con agua (50 ml) y salmuera (50 ml). Se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a vacío, produciendo el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (1,295 g, 75 %).

20 LCMS: m/z 400 $[M + H]^+$ y m/z 300 $[M + H - CO_2^tBu]^+$ @ R_T 1,39 min.

Preparación 20

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetiloxi-2-

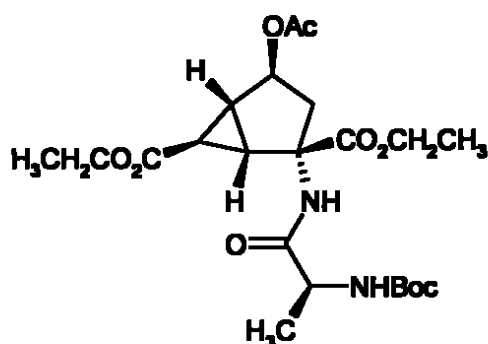
aminobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

Se disuelve éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetiloxi-2-(*terc*-
 5 butoxycarbonil)aminobicyclo-[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,25 g, 3,13 mmol, Preparación 19) en una solución de TFA al 95 % en diclorometano (60 ml) y se agita en nitrógeno a temperatura ambiente durante 5 minutos. Después de este tiempo se retira el TFA/ diclorometano a vacío. Se disuelve el producto bruto en una suspensión de NaHCO₃ (1,00 g) en diclorometano (50 ml) y se agita
 10 durante 30 minutos. Se filtra la suspensión, se lava con diclorometano (3 x 25 ml) y se concentra a vacío proporcionando 916 mg (98 %) del producto como un aceite amarillo.

LCMS: m/z 300 $[M + H]^+$ @ R_T (Tiempo de Retención) 0,92 min.

15 Preparación 21

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetiloxi-2-[2'S-(*terc*-butoxi)carbonilaminopropionil]-aminobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se añaden secuencialmente EDC (0,519 g, 2,72 mmol), HOBt (0,314 g, 2,32 mmol), DMAP catalítico (0,024 g, 0,19 mmol) y trietilamina (1,08 ml, 7,76 mmol) a una suspensión de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-4-acetiloxi-2-aminobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,80 g, 1,94 mmol, Preparación 20) y Boc-L-Ala (0,477 g, 2,52 mmol) en diclorometano anhidro (50 ml) en nitrógeno. A continuación se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos, la suspensión blanca inicial se disuelve totalmente. Se agita la reacción durante 16 horas, se diluye con diclorometano y se lava con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (50 ml), solución acuosa 1,0 N de HCl (3 x 20 ml) y solución de salmuera saturada (40 ml). Se seca la fase orgánica sobre MgSO₄ y se filtra y concentra a vacío. Se purifica la amida bruta resultante por cromatografía en columna usando una mezcla (4:1) de acetato de etilo y hexanos como eluyente, proporcionando 638 mg (75 %) del producto como un sólido blanco.

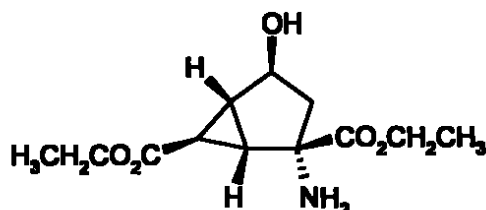
RMN de ¹H (CD₃OD)*: δ 5,05 (1H, d, 5,7 Hz), 4,09 (2H, c, 7,3 Hz), 4,02 (2H, c, 7,3 Hz), 4,01-3,94 (1H, m), 2,65-2,59 (2H, m), 2,38 (1H, d, 14 Hz), 2,10-2,03 (3H, m), 1,91 (3H, s), 1,78 (1H, dd, 5,9 Hz, 16 Hz), 1,59 (1H, s ancho), 1,34 (9H, s), 1,16 (6H, 2 x t, 7,3 Hz); *Nota. Protones intercambiables no observados por RMN = 2.

LCMS: *m/z* 471 [M + H]⁺ y *m/z* 371 [M + H – CO₂^tBu]⁺ @ R_T 1,30 min.

R_f 0,50 (80% acetato de etilo : heptano).

Preparación 22

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



Se enfría una solución de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-
10 *tert*-butoxicarbonilamino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (5,0 g,
14,0 mmol, documento US 5958960) en acetato de etilo hasta 0°C. Se burbujea
HCl (g) anhidro en la solución hasta saturación y se agita durante 0,5 horas.
Se deja calentar la reacción hasta temperatura ambiente y se agita durante 1
hora. Se concentra la mezcla de reacción y se reparte entre acetato de etilo y
H₂O. Se trata la fase acuosa con NaHCO₃ (ac) y se extrae con acetato de
15 etilo. Se secan los orgánicos con K₂CO₃ y se concentran proporcionando 2,2 g
(59,7%) de sólidos blancos.

$[\alpha]_D^{23} = -30,8$ (c=0,52, CH₃OH).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,26 (3H, t, J = 7,33 Hz), 1,36 (3H, t, 7,33 Hz),
1,60 (1H, dd, J = 5,87, 15,40 Hz), 1,64 (1H, t, J = 2,93 Hz), 2,27 (2H, s ancho),
20 2,15-2,29 (3H, m), 3,93 (1H, s ancho), 4,13 (2H, c, J = 6,97 Hz), 4,27-4,36 (3H,
m).

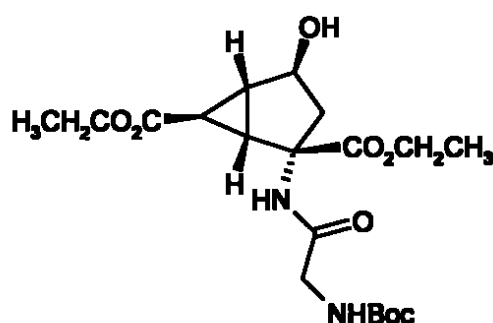
Análisis calculado para C₁₂H₁₉NO₅: C, 56,02; H, 7,44; N, 5,44. Encontrado: C,

55,75; H, 7,36; N, 5,40.

MS (ES) m/z 258,1 $[M+H]^+$.

Preparación 23

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



- Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-Glicina (458
10 mg, 2,62 mmol, Aldrich) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (450 mg, 1,75 mmol, Preparación 22). Se purifica en 35 g de sílice eluyendo con un gradiente de 50/50 hasta 20/80 de hexanos/acetato de etilo. Rendimiento: 560 mg (77%).

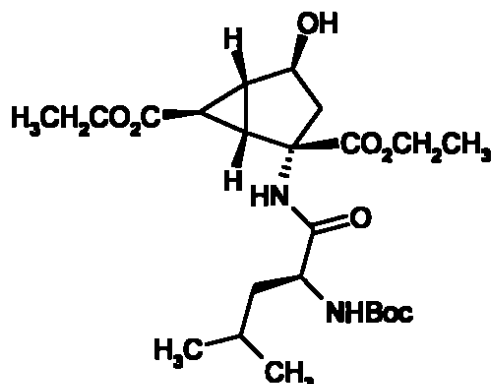
- RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,28 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 1,29 (3H, t, $J = 7,3$ Hz),
15 1,48 (9H, s), 1,57 (2H, m), 2,21 (1H, m), 2,41 (1H, dd, $J = 2,9, 5,8$ Hz), 2,81 (1H, d, $J = 15,6$ Hz), 3,76 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 4,10-4,18 (3H, m), 4,26 (2H, c, $J = 7,3$ Hz), 4,33 (1H, m), 5,10 (1H, s ancho), 6,86 (1H, s ancho).

Análisis calculado para $C_{19}H_{30}N_2O_8$: C, 55,06; H, 7,30; N, 6,76. Encontrado: C, 55,24; H, 7,50; N, 6,76.

- 20 MS (ES) m/z 415,2 $[M+H]^+$, 437,2 $[M+Na]^+$.

Preparación 25

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



5

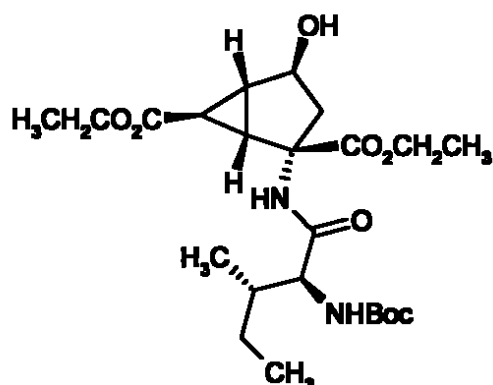
Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-Leucina (606 mg, 2,62 mmol, Chemlog) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (450 mg, 1,75 mmol, Preparación 22). Se purifica el material bruto en 35 g de sílice; se eluye con un
10 gradiente de 70/30 a 20/80 de hexanos/acetato de etilo. Rendimiento 689 mg (84%) de una espuma blanca.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 0,96 (6H, m), 1,28 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 1,29 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 1,46 (9H, s), 1,45-1,73 (5H, m), 2,20 (1H, m), 2,42 (1H, m), 2,80 (1H, d, $J = 16,1$ Hz), 4,07-4,35 (7H, m), 4,81 (1H, d ancho), 6,86 (1H, s ancho).
15 Análisis calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 0,1\text{H}_2\text{O}$: C, 58,48; H, 8,15; N, 5,93. Encontrado: C, 58,22; H, 7,94; N, 5,92.
MS (ES) m/z 471,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 493,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Preparación 26

20 Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'S-

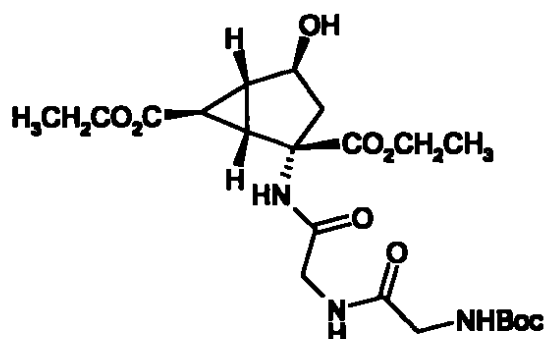
metil-pentanoilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-Isoleucina
- 5 (606 mg, 2,62 mmol, Aldrich) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (450 mg, 1,75 mmol, Preparación 22). Se purifica el material bruto en 35 g de sílice eluyendo con un gradiente de 70/30 a 20/80 de hexanos/acetato de etilo. Rendimiento: 731 mg (89%).
- 10 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 0,92 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 0,97 (3H, d, $J = 6,8$ Hz), 1,17 (1H, m), 1,29 (6H, t, $J = 6,8$ Hz), 1,46 (9H, s), 1,53 (1H, dd, $J = 5,8, 15,6$ Hz), 1,58 (1H, t, $J = 2,4$ Hz), 1,74 (1H, m), 1,83 (1H, m), 2,20 (1H, m), 2,43 (1H, m), 2,80 (1H, d, $J = 15,6$ Hz), 3,88 (1H, dd, $J = 7,3, 8,8$ Hz), 4,12-4,32 (6H, m), 4,98 (1H, d, $J = 7,3$ Hz), 6,60 (1H, s).
- 15 Análisis calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 0,2\text{H}_2\text{O}$: C, 58,25; H, 8,16; N, 5,91. Encontrado: C, 58,17; H, 8,11; N, 5,91.
- MS (ES) m/z 471,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 493,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Preparación 27

- 20 Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-*tert*-butoxicarbonilamino-

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

Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-Gly-Gly (474
 5 mg, 2,04 mmol) y clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-
 amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (400 mg, 1,36 mmol,
 Preparación 22 sin tratamiento básico) con las siguientes excepciones. No se
 usa DMAP. Se añade un equivalente de trietilamina. Se purifica el material
 bruto en 35 g de sílice; se eluye con acetato de etilo. Rendimiento: 517 mg
 10 (81%).

$[\alpha]_D^{23} = -18,18$ (c=0,55, MeOH).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,26 (3H, t, J = 6,8 Hz), 1,27 (1H, t, J = 7,3 Hz),
 1,28 (3H, t, J = 6,8 Hz), 1,46 (9H, s), 1,59 (1H, t, J = 3,4 Hz), 1,62 (1H, dd, J =
 6,3, 16,1 Hz), 2,21 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 2,46 (1H, dd, J = 2,4, 5,8 Hz), 2,73
 15 (1H, d, J = 15,6 Hz), 3,78-3,91 (3H, m), 4,01-4,15 (3H, m), 4,24 (2H, c, J = 6,8
 Hz), 4,32 (1H, d, J = 5,8 Hz), 5,28 (1H, ancho), 6,87 (1H, t ancho, J = 4,9 Hz),
 7,39 (1H, s ancho).

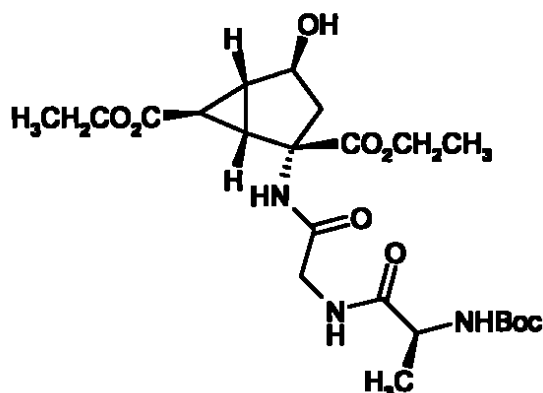
HRMS calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_9$, 472,2295. Encontrado, 472,2303.

HPLC: 16,755 min. Columna: Symmetry C18, 3,5 μm , 4,6X150 mm. λ = 230
 20 nM. Caudal: 1 mL/min. Gradiente: ACN 10% a 50% /agua que contiene TFA al

0,1% durante 25 min.

Preparación 28

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



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-Ala-Gly (502 mg, 2,04 mmol) y clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (400 mg, 1,36 mmol, Preparación 22 sin tratamiento básico) con las siguientes excepciones. No se usa DMAP. Se añade un equivalente de trietilamina. Se purifica el material bruto en 35 g de sílice eluyendo con acetato de etilo. Rendimiento: 500 mg (76%).

15 $[\alpha]_D^{23} = -31,37 (c=0,55, \text{MeOH})$.

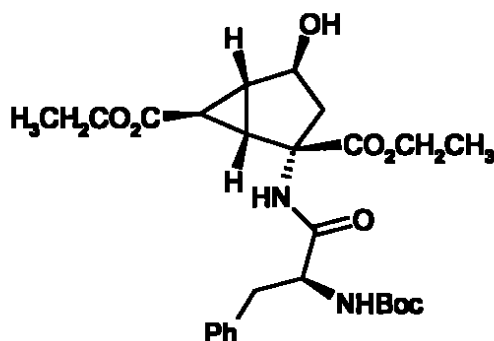
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,27 (3H, t, $J = 6,8$ Hz), 1,28 (3H, t, $J = 6,8$ Hz), 1,42 (3H, d, $J = 6,8$ Hz), 1,45 (9H, s), 1,58 (1H, t, $J = 3,4$ Hz), 1,64 (1H, dd, $J = 5,8, 15,6$ Hz), 2,23 (1H, dd, $J = 3,4, 5,8$ Hz), 2,50 (1H, dd, $J = 2,9, 6,3$ Hz), 2,69 (1H, d, $J = 15,6$ Hz), ABc de dobletes (2H, $\nu_A = 3,87$, $\nu_B = 3,98$ $J_{AB} = 17,1$ Hz,

$J_d=6,3$ Hz), 3,92 (1H, m), 4,07-4,16 (3H, m), 4,24 (2H, c, $J = 7,3$ Hz), 4,32 (1H, b), 5,08 (1H, b), 6,84 (1H, bt, $J = 4,88$ Hz), 7,14 (1H, s ancho).

HRMS calculado para $C_{22}H_{36}N_3O_9$, 486,2452. Encontrado, 486,2451.

5 Preparación 29

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



- 10 Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-fenilalanina (772 mg, 2,91 mmol) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (480 mg, 1,94 mmol, Preparación 22). Se concentra la mezcla de reacción bruta, se disuelve en diclorometano, se somete a cromatografía ultrarrápida a través de un lecho corto de gel de
- 15 sílice con acetato de etilo/DCM (1:1) y se concentra a vacío dando un aceite amarillo. Se purifica posteriormente el material por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 30%/hexanos hasta acetato de etilo al 80%/hexanos proporcionando 852 mg (87%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -23,66$ ($c=0,93$, MeOH).

- 20 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,22 – 1,30 (6H, m), 1,35 (9H, s), 1,59 (1H, t,

J = 2,9 Hz), 1,70 (1H, dd, J = 5,5, 15,4 Hz), 2,06 (1H, m), 2,40 (1H, d, J = 15,4 Hz), 2,63 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,76 (1H, dd, J = 9,2, 13,9 Hz), 4,08 – 4,33 (6H, m), 7,20 – 7,29 (5H, m).

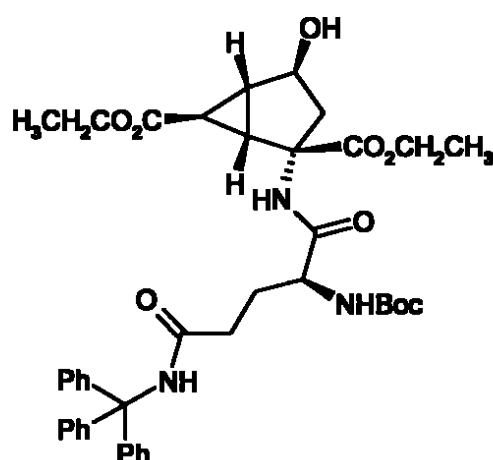
MS encontrado 505,0 [M+H]⁺.

5 HRMS calculado para C₂₈H₃₈N₂O₈, 505,2550. Encontrado, 505,2559.

Preparación 30

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

10



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-glutamina(Tritil)-OH (1,40 g, 2,86 mmol) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (490
15 mg, 1,90 mmol, Preparación 22), con la excepción de que no se usa DMAP. Se concentra la mezcla de reacción bruta, se disuelve en diclorometano, se somete a cromatografía ultrarrápida a través de un lecho corto de gel de sílice con acetato de etilo y se concentra a vacío dando un aceite amarillo. La purificación adicional por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con

acetato de etilo al 30%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%/hexanos proporciona 1,3 g (94%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -21,28$ ($c=0,94$, MeOH).

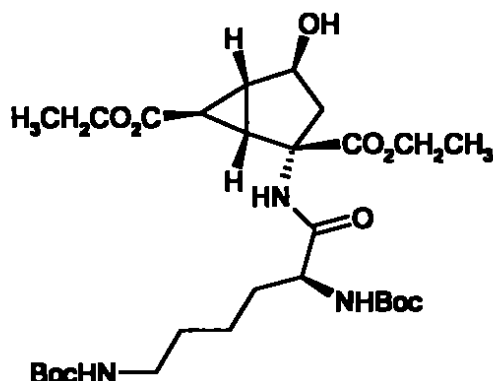
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,18 – 1,26 (6H, m), 1,44 (9H, s), 1,62 – 1,74 (3H, m), 1,91 – 2,00 (1H, m), 2,05 (1H, m), 2,38 – 2,48 (3H, m), 2,54 (1H, m), 4,00 – 4,27 (6H, m), 7,18 – 7,30 (15H, m).

MS encontrado 728,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_9$, 728,3547. Encontrado, 728,3533.

10 Preparación 31

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



15

Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-lisina(Boc)-OH (910 mg, 2,63 mmol) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico (450 mg, 1,75 mmol, Preparación 22), con la salvedad de que no se añade DMAP a la mezcla de
20 reacción. Se concentra la mezcla de reacción bruta, se disuelve en

diclorometano, se somete a cromatografía ultrarrápida a través de un lecho corto de gel de sílice con acetato de etilo y se concentra a vacío dando un aceite amarillo. La purificación adicional del material por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexanos (1:1) proporciona 800 mg

5 (78%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -30,19$ (c=0,53, MeOH).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,21 – 1,24 (6H, m), 1,26 – 1,77 (27H, m), 2,07 (1H, m), 2,42 (1H, d, $J = 15,8$ Hz), 2,59 (1H, dd, $J = 2,6, 5,5$ Hz), 3,03 (1H, t, $J = 6,2$ Hz), 3,99 (1H, m), 4,07 – 4,28 (5H, m).

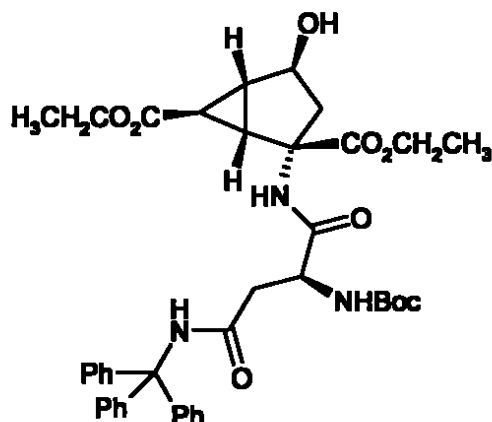
10 MS encontrado 586,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{10}$, 586,3340. Encontrado, 586,3348.

Preparación 32

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-

15 (trítill-carbamoil)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-asparagina(Tritil)-OH (1,35 g, 2,84 mmol) y éster dietílico del ácido

(1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (476 mg, 1,85 mmol, Preparación 22), con la salvedad de que no se añade DMAP a la mezcla de reacción. Se concentra la mezcla de reacción bruta, se disuelve en diclorometano, se somete a cromatografía ultrarrápida a través de un lecho
 5 corto de gel de sílice con acetato de etilo y se concentra a vacío dando un aceite amarillo. La purificación adicional del material por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 20%/hexanos hasta acetato de etilo al 50%/hexanos proporciona 1,07 g (81%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -25,45$ (c=0,55, MeOH).

10 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,19 – 1,26 (6H, m), 1,45 (9H, s), 1,61 – 1,69 (2H, m), 2,05 (1H, m), 2,44 (1H, d, J = 15,4 Hz), 2,51 – 2,72 (3H, m), 4,02 – 4,21 (4H, m), 4,25 (1H, d, J = 5,5 Hz), 4,36 (1H, dd, J = 4,8, 8,8 Hz), 7,18 – 7,30 (15H, m).

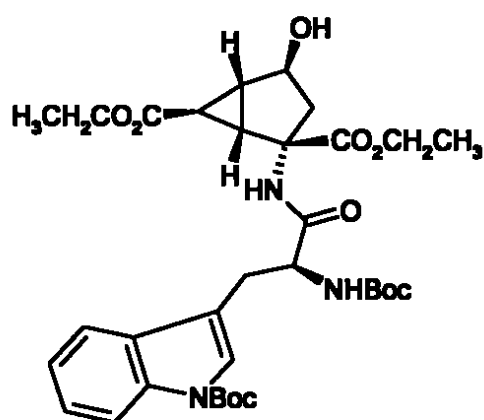
MS encontrado 714,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15 HRMS calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_9$, 714,3391. Encontrado, 714,3380.

Preparación 33

Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-(1'-*tert*-butoxicarbonil-1H-indol-3'-il)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-

20 2,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general A usando Boc-L-triptofano(Boc)-OH (1,18 g, 2,91 mmol) y éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico
 5 (520 mg, 1,90 mmol, Preparación 22). Se concentra la mezcla de reacción bruta, se disuelve en diclorometano, se somete a cromatografía ultrarrápida a través de un lecho corto de gel de sílice con acetato de etilo y se concentra a vacío dando un aceite amarillo. La purificación adicional del material por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/DCM (1:1)
 10 proporciona 1,2 g (92%) del compuesto del epígrafe.

$[\alpha]_D^{23} = -12,5$ ($c=0,96$, MeOH).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,18 – 1,27 (6H, m), 1,34 (9H, s), 1,62 (1H, t, $J = 2,9$ Hz), 1,67 (9H, s), 1,74 (1H, dd, $J = 5,9, 15,2$ Hz), 2,07 (1H, m), 2,46 (1H, d, $J = 15,7$ Hz), 2,60 (1H, d, $J = 2,9, 5,9$ Hz), 2,89 (1H, dd, $J = 9,3, 15,0$ Hz),
 15 3,16 (1H, dd, $J = 4,9, 15,2$ Hz), 4,04 – 4,12 (2H, m), 4,18 – 4,24 (2H, m), 4,27 (1H, d, $J = 5,4$ Hz), 4,43 (1H, dd, $J = 5,4, 9,3$ Hz), 7,26 (2H, m), 7,52 (1H, s), 7,64 (1H, d, $J = 7,3$ Hz), 8,10 (1H, d, $J = 8,3$ Hz).

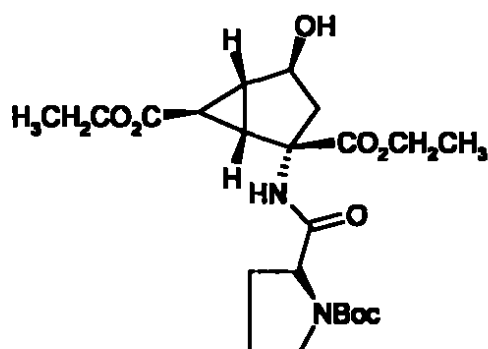
MS encontrado 644,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 666,8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_{10}$, 666,3002. Encontrado, 666,2988.

Preparación 34

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

5



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

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

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

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

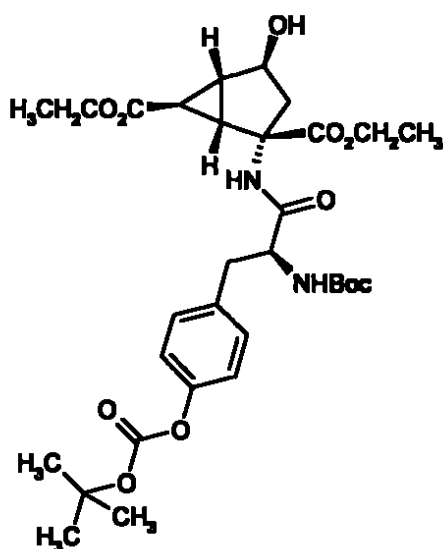
HRMS calculado $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}$, 477,2213. Encontrado, 477,2210

20

Preparación 35

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

5



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

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

15 RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,25 (6H, m), 1,37 (9H, s), 1,52 (9H, s), 1,68 (1H, dd, J = 5,4, 15,3 Hz), 2,06 (1H, m), 2,38 (1H, d, J = 15,3 Hz), 2,64 (1H, m), 2,79 (1H, dd, J = 8,4, 13,9 Hz), 3,05 (1H, dd, J = 5,4, 13,9 Hz), 4,20 (6H,

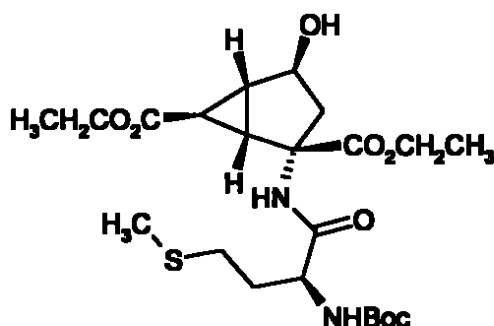
m), 7,04 (2H, d, J = 8,4Hz), 7,26 (2H, d, J = 8,4Hz).

MS encontrado 621,8 [M+H]⁺, 643,8 [M+Na]⁺.

HRMS calculado para C₃₁H₄₄N₂O₁₁Na, 643,2843. Encontrado, 643,2845.

5 Preparación 36

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



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

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

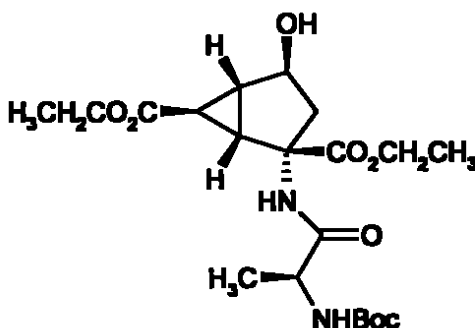
RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 1,26 (6H, m), 1,43 (9H, s), 1,84 (6H, m), 2,06 (1H, m), 2,2 (1H, m), 2,48 (1H, m), 2,61 (1H, m), 3,37 (1H, m), 2,49 (1H, m), 4,2 (6H, m).

- 20 MS encontrado 488,8 [M+H]⁺, 510,8 [M+Na]⁺.

HRMS calculado para $C_{22}H_{36}N_2O_8SNa$, 511,2090. Encontrado, 511,2071.

Preparación 37

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



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

Se purifica por HPLC prep, columna de 1 X 500 g de SiO_2 , (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%). Rendimiento: 3,0 g (90 %, 7,00 mmol) de una espuma blanca.

15 $[\alpha]_D^{23} = -32,31^\circ$ (c = 0,37, $CHCl_3$).

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1,28 (6H, t, J = 7,3 Hz), 1,34 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,46 (9H, s), 1,51-1,58 (2H, m), 1,64 (1H, s), 2,19 (1H, dd, J = 3,3, 6,2 Hz), 2,40 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 2,80 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,10-4,36 (6H, m), 4,92 (1H, s ancho), 6,94 (1H, s ancho).

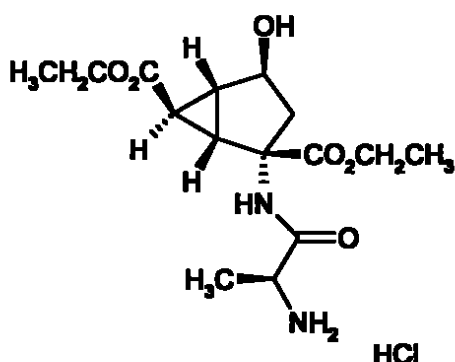
20 Análisis calculado para $C_{20}H_{32}N_2O_8 \cdot 0,1H_2O$: C, 55,83; H, 7,54; N, 6,51.

Encontrado: C, 55,57; H, 7,64; N, 6,44.

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

Preparación 38

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



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

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

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,24 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,50 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,61 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,76 (1H, dd, J = 5,9, 15,8 Hz),

2,10 (1H, dd, J = 3,3, 5,9 Hz), 2,43 (1H, d, J = 15,4 Hz), 2,60 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 3,90 (1H, c, J = 7,0, 13,9 Hz), 4,15 (2H, c, J = 7,3 Hz), 4,14-4,31 (3H, m).

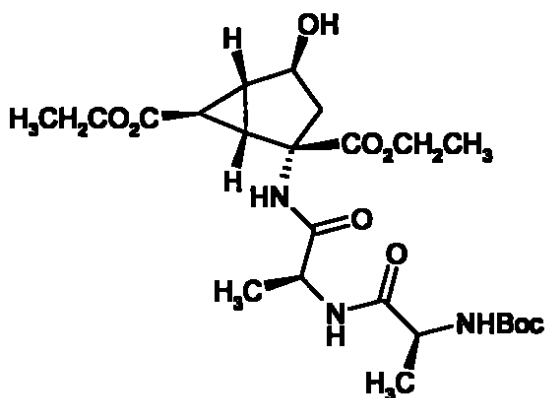
Análisis calculado para $C_{15}H_{24}N_2O_6 \cdot HCl \cdot 0,7H_2O$: C, 47,73; H, 7,05; N, 7,42.

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

MS (ES) m/z 329,1 $[M + H]^+$.

Preparación 39

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



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

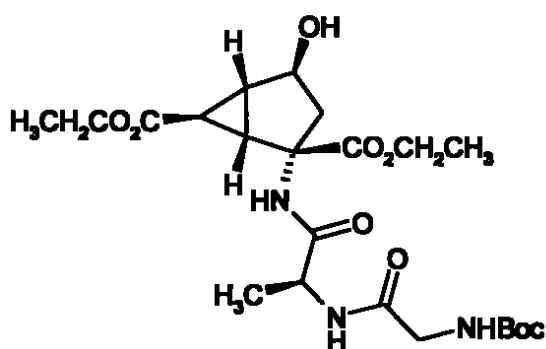
$[\alpha]_D^{23} = -46,2$ (c=0,52, $CHCl_3$).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,27 (3H, t, $J = 7,0$ Hz), 1,28 (3H, t, $J = 7,0$ Hz), 1,36 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,37 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,44 (9H, s), 1,58-1,85 (2H, m), 2,19 (1H, dd, $J = 3,0, 5,9$ Hz), 2,46 (1H, dd, $J = 2,6, 5,9$ Hz), 2,70 (1H, d, $J = 15,4$ Hz), 4,09-4,33 (7H, m), 4,48 (1H, p aparente, $J = 7,0$ Hz), 5,05 (1H, d ancho, $J = 6,6$ Hz), 6,79 (1H, d ancho, $J = 7,7$ Hz), 7,26 (1H, s).

HRMS calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_9$, 500,2608. Encontrado, 500,2598.

Preparación 40

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



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

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -14$ ($c=1,00$, CDCl_3).

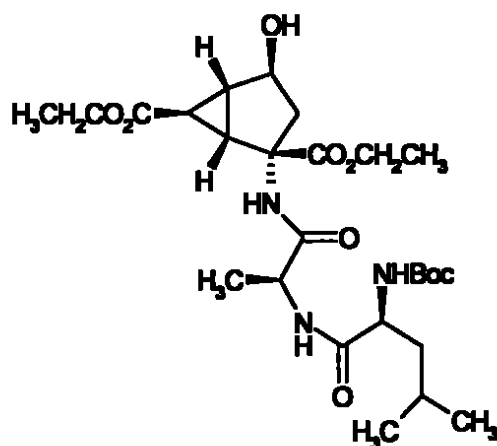
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,27 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 1,29 (3H, t, $J = 7,3$ Hz),

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

5 HRMS calculado para $C_{22}H_{36}N_3O_9$, 486,2452. Encontrado, 486,2444.

Preparación 41

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



Se prepara según el Procedimiento general B usando N-BOC-(L)-leucina monohidrato disponible de forma comercial y clorhidrato de éster dietílico del
15 ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,55 mmol, Preparación 38). Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO_2 , (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%). Rendimiento 0,54 g (62%, 1,00 mmol) de una espuma blanca.

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

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 0,93 (3H, d, J = 6,2 Hz), 0,94 (3H, d, J = 6,2 Hz), 1,25 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,36 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,43 (9H, s), 1,53 (1H, d, J = 9,5 Hz), 1,55-1,69 (5H, m), 2,18 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,44 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 2,70 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,06 (1H, s ancho), 4,13 (4H, c, J = 7,3 Hz), 4,18-4,28 (2H, m), 4,31 (1H, d, J = 5,9 Hz), 4,41-4,45 (1H, m), 4,85 (1H, s ancho), 6,57 (1H, d, J = 7,3 Hz), 6,97 (1H, s ancho).

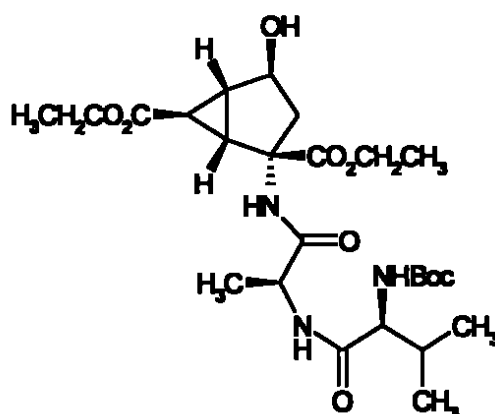
Análisis calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_9 \cdot 0,1\text{H}_2\text{O}$: C, 57,46; H, 8,01; N, 7,73.

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

HRMS calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_9$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 564,2897. Encontrado, 564,2922.

Preparación 42

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



Se prepara según el Procedimiento general B usando N-BOC-(L)-valina

disponible de forma comercial y clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,2 g, 0,55 mmol, Preparación 38). Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta 67% acetato de etilo). Rendimiento 0,36 g (43%, 0,68 mmol) de una espuma blanca.

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

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,91 (3H, d, J = 7,0 Hz), 0,97 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,37 (3H, d, J = 17,3 Hz), 1,44 (9H, s), 1,54-1,61 (3H, m), 2,12-2,20 (2H, m), 2,42 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,70 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,90 (1H, t, J = 6,6 Hz), 4,13 (2H, c, J = 7,0 Hz), 4,20-4,29 (2H, m), 4,31 (1H, d, J = 5,9 Hz), 4,40-4,48 (1H, m), 4,93 (1H, s ancho), 6,41 (1H, d, J = 7,3 Hz), 6,91 (1H, s ancho).

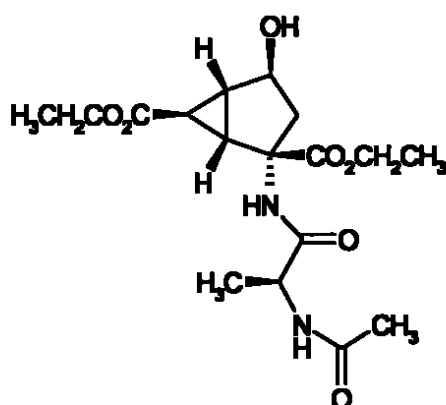
Análisis calculado para C₂₅H₄₁N₃O₉•0,2CH₂Cl₂: C, 55,58; H, 7,66; N, 7,72.

Encontrado: C, 55,76; H, 7,27; N, 7,49.

MS (ES) m/z 528,3 [M + H]⁺.

Preparación 43

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



Se agita una solución de clorhidrato de éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,30 g, 0,82 mmol, Preparación 38) en CH₂Cl₂ (30 ml) a 0 °C y se añaden secuencialmente trietilamina (0,16 g, 1,6 mmol) y después cloruro de acetilo (0,10 g, 1,18 mmol). Se deja que la mezcla de reacción se caliente mientras se agita durante la noche. Se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo (700 ml) y se lava con NaHSO₄ acuoso y salmuera. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de magnesio. Se purifica por PC-TLC, rotor de 4 mm SiO₂, (acetato de etilo al 10%/hexanos hasta acetato de etilo al 100%) proporcionando 0,24 g (79%, 0,65 mmol) de una espuma blanca.

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

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,28 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,37 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,55-1,62 (2H, m), 1,99 (3H, s), 2,19 (1H, dd, J = 3,3, 6,6 Hz), 2,40 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,77 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,07 (2H, c, J = 7,0 Hz), 4,21-4,31 (2H, m), 4,33 (1H, d, J = 6,2 Hz), 4,43-4,47 (1H, m), 6,13 (1H, s ancho), 7,06 (1H, s ancho).

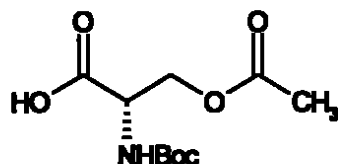
Análisis calculado para C₁₇H₂₈N₂O₇: C, 55,13; H, 7,08; N, 7,56. Encontrado: C, 55,05; H, 7,12; N, 7,29.

HRMS calculado para $C_{17}H_{28}N_2O_7$ $[M + Na]^+$, 393,1638. Encontrado, 393,1644.

Preparación 44

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

5

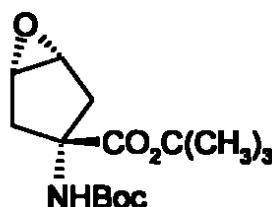


Se añade N-metilmorfolina (2,8 g, 27,2 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (5,8g, 25,2 mmol) a una solución de O-acetil-L-serina (3,7 g, 25,2 mmol) en 1:1 dioxano:agua. Se agita la reacción durante 24 horas y luego se reparte entre acetato de etilo y agua. Se extrae la fase acuosa con acetato de etilo y se descarta la orgánica. Se ajusta el pH a 0-1 con $NaHSO_4$ acuoso. Se extrae la fase acuosa con acetato de etilo, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra a vacío. Se purifica por cromatografía ultrarrápida dando 2,6 g (41,7%). El material se usó en la Preparación 15 sin caracterización.

15

Preparación 45

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



20

Se añade una solución de metilmalonato de *t*-butilo (129 g, 0,75 mol) en THF

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

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,57 (s, 2H, CH=CH), 3,71 (s, 3H, CH₃), 2,95 (s, 4H, 2CH₂), 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃).

IR (película) 1734 (C=O), 1646, 1268, 1149 cm⁻¹.

Se enfría la solución de reacción que contiene 1-(metoxycarbonil)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno hasta 10-15 °C y se añade a una solución enfriada (10-15 °C) de NaOH 1 N (1,3 l, 1,3 mol) durante 30 minutos. Se agita la solución de reacción a 25 °C durante 24 horas y se controla por ensayo de GC (Cromatografía de Gases). Cuando se completa la reacción de hidrólisis, se añade a la mezcla de reacción MTBE (645 ml) y se agita la solución durante 5 minutos. Se dejan sedimentar las fases y se separan. Se desecha la fase orgánica. Se añade una solución de NaHSO₄ 1,5M (1470 ml) para acidificar la fase acuosa (pH 2-3). Se añade MTBE (1,3 l) y se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con MTBE (385 ml) y se lavan las fases orgánicas reunidas con solución de LiCl al 5%. La fase orgánica se concentra a vacío y se diluye con heptano (780 ml). La solución se concentra hasta aproximadamente 500 ml y se agita la suspensión resultante 1 hora a temperatura ambiente. Se filtra el sólido, se lava con heptano (250 ml) y se seca a vacío a 35 °C dando 103,29 g

(rendimiento del 61%) de 1-(ácido carboxílico)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un sólido blanco.

p.f. = 119 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ 5,61 (s, 2H, CH=CH), 3,00 (s, 4H, 2CH₂), 1,46
5 (s, 9H, C(CH₃)₃).

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

Se disuelve 1-(ácido carboxílico)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno (50 g, 236 mmol) en 850 ml de tolueno:MTBE 70:30 en nitrógeno en un matraz de 1 l con agitación mecánica. Se añade cloruro de tionilo (33,6 g, 283 mmol,
10 1,2 equiv) a la mezcla de reacción deseada, manteniendo la temperatura a 23 °C. Se enfría la solución de reacción hasta 0-5 °C y se añade trietilamina (32,2 g, 318 mmol, 1,35 equiv), gota a gota durante 30 minutos. Se calienta la mezcla de reacción hasta 23 °C y se agita durante 1 hora. Se añade la mezcla de reacción rápidamente gota a gota a agua desionizada (625 ml), manteniendo la
15 temperatura a 20-25 °C. Se separan las fases y se lava la fase orgánica con 500 ml de solución de NaHCO₃ 1M. La concentración de la fase orgánica aísla el 1-(clorocarbonil)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un líquido amarillo claro.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,61 (s, 2H, CH=CH), 3,04 (c aparente, J =
20 15,1 Hz, 4H, 2CH₂), 1,49 (s, 9H, C(CH₃)₃).

IR (película) 1796 (COCl), 1743 (CO₂R), 1274 , 1233, 1158 cm⁻¹.

Se añade una solución de hidrógenosulfato de tetrabutilamonio (0,81 g, 2,4 mmol) en agua desionizada (700 ml) a azida de sodio (20,16 g, 310 mmol). Se añade la solución que contiene 1-(clorocarbonil)-1-(*terc*-
25 butoxicarbonil)ciclopent-3-eno en MTBE/tolueno a la solución de azida durante

45 minutos. Se agita la mezcla de reacción durante 3 horas a 23 °C hasta que se consume el 1-(clorocarbonil)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno, como se confirma por análisis GC de la solución de reacción. Se separan las fases y se lava la fase orgánica con NaHCO₃ 1M (540 ml) y agua desionizada (540 ml, 5 luego 270 ml). Se seca la fase orgánica con Na₂SO₄ y se filtra. Se concentra la solución a vacío proporcionando 1-(acil azida)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un aceite.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,58 (s, 2H, CH=CH), 2,96 (t aparente, J = 2,3 Hz, 4H, 2CH₂), 1,46 (s, 9H, C(CH₃)₃).

10 IR (película) 2137 (CON₃), 1720 (CO₂R), 1246 (s, 1185, 1136 cm⁻¹).

Se añade la solución de 1-(acil azida)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno durante 1 hora a 110 ml de tolueno a 95 °C. La generación de gas se controla en estas condiciones con la velocidad de adición. Se destila MTBE de la reacción durante la adición. Se agita la reacción durante 1 hora a 95 °C y se 15 deja enfriar hasta 23 °C durante la noche. La concentración del disolvente a vacío proporciona 1-(isocianato)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno como un aceite.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,67 (s, 2H, CH=CH), 3,01 (d, J = 15,6 Hz, 2H), 2,61 (d, J = 15,6 Hz, 2H), 1,50 (s, 9H, C(CH₃)₃).

20 IR (película) 2258 (-NCO), 1732 (-CO₂R), 1157 cm⁻¹.

Se añade t-butanol (35 g, 471 mmol) a una solución de t-butoxido potásico (1M en THF, 471 ml, 471 mmol) en nitrógeno. Se enfría la solución de reacción hasta 0-5 °C y se añade la solución de tolueno que contiene 1-(isocianato)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno durante 60 minutos, 25 manteniendo la temperatura a 0-10 °C. La reacción se calienta hasta 23 °C, se

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

p.f. 87-89 °C.

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,63 (s, 2H, CH=CH), 5,1 (s ancho, ¹H, NH),
15 2,99 (d, *J* = 17,2 Hz, 2H), 2,57 (d, *J* = 16,0 Hz, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,44 (s, 9H).

RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 173,3, 154,9, 127,7, 81,1, 64,5, 44,8, 28,3, 27,8.

IR (KBr): 3451, 2981, 2932, 1712, 1489, 1369, 1154 cm⁻¹.

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

20 Se añade una solución de 1-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(*terc*-butoxicarbonil)ciclopent-3-eno (20,00 g, 71 mmol) en 100 ml de EtOAc a una mezcla de hidrógenosulfato de tetrabutilamonio (4,08 g, 10 mmol, 0,17 equiv), monoperoxifitalato de magnesio hidratado (MMPA, 52,4 g, 4,76 % de oxígeno activo = 2,1 equiv) y agua desionizada (100 ml). Se agita la reacción con un
25 agitador mecánico durante 19 horas. Se añade una solución de sulfito sódico

(18 g) en agua desionizada (100 l) a la mezcla de reacción durante 30 minutos. Se diluye la mezcla con 100 ml de EtOAc y se separan las fases. Se lava la fase orgánica con H₂O desionizada (100 ml), NaOH 2N (2 x 100 ml) y H₂O desionizada (2 x 100 ml). Se destila la fase orgánica a 75-90 °C a presión atmosférica hasta que el volumen alcanza 40 ml. La solución se enfría hasta 75 °C y se añade heptano caliente (120 ml). La solución se enfría hasta 65 °C y se siembra opcionalmente con el producto deseado. Se deja que la suspensión resultante se enfríe hasta temperatura ambiente y luego se enfría en un baño de hielo durante 1 hora. El producto se filtra y se lava con 80 ml de heptano:EtOAc 4:1 frío, luego se seca a vacío a 40 °C obteniendo 15,45 g (rendimiento del 73%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. El compuesto se puede purificar adicionalmente por recristalización en isopropanol:agua 2:1.

p.f. 130-133 °C.

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

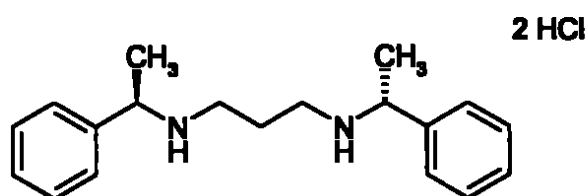
RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 171,3, 154,3, 81,2, 79,5, 62,8, 57,0, 38,6, 28,3, 27,7.

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

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

Preparación 46

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

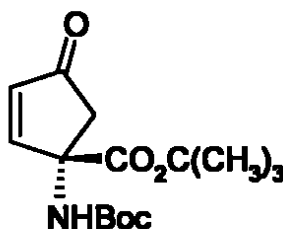


Se calienta (*R*)- α -metilbencilamina (98% ee, 121 g, 1 mol) hasta 100 °C en nitrógeno. Se añade dibromopropano (25,4 ml, 50,5 g, 250 mmol) gota a gota durante 70 min. Se calienta la mezcla durante otras 3 horas y luego se enfría hasta 80 °C. Se añade solución concentrada de NaOH (50%) (30 ml) gota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

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

Preparación 47

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



5

Se disuelve diclorhidrato de (1R,3R)-1,3-di(metilbencilamino)propano (24,65 g, 69,3 mmol, Preparación 46) en 150 ml de agua con agitación. Se añaden a la solución 35 ml (175 mmol) de solución de NaOH 5 N, seguido por 150 ml de MTBE. Después de agitar 15 minutos, se separan las fases y se extrae la fase acuosa con 100 ml de MTBE. Se lavan las fases orgánicas reunidas con 100 ml de salmuera, se seca con Na₂SO₄ y se concentra a vacío dando 18,06 g (92% rendimiento) de 1R,3R-di(metilbencilamino)propano como un aceite incoloro.

Se disuelven 20,59 g (73,5 mmol) de 1R, 3R-di(metilbencilamino)propano en 30 ml de cada uno de MTBE seco y THF, en corrientes de N₂ en un matraz de cuatro bocas de 500 ml con agitador superior. Se enfría la solución hasta -45°C y se añaden 59 ml (147 mmol) de solución de n-BuLi (2,5 M en hexanos) gota a gota durante 17 minutos. Se agita la solución amarillo claro durante 2 horas a -45 °C. Se añade una solución de (1S,3S,5R)-3-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexano (10,00 g, 33,4 mmol) en 55 ml de THF seco, gota a gota durante 28 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de -40 °C. Se aclara el embudo de

20

adición con otros 5 ml de THF. Se agita la mezcla de reacción durante 18 horas a $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se inactiva mediante la adición gota a gota de ácido sulfúrico acuoso 4 N (75 ml). Se retira el baño de enfriamiento después de completarse la adición. Se separan las fases y se extrae la fase acuosa con 50
5 ml de MTBE. Se lavan las fases orgánicas reunidas con 50 ml de cada uno de agua y salmuera, se secan con Na_2SO_4 y se concentran a vacío dando 9,78 g de 578242 bruto como un sólido blanco. Se disuelve el sólido en 33 ml de MTBE caliente y se añade heptano (66 ml) en varias porciones. Se deja que la solución agitada se enfríe hasta temperatura ambiente, luego se agita la
10 mezcla durante 1 hora a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se filtra el sólido, se lava con 2 x 10 ml de heptano:MTBE 2:1 frío y se seca a vacío durante 4 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ proporcionando 8,52 g (rendimiento del 85%) de (1S,3R)-1-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-hidrox ciclopent-4-eno como un sólido blanco.

15 p.f. 111-112 C.

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

$[\alpha]_D = +114$ (c 1, MeOH)

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 6,1 (s ancho, 1H), 5,9 (s ancho, 1H), 5,55 (d, $J = 5,0\text{ Hz}$, 1H), 4,8 (m, 1H), 4,44 (d, $J = 10,5\text{ Hz}$, 1H), 2,87 (dd, $J = 14,5, 7,5\text{ Hz}$,
20 1H), 2,00 (d, $J = 14,5\text{ Hz}$, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,42 (s, 9H).

IR (KBr): 3413, 2983, 1703, 1491, 1370, 1309, 1255, 1155, 1055 cm^{-1} .

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

Se añade 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (radical libre) (TEMPO) (0,84
25 g, 5,3 mmol) y KBr (0,63 g, 5,3 mmol, en 2 ml de agua) a una solución de

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

p.f. 116-18 °C.

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

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,4 (s ancho, 1H), 6,32 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 5,6 (s ancho, 1H), 2,87 (d, *J* = 18,2 Hz, 1H), 2,9 (d, *J* = 18,2 Hz, 1H), 1,43 (s, 18H).

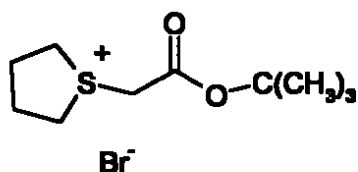
RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 206,1, 170,2, 160,8, 154,9, 136,1, 84,5, 66,1, 46,6, 28,9, 28,4.

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

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

25 Preparación 48

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

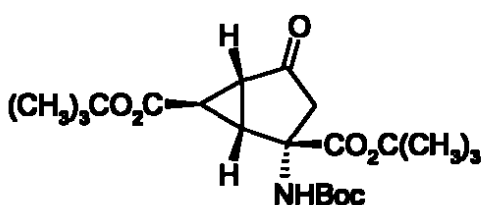


Se añade bromoacetato de *t*-butilo (2,44 l, 16,52 mol, 1 equiv) a una
 5 solución de tetrahidrotiofeno (2,19 l, 24,8 mol, 1,5 eq) en acetona (11,38 l), en
 un matraz de 22 l durante 30-60 minutos mientras se mantiene la temperatura
 de 15-25 °C usando un baño de agua. Se agita la reacción durante 22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

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO *d*-6) δ 4,40 (s, 1H), 3,51 (m, 2H), 3,48 (m, 2H),
 2,23 (m, 2H), 2,13 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

15 **Preparación 49**

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



20 Se añade KOtBu (42 ml, 42 mmol, solución 1 M en THF, 2,5 equiv) a
 una solución a 0 °C de bromuro de 1-(2-*tert*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio

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

Preparación 50

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

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

aclaran las sales con CH_2Cl_2 . Se separan las fases y se extrae la fase acuosa con 600 ml de CH_2Cl_2 . Se secan las fases orgánicas reunidas sobre K_2CO_3 sólido y se concentran a vacío dando 533,3 g (rendimiento del 98%) de (2-*terc*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio como un aceite amarillo pálido. Tras almacenar en el refrigerador, el aceite cristaliza dando un sólido blanquecino.
p.f. 48-50 °C.

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

Se añaden 474 ml (6,5 mol, 10 equiv) de trifluoroetanol a una solución a 0 °C de (1*S*)-1-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-ciclopent-4-en-3-ona (194 g, 653 mmol) en 650 ml de CH_2Cl_2 . Se añade una solución de (2-*terc*-butoxi-2-oxoetil)tetrahidrotiofenio (396 g, 1,96 mol) en 325 ml de CH_2Cl_2 gota a gota durante 40 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de 10°C. Se retira el baño de hielo después de 1 hora. Se añade agua desionizada (680 ml) y se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con 400 ml de CH_2Cl_2 . Se lavan las fases orgánicas reunidas con 500 ml de salmuera, se secan con Na_2SO_4 y se concentran a vacío obteniendo 587 g de un sólido oleoso de color ámbar. Se disuelve el sólido en 400 ml de CH_2Cl_2 y se eluye a través de un tapón de gel de sílice de 1,6 kg usando hexanos: éter metil *t*-butílico: CH_2Cl_2 5:1:1 como eluyente proporcionando a total de 13,2 l de eluyente. Se concentra el eluyente dando 398,7 g de un sólido blanco. Se disuelve el sólido en 3 l de hexanos:MTBE 70:30 a reflujo. Se deja que la solución se enfríe hasta temperatura ambiente durante la noche, luego se enfría en un baño de hielo durante 1 hora. Se filtra el sólido, se aclara con disolvente frío (aproximadamente 700 ml) y se seca a vacío a 35 °C obteniendo

173 g (rendimiento del 64%) de éster di-*terc*-butilico del ácido (1S,2S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico como un sólido blanco.

p.f. 144-46 °C.

5 $[\alpha]_D = +30,5$ (c 1, CHCl₃).

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5,36 (d, 1H), 2,88 (m, 1H), 2,64 (dd, J = 5,2, 3,2 Hz, 1H), 2,37 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 2,23 (s ancho, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,43 (s, 18H).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 206,2, 171,2, 168,5, 155,3, 83,4, 82,7, 80,7,
10 61,2, 43,2, 36,0, 34,3 28,4, 28,2, 28,0, 25,3.

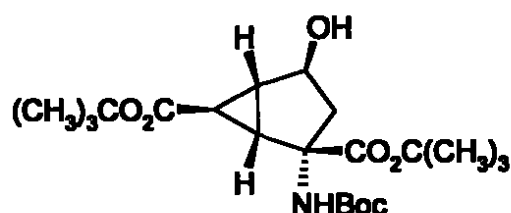
IR (CHCl₃): 2982, 1744, 1719, 1485, 1394, 1309 cm⁻¹.

MS (ES+) m/e (intensidad relativa, %) 412,2 (M⁺ + 1, 79), 356,2 (50), 300,1 (97), 276,1 (68), 244,1 (100). Análisis calculado para C₂₁H₃₃NO₇ (411,29): C, 61,30; H, 8,08; N, 3,40. Encontrado: C, 61,32; H, 8,04; N, 3,51.

15

Preparación 51

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



20

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

Se añade una solución de carbonato sódico 2M (31 ml) gota a gota, manteniendo la temperatura por debajo de 8 °C. Se añade una solución de H₂O₂ al 30% (7,15 g, 63 mmol) en 20 ml de agua, manteniendo la temperatura por debajo de 15 °C. Después de agitar 10 min, se añaden MTBE (210 ml) y
 5 agua desionizada (100 ml). Se separan las fases y la fase orgánica se lava con solución saturada de Na₂SO₃ (40 ml) y solución de NaHSO₄ 1M (40 ml). Se concentra la fase orgánica por destilación a presión atmosférica hasta un volumen de aproximadamente 90 ml. La destilación continúa y se añade
 10 heptano para mantener un volumen constante. Cuando la temperatura de vapor del destilado alcanza 93°C, se enfría la solución hasta 70°C y se añaden 7 ml de THF. Se enfría la solución hasta 0°C y se agita durante 1 hora. Se filtra el sólido, se lava con heptano frío (10 ml) y se seca a vacío a 50 °C obteniendo 4,68 g (rendimiento del 67%) de éster di-*terc*-butilico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-
 15 2,6-dicarboxílico como un sólido blanco.

p.f. 187-88 °C.

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

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

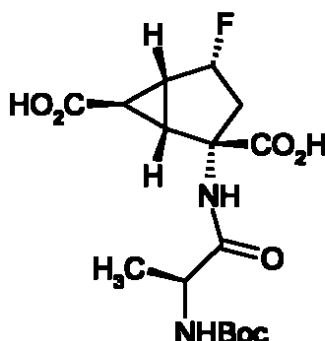
IR (CHCl₃): 3445, 2982, 1714, 1485, 1361 cm⁻¹.

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

25 [α]_D = -28,6 (c 1, MeOH).

Preparación 52**Ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico**

5



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

durante 24 horas. Se enfría la mezcla hasta 0°C en un baño de hielo y se filtra. Se aclara el producto con heptano frío y se seca a vacío dando 20,23 g (rendimiento del 80%) de éster di-*terc*-butilico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico como un sólido blanco.

p.f. 140-143 °C.

$[\alpha]_D = +20,6$ (c 1, CHCl₃).

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

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

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

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

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

del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, a vacío hasta un líquido espeso que solidifica en reposo (11,02 g).

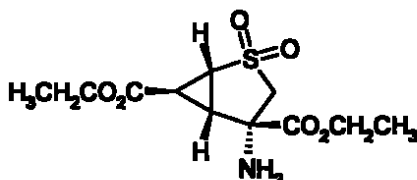
Se añade N-metilmorfolina (22,44 ml, 204 mmol) a una solución de N-Boc-L-alanina (38,62 g, 204 mmol) en 396 ml de cloruro de metileno a -22 °C en nitrógeno, seguido por la adición de cloroformiato de *iso*-butilo (26,48 ml, 204 mmol) gota a gota durante 15 minutos de tal modo que la temperatura de reacción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

Se añaden 46,7 ml (93,4 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-(*terc*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico bruto (17,5 g, 37,3 mmol teórico) en 46,6 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Se agita la mezcla bifásica vigorosamente a temperatura ambiente hasta homogeneidad, luego se agita durante otra hora

(tres horas en total). Se diluye la mezcla con 46 ml de t-butil metil éter, luego se mezcla durante 10 minutos y se separan las fases. En un matraz separado, se añaden 93 ml de agua, luego 8,4 ml (101 mmol) de HCl concentrado. Opcionalmente, se añaden cristales iniciadores de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-
 5 (2'S-2'-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico a la solución ácida, seguido por la fase acuosa de antes. Se añade la fase acuosa lentamente al principio, de modo que se forma una suspensión moderadamente espesa. En este punto, aumenta la velocidad de adición (40 minutos de tiempo total de adición). Se aclara el embudo de adición
 10 con agua (16 ml). Se agita la suspensión resultante durante 2 horas, se filtra, se lava con agua (2 x 32 ml) y se seca a vacío a 45 °C hasta peso constante proporcionando 13,9 g (99%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

15 Preparación 53

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



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

seguido por aclarado con 40 ml de etanol. Se calienta la suspensión a reflujo y se agita durante la noche. Se enfría la solución resultante hasta temperatura ambiente y se concentra hasta un residuo gelatinoso. Se añade acetato de etilo (50 ml) al residuo, seguido por dilución con otros 94 ml de acetato de etilo. Se
5 añade lentamente carbonato sódico acuoso al 15% (70 ml) a la mezcla con agitación a mano proporcionando gradualmente la disolución, dando un pH final de 7,95. Se filtra y se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con salmuera (1 x 100 ml), se secan (MgSO_4), se filtran y concentran a vacío proporcionando
10 el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo apagado que solidifica hasta un sólido blanquecino (11,71 g, rendimiento del 95%).

p.f. 80-83 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -57,7$ (c 1,04, CH_3OH).

500 MHz RMN de ^1H (CDCl_3) δ 4,31 (c, 2H, $J = 7,0$ Hz), 4,20 (m, 2H), 3,78 (d,
15 1H, $J = 15,0$ Hz), 3,36 (dd, 1H, $J = 4,0, 7,0$ Hz), 2,93 (dd, 1H, $J = 4,0, 7,0$ Hz),
2,81 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 2,46 (t, 1H, $J = 4,0$), 1,34 (t, 3H, $J = 7,0$), 1,30 (t, 3H,
 $J = 7,0$).

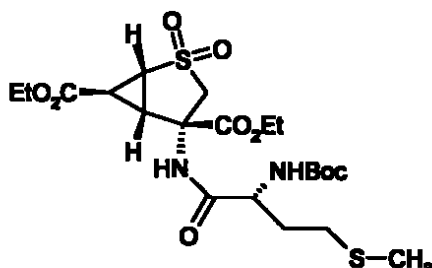
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 171,68, 168,57, 63,26, 62,42, 59,96, 56,06,
43,78, 32,25, 22,49, 14,31, 14,25.

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

Análisis calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_6\text{S}$: C, 45,35; H, 5,88; N, 4,81. Encontrado:
C, 45,02; H, 5,75; N, 4,82.

25 Preparación 54

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



5

Se añade N-metilmorfolina (14,4 ml, 130,9 mmol) a una solución transparente de N-Boc-L-metionina (32,64g, 130,9 mmol) en 110 ml de cloruro de metileno a -22 °C en nitrógeno, seguido por la adición de cloroformiato de iso-butilo (17 ml, 130,9 mmol) gota a gota durante 7 minutos para mantener la

10 temperatura de reacción a -22 °C. Una vez completada la adición, se formó una suspensión clara resultante. Se agita a de -22 a -26 °C durante 30 minutos. Se añade una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (35,65 g, 122,4 mmol, Preparación 53) en 107 ml de cloruro de metileno durante 15 minutos, seguido

15 por un aclarado de 36 ml de cloruro de metileno. Se retira la reacción del baño de enfriamiento y se agita a temperatura ambiente durante 70 minutos. Se añaden 51 ml de ácido clorhídrico 5 N a la solución, luego se separan las fases. Se vuelve a extraer la fase acuosa con cloruro de metileno (2 x 107 ml). Se lavan las fases orgánicas reunidas con bicarbonato sódico acuoso saturado (1

20 x 107 ml), se secan (MgSO₄), se filtran y se concentran a vacío proporcionando 65,82 g (rendimiento del 103% en peso) del compuesto del epígrafe como una espuma blanca.

$[\alpha]_{25D} -12,7$ (c 1,2, CH₃OH).

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

5 RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 172,53, 169,03, 167,88, 156,00, 80,62, 63,45, 62,58, 60,20, 55,33, 52,78, 42,81, 31,52, 31,38, 30,12, 28,49, 22,69, 15,44, 14,23, 14,143.

FTIR (ATR) 3341,88 (w), 2979,38 (s), 1733,03 (s), 1674,92 (s), 1514,58 (s), 1315,80 (s), 1255,15 (s), 1161,47 (s), 1142,63 (s), 1025,68 (s), 854,85 (s),

10 763,53 (s) cm⁻¹.

Preparación 55

Sal monosódica del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-

15 dicarboxílico

Se añaden 141 ml (282 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-
20 dicarboxílico (58,95 g, 112,8 mmol teóricos, Preparación 54) en 141 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Se agita la mezcla vigorosamente a temperatura ambiente durante dos minutos. Se diluye la solución con 141 ml de éter *terc*-butil metílico y luego se separan las fases. Se diluye
25 adicionalmente la fase acuosa con 141 ml de agua y se añade ácido clorhídrico concentrado, gota a gota para reducir el pH hasta 4,46. Se agita durante 10

minutos para obtener una suspensión clara. Se añade más ácido clorhídrico concentrado a la suspensión para reducir el pH hasta 1,4 (se usan un total de 17 ml de HCl conc., 204 mmol). Después de agitar durante 2 horas, se filtra la suspensión. Se lava la torta con agua (2 x 118 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 1 hora antes de transferir a una bandeja de pesada. Se seca de nuevo la torta a vacío a 45 °C durante 16 horas y a 58 °C durante 5 horas proporcionando 52,96 g (rendimiento del 98% en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (descomposición) 258 °C.

10 $[\alpha]_{25D} - 25,2$ (c 1,03, H₂O).

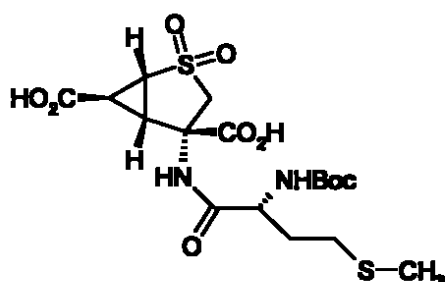
500 MHz RMN de ¹H (D₂O) δ 4,07 - 4,01 (m, 2H), 3,45 - 3,43 (m, 1H), 3,11 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,85 (m, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,47 - 2,35 (m, 3H), 1,96 - 1,90 (m, 4H), 1,78 - 1,72 (m, 1H), 1,28 (s, 9H).

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

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

Preparación 56

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

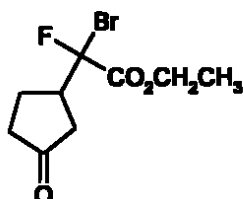


Se añaden 397 ml (795 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster dietílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*tert*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (166,15 g, 318 mmol, Preparación 54) en 480 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. Se agita vigorosamente la mezcla a temperatura ambiente durante dos minutos, momento en el que la reacción se hace homogénea formando una solución amarillo/verde apagado transparente. Se agita durante otras dos horas a temperatura ambiente. Se diluye la solución con 480 ml de éter *tert*-butil metílico y luego se separan las fases. Se añade la fase acuosa gota a gota a una solución de ácido clorhídrico concentrado (71,5 ml, 858 mmol) en agua (960 ml). Se añade acetato de etilo (500 ml) seguido por el resto de la fase acuosa, dando una emulsión y diluyendo seguidamente con acetato de etilo (460 ml). Se agita la emulsión durante 40 minutos, se filtra y se lava con agua (2 x 250 ml). Se separan las fases del filtrado y se vuelve a extraer la fase acuosa con acetato de etilo (500 ml). Las fases orgánicas se lavan con salmuera (75 ml), se secan (MgSO₄), se filtran y concentran a vacío proporcionando 125,26 g (rendimiento del 84% corregido) del compuesto del epígrafe como una espuma blanca.

20

Preparación 57

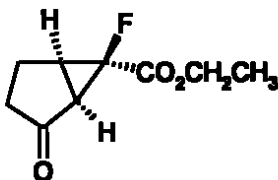
2-Bromo-2-fluoro-2-(3-oxociclopentil)acetato de etilo



Se añaden 8,45 ml (50,4 mmol) de cloruro de trietilsililo a una suspensión de 2,99 g de Zn activado (45,8 mmol) en acetonitrilo anhidro (100 ml) a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agita la mezcla durante 5 minutos. Se añaden 8,0 ml (57,3 mmol) de 2,2-dibromo-2-fluoracetato de etilo y se agita la mezcla durante 90 minutos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añaden 1,86 ml (22,9 mmol) de 2-ciclopenten-1-ona y se agita la mezcla de reacción durante la noche, dejando que la temperatura se eleve lentamente hasta temperatura ambiente. Se añade HCl 1N (125 ml) y EtOAc (100 ml). Se lava la fase orgánica con NaHCO_3 saturado (2 x 150 ml), agua (2x150 ml) y salmuera (2x150 ml), se seca sobre MgSO_4 anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo por cromatografía en columna usando EtOAc/hexano (1:8) como eluyente dando el compuesto del epígrafe (5,36 g, rendimiento total 88%) como un aceite incoloro como una mezcla de diastereoisómeros.

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

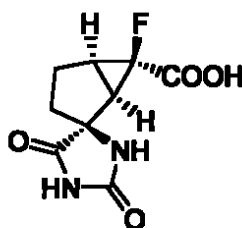
Activación con Zn: Se añaden 10 ml de HCl concentrado a una suspensión de 100 g de polvo de Zn en agua (900 ml). Se agita la mezcla durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se decanta el agua y se lava el residuo con agua (3 x 250 ml), acetona (3 x 150 ml) y éter (2 x 100 ml). Se seca el residuo a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

Preparación 58**(1RS, 5RS, 6RS)-6-Fluoro-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo**

- 5 Se añaden 13,0 ml (75,0 mmol) de etildiisopropilamina a una solución de 2,0 g (7,5 mmol) de 2-bromo-2-fluoro-2-(3-oxociclopentil)acetato de etilo (Preparación 57) en DMF (8 ml), a 0°C y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Se añade una solución de HCl 1N (20 ml), agua (15 ml) y EtOAc (75 ml). Se extrae la fase orgánica, se lava con NaHCO₃ saturado (2 x
- 10 100 ml), agua (2 x 100 ml) y salmuera (2 x 100 ml), se seca sobre MgSO₄ anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo por cromatografía en columna usando EtOAc/hexano (1:4) como eluyente dando el compuesto del epígrafe (1,17 g, rendimiento del 84%) como una mezcla *trans:cis* 5:1 de isómeros como un aceite incoloro.
- 15 RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,33 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 2,19-2,34 (m, 3H), 2,41-2,49 (m, 1H), 2,59 (d, 1H, J = 6,6 Hz), 2,71-2,76 (m, 1H), 4,29 (c, 2H, J = 7,1 Hz).

Preparación 59

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



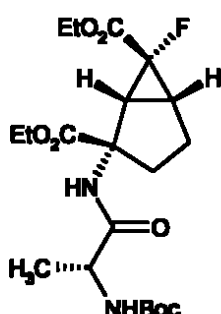
Se agita una mezcla de (1*RS*,5*RS*,6*RS*)-6-fluoro-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (0,1 g, 0,54 mmol, Preparación 58) y NaOH 1N (0,55 ml, 0,55 mmol) en EtOH (1 ml) durante 10 min con enfriamiento en hielo. Se añade HCl 1 N a la mezcla gota a gota hasta que el pH es 1 y se reparte la mezcla resultante entre EtOAc y salmuera. La fase acuosa se extrae con EtOAc dos veces y se secan las fases orgánicas reunidas sobre MgSO₄ y luego se concentran a presión reducida. Se agita una mezcla del residuo, (NH₄)₂CO₃ (0,31 g, 3,2 mmol) y KCN (0,11 g, 1,62 mmol) en EtOH y agua (1:1) (2 ml) a 60°C durante la noche. Se enfría en un baño de hielo y se acidifica la mezcla por tratamiento con KHSO₄ 1N. Se retira el disolvente a presión reducida y se vuelve a disolver el residuo en MeOH, se filtra y se concentra a vacío. El producto bruto se puede usar sin purificación adicional.

15

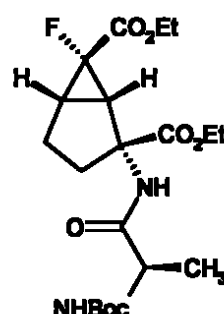
Preparación 60

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

20



Isómero A



Isómero B

Se añaden 1,59 g (5,0 mmol) de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a una solución de 0,32 g (1,5 mmol) de ácido (1*R**, 2*S**,5*R**,6*R**)-2-espiro-5'-hidantoin-6-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico (Preparación 59) en agua (10 ml) y se agita la mezcla a 105 °C durante la noche. Se acidifica la solución hasta pH 1 con HCl 1N a 0 °C, luego se concentra a presión reducida. Se vuelve a disolver el residuo y se concentra a presión reducida con EtOH absoluto varias veces hasta que el sólido está perfectamente seco. Se añaden 0,37 ml (5,0 mmol) de SOCl_2 al residuo disuelto en EtOH absoluto (20 ml) a 0°C, luego se agita la mezcla a reflujo durante 5 horas. Se basifica la solución con NaHCO_3 saturado y se añade EtOAc (25 ml). Se separa la fase orgánica y se extrae la fase acuosa con más EtOAc (2x25 ml). Se secan las fases orgánicas reunidas sobre MgSO_4 anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se disuelve el residuo en 20 ml de una mezcla de DCM-DMF (4:1), 0,73 g (1,9 mmol) de HATU, 0,26 g (1,9 mmol) de HoAt, 0,35 g (1,8 mmol) de L-Ala. Se añaden 2,7 ml (15,3 mmol) de diisopropiletilamina y se agita la mezcla en Ar durante la noche. Se añade DCM (15 ml), se separa y se lava con NaHCO_3 saturado (2 x 25 ml), agua (2 x 25 ml) y salmuera (2 x 25 ml). Se lava la fase acuosa con MgSO_4 anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el

residuo por cromatografía en columna usando EtOAc/hexano (1:2) como eluyente dando el compuesto del epígrafe (0,33 g, rendimiento global del 51%) como una mezcla 1:1 de diastereoisómeros como un aceite incoloro.

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

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

10 RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,18 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,23 (t, 1H, J = 7,1 Hz) , 1,36 (s, 9H), 1,56-1,68 (m, 1H), 2,03-2,11 (m, 2H), 2,21-2,31 (m, 1H), 2,37-2,45 (m, 1H), 2,61-2,63 (m, 1H), 4,09-4,16 (m, 5H), 5,10 (d ancho, 1H, J = 6,6 Hz), 7,11 (s ancho, 1H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 13,9, 14,0, 17,7, 24,9 (d, J = 1,0 Hz),
15 28,1, 31,5 (d, J = 10,9 Hz), 34,9 (d, J = 9,4 Hz), 36,4 (d, J = 8,8 Hz), 49,1, 61,5, 61,8, 67,4, 77,2, 81,5 (d, J = 242,6 Hz), 155,4, 168,6 (d, J = 25,1 Hz), 171,8 y 172,7 ppm.

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

20 RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,13 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,18 (t, 1H, J = 7,1 Hz) , 1,31 (s, 9H), 1,51-1,60 (m, 1H), 1,98-2,07 (m, 2H), 2,15-2,22 (m, 1H), 2,26-2,39 (m, 1H), 2,55-2,60 (m, 1H), 4,07-4,12 (m, 5H), 5,20 (s ancho, 1H), 7,22 (s ancho, 1H).

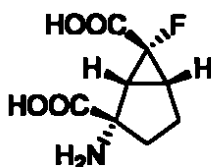
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 13,7, 13,8, 18,0, 24,7, 28,0, 31,4 (d, J =
25 10,9 Hz), 34,5 (d, J = 8,9 Hz), 36,3 (d, J = 9,4 Hz), 49,1, 61,4, 61,7, 67,3, 77,2,

81,4 (d, J = 242,6 Hz), 155,2, 168,5 (d, J = 25,1 Hz), 171,7 y 172,8 ppm.

Preparación 61

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

5



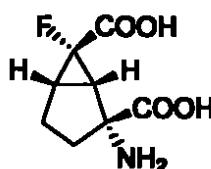
Se mantiene a reflujo una solución de 30 mg (0,07 mmol) de Isómero A de la Preparación 60 en HCl 6N (2 ml) durante la noche. Se elimina el disolvente a presión reducida, se lava el residuo con éter, se disuelve en MeOH
10 (1 ml) y se añade óxido de propileno (2 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. Se decanta el disolvente, se lava el residuo con éter y se seca con una corriente de Ar dando el compuesto del epígrafe (12 mg, 85%) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D = -25,0$ (c=0,80 mg/ml, H₂O).

15

Preparación 62

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



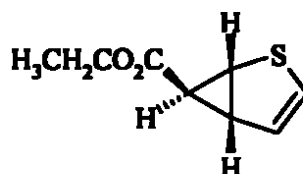
20 Comenzando con una solución del Isómero B de la Preparación 60, se prepara el compuesto del epígrafe esencialmente como en la Preparación 61.

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

Preparación 63

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

5

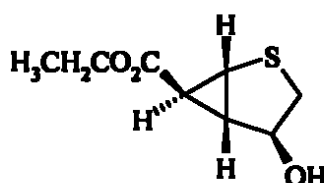


Se acopla un matraz de tres bocas y cinco litros con un agitador, un termopar y un tubo de adición de teflón y se carga una entrada de N_2 con 2000 ml de tiofeno ($d = 1,05g / ml$, 25,0 mol al comienzo y aumentando hasta 45 mol con adición de solución de diazoacetato de etilo en tiofeno, 17,1 equiv basados en la adición total de diazoacetato de etilo y sin corregir para la potencia de EDA, 19,0 equiv basados en la potencia corregida de diazoacetato de etilo. Se añade a esto, atmósfera de N_2 , 0,968 g de $Rh_2(octanoato)_4$ (1,24 mmol, 0,0472 % mol en base a los g de diazoacetato de etilo sin corregir para la potencia, 0,052 % mol en base a los moles de diazoacetato de etilo puro, Johnson Matthey: Lote N°. 059255001). Se calienta la suspensión a $46^\circ C$ y se agita a $46^\circ C$ durante 10 minutos para hacer que la disolución sea una solución verde. Se añade a la solución, por una bomba de desplazamiento positivo, una solución de 300 g de diazoacetato de etilo (90% puro, 2,63 mol, 2,37 mol *pura*, 1,00 equiv, Aldrich: Lote N° 17603PI) disuelto en 1600 ml de tiofeno. La velocidad de adición es tal que el tiempo de adición total es de 8 horas; la velocidad lenta de adición suprime la formación de ésteres etílicos de maleato y fumarato. Cuando no queda diazoacetato de etilo (aproximadamente treinta

minutos), se enfría la reacción color ámbar oscuro (3,985 g) hasta 23°C. Se divide la mezcla de reacción en porciones y la porción mayor (3,240 g de 3,985 g total = 81,3%) se concentra directamente a un aceite. El producto bruto se hace pasar a través de un aparato de destilación por medio de láminas de
 5 limpieza a 1,5 torr (200 Pa) y 23°C para desgasificar el producto y eliminar la cantidad residual de tiofeno. El producto se destila entonces a 120°C y 1,3 torr. El compuesto del epígrafe (amarillo apagado) se recoge en dos fracciones, 155,0 g y 32,2 g. El análisis por HPLC determina una potencia de 78% y 76% para los dos lotes, respectivamente. La cristalización del destilado anterior se
 10 lleva a cabo por disolución en metanol (2 ml por 1 g de destilado) y enfriamiento hasta -10°C, momento en el que la solución se siembra opcionalmente si no se observa crecimiento de cristales. Una vez ha comenzado la cristalización, la mezcla se enfría adicionalmente hasta -45°C y se agita durante 2 a 3 horas, se filtra y se lava con metanol frío (-45°C) (1 x 1
 15 ml por 1 g de destilado). El material se seca a vacío a 24°C proporcionando el compuesto del epígrafe como un sólido de blanco a blanquecino con una recuperación del 80-85% y una potencia >98%.

Preparación 64

20 (4S,6S)-4-hidroxi-2-tiabiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo

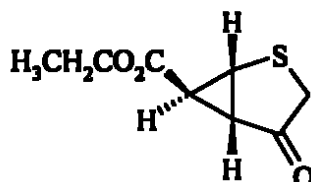


Se añade complejo borano-THF (98 ml, 98 mmol) durante 15-20 minutos

a una solución de (6S)-4-tiabiciclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo (22,2 g, 131 mmol) en 136 ml de tetrahidrofurano en nitrógeno a 0°C. Después de agitar a 0°C durante 30 minutos, se deja que la reacción se caliente hasta 15°C hasta finalización por HPLC (1,5-2 horas). La reacción se enfría hasta 0°C y se
5 transfiere durante 10-15 minutos a 111 ml de una solución tampón pH 7 1N previamente enfriada (0°C) mientras se mantiene la temperatura a 0°C. Se añade a la mezcla perborato potásico monohidrato (15,6 g, 157 mmol) en forma de sólido en cinco porciones de tal forma que la temperatura se mantiene por debajo de 20°C. Se deja que la solución se caliente hasta temperatura
10 ambiente y se agita durante 1 hora seguido por la adición de 222 ml de agua. Después de agitar durante 2 horas, se inactivan los peróxidos añadiendo tiosulfato sódico pentahidratado (9,7 g) disuelto en 24 ml de agua, seguido por agitación durante 10 minutos. La mezcla se extrae con acetato de etilo (2 x 222 ml). Se lavan los extractos orgánicos reunidos con bicarbonato sódico acuoso
15 saturado (1 x 222 ml) seguido por salmuera (1 x 222 ml) y concentración a vacío hasta sequedad. El producto bruto se disuelve en 1,2-dicloroetano (1 ml por 1 g de aceite bruto) y se carga en una columna de gel de sílice (4 g de gel de sílice por 1 g de aceite bruto suspendido y compactado en acetato de etilo al 15% -heptano). La columna se eluye con acetato de etilo al 15% -heptano
20 hasta que el producto es visible por TLC, momento en el que el disolvente se cambia a acetato de etilo al 50% -heptano. Se reúnen todas las fracciones que contienen el producto del epígrafe y se concentran a vacío hasta un aceite. El rendimiento global varía en el intervalo de 55-65%.

25 Preparación 65

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

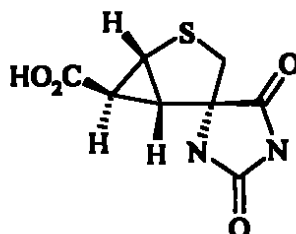


Se añade lentamente una solución de anhídrido trifluoroacético (33,2 ml, 235 mmol) en 73 ml de cloruro de metileno durante 30 minutos (temperatura mantenida por debajo de -66°C) a una solución de dimetil sulfóxido (33,4 ml, 471 mmol) en 194 ml de cloruro de metileno a -70°C . Después de agitar durante 20 minutos, se añade durante 60 minutos una solución de (4S,6S)-4-hidroxi-2-tiabicciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (34,1 g, 181 mmol) en 194 ml de cloruro de metileno, de modo que la temperatura se mantenga por debajo de -60°C . Después de agitar durante 1 hora, se trata la reacción con trietilamina (75,7 ml, 543 mmol) durante 35 minutos tal que la temperatura permanece por debajo de -50°C . Se deja agitando la reacción durante una hora más, momento en el que se retira el baño de enfriamiento y se añaden 400 ml de ácido clorhídrico 2 N. Tras calentar hasta 0°C , se separan las fases y se lava la fase orgánica con ácido clorhídrico 2N (1x 300 ml), bicarbonato sódico acuoso 1N (1 x 670 ml) y agua (1 x 300 ml) seguido por secado sobre sulfato sódico, filtrado y concentrado a vacío hasta un aceite rojo que solidifica en reposo. El producto bruto se carga en un lecho de gel de sílice (2 g por 1 g de alcohol de partida compactado con cloruro de metileno) y se eluye con cloruro de metileno (200-300 ml). Se recogen todas las fracciones que contienen producto y se concentran proporcionando el compuesto como un sólido naranja/marrón. Los rendimientos típicos corregidos están en el

intervalo de 85-90%.

Preparación 66

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



Se combinan carbonato amónico (2,46 g, 25,6 mmol) y cianuro potásico (0,817 mg, 12,5 mmol) en 19,9 ml de metanol y se dejan agitando durante 30 minutos. La mezcla se trata con una solución de (6*S*)-4-oxo-2-tiabiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (2,39 g, 12,8 mmol) en 19,9 ml de metanol y la reacción se calienta hasta 30°C y se agita 23 horas. Se evaporan los volátiles y se disuelve el residuo en hidróxido sódico 2,75N (13,1 ml) y se agita durante 1 hora. Después de diluir con 13,1 ml de agua, se reduce el pH hasta 3,1 con ácido clorhídrico concentrado y se siembra opcionalmente con ácido (6*S*,11*R*)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[biciclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico. Se reduce el pH hasta 1,0 y se enfría la suspensión hasta 0°C y se agita durante 1,25 horas. Se recoge el sólido color castaño, se lava con agua fría (2,3 ml y 0,8 ml) y se seca durante la noche a vacío a 40°C dando 2,00 g (55% corregido en la pureza) de ácido (6*S*,11*R*)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[biciclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico. Se diluye el filtrado con 50 ml de acetato de etilo y se trata con 18 g de cloruro sódico.

Después de agitar durante 15 minutos, se separan las fases y se lava adicionalmente la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secan con sulfato sódico, se filtran y se concentran a vacío hasta una suspensión (aproximadamente 5 ml) a la que se añade éter *terc*-butil metílico (25 ml) seguido por agitación durante la noche. El sólido se recoge, se lava con éter *terc*-butil metílico y se seca a vacío a 40°C durante 2 horas proporcionando 0,64 g (10% corregido en la pureza) del compuesto del epígrafe como una mezcla 1:1 de hidantoínas diastereoisoméricas. Esta segunda tanda de hidantoínas se combina con la primera tanda y se somete a la etapa siguiente.

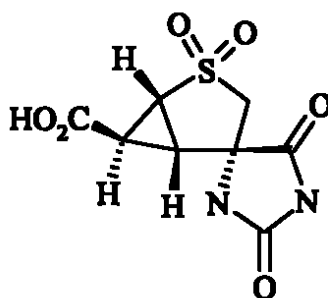
Resolución

Se añade (*R*)-fenilglicinol (9,0 g, 65,7 mmol) a una suspensión de ácido racémico (15 g, 65,7 mmol, aproximadamente relación 6:1 de hidantoínas diastereoisoméricas) en 300 ml de etanol y 75 ml de agua. La mezcla se calienta hasta aproximadamente 80°C para efectuar la disolución. Se deja que la solución oscura se enfríe lentamente y se observa precipitación a 40-45°C. Se enfría adicionalmente la suspensión a 0°C y se mantiene durante 1-1,5 horas. Se recoge el sólido, se lava (con agitación) con etanol:agua 4:1 (1 x 60 ml, previamente enfriado hasta 0 °C) y se seca a vacío a 65°C durante 12-24 horas. Los rendimientos típicos de la sal resuelta están en el intervalo de 37-45% con >98% de y >98% ee observados. La sal resuelta se disuelve en 6 volúmenes (ml por g) de agua, seguido por tratamiento con 1,1 equivalentes de HCl concentrado. La suspensión se enfría hasta 0°C y se deja agitando durante 1 hora, seguido por filtración, aclarado con 1 volumen de agua fría y secado a

vacío a 60°C. Los rendimientos típicos del compuesto del epígrafe son >90 % con % de y % ee >99%.

Preparación 67

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



Se añade ácido (6S,11S)-8,10-dioxo-2-tiaespiro[biciclo[3.1.0]hexano-
 10 4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico (3,4 g, 14,9 mmol) a una mezcla de 6,8 ml de
 agua, 0,7 ml de hidróxido sódico acuoso al 50% y 186 mg (0,74 mmol) de ácido
 wolfrámico. La solución resultante se calienta hasta 50°C y se trata con
 peróxido de hidrógeno al 35% (7,7 ml, 74,5 mmol) lentamente durante 66
 minutos. Se deja agitando la reacción a continuación a 47-48°C durante 5
 15 horas, seguido por enfriamiento hasta 0°C, filtrado sobre un lecho delgado de
 Celite y aclarado con agua fría (1 x 2 ml). El filtrado se calienta hasta 50°C y se
 trata con ácido clorhídrico concentrado hasta pH = 1,5. La suspensión se deja
 enfriar hasta temperatura ambiente y se agita durante la noche. Tras enfriar
 hasta 0°C, la suspensión se filtra, se lava con agua fría (2 x 2 ml) y se seca a
 20 vacío a 55°C hasta peso constante, proporcionando 3,19 g (82%) del
 compuesto del epígrafe como un sólido blanco:

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

p.f. 275 °C (gris), 295 °C (marrón).

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

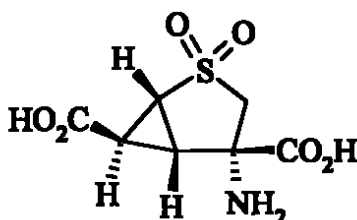
RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) δ 174,39, 169,87, 156,35, 62,67, 52,59, 44,16, 31,69, 21,92; FTIR (KBr) 3317 (s), 3250 (s), 3211 (s), 3086 (w), 1791 (s), 1742 (s), 1713 (s), 1327 (s), 1192 (s), 1140 (s) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 36,93; H, 3,10; N, 10,77. Encontrado:
10 C, 36,76; H, 3,07; N, 10,60.

Preparación 68

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

15



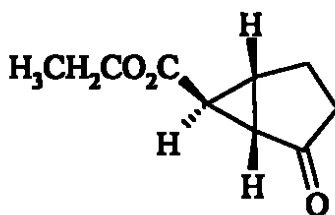
Se añade a un reactor de Parr de acero inoxidable ácido (6S,11S)-2,2,8,10-tetraoxo-2-tiaespiro[bicyclo[3.1.0]hexano-4,5'-imidazolidin]-6-carboxílico (2,50 g, 9,60 mmol) e hidróxido sódico 2N (24,0 ml, 48,0 mmol). A continuación se calienta la mezcla hasta 95°C y se agita durante 21 horas, se enfría la mezcla hasta temperatura ambiente y se trata con carbón activado (1,25 g). La mezcla se filtra a través de Celite y el filtrado se concentra hasta 17

g con agua proporcionando un peso de 24 g. Se reduce el pH hasta 6,5 usando HCl concentrado y se calienta la mezcla hasta 62°C. Después de reducir el pH hasta 2,5 usando HCl concentrado se produce la cristalización. La suspensión se deja enfriar hasta 30°C antes de ajustar el pH a 1,7 y se reduce su temperatura hasta 5°C. Después se mantiene la suspensión a esta temperatura durante 18 horas, se recoge el sólido y se lava con H₂O frío (2 x 2,9 ml). Se seca el sólido blanco a vacío a 45°C proporcionando el compuesto del epígrafe (1,81 g, 80%). El compuesto del epígrafe se suspende en 10 volúmenes de agua y se calienta hasta 85°C durante 3-4 horas, se enfría hasta temperatura ambiente, se agita durante 2-3 horas, se filtra y se lava con agua (1 x 1 volúmenes). La recuperación es >95%.

Preparación 69

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

15

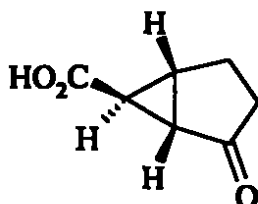


Se añaden 87,4 ml (585 mmol) de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno gota a gota durante 15 minutos a una suspensión de bromuro de (etoxicarbonilmetil)dimetilsulfonio (134 g, 585 mmol) en 486 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente. Después de agitar durante 1 hora, se trata la mezcla amarilla con 40 g (487 mmol) de 2-ciclopenten-1-ona durante 10 minutos. Se deja la mezcla agitando durante la noche, momento en el que se añaden 480

ml de éter *terc*-butil metílico, seguido por lavado con ácido clorhídrico 1N (1 x 240 ml). Se lava la fase acuosa con éter *terc*-butil metílico (1 x 240 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera (1 x 400 ml), se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a vacío proporcionando el (6*S*)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo bruto como un sólido naranja (84,8 g). El material bruto se puede purificar por destilación (~138°C, 10 mm Hg 1333 Pa), seguido por suspensión del destilado solidificado en heptano, filtración y secado.

10 Preparación 70

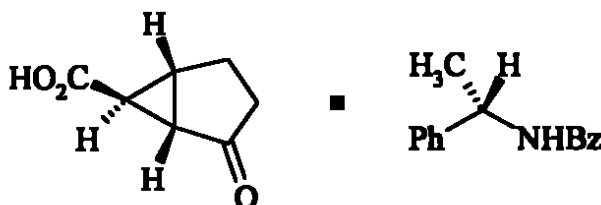
Ácido ($\pm$) (6*S*)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico



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

Preparación 71

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



5

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

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

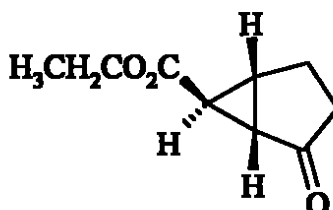
Condiciones de la GC: columna 30 m X 0,25 mm X 0,25 μ β -DEX 325, temperatura del horno 140°C, gas portador helio @ 1 ml/min, detección FID a
20

250 °C, divisiones de 1 µl 1:100, muestra @ 1mg/ml en cloruro de metileno.

Preparación 72

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

5



Se añaden 198 ml (198 mmol) de hidróxido sódico 2N a una suspensión de 46,3 g (132 mmol) de sal N-bencil- α -metilbencilamina del ácido (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico en 200 ml de acetato de etilo. Después
10 de mezclar bien, se separan las fases y se lava la fase acuosa con acetato de etilo (1 x 200 ml). Se trata la fase acuosa con 18 ml (211 mmol) de ácido clorhídrico concentrado y 100 g de cloruro sódico. La mezcla se deja agitando durante 30 minutos seguido por lavado con acetato de etilo (2 x 200 ml). Los orgánicos reunidos se secan (MgSO_4), se filtran y se concentran a vacío
15 proporcionando 18,3 g (99%) del ácido resuelto [ácido (+) (6S)-2-oxobicyclo[3.1.0]hexano-6-carboxílico] como un sólido blanco.

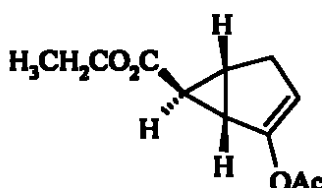
A continuación, se disuelven 10 g (71 mmol) del ácido resuelto bruto producto anterior en 42 ml de etanol y se trata con 4 ml (71 mmol) de ácido sulfúrico concentrado, gota a gota. Se calienta la mezcla hasta 45°C y se deja
20 agitando durante 75 minutos. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se añaden 42 ml de agua con 20 ml de acetato de etilo y 12 g de bicarbonato sódico. Tras agitar durante varios minutos, se lava la mezcla con acetato de

etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secan (MgSO_4), se filtran y se concentran a vacío proporcionando 11 g (92%) del (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo bruto como un sólido blanco. La cristalización en heptano:éter *terc*-butil metílico 6:1 (3,5 ml por g de sustrato) proporcionó este compuesto del epígrafe con un rendimiento aproximado del 80% y un ee >98% como se determina por análisis de GC quiral.

Preparación 73

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

10



Se calienta a reflujo usando un aparato de Dean-Stark durante 2,5 horas, una mezcla de (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (380,1 g, 2,26 mol) y ácido sulfúrico (18 M, 6,3 ml, 0,11 mol) en acetato de isopropenilo (2,26 L) momento en el que el análisis GC revela una mezcla 9:1 del compuesto del epígrafe frente a (6S)-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo. Después de eliminar 950 ml de disolvente por destilación durante 1 hora, la GC muestra que la relación producto:material de partida es 17:1. Se añade acetato de isopropenilo adicional (900 ml) y H_2SO_4 concentrado (3,15 ml) y la mezcla se agita a reflujo durante otras 15 horas, momento en el que la GC muestra una relación 27:1 de producto/material de partida. Después de eliminar por destilación otros 1,35 l de disolvente, se enfría la mezcla hasta temperatura ambiente antes de que se diluya con MTBE (2 l), H_2O (250 ml) y

20

NaHCO₃ acuoso saturado (600 ml). Se separan las fases y se lava la fase orgánica con salmuera (400 ml). Las fases acuosas reunidas se extraen con MTBE (400 ml) y se secan las fases orgánicas reunidas (Na₂SO₄), se filtran y se concentran hasta un aceite rojo oscuro/marrón (540 g). El aceite bruto se divide en dos porciones iguales y se filtra a través de un lecho de SiO₂ ultrarrápida (713 para cada lote), eluyendo con heptano:acetato de etilo 10:1. Las fracciones que contienen producto de ambos tapones se reúnen y se concentran proporcionando el compuesto del epígrafe como un aceite amarillo (460 g, 97%; 90% corregido para el disolvente por RMN). La cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexanos (1:5) proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un aceite incoloro .

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

RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 5,19-5,18 (m, 1H), 4,12 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 4,11 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 2,74-2,69 (m, 1H), 2,48-2,43 (m, 2H), 2,22-2,19 (m, 1H), 2,16 (s, 3H), 1,39 (dd, 1H, J = 2,5, 2,5 Hz), 1,25 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

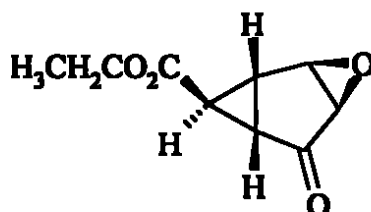
RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 173,37, 169,01, 152,26, 111,56, 61,28, 32,47, 32,40, 29,72, 24,97, 21,67, 14,95.

FTIR (CHCl₃) 3026 (m), 2985 (m), 1724 (s), 1272 (s), 1187 (s) cm⁻¹.

ES HRMS calculado para C₁₁H₁₈NO₄ [M+NH₄]⁺ 228,1236, encontrado 228,1252.

Preparación 74

(3*S*,1*R*,6*R*)-7-Oxa-5-oxotriciclo[4.1.0.0<2.4>]heptano-3-carboxilato de etilo



Se calienta a reflujo y se agita durante 17 horas, momento en el que el análisis de GC muestra conversión completa a (6S)-4-oxobicyclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo una mezcla de acetato de (6S)-6-(etoxicarbonil)bicyclo[3.1.0]hex-2-en-2-ilo (212,2 g, 1,01 mol) y 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (252,0 g, 1,11 mol) en 2,02 l de 1,4-dioxano. La mezcla se enfría hasta temperatura ambiente y se diluye con THF (564 ml). Después, se enfría la mezcla hasta 8°C, se añade 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (377 ml, 2,52 mol) durante 30 minutos de modo que la temperatura de reacción se mantenga por debajo de 10°C. La mezcla se enfría entonces hasta 5°C y se añade hidróperóxido de *tert*-butilo (70 % en peso en agua, 210 ml, 1,51 mol) durante 50 minutos, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de 9°C. Después se agita la mezcla durante otros 50 minutos, se filtra la reacción y se lava la torta marrón con MTBE (2 x 800 ml). Se añaden al filtrado 1,20 l de HCl 1N y, después de mezclar bien, se separan las fases. La fase orgánica se lava secuencialmente con NaHCO₃ acuoso saturado (1,20 l), Na₂S₂O₃ acuoso saturado (1,20 l) y salmuera (600 ml). A continuación, se seca la solución (Na₂SO₄), se concentra hasta un lodo naranja que se diluye con 200 ml de heptano. Los volátiles se evaporan produciendo un sólido naranja que se tritura en 350 ml de heptano y se filtra, lavando la torta con más heptano (2 x 175 ml). El sólido recogido se seca a vacío a temperatura ambiente durante 17 horas proporcionando 138,7 g (75%) del compuesto del epígrafe como un

sólido amarillo/marrón. La cristalización en MTBE proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{25} +2,3$ (c 1,20, CHCl_3), $+8,4^\circ$ (c 1,28, acetona); p.f. 129-130 $^\circ\text{C}$.

RMN de ^1H 500 MHz (CDCl_3) δ 4,16 (c, 2H, $J = 7,0$ Hz), 3,99 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz),
5 3,24-3,23 (m, 1H), 2,96-2,94 (m, 1H), 2,21- 2,19, (m, 1H), 2,08 (t, 1H, $J = 3,0$
Hz), 1,26 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz).

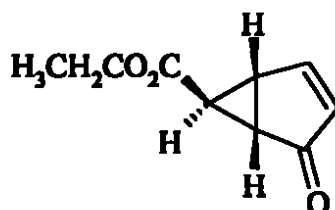
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 201,19, 168,84, 62,42, 57,04, 51,25, 31,16,
30,54, 29,60, 14,79.

FTIR (KBr) 3087 (w), 3059 (w), 3051 (w), 3007 (w), 2993 (w), 2963 (w), 1753
10 (s), 1719 (s), 1273 9s), 1191 (s), 1009 (m), 848 (m) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$: C, 59,34; H, 5,53. Encontrado: C, 59,32; H, 5,43.

Preparación 75

15 (6S)-4-oxobicyclo[3.1.0]hex-2-eno-6-carboxilato de etilo



Aunque el compuesto del epígrafe se usa de forma típica *in situ* en la
preparación de (3S,1R,6R)-7-oxa-5-oxotriciclo[4,1,0,0<2,4>]heptano-3-
20 carboxilato de etilo, se obtiene una muestra analíticamente pura del compuesto
del epígrafe filtrando la mezcla de reacción que contiene este compuesto y
evaporando el filtrado dando un sólido marrón. El sólido se resuspende en

acetato de etilo, la suspensión se filtra y se concentra el filtrado. La cromatografía del residuo sobre gel de sílice con acetato de etilo /hexanos (1:5 a 1:2) da el compuesto del epígrafe, que se recristaliza en acetato de etilo caliente y se somete a cromatografía de nuevo usando las condiciones
5 anteriores dando el compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

$[\alpha]^{25}_D$ -268 (c 1,17, CHCl₃).

p.f. 97-98 °C.

RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 7,60 (ddd, 1H, J = 5,5, 2,5, 0,75 Hz), 5,73 (dd, 1H, J = 5,0, 0,5 Hz), 4,15 (c, 2H, J = 7,0 Hz), 2,98-2,94 (m, 1H), 2,63-2,61 (m,
10 1H), 2,60 (t, 1H, J = 2,5 Hz), 1,26 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 203,96, 168,61, 160,33, 130,29, 62,03, 46,53, 30,72, 29,62, 14,82.

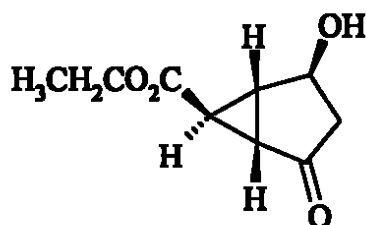
FTIR (KBr) 3080 (m), 2996 (m), 1717 (s), 1695 (s), 1266 (s), 1291 (m), 1191 (s), 1179 (s) cm⁻¹.

15 Análisis calculado para C₉H₁₀O₃: C, 65,05; H, 6,07. Encontrado: C, 64,97; H, 6,01.

Preparación 76

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

20



Se trata una solución agitada de (3S,1R,6R)-7-oxa-5-

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

$[\alpha]_D^{25} +3,9$ (c 1,39, CHCl₃), $+6,0^\circ$ (c 1,69, MeOH).

p.f. 81-82 °C.

500 MHz RMN de ¹H (CDCl₃) δ 4,60 (s ancho, 1H), 4,16 (c, 2H, J = 7,0 Hz), 2,66 (dd, 1H, J = 5,0, 4,0 Hz), 2,42-2,40 (m, 1H), 2,34 (dd, 1H, J = 19,0, 5,5 Hz), 2,24, (d ancho, 1H, J = 3,0 Hz), 2,07 (d, 1H, J = 19,0 Hz), 1,91 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 1,27 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 209,74, 170,07, 69,04, 62,32, 43,47, 36,89, 34,95, 26,14, 14,83.

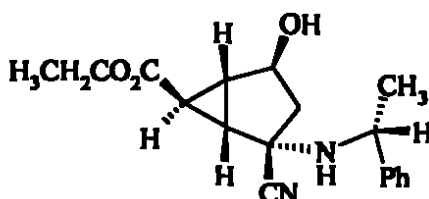
FTIR (CHCl₃) 3607 (w), 3447 (w), 3025 (m), 2985 (w), 1739 (s), 1728 (s), 1270

(s), 1187 (s) cm^{-1} .

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

5 Preparación 77

2-(((1*R*)-1-Feniletil)aminol)(2*S*,4*S*,6*R*)-2-ciano-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo



- 10 Se añaden (*R*)-metilbencilamina (46,3 ml, 0,359 mol) y NaCN (20,8 g, 0,424 mol), manteniendo la temperatura entre 20 y 25 °C a una solución de (4*S*,6*S*)-4-hidroxi-2-oxobiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (68,2 g corregido hasta 60,0 g debido a la contaminación con etanol, 0,326 mol) en etanol (332 ml) y se añade H_2O (332 ml). Se añade entonces HCl concentrado
- 15 (35,3 ml, 0,424 mol) durante 10 minutos mientras se mantiene la temperatura de reacción anterior. La mezcla marrón oscuro se agita durante una hora antes de que se siembre opcionalmente con compuesto del epígrafe para iniciar la cristalización. La suspensión se agita durante una hora antes de añadir H_2O (664 ml). Después se agita la suspensión otras 1,75 horas, se recoge el
- 20 compuesto del epígrafe en forma de sólido color castaño que se lava con H_2O (332 ml). Se inyecta aire a través de la torta húmeda del filtro durante 25 minutos antes de que el material se use directamente en la hidrólisis del nitrilo (peso de la torta húmeda 145 g). Aunque el compuesto del epígrafe se

descompone rápidamente durante un secado a vacío a temperaturas mayores que 25°C, es posible secar pequeñas muestras a vacío a temperatura ambiente sin descomposición.

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

5 p.f. 70-72 °C (descomposición).

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

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

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

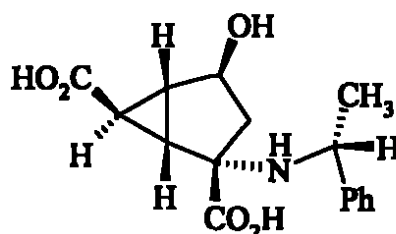
FAB HRMS calculado para C₁₈H₂₃N₂O₃ [M+H]⁺ 315,1709, encontrado

15 315,1704.

Preparación 78

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

20



Se añade lentamente H₂O₂ al 30% (44,5 ml, 0,426 mol), manteniendo la

temperatura por debajo de 27°C a una solución de la torta húmeda de 2-[[[(1*R*)-1-feniletil)amino]](2*S*,4*S*,6*R*)-2-ciano-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo (0,326 mmol teóricos) en DMSO (220 ml). La temperatura se reduce hasta 19°C y se añade de forma lenta y cuidadosa NaOH 5N (52,3 ml, 0,262 mol) durante 15 minutos, manteniendo la temperatura entre 22 y 27°C. Para controlar la exotermia de esta reacción se requiere un baño de hielo de capacidad apropiada. A continuación, se agita la mezcla marrón heterogénea durante 20 minutos al intervalo de temperatura ambiente, la HPLC mostró que el material de partida se había consumido dando un intermedio amida.

Después de agitar la reacción otras 1,5 horas, se añade Na₂SO₃ (13,7 g, 0,109 mol) y se agita la mezcla durante 15 minutos, momento en el que la mezcla da ensayo negativo de peróxidos por papel de almidón-yodo. Después de la adición de NaOH 3N (291 ml, 0,873 mol), se calienta la mezcla hasta 85°C y se agita durante 18 horas. La mezcla marrón homogénea se enfría hasta 30°C y se añade HCl concentrado para reducir el pH a 3,6 manteniendo la temperatura entre 30 y 35°C. Después de comenzar la cristalización a pH 3,6, se agita la suspensión durante 15 minutos antes de reducir el pH hasta 2,5. Después de agitar la mezcla durante 10 minutos más, ésta se enfría hasta 2°C durante 2 horas antes de recoger el sólido gris y lavarlo con H₂O fría (400 ml) y EtOH (300 ml). El sólido recogido se seca a vacío a 45°C durante 17 horas proporcionando 42,9 g (43% del inicio de la Preparación 18) del compuesto del epígrafe. Con el fin de adelantar el proceso, todo el compuesto del epígrafe producido en la reacción se recupera de las aguas madres de la siguiente forma. Se evapora la porción etanólica de las aguas madres y se combina el residuo con la porción acuosa de las aguas madres. Después de destilar el

H₂O (485 ml) a presión reducida, se ajusta el pH de las aguas madres a 12,9 con 70 ml de NaOH 5N y 5 ml de NaOH al 50%. A continuación se lava la solución con *n*-BuOH (3 x 800 ml), se ajusta su pH a 2,5 con HCl concentrado y se concentra la solución. El residuo se diluye con EtOH (100 ml) y se evaporan los volátiles (2x). El residuo se diluye con EtOH (150 ml) y el sólido color castaño que contiene compuesto del título adicional se lava con EtOH (75 ml) y se seca a 50°C a vacío hasta un peso de 102 g. Ambos lotes del compuesto del epígrafe se usaron en la siguiente esterificación.

$[\alpha]_D^{25} +4,5$ (c 1,41, 1 N NaOH).

10 p.f. 220 °C (gris desde blanquecino), 280 °C (marrón).

RMN de ¹H 500 MHz (D₂O, KOD) δ 7,39 (d, 2H, J = 7,0 Hz), 7,19-7,04 (m, 5H), 3,92 (d, 1H, J = 5,0 Hz), 3,67 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 1,76 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 1,54-1,52 (m, 1H), 1,37 (dd, 1H, J = 15,0, 5,0 Hz), 1,15 (d, 3H, J = 6,5 Hz), 1,12 (dd, 1H, J = 6,0, 3,0 Hz), 0,92 (t, 1H, J = 3,3 Hz).

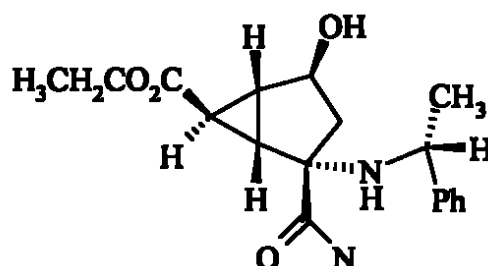
15 RMN de ¹³C (125 MHz, D₂O, KOD) δ 185,82, 182,96, 148,01, 131,31, 129,97, 129,78, 74,99, 73,84, 58,78, 46,91, 38,05, 35,02, 27,34, 27,15.

FTIR (KBr) 3366 (m), 3072 (s), 2886 (s), 1696 (m), 1611 (m), 1560 (m), 1455 (m), 1377 (m), 1278 (m), 1202 (m), 1188 (m) cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₈H₁₉NO₅: C, 62,94; H, 6,27; N, 4,59. Encontrado: C, 62,70; H, 6,21; N, 4,67.

Preparación 79

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



Aunque el compuesto del epígrafe se usa típicamente *in situ* en la preparación de ácido 2-(((1*R*)-1-feniletil)amino)(2*S*,4*S*,6*R*)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, se puede aislar el compuesto 5 aunque con alguna pérdida de rendimiento debido a la hidrólisis del éster concomitante durante la hidrólisis del nitrilo. En el aislamiento, se reparte la mezcla de reacción de hidrólisis del nitrilo entre CH₂Cl₂ y H₂O en el momento en que se consume 2-(((1*R*)-1-feniletil)amino)(2*S*,4*S*,6*R*)-2-ciano-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-6-carboxilato de etilo. A continuación la fase 10 orgánica se seca (MgSO₄) y se concentra, el residuo se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc/hexanos (2:1) hasta EtOAc proporcionando el compuesto del epígrafe como una espuma blanca.

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

15 RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 7,32-7,20 (m, 5H), 7,19 (d ancho, 1H, J = 4,0 Hz), 5,49 (d ancho, 1H, J = 4,0 Hz), 4,88 (d, 1 H, J = 11,5 Hz), 4,24 (dd, 1H, J = 11,5, 6,0 Hz), 4,08-4,00 (m, 2H), 3,77 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 2,21 (d, 1H, J = 15,0 Hz), 2,18-2,15 (m, 2H), 1,71 (s ancho, 1H), 1,54 (dd, 1H, J = 14,5, 6,0 Hz), 1,38, (d, 3H, J = 6,5 Hz), 1,32 (t, 1H, J = 3,3 Hz), 1,24 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

20 RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 180,42, 171,47, 146,05, 128,97, 127,43, 126,48, 73,16, 70,76, 61,08, 56,00, 42,82, 35,97, 35,67, 26,13, 21,53, 14,34.

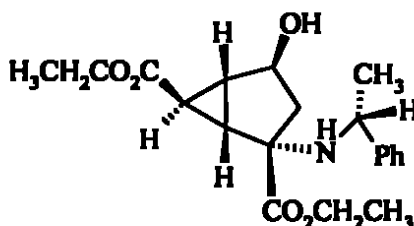
FTIR (CHCl₃) 3441 (m), 3345 (m), 2975 (w), 1725 (s), 1665 (s), 1288, 1186 (m)

cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₈H₂₄N₂O₄: C, 65,04; H, 7,28; N, 8,43. Encontrado: C, 65,41; H, 7,58; N, 8,32.

5 Preparación 80

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



- 10 Se añade cloruro de acetilo (11,2 ml, 157 mmol) mediante un embudo de adición, de forma que se mantiene el reflujo, a una suspensión de ácido 2-(((1*R*)-1-feniletil)amino)(2*S*,4*S*,6*R*)-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (4 g, 13 mmol) en 48 ml de etanol a temperatura ambiente. La mezcla resultante se deja agitando otras 16 horas a reflujo y tras enfriar hasta
- 15 temperatura ambiente se concentra a vacío hasta un residuo sólido. El sólido se trata lentamente con una solución de bicarbonato sódico (6,6 g) en 100 ml de agua seguido por lavado con acetato de etilo (2 x 100 ml). Los orgánicos reunidos se secan (MgSO₄), se filtran y se concentran a vacío dando 4,7 g (99%) del compuesto del epígrafe como un sólido. La cromatografía en
- 20 columna sobre gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (95:5) seguida por cristalización en Et₂O proporciona una muestra analíticamente pura del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

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

p.f. 73-74 °C.

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

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 178,11, 171,59, 146,32, 128,41, 127,07,
 10 126,85, 73,33, 70,15, 62,07, 60,75, 56,66, 44,72, 36,78, 33,61, 26,24, 20,07,
 14,37, 14,23.

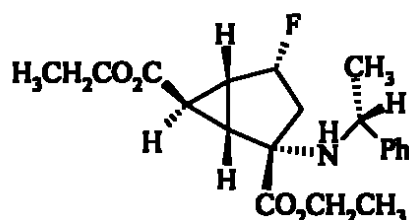
FTIR (KBr) 3492 (s), 3303 (m), 3055 (w), 2981 (w), 2896 (w), 1722 (s), 1705 (s),
 1289 (m), 1251 (m), 1177 (m) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_5$: C, 66,46; H, 7,52; N, 3,88. Encontrado: C,
 15 66,42; H, 7,44; N, 3,92.

Preparación 81

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

20



Se añade Deoxo-Fluor® (45,1 ml, 0,245 mol) durante 15 minutos,

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

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

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

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 175,29, 171,66, 146,21, 128,45, 127,03, 126,90, 92,65 (d, $J_{\text{CF}} = 182$ Hz), 68,68 (d, $J_{\text{CF}} = 4,9$ Hz), 61,70, 60,92, 56,13, 38,60 (d, $J_{\text{CF}} = 23,0$ Hz), 33,07 (d, $J_{\text{CF}} = 7,6$ Hz), 32,23 (d, $J_{\text{CF}} = 22,0$ Hz), 26,26, 20,22 (d, $J_{\text{CF}} = 3,9$ Hz), 14,41, 14,24.

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

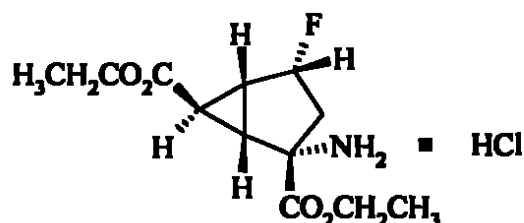
Análisis calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{FNO}_4$: C, 66,10; H, 7,21; N, 3,85. Encontrado:

C, 66,02; H, 7,00; N, 3,95.

Preparación 82

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

5 2,6-dicarboxílico



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

$[\alpha]_D^{25} +55,6$ (c 1,17, CHCl₃).

p.f. 86-88 °C.

RMN de ¹H 500 MHz (CDCl₃) δ 9,20 (s ancho, 2H), 5,50 (ddt, 1H, J = 8,0, 4,5
 20 Hz, J_{HF} = 56,0 Hz), 4,31 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 4,20-4,07 (m, 3H), 2,88 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 2,71 (dd, 1H, J = 14,5, 8,0 Hz), 2,48-2,43 (m, 2H), 2,16 (ddd, 1H, J = 14,5, 7,5 Hz, J_{HF} = 22,0 Hz), 1,34 (t, 3H, J = 7,0 Hz), 1,25 (t, 3H, J = 7,0 Hz)

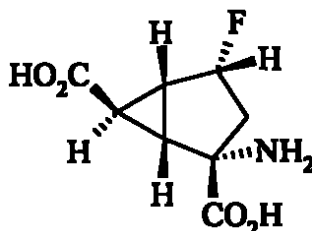
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 171,12, 169,41, 91,94 (d, $J_{\text{CF}} = 189$ Hz), 63,85, 63,66 (d, $J_{\text{CF}} = 3,8$ Hz), 61,73, 34,55 (d, $J_{\text{CF}} = 26,4$ Hz), 31,58 (d, $J_{\text{CF}} = 7,8$ Hz), 30,80 (d, $J_{\text{CF}} = 24,1$ Hz), 20,22, 14,31, 14,21.

FTIR (KBr) 3353 (m), 3173 (w), 2745 (m), 1729 (s), 1547 (m), 1294 (m), 1269 (m), 1195 (m), 1011 (m) cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{FNO}_4$: C, 48,74; H, 6,48; N, 4,74. Encontrado: C, 48,80; H, 6,41; N, 4,76.

Preparación 83

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



Se añade lentamente una solución de NaOH 3N (251 ml, 0,753 mol) a clorhidrato del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (59,2 g bruto, 0,188 mol teórico), manteniendo la temperatura por debajo de 26°C. Después de agitar la mezcla durante 10 minutos, ésta se vuelve homogénea. La mezcla se agita durante 1,25 horas a temperatura ambiente antes de que el pH se reduzca lentamente hasta pH 2,8 usando HCl concentrado mientras se mantiene la temperatura entre 20 y 26°C. A pH 2,8, la mezcla comienza a cristalizar y la suspensión se agita a este pH durante 10 minutos antes de que el pH se reduzca hasta 2,1 con HCl concentrado. Después de otros 15 minutos de agitación, se añade *i*-PrOH (67 ml) y se enfría

la suspensión hasta 0°C y se agita durante 2 horas. El sólido se recoge y se lava con 37 ml de H₂O/ *i*-PrOH frío (4:1). El sólido recogido se seca a vacío a 40 °C durante 18 horas, proporcionando el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (33,1 g, 87% desde el inicio de la Preparación 23).

5

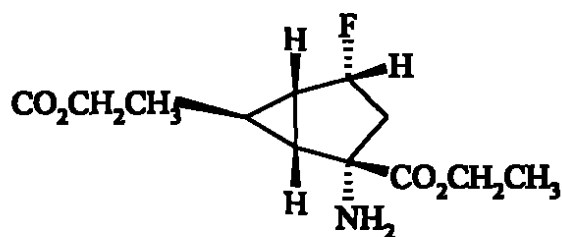
Preparación 84

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

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

Preparación 85

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



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

FDMS: $M^+ + 1 = 260$.

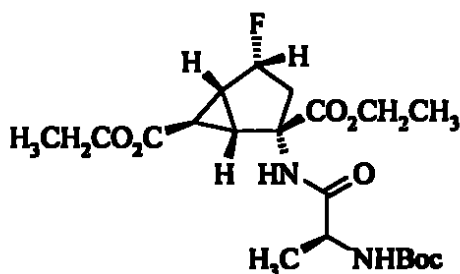
15 Análisis calculado para C₁₂H₁₈FNO₄·0,1 H₂O: C, 55,21; H, 7,03; N, 5,37. Encontrado: C, 55,10; H, 6,96; N, 5,22.

p.f. = 64-66 °C.

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

20 Preparación 86

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



Se añade N-metilmorfolina (22,44 ml, 204 mmol) seguida por cloroformiato de *iso*-butilo (26,48 ml, 204 mmol) gota a gota durante 15 min de tal modo que la temperatura de reacción no supere -18 °C a una solución de N-
 5 Boc-L-alanina (38,62 g, 204 mmol) en 396 ml de cloruro de metileno a -22 °C en nitrógeno. La suspensión clara resultante se deja agitando a -20°C durante 30 minutos, momento en el que se añade una solución de éster etílico del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (49,46 g, 191 mmol) en 247 ml de cloruro de metileno durante 40 minutos, de modo
 10 que la temperatura de reacción no supere -16 °C. Una vez completada la adición, se retira la reacción del baño de enfriamiento y se deja agitando a temperatura ambiente durante 70 minutos, momento en el que la temperatura de reacción ha alcanzado 15°C y el color se vuelve naranja apagado. La reacción se trata con 408 ml de ácido clorhídrico 1N, seguido por agitación
 15 durante 5 minutos y separación de las fases. La fase orgánica se lava con bicarbonato sódico acuoso saturado (1 x 408 ml), se seca (Na₂SO₄), se filtra y se concentra a vacío hasta una espuma blanca (88,16 g).

FDMS: $M^+ + 1 = 260$.

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

20 Encontrado: C, 55,10; H, 6,96; N, 5,22.

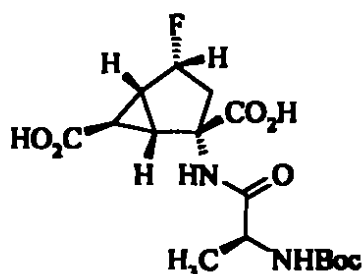
p.f. = 64-66 °C.

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

Preparación 87

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

5

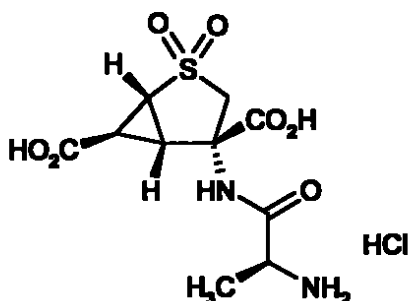


- Se añaden 238 ml (477 mmol) de hidróxido sódico 2N a una solución de éster etílico del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-[2'S-2'-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-
- 10 dicarboxílico (88,16 g, 191 mmol) en 238 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente. La mezcla bifásica se deja agitando vigorosamente a temperatura ambiente durante 2,5 horas, momento en el que la reacción es homogénea. La mezcla se diluye con 238 ml de *t*-butil metil éter, seguido por mezcla y separación de las fases. La fase acuosa se diluye adicionalmente con 238 ml
- 15 de agua y se filtra para separar el material en partículas. La solución se trata con HCl concentrado (42,9 ml, 515 mmol) durante 30 minutos, seguido opcionalmente por siembra con el compuesto del epígrafe y agitación durante 1 hora. La suspensión resultante se filtra, se lava con agua (2 x 100 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 40 horas proporcionando 72,2 g del compuesto del
- 20 epígrafe como un sólido blanco. Se deja agitando una porción del sólido (69,5 g) con 490 ml de acetona durante 1 hora produciendo una solución turbia que se filtra lavando con acetona (2 x 100 ml). El filtrado se concentra a vacío hasta

una espuma blanca que se seca adicionalmente a vacío a 45°C durante 16 horas proporcionando 61,8 g (corregido para el 12% peso/peso de acetona) del compuesto del epígrafe.

5 Ejemplo 1

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



10 Se añade una solución de cloruro de hidrógeno en acetato de etilo (3,7 M, 514 ml) durante 20 minutos a una suspensión de ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (110,0 g, 271 mmol, Preparación 3) en 563 ml de acetato de etilo. A continuación se agita la suspensión durante 2,5

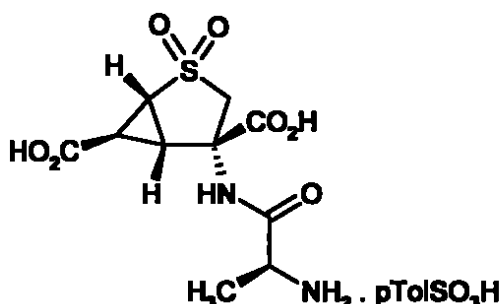
15 horas, se filtra y se lava la torta con acetato de etilo (1 x 200 ml, 1 x 115 ml). Después de secar a vacío a 46 °C durante 18 horas, el compuesto del epígrafe se recoge como un sólido blanco (85,77 g, 92%).

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

20 3,02 (dd, 1H, J = 7,0, 4,4 Hz), 2,49 (t, 1H, J = 4,1 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,1 Hz).

Ejemplo 2

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



5

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

p.f. (DSC) 233 °C.

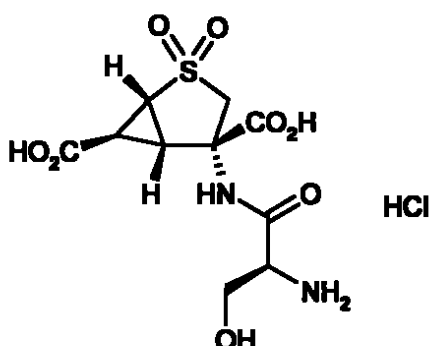
15 RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 7,70 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,24 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 4,11 (d, 1H, J = 15 Hz), 3,94 (c, 1H, J = 7,0Hz), 3,53 (dd, 1H, J = 7,0, 4,0 Hz), 3,13 (dd, 1H, J = 14, 1,0 Hz), 3,02 (dd, 1H, J = 7,0, 4,5 Hz), 2,48 (t, 1H, J = 4,5 Hz), 2,37 (s, 3H), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz).

RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 170,70, 170,32, 169,80, 142,04, 140,78, 128,79, 125,79, 60,20, 54,73, 48,77, 42,44, 30,84, 22,22, 20,20, 16,09.

20

Ejemplo 3

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



5

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

10 $[\alpha]^{23}_D = -19,23$ (c=0,52, MeOH).

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

Análisis calculado para C₁₀H₁₄N₂O₈S·HCl·H₂O: C, 31,88; H, 4,55; N, 7,44; Cl,

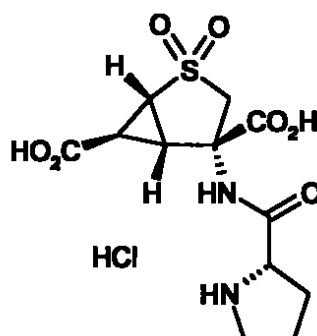
15 9,41. Encontrado: C, 31,53; H, 4,40; N, 7,32; Cl, 9,24.

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

Ejemplo 4

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

20



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

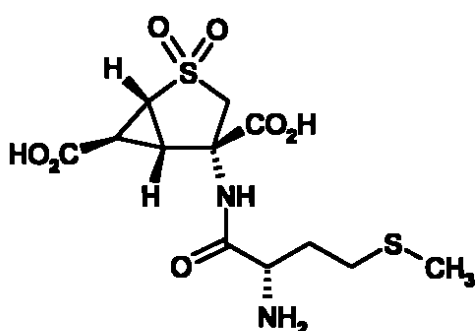
$[\alpha]^{23}_{\text{D}} = -32$ (c=1,00, CH₃OH).

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,98-2,12 (3H, m), 2,40-2,50 (1H, m), 2,52 (1H, t, J = 4,4 Hz), 2,99 (1H, dd, J = 4,4, 7,0 Hz), 3,2 (1H, d, J = 14,7 Hz), 3,28-3,42 (3H, m), 3,54 (1H, m), 4,13 (1H, d, J = 15,8 Hz), 4,30 (1H, dd, J = 6,2, 9,2 Hz).

HRMS calculado para C₁₂H₁₇N₂O₇S, 333. 0756. Encontrado, 333,0740.

15 Ejemplo 5

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



Se prepara según el Procedimiento general C empleando éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metilsulfanil-butilamino)-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-

- 5 dicarboxílico (0,77 g, 1,6 mmol, Preparación 12) proporcionando 0,41 g (54,9%) del compuesto del epígrafe.

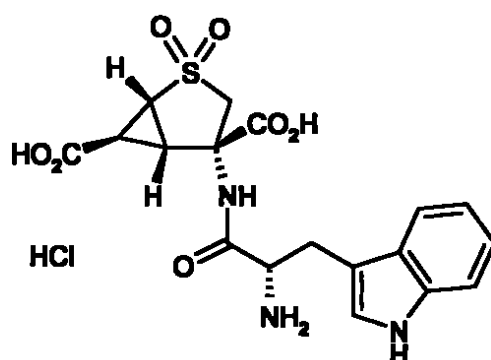
$[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=1,00, MeOH).

- RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 2,1-2,2 (2H, m), 2,13 (3H, s), 2,47 (1H, t, J = 4,4 Hz), 2,58-2,63 (2H, m), 3,02 (1H, dd, J = 4,0, 7,0 Hz), 3,12 (1H, d, J = 14,7 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 3,3, 6,6 Hz), 3,98 (1H, t, J = 6,2 Hz), 4,14 (1H, d, J = 14,7 Hz).

HRMS calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2$, 367,0634. Encontrado, 367,0634.

Ejemplo 6

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



Se prepara según el Procedimiento general C empleando éster dimetilico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-[2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-3'-(1-*tert*-butoxicarbonil-1H-indol-3-il)-propionilamino]-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-

- 5 bicyclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico (0,54 g, 0,83 mmol, Preparación 13) proporcionando 0,28 g (73,6%) del compuesto del epígrafe.

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

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

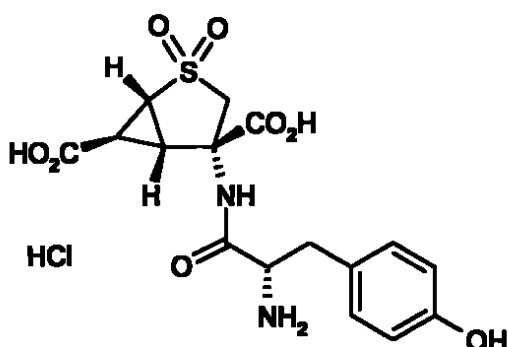
Análisis calculado para C₁₉H₁₉N₃O₇S·HCl: C, 47,22; H, 4,40; N, 9,18.

Encontrado: C, 46,51; H, 3,96; N, 8,54.

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

15 Ejemplo 7

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



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

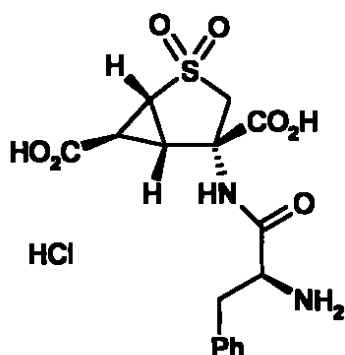
$[\alpha]^{23}_D = -6$ (c=1,00, H₂O).

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

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

Ejemplo 8

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



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

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

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

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

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

Análisis calculado para C₁₈H₁₈N₂O₇S·1,5 HCl: C, 43,97; H, 4,50; N, 6,41.

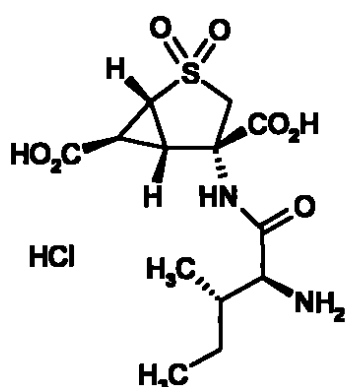
15 Encontrado: C, 43,59; H, 4,17; N, 6,46.

MS (ES) m/z encontrado 383,1 [M+H]⁺.

HRMS calculado para C₁₈H₁₈N₂O₇S [M + H]⁺: 383,0913. Encontrado: 383,0923.

20 Ejemplo 9

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



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

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

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

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

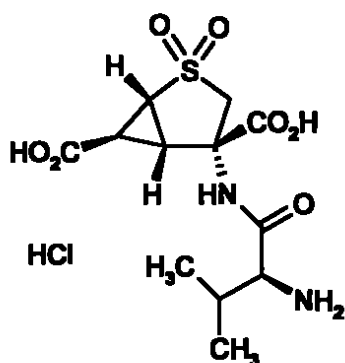
- 15 Encontrado: C, 39,38; H, 5,39; N, 7,04.

MS (ES) m/z encontrado 349,1 [M+H]⁺.

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

- 20 **Ejemplo 10**

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



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

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

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

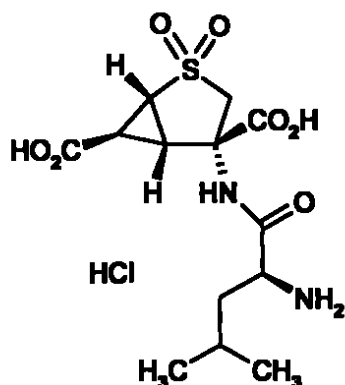
Análisis calculado para C₁₂H₁₈N₂O₇S•HCl•0,4H₂O: C, 38,12; H, 5,20; N, 7,41.

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

MS (ES) m/z encontrado 335,1 [M+H]⁺.

Ejemplo 11

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



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-4'-metil-
5 pentanoilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 8). Rendimiento 0,50 g (76 %, 1,30 mmol) de un sólido blanco como la sal HCl.

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

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,00 (3H, d, J = 5,5 Hz), 1,02 (3H, d, J = 5,9
10 Hz), 1,62-1,79 (3H, m), 2,42 (1H, t, J = 4,0 Hz), 3,04 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,13 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,52 (1H, dd, J = 3,3, 7,0 Hz), 3,84-3,89 (1H, m), 4,10 (1H, d, J = 15,0 Hz).

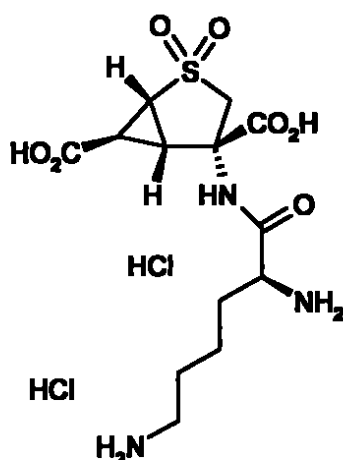
Análisis calculado para C₁₃H₂₀N₂O₇S·HCl·0,3H₂O: C, 40,01; H, 5,58; N, 7,18.

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

15 MS (ES) m/z encontrado 349,1 [M+H]⁺.

Ejemplo 12

Bisclorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-diamino-hexanoilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dimetílico del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S,6'-bis-*tert*-butoxicarbonilamino-hexanoilamino)-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (Preparación 9).

- 5 Rendimiento 0,56 g (86 %, 1,28 mmol) de un sólido blanco como la sal bisclorhidrato.

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

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

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

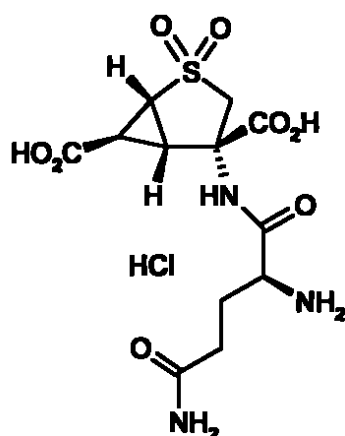
Encontrado: C, 35,30; H, 5,48; N, 9,42.

MS (ES) m/z encontrado 364,1 [M+H]⁺.

15

Ejemplo 13

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



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

mmol) de un sólido blanco.

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

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 2,00-2,08 (2H, m), 2,37-2,41 (3H, m), 2,93 (1H, dd, J = 4,4, 7,3 Hz), 3,04 (1H, d, J = 14,7 Hz), 3,45 (1H, dd, J = 3,7, 7,0 Hz), 3,86 (1H, t aparente, J = 5,9 Hz), 4,05 (1H, d, J = 14,7 Hz).

Análisis calculado para C₁₂H₁₇N₃O₈S·HCl·2,0H₂O: C, 33,07; H, 5,09; N, 9,64.

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

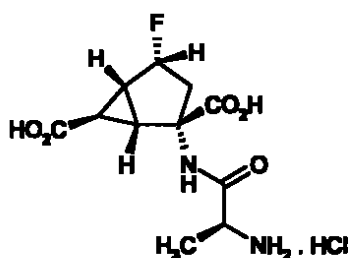
MS (ES) m/z encontrado 363,9 [M+H]⁺.

HRMS (ES) calculado para C₁₂H₁₈N₃O₈S [M + H]⁺: 364,0815. Encontrado:

10 364,0825.

Ejemplo 14

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



15

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

20

minutos. Opcionalmente se siembra la mezcla con clorhidrato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico, seguido por desconexión del calor y dejar que se enfríe gradualmente hasta temperatura ambiente. Después de 2 horas, la temperatura
5 alcanza 25°C y se añade acetona (942 ml) a la suspensión durante 90 minutos. Se agita la suspensión otras 16 horas más, seguido por filtración, lavado con acetona (2 x 200 ml) y secado a vacío a 45 °C durante 9 horas y a temperatura ambiente durante otras 64 horas produciendo 40,2 g (91%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

10 Recristalización

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

p.f. (DSC) 183 °C.

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

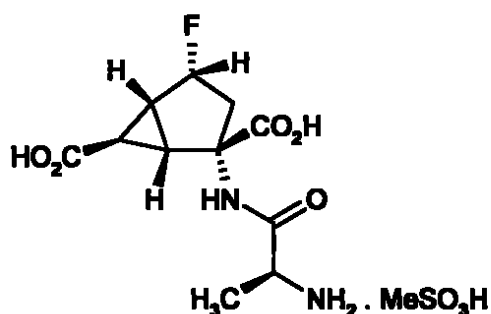
RMN de ¹H 500 MHz (CD₃OD) δ 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, J = 7,0Hz), 2,96 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,41-2,39 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 1H), 2,10 (t, 1H,
25 J = 3,0 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,51-1,42 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) δ 173,74, 173,62, 170,00, 93,48 y 92,04 (Desdoblamiento C-F), 63,95 y 63,92 (Desdoblamiento C-F), 48,80, 36,89 y 36,70 (Desdoblamiento C-F), 32,97 y 32,91 (Desdoblamiento C-F), 30,05 y 29,87 (Desdoblamiento C-F), 19,37, 16,28.

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

Ejemplo 15

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



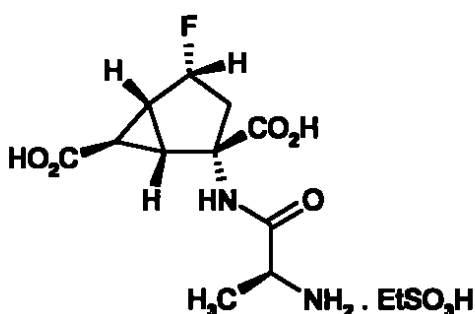
Se deja agitando a 50°C durante 15 minutos una suspensión de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,87 g corregidos, 4,98 mmol, Preparación 18) en 16,8 ml de acetona. La solución turbia se filtra para clarificar la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

- horas, se añaden durante 5-10 minutos otros 35,5 ml de acetona. Se desconecta la calefacción y se deja que la suspensión se enfríe gradualmente hasta temperatura ambiente durante 2 horas, seguido por filtración, lavado con acetona (2 x 8 ml) y secado a vacío a 45°C durante 14 horas, dando 1,77 g (95%) del compuesto del epígrafe como un sólido rosa apagado. Se cristaliza una muestra de este material como sigue: se disuelven 1,65 g en 1,16 ml de agua y 4,95 ml de acetona con calentamiento a 50 °C, seguido por dilución con otros 1,65 l de acetona y opcionalmente siembra. Se desconecta el calentamiento y se deja que la mezcla se enfríe gradualmente hasta temperatura ambiente. Se añade acetona (26,4 ml) simultáneamente durante 40 minutos. Se deja agitando la suspensión resultante otras 3 horas más. Tras filtrar, se lava con acetona (2 x 6 ml) y se seca a vacío a 45°C durante 6 horas y a temperatura ambiente durante 60 horas, se obtienen 1,59 g (96% de recuperación) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco:
- 15 p.f. (DSC) 206 °C.
- $[\alpha]_D^{25} +30$ (c 1,05, CH₃OH).
- RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, J = 7,0Hz), 2,96 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,70 (s, 3H), 2,41-2,39 (m, 1H), 2,35-2,30 (m, 1H), 2,10 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,51-1,42 (m, 1H).
- 20 RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 173,73, 173,61, 170,02, 93,50 y 92,05 (Desdoblamiento C-F), 63,91, 48,79, 38,30, 36,89 y 36,70 (Desdoblamiento C-F), 32,97 y 32,91 (Desdoblamiento C-F), 30,02 y 29,84 (Desdoblamiento C-F), 19,37, 16,26.
- FTIR (DRIFT) 3472 (w), 3077 (s), 1717 (s), 1691 (s), 1557 (m), 1220 (s), 1019 (m), 781 (m), 563 (m) cm⁻¹.
- 25

Análisis calculado para $C_{12}H_{19}FN_2O_6S$: C, 38,92; H, 5,17; N, 7,56. Encontrado: C, 38,96; H, 4,97; N, 7,51.

Ejemplo 16

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



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

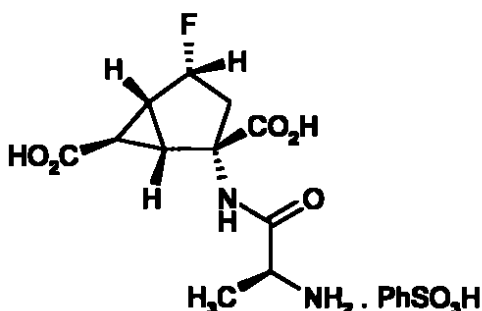
proporcionó 0,173 g (84%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 210 °C (descomposición).

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

Ejemplo 17

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



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

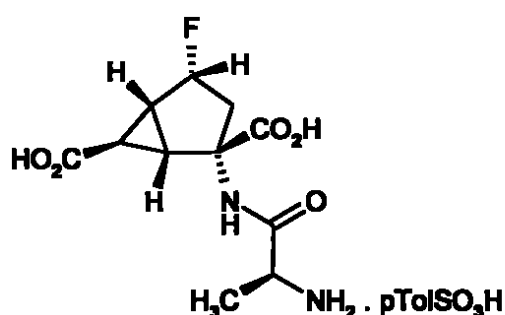
se desconecta el calor y se trata la reacción con 8 ml de acetona durante 10 minutos, seguido opcionalmente de siembra. Se ha formado una suspensión durante 1 hora que se diluye con 3,2 ml de acetona seguido por agitación a temperatura ambiente otras 15,5 horas. La filtración, lavado con acetona (2 x 10 ml) y secado a vacío a 45 °C durante 24 h proporcionó 313 mg (62% corregidos para acetona al 10% peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 132 °C.

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

Ejemplo 18

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



Se deja agitando a 50°C durante 15 minutos una suspensión de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-[2'S-(*tert*-butoxicarbonilamino)propionil]-amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (1,04 g corregidos, 2,78 mmol,

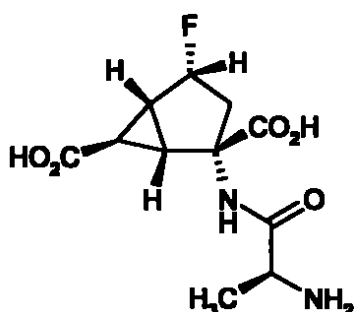
Preparación 18) en 9,36 ml de acetona. La solución turbia se trata con una cucharita de Celite y se filtra para clarificar la solución, seguido por aclarado con acetona (1 x 2,08 ml y luego 1 x 1,04 ml). El filtrado transparente se coloca en un baño de calentamiento a 50°C y se trata con 634 mg (3,33 mmol) de ácido *p*-toluenosulfónico monohidrato como solución en 0,317 ml de agua, seguido por un aclarado con 0,317 ml de acetona (se observa generación de gas). Después de agitar a reflujo suave durante 4 horas, se retira la reacción del baño de calentamiento y se trata con 10,4 ml de acetona durante 10 minutos. La solución transparente incolora se siembra opcionalmente y se observa que se forma un precipitado durante 30 minutos, momento en el que se introducen otros 10,4 ml de acetona durante 20 minutos. La suspensión se deja agitando durante otras 4 horas, seguido por filtración, lavado con acetona (2 x 10 ml) y secado a vacío a 45 °C durante 14 horas proporcionando 995 mg (78% corregidos para acetona al 3 % en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 155 °C.

RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 7,70 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,34 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 5,58-5,42 (m, 1H), 3,92 (c, 1H, J = 7,0Hz), 2,96 (dd, 1H, J = 14, 8,0 Hz), 2,42-2,30 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,09 (t, 1H, J = 3,0 Hz), 1,52 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,51-1,40 (m, 1H).

Ejemplo 19

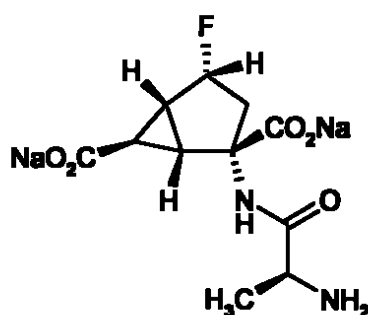
Ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-Amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico



- Se añaden 5 ml de etanol 3A seguido después de unos pocos minutos por 0,27 ml (1,35 mmol) de hidróxido sódico acuoso 5N a una solución de mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobicyclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,5 g, 1,35 mmol, Ejemplo 15) en 1 ml de agua a 50 °C. Se desconecta el calor y la solución transparente incolora se diluye con 2,5 ml de etanol, se siembra opcionalmente y se diluye adicionalmente con 7,5 ml de etanol durante 30 min. La suspensión resultante se deja agitando seguidamente con enfriamiento hasta temperatura ambiente durante 1 hora y, a continuación, a temperatura ambiente durante 2 horas. Se recoge el sólido y se lava con etanol (1 x 10 ml) seguido por secado a vacío a 45 °C durante 18,5 horas, proporcionando 0,301 g (78% de rendimiento corregido para metanosulfonato sódico al 1,6% en peso y etanol al 3% en peso) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.
- 15 RMN de ^1H (500 MHz, D_2O) δ 5,45-5,30 (m, 1H), 3,88 (c, 1H, $J = 7,0$ Hz), 2,58 (dd, 1H, $J = 14, 8,0$ Hz), 2,33-2,30 (m, 1H), 2,27-2,26 (m, 1H), 1,92 (t, 1H, $J = 3,0$ Hz), 1,36 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,41-1,32 (m, 1H).
- RMN de ^{13}C (125 MHz, D_2O) δ 177,46, 176,92, 170,42, 94,56 y 93,19 (Desdoblamiento C-F), 65,36, 49,01, 36,75 y 36,57 (Desdoblamiento C-F),
- 20 33,61 y 33,55 (Desdoblamiento C-F), 30,54 y 30,36 (Desdoblamiento C-F), 20,27, 16,67.

Ejemplo 20**Sal disódica del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-amino-propionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico**

5



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

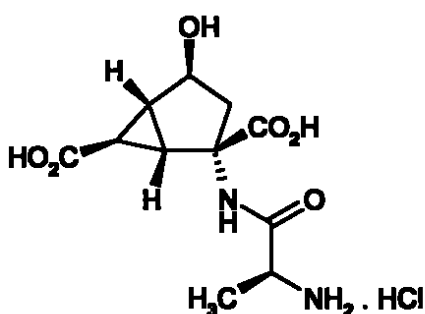
RMN de ^1H (500 MHz, D_2O) δ 5,44-5,29 (m, 1H), 3,89 (c, 1H, J = 7,0 Hz), 2,65 (s, 3H), 2,56 (dd, 1H, J = 14,8, 8,0 Hz), 2,16-2,13 (m, 1H), 2,10-2,09 (m, 1H), 1,74 (t, 1H, J = 3,1 Hz), 1,38 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,36-1,28 (m, 1H).

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

5

Ejemplo 21

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



10

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

15

20

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

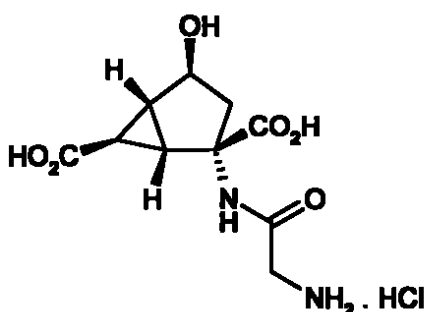
RMN de ^1H (CD_3OD)*: 4,13 (1H, d, 5,9 Hz), 3,80 (1H, c, 6,7 Hz), 2,41-2,31 (2H, m), 1,93 (1H, dd, 6,0 Hz, 2,7 Hz), 1,62 (1H, dd, 5,9 Hz, 15,5 Hz), 1,44 (1H, t, 3,0 Hz), 1,38 (3H, d, 6,8 Hz); *Nota. Protones intercambiables no observados

5 por RMN = 6.

Ejemplo 22

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

10



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

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

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,56 (1H, t, $J = 2,9$ Hz), 1,74 (1H, dd, $J = 5,8$, 15,4 Hz), 2,12 (1H, m), 2,48 (1H, d, $J = 15,4$ Hz), 2,61 (1H, m), 3,62 (2H, s),
20 4,32 (1H, d, $J = 5,49$ Hz).

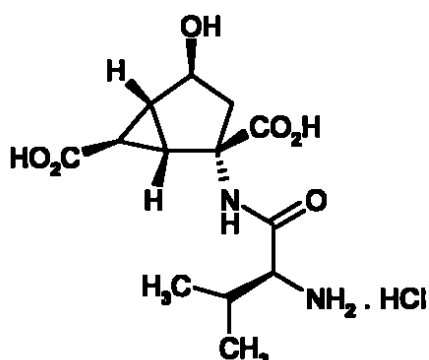
Análisis calculado para $C_{10}H_{14}N_2O_6 \cdot 1,3HCl \cdot H_2O$: C, 37,11; H, 5,39; N, 8,66.

Encontrado: C, 37,36; H, 4,99; N, 8,30.

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

Ejemplo 23

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



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

- 15 $[\alpha]_D^{23} = +8,33$ (c=0,48, MeOH).

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

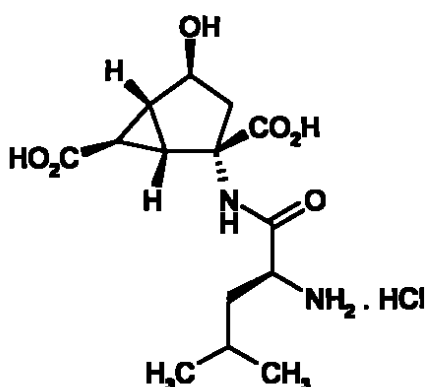
- 20 Análisis calculado para $C_{13}H_{20}N_2O_6 \cdot HCl \cdot 1,1H_2O$: C, 43,79; H, 6,56; N, 7,86.

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

HRMS calculado para C₁₃H₂₁N₂O₆, 301,1400. Encontrado, 301,1400.

Ejemplo 24

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



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

- 15 $[\alpha]_D^{23} = +4$ (c=0,5, MeOH).

RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 1,01 (3H, d, J = 5,8 Hz), 1,03 (3H, d, J = 6,3 Hz), 1,54 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,63-1,82 (4H, m), 2,14 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 2,49 (1H, d, J = 15,6 Hz), 2,62 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 3,83-3,86 (1H, m), 4,32 (1H, d, J = 5,8 Hz).

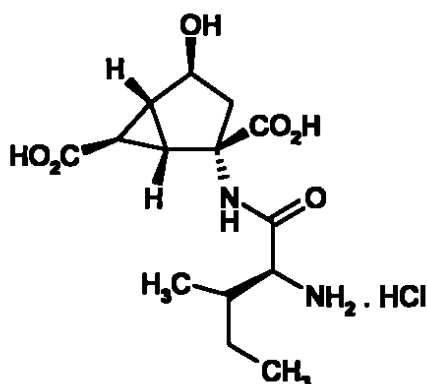
Análisis calculado para $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot HCl \cdot 1,4H_2O$: C, 44,72; H, 6,92; N, 7,45.

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

HRMS calculado para $C_{14}H_{23}N_2O_8$, 315,1558. Encontrado, 315,1569.

5 Ejemplo 25

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



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

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

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 0,99 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,08 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,17-1,27 (1H, m), 1,53 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,59-1,65 (1H, m), 1,76 (1H, dd, J = 5,8, 15,6 Hz), 1,96-2,00 (1H, m), 2,14 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 2,46 (1H, d,

J = 15,6 Hz), 2,66 (1H, dd, J = 2,9, 5,8 Hz), 3,70 (1H, d, J = 5,4 Hz), 4,31 (1H, d, J = 5,8 Hz).

Análisis calculado para $C_{14}H_{22}N_2O_6 \cdot 1,1HCl \cdot 1,2H_2O$: C, 44,71; H, 6,83; N, 7,45.

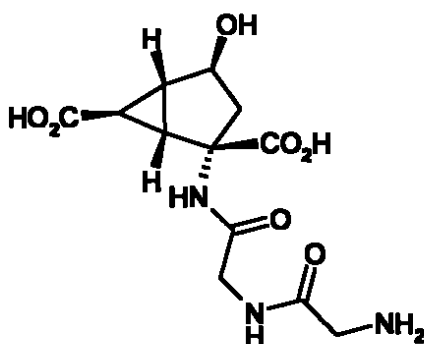
Encontrado: C, 44,38; H, 6,51; N, 7,08.

5 HRMS calculado para $C_{14}H_{23}N_2O_6$, 315,1556. Encontrado, 315,1566.

Ejemplo 26

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

10



Se trata éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-acetilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (360 mg, 0,77 mmol, Preparación 27) con un exceso de HCl 15 4M en dioxano y se agita durante 40 minutos; se concentra a vacío. Se añade acetato de etilo y se concentra. Se trata el sólido con THF (3M) y LiOH 1N (3,0 equiv.). Se agita durante 1 hora y luego se añade HCl 1N hasta pH=3. Se concentra la reacción a vacío. Se purifica por resina de intercambio iónico DOWEX® 50WX8-100. Rendimiento: 188 mg (78%).

20 $[\alpha]^{23}_D = +3,92$ (c=0,51, H₂O).

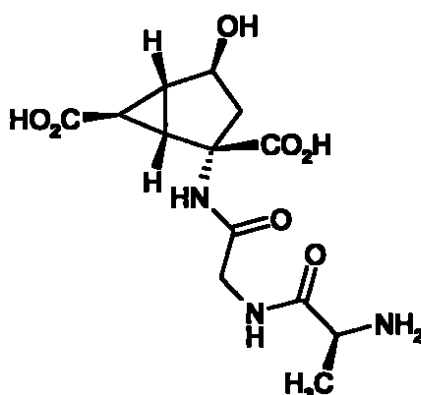
RMN de ^1H 300 MHz, D_2O) δ 1,43 (1H, t, $J = 2,9$ Hz), 1,53 (1H, dd, $J = 5,9, 15,4$ Hz), 1,98 (1H, m), 2,23-2,31 (2H, m), 3,70 (2H, s), 3,82 (2H, d aparente, $J = 1,1$ Hz), 4,16 (1H, d, $J = 5,9$ Hz).

HRMS calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_7$, 316,1145. Encontrado, 316,1123.

5

Ejemplo 27

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



10

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

15

$[\alpha]_D^{23} = +23,53$ ($c=0,51$, H_2O).

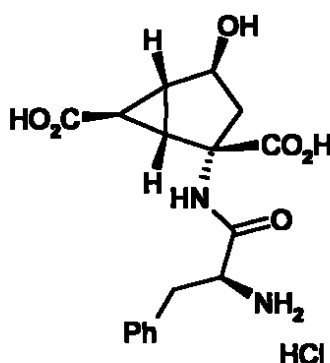
RMN de ^1H 300 MHz, D_2O) δ 1,36 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,37 (1H, t, $J = 3,3$ Hz), 1,49 (1H, dd, $J = 5,9, 15,4$ Hz), 1,91 (1H, dd, $J = 2,9, 5,9$ Hz), 2,15 (1H, dd, $J = 2,9, 5,9$ Hz), 2,27 (1H, d, $J = 15,4$ Hz), 3,79 (2H, s), 3,95 (1H, c, $J = 7,0$ Hz),

4,13 (1H, d, J = 5,5 Hz).

HRMS calculado para $C_{13}H_{19}N_3O_7$, 330,1301. Encontrado, 330,1290.

Ejemplo 28

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



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

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

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

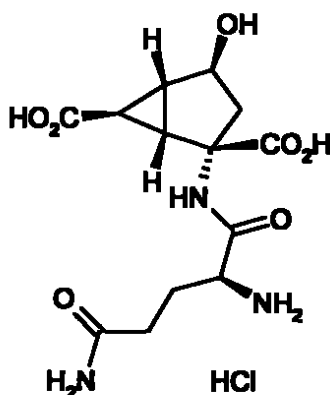
HRMS calculado para $C_{17}H_{21}N_2O_6$, 349,1400. Encontrado, 349,1388.

Anal. Calculado para $C_{17}H_{21}N_2O_6 \cdot HCl \cdot H_2O$: C, 50,69; H, 5,76; N, 6,95; Cl,
 20 8,80. Encontrado: C, 50,66; H, 5,65; N, 6,85; Cl, 8,20.

MS encontrado 349,0 [M+H]⁺.

Ejemplo 29

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



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

nuevo proporcionando 446 mg (cuantitativo) del compuesto del epígrafe.

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

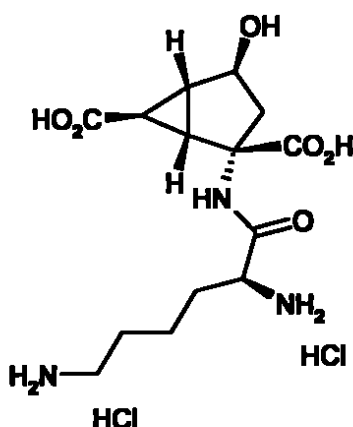
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,60 (1H, t, $J = 3,3$ Hz), 1,79 (1H, dd, $J = 5,5$, 15,4 Hz), 2,10 – 2,17 (3H, m), 2,46 – 2,55 (3H, m), 2,60 (1H, dd, $J = 2,9$, 5,9 Hz), 3,94 (1H, t, $J = 6,2$ Hz), 4,33 (1H, d, $J = 5,5$ Hz).

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

HRMS calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7$, 330,1301. Encontrado, 330,1295.

Ejemplo 30

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



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

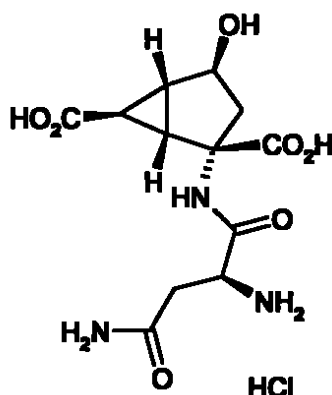
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,47-1,59 (3H, m), 1,66-1,78 (2H, m), 1,84 (1H, dd, $J = 5,4$, 15,2 Hz), 1,91 (2H, m), 2,16 (1H, dd, $J = 3,4$, 5,7 Hz), 2,45 (1H, d, $J=15,7$ Hz), 2,66 (1H, dd, $J = 2,9$, 5,9 Hz), 2,97 (2H, t, $J = 7,3$ Hz), 3,92 (1H, t,

J = 6,4 Hz), 4,33 (1H, d, J = 5,4 Hz).

MS encontrado 330,0 [M+H]⁺.

Ejemplo 31

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



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

sólido en una cantidad mínima de agua, se trata con HCl 0,5 N (5 ml) y se liofiliza 3 veces proporcionando 386 mg (90%) del compuesto del epígrafe.

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

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,59 (1H, t, 3,4 Hz), 1,76 (1H, dd, J = 5,9, 16,1 Hz), 2,11 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,53 (1H, d, J = 16,1 Hz), 2,55 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 2,74 (1H, dd, J = 9,8, 17,1 Hz), 2,95 (1H, dd, J = 3,9, 17,1 Hz), 4,19 (1H, dd, J = 3,9, 9,8 Hz), 4,32 (1H, d, J = 5,9 Hz).

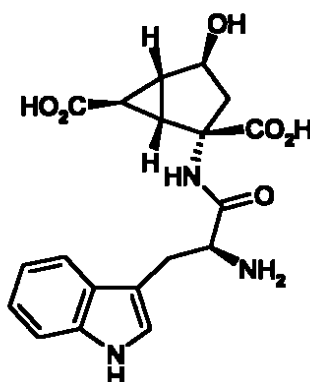
MS encontrado 316,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 337,9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$, 338,0964. Encontrado, 338,0953.

10

Ejemplo 32

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



15

Se prepara disolviendo éster dietílico del ácido 2-[2'-*terc*-butoxicarbonilamino-3'-(1'-*terc*-butoxicarbonil-1H-indol-3'-il)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,93 mmol, Preparación 33) en THF (11 ml) y tratando la solución con LiOH 2,5 N (11 ml). Se deja la solución agitando 3 horas y luego se ajusta hasta pH=2 con HCl 2,5 N. Se extrae el

20

producto cuatro veces con acetato de etilo, se seca sobre sulfato sódico y se concentra a vacío dando un polvo blanco. Se disuelve el diácido producto (0,78 mmol) en una solución de HCl 4M en dioxano (20 ml) y se deja agitando la mezcla de reacción 3 horas a 23°C. La mezcla de reacción se concentra, se diluye con diclorometano y se concentra de nuevo a vacío. Se disuelve el producto bruto en metanol, se aplica a una placa de cromatografía radial (gel de sílice), se deja secar por centrifugación y se eluye con MeOH (10%)/NH₄OH (1%)/CHCl₃ hasta MeOH (60%)/NH₄OH (2%)/CHCl₃. El producto se disuelve en agua y se liofiliza dos veces proporcionando 139 mg (46%) del compuesto del epígrafe.

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

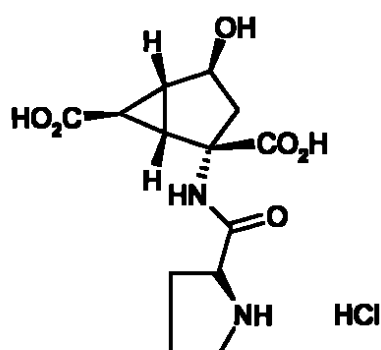
RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 1,43 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,57 (1H, dd, J = 5,9, 15,2 Hz), 2,05 (1H, dd, J = 3,4, 6,4 Hz), 2,41 (1H, d, J = 14,7 Hz), 2,46 (1H, dd, J = 2,4, 5,9 Hz), 3,15 (1H, dd, J = 5,4, 14,7 Hz), 3,49 (1H, dd, J = 5,4, 14,7 Hz), 4,05 (1H, dd, J = 5,4, 9,3 Hz), 4,17 (1H, d, J = 5,4 Hz),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

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

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

20 Ejemplo 33

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



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

$$[\alpha]^{23}_D = -40 \text{ (c=0.5, MeOH).}$$

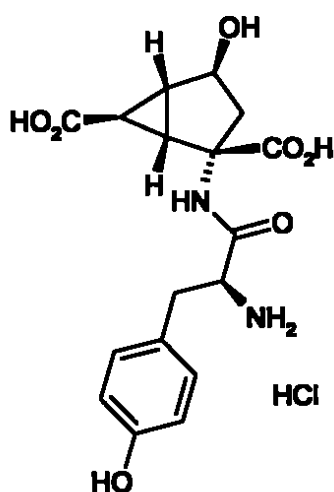
RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 1,59 (1H, t, $J = 3$ Hz), 1,78 (1H, dd, $J = 5,9$, 15,3 Hz), 2,06 (4H, m), 2,42 (1H, m), 2,59 (2H, m), 3,35 (m, 3H), 4,27 (1H, m), 4,32 (1H, d, $J = 5.9$ Hz).

HRMS calculado para C₁₃H₁₉N₂O₆, 299,1243. Encontrado, 299,1242.

Anal. Calculado para $C_{13}H_{18}N_2O_8 \cdot HCl \cdot H_2O$: C, 44,26; H, 6,00; N, 7,94.
Encontrado: C, 44,13; H, 5,78; N, 7,62.

15 Ejemplo 34

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



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-*terc*-Butoxycarbonilamino-3'-(4-*terc*-butoxycarboniloxy-fenil)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-

5 dicarboxílico (Preparación 35), con la excepción de que el grupo protector *terc*-butoxycarbonilo se retiró tratando con HCl 4M en dioxano. Rendimiento: 199 mg (50%).

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

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

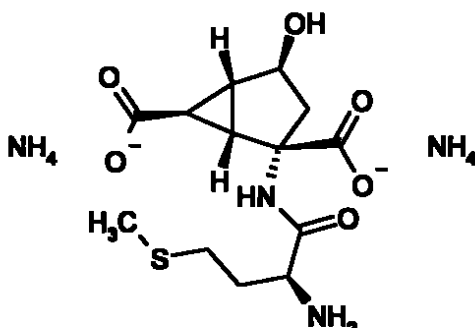
HRMS calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7$, 365,1349. Encontrado, 365,1374.

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

Ejemplo 35

Sal bisamónica del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-amino-4'-metilsufanil-

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



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del
 5 ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxycarbonylamino-4'-metilsulfanil-
 butirilamino)-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (Preparación 36),
 con la excepción de que el grupo protector *tert*-butoxycarbonylo se retiró
 tratando con HCl 4M en dioxano. El compuesto final se cargó con MeOH en
 una placa Chromatotron de 2 mm y se eluyó con CHCl₃/MeOH/NH₄OH
 10 50/49,5/0,5. Durante el transcurso de la elución la cantidad de NH₄OH se
 aumentó hasta el 1% dando el compuesto bipolar. Rendimiento: 136 mg
 (37%).

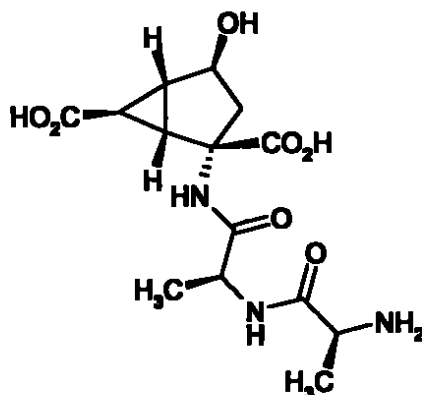
$[\alpha]^{23}_D = +28$ (c=1,0, MeOH).

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

Ejemplo 36

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

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



Se agita éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)- 2-[2'S-(2S-terc-
5 butoxycarbonilamino-propionilamino)propionilamino]-4-hidroxi-
biciclo[3.1.0.]hexano-2,6-dicarboxílico (0,045 g, 0,1 mmol, Preparación 39) en 1
ml de HCl 4N en dioxano durante 40 min y luego se concentra la reacción a
vacío. El material bruto se agita en THF (5 ml) y LiOH 0,5N (0,35 mmol)
durante 1 hora. Se ajusta el pH =2 con HCl 0,5 N y se concentra la reacción. El
10 producto se purifica usando cromatografía de intercambio catiónico (Dowex®
50X8-100; se eluye con piridina al 10% /H₂O) proporcionando 19 mg (55,3%)
del compuesto del epígrafe.

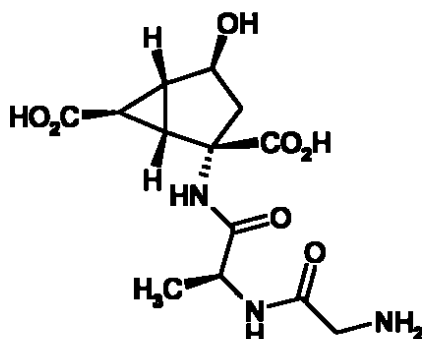
RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 1,23 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,36 (3H, d, J = 7,3 Hz),
1,40-1,45 (1H, m), 1,50 (1H, dd, J = 5,5, 15,4 Hz), 1,90-1,96 (1H, m), 2,20 (1H,
15 dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,29 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,90 (1H, c, J = 7,3 Hz), 4,15-
4,22 (2H, m).

MS (ES) m/z 342,1 [M-1].

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

20 Ejemplo 37

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

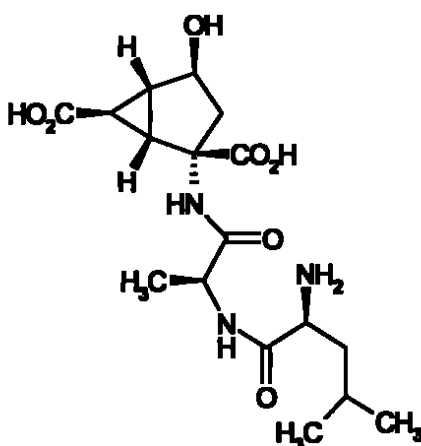


- 5 Éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,12 g, 0,25 mmol, Preparación 40) en THF (5 ml) y LiOH 1N (1,0 mmol) durante 1 hora. La mezcla se ajusta a pH=2 usando HC 1N y se concentra. El material bruto se agita en una solución
- 10 saturada de HCl (g) acetato de etilo a 0°C. Se elimina el HCl (g) en exceso purgando con N₂ y se concentra la reacción. El producto bruto se purifica usando cromatografía de intercambio catiónico (Dowex® 50X8-100; se eluye con piridina al 10% /H₂O) proporcionando 0,06 g (72,9%) del compuesto del epígrafe.
- 15 $[\alpha]^{23}_D = -42,11$ (c = 0,57, H₂O).
- RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 1,21 (3H, d, J = 7,3 Hz), 1,39 (1H, m), 1,50 (1H, dd, J = 5,7, 15,8 Hz), 1,91 (1H, m), 2,15 (1H, dd, J = 2,6, 5,9 Hz), 2,28 (1H, d, J = 15,0 Hz), 3,65 (2H, s), 4,14 (1H, d aparente, J = 5,9 Hz), 4,20 (1H, c aparente, J = 7,3 Hz).
- 20 HRMS calculado para C₁₃H₂₀N₃O₇, 330,1301. Encontrado, 330,1299.

Ejemplo 38

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

5



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'-(2S-*tert*-butoxicarbonilamino-4-metil-pentanoilamino)-propionilamino]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

10 (Preparación 41). Rendimiento: 0,21 g (57 %, 0,50 mmol) de un sólido blanco.

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

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

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

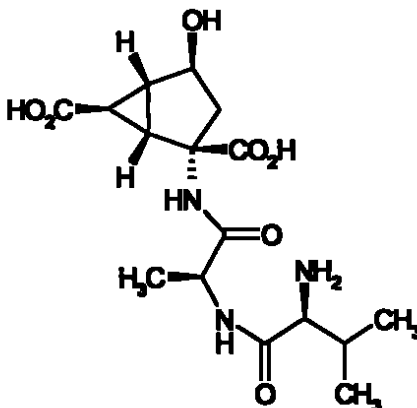
HRMS (ES) calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 386,1927. Encontrado,

386,1911.

Ejemplo 39

Ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-[2'S-(2-amino-3-metil-butilamino)-propionilamino]-

5 **4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico**



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

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

(Preparación 42). Rendimiento: 0,15 g (88 %, 0,37 mmol) de un sólido blanco.

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

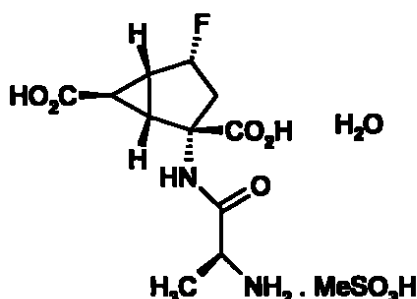
RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 0,92 (3H, d, J = 7,0 Hz), 0,95 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,28 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,52 (1H, t, J = 2,9 Hz), 1,60 (1H, dd, J = 5,9, 15,4 Hz), 1,98 (1H, dd, J = 3,3, 5,9 Hz), 2,03-2,15 (1H, m), 2,39 (1H, dd, J = 2,9, 6,2 Hz), 2,45 (1H, d, J = 15,4 Hz), 3,56 (1H, d, J = 5,5 Hz),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

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

HRMS (ES) calculado para $C_{16}H_{26}N_3O_7$ $[M + H]^+$, 372,1771. Encontrado, 372,1758.

Ejemplo 40

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



Se añaden 16 ml de agua seguido por 11,4 ml (175 mmol) de ácido metanosulfónico a una solución turbia de ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-
 10 (terc-butoxicarbonilamino)propionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (32,8 g, 87,5 mmol, Preparación 52) en 295 ml de acetona a reflujo suave, gota a gota, dando una solución amarillo apagado transparente que da una suspensión después de 5 minutos. Se agita durante 130 minutos, se retira la fuente de calor y se añaden otros 295 ml de acetona durante 30
 15 minutos. Se enfría la suspensión hasta temperatura ambiente, luego se agita otras 2 horas. Se filtra la suspensión, se lava con acetona (2 x 82 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 16 horas dando 31,5 g (93%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

El material se puede cristalizar posteriormente. Se mezclan 30,5 g del
 20 producto bruto anterior con 152,5 ml de acetona y 35 ml de agua. Se calienta hasta 55 °C y se añade agua (3,66 ml) para efectuar la disolución completa.

Se diluye la solución con 61 ml de acetona y se siembra opcionalmente. Se retira la fuente de calor y se deja que la mezcla se enfríe gradualmente hasta que haya comenzado una buena nucleación. Se añaden 396 ml de acetona a la suspensión durante 70 minutos, luego se agita a temperatura ambiente durante 5 otras 3 horas más. Se filtra, se lava con acetona (3 x 91 ml) y se seca a vacío a 45 °C varias horas (de forma típica durante la noche) proporcionando 27,7 g (recuperación del 91%) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 200 °C.

$[\alpha]_D^{25} +34^\circ$ (c 1,0, CH₃OH)

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

RMN de ¹³C 100 MHz (DMSO-d₆) δ 173,1, 172,3, 169,7, 92,8 (d, 15 Desdoblamiento C-F), 63,2 (d, Desdoblamiento C-F), 48,0, 39,7, 36,4 (d, Desdoblamiento C-F), 32,5 (d, Desdoblamiento C-F), 29,3 (d, Desdoblamiento C-F), 19,3 (d, Desdoblamiento C-F), 16,9.

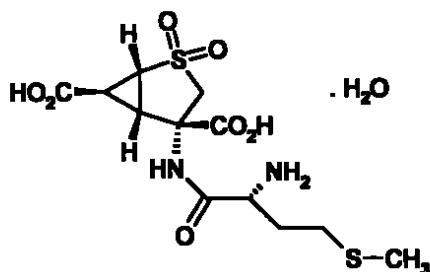
FTIR (KBr) 3461 (w), 3379 (w), 3269 (m), 2653 (s), 2591 (s), 2529 (s), 1724 (s), 1691 (s), 1353 (m), 1287 (s), 1271 (s), 1256 (s), 1212 (s), 1147 (s), 1052 (s), 20 1024 (s), 787 (m) cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₂H₂₁FN₂O₈S: C, 37,11; H, 5,45; N, 7,21. Encontrado: C, 37,12; H, 5,45; N, 7,16.

Ejemplo 41

25 Ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-

tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico monohidrato



Se calienta una suspensión de sal monosódica del ácido (1R,4S,5S,6S)-
5 4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*terc*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-
biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (110,04 g, 225,3 mmol, Preparación 55)
en acetona (110 ml) y agua (550 ml) hasta 55 °C. Se añade ácido clorhídrico
concentrado (56 ml, 675,8 mmol) gota a gota a la suspensión agitada para
proporcionar gradualmente la disolución. Una vez completada la adición, se
10 agita la solución a 55 °C durante 2 horas. Se retira la fuente de calor y se deja
enfriar la solución hasta temperatura ambiente. Se filtra la solución y se aclara
con 20 ml de agua. Se añade lentamente hidróxido sódico 2N (165 ml, 330
mmol) a la solución para elevar el pH hasta 1,71, momento en el que se
produce la precipitación. Se agita durante 10 minutos; se forma una suspensión
15 clara y el pH baja hasta 0,98. Se añade a la suspensión resultante más
hidróxido sódico 2N (62 ml, 124 mmol) para elevar el pH hasta 3,06, seguido
por agitación durante 3 horas dando un pH final de 3,24. La suspensión se
filtra, se lava con agua (2 x 165 ml) y se seca a 45 °C durante 15 horas
proporcionando 73,27 g (rendimiento en peso del 85%) del compuesto del
20 eplgrafe como un sólido blanco.

p.f. (DSC) 203 °C.

[α]_D²⁵ +13,4 (c 1,19, 1N HCl).

RMN de ^1H 500 MHz (D_2O) δ 3,99 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 3,93 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 3,50 (dd, 1H, $J = 1,0, 4,0$ Hz), 3,12 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 2,95 (dd, 1H, $J = 4,0, 7,0$ Hz), 2,48 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), 2,33 (t, 1H, $J = 4,0$), 2,09 - 1,98 (m, 5H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, D_2O) δ 173,50, 172,60, 169,18, 61,66, 54,76, 52,19, 42,55, 31,70, 30,10, 28,09, 23,53, 14,14.

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

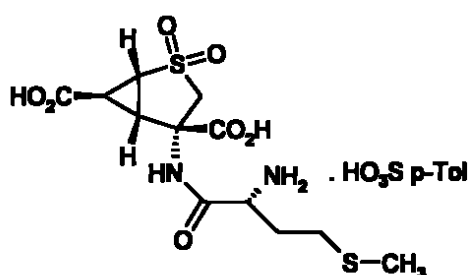
Análisis calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 37,49; H, 5,24; N, 7,29.

Encontrado: C, 37,34; H, 5,04; N, 7,15.

Ejemplo 42

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

15



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

biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (118,09 g corregidos, 253 mmol,

Preparación 56) y ácido *p*-toluenosulfónico monohidrato (54 g, 278 mmol) en tolueno (1180 ml), dando lugar a una suspensión espesa. Se agita la suspensión a reflujo durante 165 minutos. Se retira la fuente de calor y se deja

20

enfriar la suspensión hasta temperatura ambiente, seguido por agitación durante la noche. Se filtra la suspensión, se lava con tolueno (3 x 240 ml) y se seca a vacío a 45 °C durante 22 horas proporcionando 134,92 g (98% rendimiento) del compuesto del epígrafe.

5 p.f. (DSC) 255 °C.

$[\alpha]_{25}^D +8,3$ (c 1,2, CH₃OH).

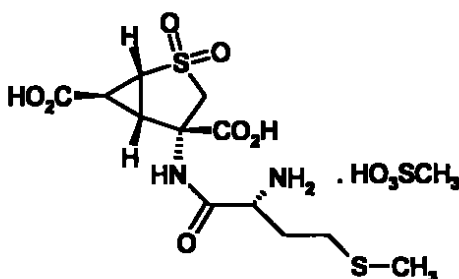
RMN de ¹H 500 MHz (CD₃OD) δ 7,71 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,24 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 4,14 (d, 1H, J = 15 Hz), 4,00 (t, 1H, J = 6,0 Hz), 3,54 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 3,13 (d, 1H, J = 15 Hz), 3,01 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,60 (t, 2H, J = 8,0 Hz), 2,49 (t, 1H, J = 4,0 Hz), 2,37 (s, 3H), 2,19 – 2,12 (m,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

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

FTIR (ATR) 3091,19 (w), 1730,91 (s), 1668,22 (s), 1563,97 (s), 1518,49 (s), 1312,69 (m), 1247,46 (s), 1212,05 (s), 1156,33 (s), 1123,09 (s), 1035,95 (s), 1011,36 (s), 892,41 (s), 814,02 (s), 683,69 (s) cm⁻¹.

Ejemplo 43

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



Se calienta hasta 85°C una suspensión del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-(*tert*-butoxicarbonil)aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2λ⁶-tia-biciclo[3.1.0]hexano-4,6-dicarboxílico (1,08 g, 2,31 mmol, Preparación 56) en 13 ml de propionitrilo. Se añade agua (540 µl) a la suspensión, luego se añade
5 ácido metanosulfónico, gota a gota (225 µl, 3,47 mmol). Se agita la suspensión durante 90 minutos. Se retira la fuente de calor y se añade propionitrilo (30 ml). La suspensión se enfría hasta temperatura ambiente y se agita durante 90 minutos. Se filtra, se lava con propionitrilo (3 x 2,7 ml) y se seca a 45 °C durante la noche dando 1,04 g (97%) del compuesto del epígrafe.

10 p.f. (DSC) 244 °C.

[α]_D²⁵ +10,2 (c 1,16, CH₃OH).

RMN de ¹H 500 MHz (CD₃OD) δ 4,16 (d, 1H, J = 15 Hz), 4,00 (t, 1H, J = 6,0 Hz), 3,54 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 3,15 (d, 1H, J = 15 Hz), 3,01 (dd, 1H, J = 4,0, 7,0 Hz), 2,71 (s, 3H), 2,61 (t, 2H, J = 8,0), 2,51 (t, 1H, J = 4,0), 2,20 - 2,14
15 (m, 5H).

RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ 170,50, 169,71, 169,00, 60,27, 54,78, 52,18, 42,43, 38,35, 30,90, 30,78, 28,20, 22,35, 13,96.

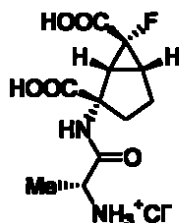
FTIR (ATR) 3055,57 (m), 1725,90 (s), 1693,60 (s), 1527,33 (s), 1528,96 (s), 1320,89 (s), 1176,86 (s), 1152,70 (s), 1118,55 (s), 1051,42 (s), 816,49 (s),
20 786,63 (s) cm⁻¹.

Análisis calculado para C₁₂H₁₈N₂O₇S₂.CH₄O₃S: C, 33,76; H, 4,79; N, 6,06. Encontrado: C, 33,98; H, 4,82; N, 5,98.

Ejemplo 44

25 Clorhidrato del ácido (1R,2S,5R,6R)-2-(2'R-aminopropionil)amino-6-fluoro-

biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico

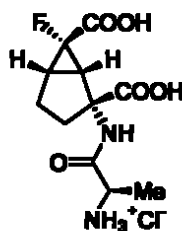


Se añaden 1,13 ml (2,8 mmol) de LiOH 2,5 N a una solución de 0,20 g
 5 (0,47 mmol) del Isómero A de la Preparación 60 en THF (1,2 ml) y se agita la
 mezcla resultante durante la noche a temperatura ambiente. Se lava la
 solución con éter, se neutraliza a 0°C con HCl 1N y se extrae con EtOAc (3 x 3
 ml). Se secan las fases orgánicas reunidas sobre MgSO₄ anhidro y se
 concentran a presión reducida. Se disuelve el producto bruto en 3,76 ml de HCl
 10 1N en EtOAc y se agita durante la noche. Se decanta el disolvente, se lava con
 éter y se seca el producto con una corriente de Ar, dando el compuesto del
 epígrafe (83 mg, 57% de rendimiento) como un sólido blanco.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,28 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,64-1,69 (m, 1H),
 1,86-2,02 (m, 1H), 2,11-2,21 (m, 3H), 2,54 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 3,84 (c, 1H, J =
 15 7,1 Hz).

Ejemplo 45

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

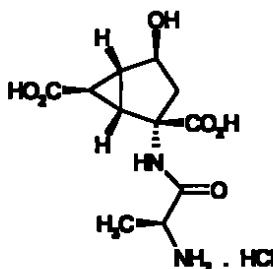


Comenzando con una solución del Isómero B de la Preparación 60, se prepara el compuesto del epígrafe esencialmente como en el Ejemplo 44.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,30 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz), 1,59-1,65 (m, 1H),
 5 1,85-2,03 (m, 1H), 2,05-2,25 (m, 3H), 2,53 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz), 3,85 (c, 1H, $J = 7,1$ Hz).

Ejemplo 46

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



Se prepara según el Procedimiento general C usando éster dietílico del ácido (1S,2S,4S,5R,6R)-2-(2'S-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)-4-
 15 hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico (0,47 g, 1,1 mmol, Preparación 37) proporcionando 0,23 g (67,7%) del compuesto del epígrafe.

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

RMN de ^1H (CD_3OD) δ 1,51 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,56 (1H, t, $J = 2,9$ Hz), 1,77

(1H, dd, J = 5,8, 15,8 Hz), 2,1-2,13 (1H, m), 2,52 (1H, d, J = 16,1 Hz), 2,57 (1H, dd, J = 2,9, 5,9 Hz), 3,88 (1H, dd, J = 7,0, 14,3 Hz), 4,32 (1H, d, J = 5,5 Hz).

Anal. Calculado para $C_{11}H_{17}N_2O_8 \cdot 1,1 HCl \cdot 0,9 H_2O$: C, 40,12; H, 5,80; N, 8,53. Encontrado: C, 39,85; H, 5,41; N, 8,36.

5 HRMS calculado para $C_{11}H_{16}N_2O_8Na$, 295,0906. Encontrado, 295,0883.

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

15 Ensayo de recaptación de Gly-Sar

Se ha observado que algunos fármacos peptidomiméticos administrados por vía oral se absorben a través del sistema transportador de péptidos intestinal, *Yang, et al.*, Pharm. Res. 16(9) (1999). En particular, el transportador de péptidos intestinal hPepT1 se ha estudiado para determinar su expresión de
20 la inhibición de la recaptación de peptidilo y su correspondiente nivel de reconocimiento en una célula. *Meredith, et al*, Eur. J. Biochem., 267, 3723-3728 (2000). Además, la caracterización del mecanismo de absorción intestinal de aminoácidos en el transportador hPepT1 se ha señalado como una estrategia eficaz para identificar absorciones de fármacos orales mejoradas. *Han, et al.*,
25 Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem) 40(1): 259-260 (1999);

Sawada, et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 291(2): 705-709 (1999).

La patente de Estados Unidos Nº 5.849.525 describe procedimientos que se podrían usar para medir el nivel de afinidad de los compuestos de la presente invención con el transportador hPepT1.

5 **Por ejemplo, las células de Ovario de Hámster Chino (CHO)**
transfectadas de modo estable que sobreexpresan el transportador hPepT1 se
podrían usar para ensayar compuestos de la presente invención. Las células
CHO controlarían la recaptación de Gly-Sar que, cuando se produce la
recaptación en presencia de compuestos profármacos de la presente invención
10 **lo hace en una cantidad mayor que cuando la célula esté exenta de**
compuestos profármacos de la presente invención será indicio de actividad
agonista; y que cuando la recaptación de los compuestos profármacos de la
presente invención sea menor que la recaptación en ausencia de compuestos
profármacos de la presente invención será indicio de actividad inhibidora. Los
15 **compuestos de la presente invención presentan por lo general valores de CE₅₀**
menores que 5 mM.

Ensayo de Caco-2

Otro procedimiento particular para medir la recaptación de los
compuestos de la presente invención en células es estudiar el vehículo
transportador de péptidos de la línea celular Caco-2. Se realizan pases de
25 células de adenocarcinoma humano (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center,
Rye, NY, y/o ATCC, Rockville, MD) en medio Eagle modificado por Dulbecco
que contenía suero bovino fetal al 10% y solución de aminoácidos no
esenciales en Medio Mínimo Esencial al 1% sin adición de piruvato sódico o

antibióticos. Estas células estaban exentas de micoplasma y se usaron entre los pases número 28 y 40. Se desarrollan en discos multipocillo revestidos de colágeno para las medidas de flujo de 5 a 10×10^4 células durante 13 a 18 días y se reemplaza el medio cada dos a tres días.

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

- La recaptación se mide durante 40 minutos. Las velocidades de recaptación inicial se calculan en la región lineal de la regresión del transcurso
- 20 de tiempo y un tiempo cero estimado como se ha descrito antes usando regresión lineal. La inhibición porcentual se calcula en base a la velocidad de recaptación control medida en ausencia de dipéptido. En Dantzig & Bergin, Biochim. Biophys. Acta 1027, 211-17 (1990) pueden encontrarse ejemplos de este ensayo de Caco-2.

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

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

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

Tabla 1A	
Ensayo de exposición <i>in vivo</i>	
Compuesto	Exposición de la rata

	(ng/ml de clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-aminopropionil)amino-]-2,2-dioxo-2λ ⁶ -tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico)
Ejemplo 1	2251 ng/ml (después de 10 mg/kg oralmente)
Forma no profármaco del Ejemplo 1	1521 ng/ml (después de 5 mg/kg oralmente) 3981 ng/ml (después de 10 mg/kg oralmente)

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

Como se muestra en las Tablas 1A y 1B, cuando se administran por vía oral a ratas, los compuestos de la presente invención presentan una 5 concentración plasmática comparable a la del compuesto principal. Esto demuestra que los compuestos de la presente invención se convierten en los compuestos principales, los compuestos de Fórmula II, *in vivo*.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente antes de la administración. Por tanto, otro aspecto de la presente invención es

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

Algunos ejemplos de vehículos, excipientes y diluyentes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma, goma arábica, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, metilcelulosa, metil y propil hidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio y aceite mineral. Las formulaciones pueden incluir además agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes o agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención se pueden formular de modo que proporcionen una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de

la administración al paciente empleando procedimientos bien conocidos en la técnica.

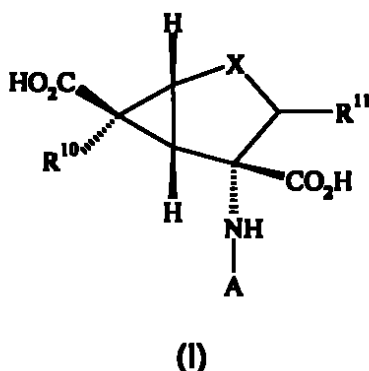
Las composiciones se formulan preferiblemente en una forma de dosis unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 mg a 5 aproximadamente 500 mg de ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 300 mg de ingrediente activo. Tal y como se usa en la presente memoria,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

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

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

5 1. Un compuesto de Fórmula I



en la que:

A es H-(Q)_p;

10 Q se selecciona independientemente, cada vez que aparece, del grupo aminoácido;

p es un número entero de 1 a 10;

X es O, S, SO, SO₂ o CR³R⁴;

15 R³ es fluoro, X'OR⁵, SO₃H, tetrazol-5-ilo, CN, PO₃R⁶₂, hidroxil, NO₂, N₃, (CH₂)_mCOOR^{5a}, (CH₂)_mPO₃R^{6a}₂, NHCONHR^{5b} o NHSO₂R^{5c} y R⁴ es hidrógeno; o cada uno de R³ y R⁴ representa fluoro; o R³ y R⁴ representan juntos =O, =NOR⁷, =CR⁸R⁹, =CHCOOR^{5b}, =CHPO₃R^{6a}₂ o =CHCN; o uno de R³ o R⁴ representa amino y el otro representa carboxilo;

X' representa un enlace, CH₂ o CO;

20 m es un número entero de 1 a 3;

R⁵, R^{5a}, R^{5b}, R^{5c}, R⁷, R⁸ y R⁹ son independientemente un átomo de

hidrógeno; un grupo alquilo (1-6C) opcionalmente sustituido; un grupo alquenilo (2-6C) opcionalmente sustituido; un grupo alquinilo (2-6C) opcionalmente sustituido; un grupo aromático opcionalmente sustituido; un grupo heteroaromático opcionalmente sustituido; un grupo carbocíclico no aromático; un grupo heterocíclico no aromático; un grupo carbocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos; o un grupo heterocíclico monocíclico no aromático condensado con uno o dos grupos aromáticos o heteroaromáticos monocíclicos;

10 R^6 y R^{6a} representan independientemente hidrógeno o un grupo alquilo (1-6C);

R^{10} es hidrógeno o fluoro; y

R^{11} es hidrógeno, fluoro, o hidroxí;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

15

2. Un compuesto o sal según la reivindicación 1, con la condición de que el compuesto o sal no sea uno en el que X es CR^3R^4 , donde R^3 es fluoro y R^4 es hidrógeno, p es 1 y Q es L-alanilo; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20

3. Un compuesto o sal según la reivindicación 1 ó 2, en el que

A es $H-(Q)_p^-$;

Q se selecciona independientemente, cada vez que aparece, del grupo aminoácido;

25

p es un número entero de 1 a 3;

X es O, S, SO, SO₂ o CR³R⁴;

R³ es fluoro o hidroxi y R⁴ es hidrógeno; o R³ y R⁴ representan juntos =O;

R¹⁰ es hidrógeno o fluoro; y

5 R¹¹ es hidrógeno, fluoro o hidroxi.

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

10 5. Un compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que X es SO₂.

6. Un compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que X es CR³R⁴, R³ es fluoro y R⁴ es hidrógeno.

15

7. Un compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que X es CR³R⁴, R³ es hidroxi y R⁴ es hidrógeno.

8. Una sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 1, 20 que es una sal de adición de ácidos preparada con un ácido que proporciona un anión farmacéuticamente aceptable; una sal de adición de bases preparada con una base que proporciona un anión farmacéuticamente aceptable para un compuesto que contiene un resto ácido; o un compuesto bipolar que contiene grupos con carga opuesta.

25

9. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
A es $H-(Q)_p^-$;
Q es L-alanilo;
p es 1;
5 X es SO_2 o CR^3R^4 ;
 R^3 es fluoro y R^4 es hidrógeno;
 R^{10} es hidrógeno; y
 R^{11} es hidrógeno;
o la sal clorhidrato, sal tosilato, sal mesilato, sal esilato, sal besilato o sal
10 monosódica del mismo.

10. La sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 9 que
es clorhidrato del ácido (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-aminopropionil)amino]-2,2-dioxo-
2 λ^6 -tia-biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico o tosilato del ácido
15 (1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-2'-aminopropionil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-
biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico.

11. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido
(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-
20 biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico o una de sus sales farmacéuticamente
aceptables.

12. El compuesto según la reivindicación 11, que es ácido
(1R,4S,5S,6S)-4-(2'S-4'-metiltio-2'-aminobutanonil)amino-2,2-dioxo-2 λ^6 -tia-
25 biciclo[3.1.0.]hexano-4,6-dicarboxílico monohidrato.

13. La sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 1, que es clorhidrato del ácido 1*S*,2*S*,4*S*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-aminopropionil)amino-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico.

5

14. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que

A es H-(Q)_p;

Q es L-alanilo;

p es 1;

10

X es CR³R⁴;

R³ es fluoro y R⁴ es hidrógeno;

R¹⁰ es hidrógeno; y

R¹¹ es hidrógeno;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

15

15. El compuesto o sal según la reivindicación 14, que se selecciona del grupo formado por:

20

a) clorhidrato del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico;

b) mesilato del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico;

25

c) esilato del ácido 1*R*,2*S*,4*R*,5*R*,6*R*-2-(2'*S*-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico;

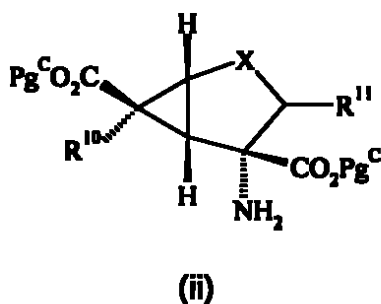
- d) besilato del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico;
- 5 e) tosilato del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico;
- f) ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico; y
- 10 g) sal monosódica del ácido 1R,2S,4R,5R,6R-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluorobiciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico.

16. La sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 15, que es mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico.

17. La sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 16 que es mesilato del ácido (1R,2S,4R,5R,6R)-2-(2'S-2'-aminopropionil)amino-4-fluoro-biciclo[3.1.0]hexano-2,6-dicarboxílico monohidrato.

20

18. Un procedimiento para preparar un compuesto de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, según la reivindicación 1, que comprende acilar un compuesto de fórmula (ii)



con un aminoacilo de Fórmula III correspondiente

5



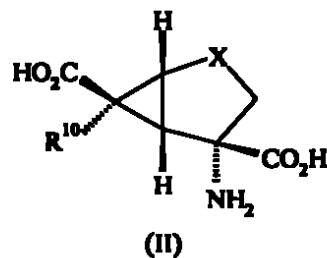
en el que Pg^{N} es un grupo protector de nitrógeno;

a continuación, para cualquiera de los procedimientos anteriores,
10 cuando se protege un grupo funcional usando un grupo protector, retirar el grupo protector;

a continuación, para cualquiera de los procedimientos anteriores:
cuando se requiere una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de
Fórmula I, hacer reaccionar la forma básica de dicho compuesto de Fórmula I
15 con un ácido proporcionando un contraión farmacéuticamente aceptable; o
para un compuesto de Fórmula I que tiene un resto ácido, hacer reaccionar la
forma ácida de dicho compuesto de Fórmula I con una base que proporcione
un catión farmacéuticamente aceptable; o para un compuesto de Fórmula I
bipolar, neutralizar la forma de sal de adición de ácidos o la forma de sal de
20 adición de bases de dicho compuesto de Fórmula I; o por cualquier otro
procedimiento convencional.

19. Un procedimiento para afectar a los receptores de glutamato metabotrópico ligados a cAMP en un paciente, que comprende administrar a un paciente que requiere neurotransmisión modulada de aminoácidos excitadores una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

20. Un procedimiento para administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula II,



en la que X y R^{10} son como se definen en la reivindicación 1, que comprende administrar a un paciente que requiere neurotransmisión modulada de aminoácidos excitadores una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

21. Un procedimiento para tratar un trastorno neurológico en un paciente que comprende administrar al paciente que necesita tratamiento una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

22. El procedimiento de la reivindicación 21, en el que dicho trastorno neurológico es deficiencias cerebrales después de derivación cardiaca e injerto; isquemia cerebral; traumatismo de la médula espinal; traumatismo craneal; enfermedad de Alzheimer; corea de Huntington;

esclerosis lateral amiotrófica; demencia inducida por SIDA; hipoxia perinatal; lesión neuronal hipoglucémica; lesión ocular y retinopatía; trastornos cognitivos; enfermedad de Parkinson idiopática e inducida por fármacos; espasmos musculares; cefaleas migrañosas; incontinencia urinaria; tolerancia, 5 deshabitación, abandono y deseo irreprimible de drogas; abandono del tabaco; emesis; edema cerebral; dolor crónico; trastornos del sueño; convulsiones; síndrome de Tourette; trastorno con déficit de atención; y discinesia tardía.

10 23. El procedimiento de la reivindicación 22, en el que dicho trastorno neurológico es tolerancia, deshabitación, abandono y deseo irreprimible de drogas; o abandono del tabaco.

 24. Un procedimiento para tratar un trastorno psiquiátrico en 15 un paciente que comprende administrar al paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

 25. El procedimiento de la reivindicación 24, en el que dicho 20 trastorno psiquiátrico es esquizofrenia, ansiedad y trastornos relacionados, depresión, trastornos bipolares, psicosis y trastornos obsesivo-compulsivos.

 26. El procedimiento de la reivindicación 25, en el que dicho 25 trastorno psiquiátrico es ansiedad y trastornos relacionados.

27. Una formulación farmacéutica que comprende, en asociación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, un compuesto de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

RESUMEN

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

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PTC

INFORME DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

(PCT Artículo 36 y Reglamento 70)

Referencia de archivo del agente o del solicitante X14978M	PARA MÁS INFORMACIÓN Ver Notificación de Transmisión del Informe del examen preliminar internacional (Formulario PCT/ISA/220) y, donde sea aplicable, el apartado 5 posterior.	
N.º de solicitud internacional PCT/US 03/15405	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 06/06/2003	(anterior) Fecha de prioridad (día/mes/año) 11/06/2002
Solicitante ELI LILLY AND COMPANY		

El Informe de búsqueda internacional ha sido preparado por la Autoridad de búsqueda internacional y es enviado al solicitante conforme al Artículo 18. Asimismo, la Oficina Internacional recibe también una copia.

Este Informe de búsqueda internacional consta de un total de 6 hojas.

☒ También va acompañado por una copia de cada documento técnico anterior citado en este informe.

1. Bases del informe

- a. Respecto al idioma, la búsqueda internacional se realizó en base a la solicitud internacional en el idioma en el que se presentó, a menos que se indique lo contrario en este apartado.

☐ la búsqueda internacional se realizó en base a la traducción de la solicitud internacional entregada a esta Autoridad (Reglamento 23.1(b)).

- b. En referencia a cualquier secuencia de aminoácidos o nucleótidos mostrada en la solicitud internacional, la búsqueda internacional fue realizada en base al listado de secuencia:

- ☐ contenido en la solicitud internacional manuscrita;
☐ presentado junto con la solicitud internacional en formato electrónico legible;
☐ entregado con posterioridad a esta Autoridad de forma manuscrita;
☐ entregado con posterioridad a esta Autoridad en formato electrónico legible;
☐ se ha facilitado la evaluación en la cual el listado de secuencia escrito, facilitado posteriormente, se ciñe exclusivamente a la descripción incluida en la solicitud internacional en la versión ya presentada;
☐ se ha facilitado la evaluación en la cual la información entregada en formato electrónico legible es idéntica al listado de secuencia manuscrito.

2. ☐ No se pudo realizar la búsqueda para algunas reivindicaciones (véase Cuadro I).

3. ☐ Falta unidad en la invención (véase Cuadro II).

4. Respecto al título,

- ☒ el texto se aprueba como fue presentado por el solicitante.
☐ esta Autoridad ha establecido que el texto se lea como sigue:

5. Respecto al resumen,

- ☒ el texto se aprueba como fue presentado por el solicitante.
☐ esta Autoridad ha establecido el texto, en virtud del Reglamento 38.2(b), como aparece

en el Cuadro III. El solicitante puede, en un período de dos meses desde la fecha de envío de este informe de búsqueda internacional, enviar comentarios a esta Autoridad.

6. La figura de las imágenes publicada con el resumen es la Figura n°

- ☐ como sugerido por el solicitante;
☐ porque el solicitante no sugirió una figura;
☐ porque esta figura apenas caracteriza la invención.
☐ Ninguna de las figuras.

PATENT COOPERATION TREATY

RECEIVED

JAN 29 2004

PCT

ELI LILLY AND COMPANY
Patent DivisionNOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

396

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

ELI LILLY AND COMPANY
Attn. Lee, Kirby W. TMT
P.O. Box 6288
Indianapolis, IN 46206-6288
UNITED STATES OF AMERICA

Date of mailing
(day/month/year)

15/12/2003

Applicant's or agent's file reference

X14978H ✓

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/US 03/15405 ✓

International filing date
(day/month/year)

06/06/2003 ✓

Applicant

ELI LILLY AND COMPANY

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 18:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

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.

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 Offices.

☐ 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 18 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 20 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 18 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 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bruno Danti

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.

397

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 letter 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 46.1).

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 46.2).

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

How?

Either by canceling one or more entire 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.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

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.

398

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 48.4)

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.

Consequence 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).

Consequence 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 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

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

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference X14978H	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 03/15405	International filing date (day/month/year) 06/06/2003	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 11/06/2002
Applicant ELI LILLY AND COMPANY		

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 6 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 36.2(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.

PCT/US 03/15405

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

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K C07K

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, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	✓ US 5 688 826 A (MASSEY STEVEN MARC ET AL) 18 November 1997 (1997-11-18) cited in the application the whole document	1-27
Y	✓ WO 99 38839 A (KUMAGAI TOSHIHITO ;SAKAGAMI KAZUNARI (JP); TOMISAWA KAZUYUKI (JP);) 5 August 1999 (1999-08-05) cited in the application the whole document	1-27
Y	✓ US 5 958 960 A (MASSEY STEVEN MARC ET AL) 28 September 1999 (1999-09-28) cited in the application the whole document	1-27

-/-

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

X Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 November 2003

Date of making of the international search report

15/12/2003

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patenthuis 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 apo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Vogt, T

PCT/US 03/15405

401

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 03/15405

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
P. 9	✓ NO 02 055485 A (HERIN MARC F ;BUENO MELENDO ANA BELEN (ES); MARTIN JOSE ALFREDO (E) 18 July 2002 (2002-07-18) the whole document	1-27
E	✓ NO 03 061698 A (SAKAGAMI KAZUNARI ;CHAKI SHIGEYUKI (JP); DEAN RYOKO (JP); HIROTA S) 31 July 2003 (2003-07-31) the whole document	1-27

402

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 03/15405

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5688826	A	18-11-1997	AT 242510 T	15-06-2003
			AU 5179198 A	03-06-1998
			DE 69722652 D1	10-07-2003
			EP 0938712 A1	01-09-1999
			JP 2001504610 T	03-04-2001
			WO 9821669 A1	22-05-1998
			AU 703409 B2	25-03-1999
			AU 7727996 A	05-06-1997
			BR 9611511 A	04-05-1999
			CA 2237910 A1	22-05-1997
			CN 1202167 A	16-12-1998
			CZ 9801501 A3	14-10-1998
			EA 1617 B1	25-06-2001
			EP 0774461 A1	21-05-1997
			HU 9903459 A2	28-04-2001
			IL 124487 A	11-01-2001
			JP 2000500748 T	25-01-2000
			NO 982202 A	14-05-1998
			NZ 323205 A	29-06-1999
			PL 326695 A1	26-10-1998
			TR 9800877 T2	21-09-1998
			TW 422836 B	21-02-2001
			WO 9718199 A1	22-05-1997
			ZA 9609486 A	12-05-1998
WO 9938839	A	05-08-1999	AT 236118 T	15-04-2003
			AU 734812 B2	21-06-2001
			AU 2183599 A	16-08-1999
			CA 2318800 A1	25-08-1999
			CN 1295557 T	16-05-2001
			DE 69906492 D1	08-05-2003
			DK 1052246 T3	16-06-2003
			EP 1052246 A1	15-11-2000
			ES 2191412 T3	01-09-2003
			JP 11279129 A	12-10-1999
			WO 9938839 A1	05-08-1999
			PT 1052246 T	30-06-2003
			US 6316498 B1	13-11-2001
US 5958960	A	28-09-1999	US 6160009 A	12-12-2000
			US 6268507 B1	31-07-2001
			AT 198190 T	15-01-2001
			AU 729632 B2	08-02-2001
			AU 7386998 A	08-12-1998
			BR 9808787 A	11-07-2000
			CN 1125807 B	29-10-2003
			DE 69800430 D1	25-01-2001
			DE 69800430 T2	13-06-2001
			DK 878463 T3	19-02-2001
			EP 0878463 A1	18-11-1998
			ES 2152738 T3	01-02-2001
			GR 3035156 T3	30-04-2001
			HU 0001404 A2	28-08-2000
			JP 2001525825 T	11-12-2001
			NO 995480 A	09-11-1999
			NZ 500954 A	29-06-2001
			PL 336793 A1	17-07-2000
			PT 878463 T	30-04-2001

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 03/15405

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5958960	A	SI 878463 T1	30-06-2001
		TR 9902777 T2	21-07-2000
		TW 505623 B	11-10-2002
		WO 9851655 A1	19-11-1998
		ZA 9803930 A	08-11-1999
WO 0012464	A 09-03-2000	AU 746806 B2	02-05-2002
		AU 4800799 A	21-03-2000
		CA 2341865 A1	09-03-2000
		CN 1383423 T	04-12-2002
		EP 1110943 A1	27-06-2001
		WO 0012464 A1	09-03-2000
		JP 2000336071 A	05-12-2000
		US 6333428 B1	25-12-2001
WO 0200605	A 03-01-2002	AU 6785401 A	08-01-2002
		CA 2411059 A1	06-12-2002
		CN 1441774 T	10-09-2003
		EP 1295865 A1	26-03-2003
		WO 0200605 A1	03-01-2002
		US 2003134902 A1	17-07-2003
WO 9306127	A 01-04-1993	PT 100868 A	29-10-1993
		WO 9306127 A1	01-04-1993
WO 02055481	A 18-07-2002	EP 1310480 A1	14-05-2003
		CA 2433667 A1	18-07-2002
		NO 20033166 A	09-09-2003
		WO 02055481 A1	18-07-2002
WO 02055485	A 18-07-2002	EP 1310482 A1	14-05-2003
		EP 1351925 A1	15-10-2003
		WO 02055485 A1	18-07-2002
WO 03061698	A 31-07-2003	WO 03061698 A1	31-07-2003

404

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

405

N.º de solicitud internacional PCT/US 03/15405
A. CLASIFICACIÓN DE LA MATERIA IPC 7 C07K5/06 A61K38/05 Según la Clasificación de patentes internacional (IPC) o tanto la clasificación nacional como la IPC
B. CAMPOS ESTUDIADOS Documentación mínima estudiada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación) IPC 7 A61K C07K Documentación estudiada diferente a la documentación mínima hasta el punto en que dichos documentos están incluidos en los campos estudiados Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es necesario, búsqueda de términos utilizada) EPO-Internal, BIOSIS
C. DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoríaº	Citación de documentos, con indicación, si es necesario, de secciones relevantes	Relevante para la reivindicación nº
Y	US 5 688 826 A (MASSEY STEVEN MARC ET AL) 18 de noviembre de 1997 (18/11/1997) citado en la solicitud el documento completo	1-27
Y	WO 99 38839 A (KUMAGAI TOSHIHITO; SAKAGAMI KAZUNARI (JP); TOMISAWA KAZUYUKI (JP);) 5 de agosto de 1999 (05/08/1999) citado en la solicitud el documento completo	1-27
Y	US 5 958 960 A (MASSEY STEVEN MARC ET AL) 28 de septiembre de 1999 (28/09/1999) citado en la solicitud el documento completo	1-27
☒ Se enumeran documentos adicionales ☒ Se enumera a los miembros de la familia de patentes en al anexo. en la continuación del cuadro C.		
º Categorías especiales de documentos citados: "A" documento que define el estado general de la técnica que no se considera de una relevancia particular "E" documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional "L" documento que puede suscitar dudas en reivindicación(s) de prioridad o que ha sido citado para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (como viene especificado) "O" documento que hace referencia a una demostración, uso, exhibición orales u otros medios "P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada "T" documento anterior publicado después de la fecha de presentación internacional o de la fecha de prioridad y no en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría de la invención "X" documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede ser considerada novedad o no puede considerarse que implique un paso de invención cuando el documento aparece sólo "Y" documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que implique un paso de invención cuando el documento aparece combinado con uno o más documentos, dicha combinación siendo conveniente para una persona que entienda la técnica "&" documento miembro de la misma familia de patentes		
Fecha de conclusión real de la búsqueda internacional 17 de noviembre de 2003		Fecha de envío del informe del búsqueda internacional 15/12/2003
Nombre y dirección de envío de la ISA Oficina de patentes europea, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tfno.: (+31-70) 340-2040, Tx.: 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Funcionario autorizado Vogt, T

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

N.º de solicitud internacional
PCT/US 03/15405

406

C. (continuación) DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría*	Citación de documentos, con indicación, si es necesario, de secciones relevantes	Relevante para la reivindicación nº
Y	WO 00 12464 A (KUMAGAI TOSHIHITO; SAKAGAMI KAZUNARI (JP); TOMISAWA KAZUYUKI (JP);) 9 de marzo de 2000 (09/03/2000) citado en la solicitud el documento entero	1-27
Y	WO 02 00605 A (KUMAGAI TOSHIHITO; SAKAGAMI KAZUNARI (JP); KANUMA KOSUKE (JP);) 3 de enero de 2002 (03/01/2002) citado en la solicitud el documento entero	1-27
Y	WO 93 06127 A (WARNER LAMBERT CO) 1 de abril de 1993 (01/04/1993) el documento entero	1-27
Y	SÁNCHEZ J P ET AL : "QUINOLONE ANTIBACTERIAL AGENTS. SYNTHESIS AND STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF A SERIES OF AMINO ACID PRODRUGS OF RACEMIC AND CHIRAL 7-(3-AMINO-1-PYRROLIDINYL)QUINOLONES, HIGHLY SOLUBLE QUINOLONE PRODRUGS WITH IN VIVO PSEUDOMONAS ACTIVITY" JOURNAL OF MEDICINA CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. WASHINGTON, US, vol. 35, no. 10, 15 de mayo de 1992 (15/05/1992), pág. 1764-1773, XP001026653 ISSN: 0022-2623 el documento entero	1-27
Y	OHSUMI K ET AL: "SYNTHESIS AND ANTITUMOR ACTIVITIES OF AMINO ACID PRODRUGS OF AMINO-COMBRETASTATINS" ANTI-CANCER DRUG DESIGN, BASINGSTOKE, GB, vol. 14, 1999, pág. 539-548, XP002938076 ISSN: 0266-9536 el documento entero	1-27
Y	BRADSHAW TRACEY D ET AL: "Preclinical evaluation of amino acid prodrugs of novel antitumor 2-(4-amino-3-methylphenyl)benzothiazoles" MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 1, no. 4, febrero 2002 (02/2002), pág. 239-246, XP009020684 ISSN: 1535-7163 el documento entero	1-27
P, Y	WO 02 055481 A (HERIN MARC; BUENO MELENDO ANA BELÉN (ES); MARTÍN JOSE ALFREDO (ES)) 18 de julio de 2002 (18/07/2002) el documento entero	1-27

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

N.º de solicitud internacional
PCT/US 03/15405

407

C. (continuación) DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría*	Citación de documentos, con indicación, si es necesario, de secciones relevantes	Relevante para la reivindicación n°
P, Y	WO 02 055485 A (HERIN MARC F; BUENO MELENDO ANA BELÉN (ES); MARTÍN JOSE ALFREDO (ES) 18 de julio de 2002 (18/07/2002) el documento entero	1-27
E	WO 03 061698 A (SAKAGAMI KAZUNARI; CHAKI SHIGEYUKI (JP); DEAN RYOKO (JP); HIROTA S) 31 de julio de 2003 (31/07/2003) el documento entero	1-27

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
Información sobre miembros de la familia de patentes

408

N.º de solicitud internacional PCT/US 03/15405					
Documento patente citado en el informe del búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes			Fecha de publicación
US 5688826 A	18/11/1997	AT	242510	T	15/06/2003
		AU	5179198	A	03/06/1998
		DE	69722652	D1	10/07/2003
		EP	0938712	A1	01/09/1999
		JP	2001504610	T	03/04/2001
		WO	9821669	A1	22/05/1998
		AU	703409	B2	25/03/1999
		AU	7727996	A	05/06/1997
		BR	9611511	A	04/05/1999
		CA	2237910	A1	22/05/1997
		CN	1202167	A	16/12/1998
		CZ	9801501	A3	14/10/1998
		EA	1617	B1	25/06/2001
		EP	0774461	A1	21/05/1997
		HU	9903459	A2	28/04/2001
		IL	124487	A	11/01/2001
		JP	2000500748	T	25/01/2000
		NO	982202	A	14/05/1998
		NZ	323205	A	29/06/1999
		PL	326695	A1	26/10/1998
		TR	9800877	T2	21/09/1998
		TW	422836	B	21/02/2001
		WO	9718199	A1	22/05/1997
		ZA	9609486	A	12/05/1998
WO 9938839 A	05/08/1999	AT	236118	T	15/04/2003
		AU	734812	B2	21/06/2001
		AU	2183599	A	16/08/1999
		CA	2318800	A1	25/08/1999
		CN	1295557	T	16/05/2001
		DE	69906492	D1	08/05/2003
		DK	1052246	T3	16/06/2003
		EP	1052246	A1	15/11/2000
		ES	2191412	T3	01/09/2003
		JP	11279129	A	12/10/1999
		WO	9938839	A1	05/08/1999
		PT	1052246	T	30/06/2003
		US	6316498	B1	13/11/2001
US 5958960 A	28/09/1999	US	6160009	A	12/12/2000
		US	6268507	B1	31/07/2001
		AT	198190	T	15/01/2001
		AU	729632	B2	08/02/2001
		AU	7386998	A	08/12/1998
		BR	9808787	A	11/07/2000
		CN	1125807	B	29/10/2003
		DE	69800430	D1	25/01/2001
		DE	69800430	T2	13/06/2001
		DK	878463	T3	19/02/2001
		EP	0878463	A1	18/11/1998
		ES	2152738	T3	01/02/2001
		GR	3035156	T3	30/04/2001
		HU	0001404	A2	28/08/2000
		JP	2001525825	T	11/12/2001
		NO	995480	A	09/11/1999
		NZ	500954	A	29/06/2001
		PL	336793	A1	17/07/2000
		PT	878463	T	30/04/2001

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
Información sobre miembros de la familia de patentes

409

N.º de solicitud internacional PCT/US 03/15405					
Documento patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes			Fecha de publicación
US 5958960 A		SI	878463	T1	30/06/2001
		TR	9902777	T2	21/07/2000
		TW	505623	B	11/10/2002
		WO	9851655	A1	19/11/1998
		ZA	9803930	A	08/11/1999
WO 0012464 A	09/03/2000	AU	746806	B2	02/05/2002
		AU	4800799	A	21/03/2000
		CA	2341865	A1	09/03/2000
		CN	1383423	T	04/12/2002
		EP	1110943	A1	27/06/2001
		WO	0012464	A1	09/03/2000
		JP	2000336071	A	05/12/2000
		US	6333428	B1	25/12/2001
WO 0200605 A	03/01/2002	AU	6785401	A	08/01/2002
		CA	2411059	A1	06/12/2002
		CN	1441774	T	10/09/2003
		EP	1295865	A1	26/03/2003
		WO	0200605	A1	03/01/2002
		US	2003134902	A1	17/07/2003
WO 9306127 A	01/04/1993	PT	100868	A	29/10/1993
		WO	9306127	A1	01/04/1993
WO 02055481 A	18/07/2002	EP	1310480	A1	14/05/2003
		CA	2433667	A1	18/07/2002
		NO	20033166	A	09/09/2003
		WO	02055481	A1	18/07/2002
WO 02055485 A	18/07/2002	EP	1310482	A1	14/05/2003
		EP	1351925	A1	15/10/2003
		WO	02055485	A1	18/07/2002
WO 03061698 A	31/07/2003	WO	03061698	A1	31/07/2003

410

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 04125555 00000000
Fecha (MD): 2004-12-07 10:26:26
Folios: 409
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INCI 411 PRESENTAR
Dependencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓	()	(✓)
Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	(✓)
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	(✓)
Descripción de la invención.	()	(✓)
Dibujos de ser estos pertinentes. <	()	(✓)
Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
DISEÑO INDUSTRIAL ()	()	()
Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()
ESQUEMA DE TRAZADO ()	()	()
Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable: *Claudia m Nueva*

Fecha:

2020

Bogotá D C

Doctor(a) A
CARLOS R.OLARTE
Apoderado(a)
ELI-LILLY AND COMPANY

21580

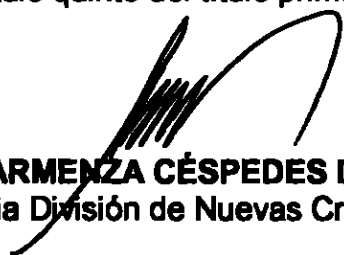
REFERENCIA:	Radicación N°	04-122695
	Solicitud internacional	PCT/US03/15405
	Fecha inicio fase nacional	2005-01-11
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

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).
- Si el examen preliminar Internacional contiene anexos estos deben ser anexados junto con su traducción. (Art. 36.2.b) del tratado PCT).

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,
24 DIC. 2004
202063