

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-133036-00000-0000

Fecha: 2013-05-30 16:44:16
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 4



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: COMPUESTOS 3-FENILSULFANILMETIL-BICICLO[3.1.0]HEXANO
4-SUSTITUIDOS COMO ANTAGONISTAS DE mGluR 2/3.

SOLICITANTE: ELI LILLY AND COMPANY

DIRECCIÓN: Lilly Corporate Center, Indianápolis, Indiana 46285.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 30 de Mayo de 2013

P2013/000070

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-133036-00000-0000

Fecha: 2013-05-30 16:44:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

PETITORIO - FORMULARIO ÚN PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2013/000070

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,
Indianápolis, Indiana 46285

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidense

Lugar de Constitución: Estados Unidos de
América

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número _____

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2011/060730 Fecha Noviembre 15, 2011

Publicación Internacional No. WO 2012/068067 A1 Fecha Mayo 24, 2012

6

Título (54) COMPUESTOS 3-FENILSULFANILMETIL-BICICLO[3.1.0]HEXANO 4-SUSTITUIDOS COMO ANTAGONISTAS DE mGluR 2/3.

Clasificación Internacional (51) C07C 323/58; A61K 31/10.

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Noviembre 18, 2010

(31) Número de Solicitud

61/415,121

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha



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. Ver original expediente No. 08-110.817



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.



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.



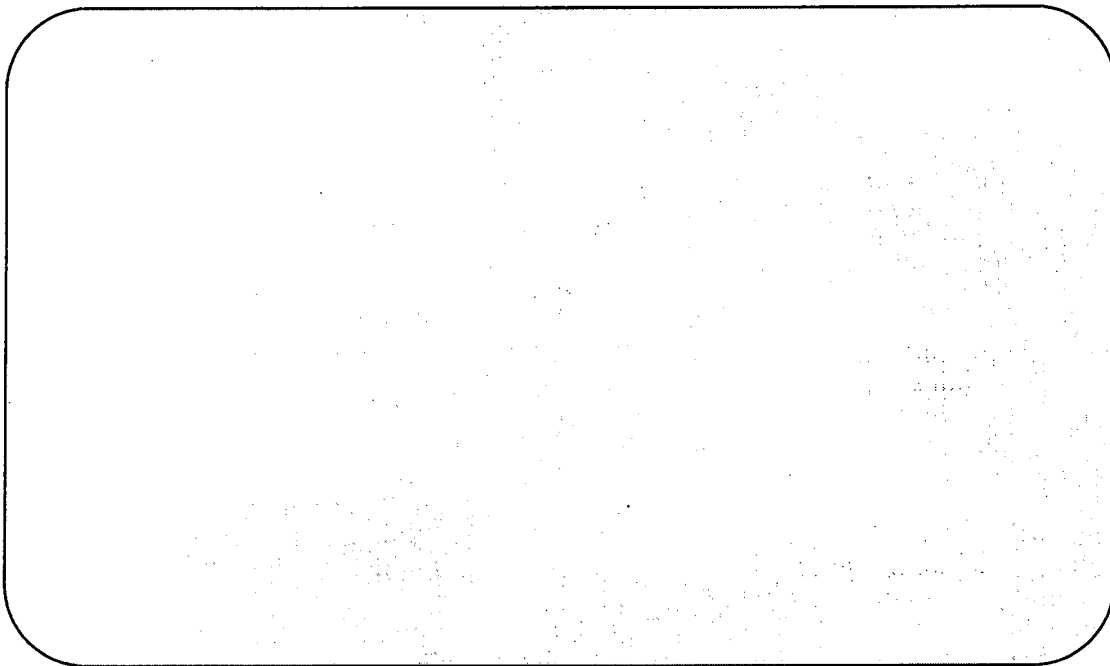
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional

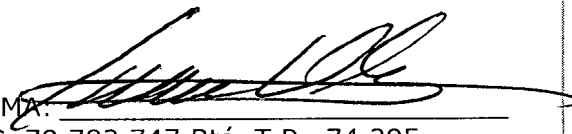


FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2011/060730

Stephon Cornell SMITH

Eli Lilly & Company

P.O. Box 6288

Indianapolis, IN 46206-6288

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

Renhua LI

Eli Lilly & Company

P.O. Box 6288

Indianapolis, IN 46206-6288

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

Charles Howard MITCH

Eli Lilly & Company

P.O. Box 6288

Indianapolis, IN 46206-6288

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

Tatiana Natali VETMAN

Eli Lilly & Company

P.O. Box 6288

Indianapolis, IN 46206-6288

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

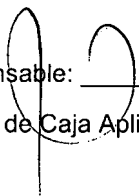
4

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0052805
		Bogotá D.C., Mayo 30 de 2013 - 16:26:38

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS					NI 830.122.870	
*** Soporte del Pago ***						
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO	
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	558492992	29/05/2013	4.910.000.00	

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00
			=====	

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
--
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-133036- -00000-0000

Fecha: 2013-05-30 16:44:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 30 de 2013 - 16:26:39



No. 13-133036- -00000-0000

Fecha: 2013-05-30 16:44:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

Dependencia:

2020

Fecha:

2013 05 30
AAAA MM DD

Recorrido:

Tipo de Radicación:

Entrada: ☒

Salida: ☐

Traslado: ☐

Convenio: ☐

Radicator:

Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	13-133036-	0	
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

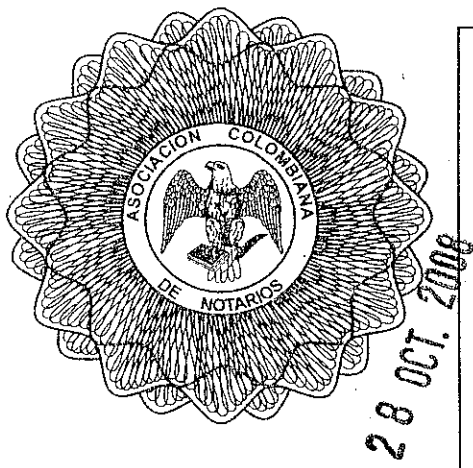
Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
☒	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
10	Otro

Observaciones:

Anexa CD

Pathy

WK 9397304



ESCRITURA PUBLICA NUMERO : (1 2 2 7)

MIL DOSCIENTOS VEINTISIETE

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, República de Colombia, a los Veintiocho -- (28) días del mes de Octubre -- -- del año dos mil ocho (2008), ante mi MARIA EUGENIA

ROJAS DE URUETA NOTARIA(O) VEINTISIETE (27) DEL CIRCULO DE BOGOTA, se otorgó la escritura pública que se consigna en los siguientes términos:-----

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACION DE PODER.-----

JAMES IAN RAISBECK LLÍNAS Y CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA.-----

C.C. No. 79.376.996 Y 79.782.747.-----

Comparecieron JAMES IAN RAISBECK LLÍNAS, mayor de edad vecino de ésta ciudad, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.376.996 de estado civil casado con sociedad conyugal vigente y CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA, mayor de edad, vecino de Bogotá, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.782.747, de estado civil casado con sociedad conyugal vigente, obrando en sus propios nombres y dijeron:-----

PRIMERO.- Que presentan para su protocolización y custodia en los archivos de ésta notaría, bajo el número y lugar que a ésta escritura corresponda, en cinco (5) folios autenticados, un poder y sus traducciones los cuales son del siguiente tenor:-----

PODER-----

El suscrito ELI LILLY AND COMPANY, domiciliado en Lilly Corporate Center, Indianápolis, Indiana 46285 US por medio del

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

presente otorga a Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri, 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 o extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones y demandas que por motivo de encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultades para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.-----

Firma (ilegible) -----

Fecha 17 July 2003 -----

City, Country/ Ciudad, País: Indianápolis, Indiana, United Status of America.- -----

Traducccion oficial del Inglés por Marlén Neira Castro resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia.- -----

APOSTILLA EN PODER DE DE REPRESENTACION DE ELI LILLY
AND COMPANY.

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

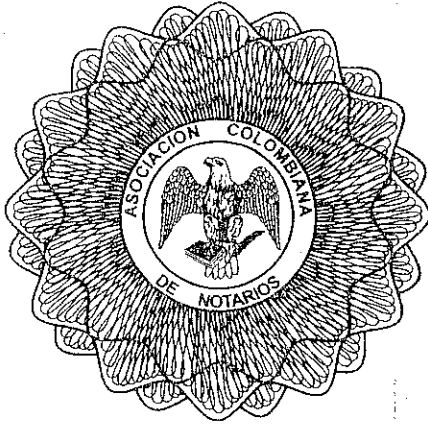
Todd Rokita Secretario de Estado -----

Secretario de Estado de Indiana Estado de Indiana -----

APOSTILLA

(Convencion de la Haya del 5 octubre 1961)

WK 9397305



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 Jonson -----
- 4 Lleva el sello del Secretario de la Corte
del Circuito en y para el estado de Indiana -----

Certificado

5. En: Indianapoles, Indiana -----
6. El: 22 de julio de 2003.-----
7. Por el Secretario de Estado de Indiana 8 No. A2003-1279-----
9. Gran Sello del Estado de Indiana -----
10. Firma ilegible de Todd Rokita- Secretario de Estado de Indiana
- * Vigente desde el 1 de mayo de 2003, todas las apostillas de
Secretario y de Estado de Indiana tienen el sello impreso
electrónicamente. -----
- The Statehouse, Indianapoles, Indiana 46204, (307) 232-6531, fax
(317) 233-3283- -----

CERTIFICACION NOTARIAL

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

MARLEN NEIRA CASTRO Traductor e Intérprete Oficial inglés-
Español- Inglés-----

Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987.- -----

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

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

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 de inglés, con copia archivo para confrontación, Bogotá 28 de julio-2003.-----

MARLEN NEIRA CASTRO Traductor e Intérprete Oficial Inglés-Español- Inglés -----

Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987.------

SEGUNDO.- Que solicita a la señora Notaria la incorporación de dichos documentos al protocolo de ésta notaría para que de su tenor se expidan las copias que más adelante se soliciten -----

Se advierte que la protocolización de documentos no da mayor fuerza o autenticidad de la que tienen dichos documentos.----

Esta escritura pública fue firmada fuera del Despacho Notarial, de conformidad con el artículo 12 del Decreto 2.148 de 1.983. -----

Se advirtió a los otorgantes de esta escritura de la obligación que tienen de leer la totalidad de su texto, a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados, con el fin de aclarar, modificar o corregir lo pertinente antes de firmarla, la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto, en consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por errores o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma de (el, los) otorgante(s) y de la notaría, en tal caso, este (os) debe(n) ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por todos los que intervinieron en la inicial y sufragada por los mismos (artículo 35, decreto ley 960 de 1970).-----

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- 1127
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) 232-6531, fax (317) 233-3283

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 17 de julio de 2003 el suscrito notario Catherine 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 CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

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

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER — TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

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 Frieri** 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.

Signature/Firma

Date/Fecha: / 7 July 2003

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

Poder

El suscrito,

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri** 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.

NOTARIA VERIFICADA
BOGOTÁ - República de Colombia



Todd Rokita
Secretary of State

SECRETARY OF STATE
STATE OF INDIANA



APOSTILLE

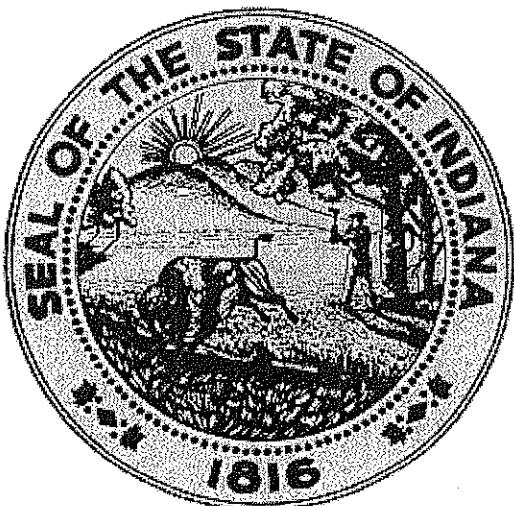
(Convention de la Haye du 5 Octobre 1961)

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 & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Notarial Certification

On this date,
/ 7 July 2003
The undersigned Notary Public certifies:

1. That

of legal age and domiciled in
7620 Castleton Farms, West Drive,
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
Indianapolis, Indiana 46256 US
suscribió el documento que antecede.

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

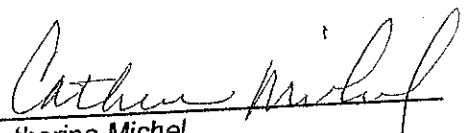
de

4. Que
con sede principal ubicada en

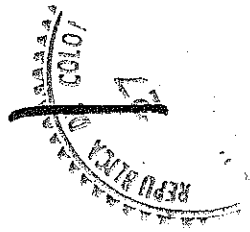
está legalmente constituida, que tiene existencia
legal vigente y que los propósitos para los cuales
se otorga el poder se encuentra dentro de los que
comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para
suscribir 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

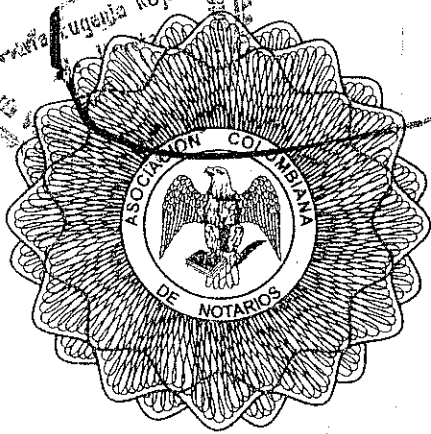
NOTARIO PUBLICO
MARIO EUGENIO ROJAS DE HUERTA



ESPACIO EN BLANCO

ESPACIO EN BLANC

WK 9397306



ADVERTENCIA, OTORGAMIENTO Y
AUTORIZACION.- Leído el presente
instrumento por el (los) compareciente
(s) y advertido (s) sobre las
formalidades legales, lo aprueban y
firman conmigo y ante mí la(el)
Notaria(o) quién lo autoriza. ---Se

utilizaron las hojas de papel Notarial Nos. WK 9397304, WK 9397305 Y
WK 9397306 .

DERECHOS LEGALES: \$ 39.630.00

RESOLUCION 8850 DE 2007

IVA \$ 10.781.00

James Ian Raisbeck Llínas

JAMES IAN RAISBECK LLÍNAS

C.C.No. 79.376.996 BOGOTA

TEL: 601-7700

Carlos Reinaldo Olarte Garcia

CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA

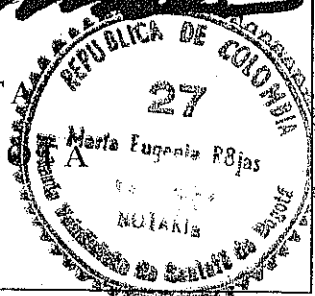
C.C.No. 79.782.747 BOGOTA.

TEL: 601-7700

Maria Eugenia Rojas de Urqueta

MARIA EUGENIA ROJAS DE URUETA
NOTARIA(O) VENTISIETE (27) DE BOGOTA

redb.



ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

Es fiel y Segunda ^(2ª)
fotocopia de la Escritura Pública No. 1227
de fecha 28 de Octubre de 2008
tomada de su original que expido en
Seis (6) hojas útiles de papel
común autorizado (Decreto 1343 de 1970) con destino a

Interesado

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a 28 OCT 2008
El Notario Veintisiete de Santafé de Bogotá



ESPACIO EN BLANCO

(10) International Publication Number
WO 2012/068067 A1(43) International Publication Date
24 May 2012 (24.05.2012)

(51) International Patent Classification:

C07C 323/58 (2006.01) A61K 31/10 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2011/060730

(22) International Filing Date:

15 November 2011 (15.11.2011)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/415,121 18 November 2010 (18.11.2010) US

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **SMITH, Stephon Cornell** [US/US]; c/o Eli Lilly and Company, P. O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US). **LI, Renhua** [US/US]; c/o Eli Lilly and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US). **MITCH, Charles Howard** [US/US]; c/o Eli Lilly and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US). **VETMAN, Tatiana Natali** [US/US]; c/o Eli Lilly and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).(74) Agents: **TUCKER, R. Craig** et al.; Eli Lilly and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

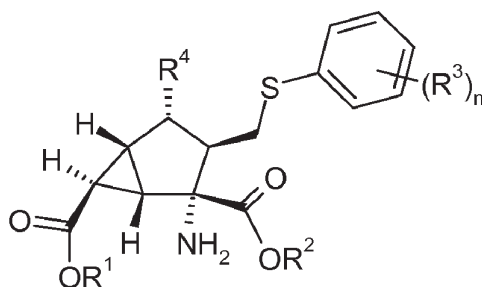
Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

(54) Title: 4-SUBSTITUTED-3-PHENYLSULFANYLMETHYL-BICYCLO[3.1.0]HEXANE COMPOUNDS AS MGLUR 2/3 ANTAGONISTS



(I)

(57) Abstract: A mGlu2/3 receptor antagonist of the formula (I); its uses, and methods for its preparation are described.

**4-SUBSTITUTED-3-PHENYLSULFANYLMETHYL-BICYCLO[3.1.0]HEXANE
COMPOUNDS AS mGluR 2/3 ANTAGONISTS**

Glutamate is the major excitatory neurotransmitter in the brain and is involved in a wide variety of physiological processes mediated through no less than 11 distinct receptors, each with its own pharmacology. Metabotropic Glutamate Receptor subtypes 2 and 3 (known as mGlu2 and mGlu3) are often grouped together as Group II mGlu receptors based on their sequence homology, similar second messenger coupling, and similar pharmacological characteristics. Antagonists of mGlu2/3 receptors have exhibited significant pharmacological effects in animal models for depressive disorders and disorders of excessive sleepiness. As such, mGlu2/3 antagonists are deemed to be useful in the treatment of depressive disorders such as major depressive disorder (MDD), unipolar depression, dysthymia, and/or cyclothymia, and/or useful in the treatment of disorders of excessive sleepiness, such as excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including, but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder, delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence and/or excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS).

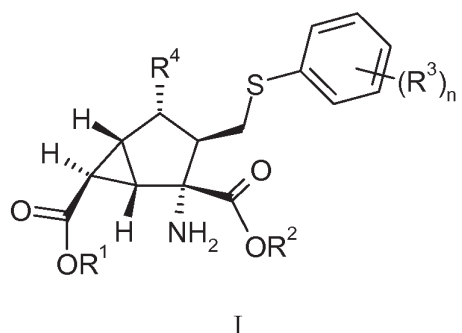
US 5,916,920 describes certain 3-monosubstituted bicyclo[3.1.0]hexane compounds as metabotropic glutamate receptor modulators useful for treating a variety of disorders including as antidepressant agents. US 7,157,594 describes various 3-monosubstituted bicyclo[3.1.0]hexane compounds as Group II mGlu receptor antagonists for use in treating various disorders including depressive symptoms. US 2007/0021394 A1 describes various 3-monosubstituted bicyclo[3.1.0]hexane compounds as Group II mGlu receptor antagonists and prodrugs thereof for use in treating various disorders including depression.

The present invention provides a family of 4-substituted-3-phenylsulfanylmethyl-bicyclo[3.1.0]hexane compounds with high antagonist potency for the mGlu2 and mGlu3 receptors. The compounds of the present invention are also selective for the mGlu2 and mGlu3 receptors, particular as against other mGlu receptors. Certain compounds have also demonstrated through animal models that the compounds of the present invention

-2-

may be useful for the treatment of depressive disorders (which may include major depressive disorder (MDD), unipolar depression, dysthymia, and/or cyclothymia) and disorders of excessive sleepiness (which may include excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including, but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder, delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence and/or excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS)). The antidepressant-like and wake-promoting effects of this mechanism also predict impact on symptoms of depressive disorders such as fatigue that are otherwise difficult to treat with existing antidepressants.

The present invention provides compounds of Formula I:



where R^1 and R^2 are each independently hydrogen, C_1 - C_3 alkoxycarbonyloxymethyl, C_1 - C_5 alkylcarbonyloxymethyl, or C_{3-6} cycloalkylcarbonyloxymethyl;
 R^3 is independently at each occurrence methyl, fluoro, or chloro;
 R^4 is hydroxyl, amino, methylcarbonylamino, or 1,2,4-triazolylthio; and
 n is 1 or 2;
 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20

It is a feature of the present invention that compounds of Formula I wherein R^1 and R^2 are both hydrogen (the di-acid compounds) are the therapeutically active compounds in vivo, whereas compounds where R^1 or R^2 or both are other than hydrogen are prodrugs of their therapeutically active di-acid analogs. The compounds where R^1 or R^2 or both are other than hydrogen are hydrolyzed in vivo to provide the therapeutically active di-acid analog. The prodrug compounds when administered orally, particularly di-
 ester prodrugs, provide improved bioavailability of the di-acid metabolite compared to

25

oral administration of the di-acid compounds (R^1 and R^2 both hydrogen), but the di-acid compounds provide better activities when administered intravenously, intramuscularly or subcutaneously.

5 In another aspect of the invention there is provided a pharmaceutical composition comprising a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier, diluent, or excipient. Furthermore, this aspect of the invention provides a pharmaceutical composition adapted for the treatment of depressive disorders, as for example major depressive disorder,
10 unipolar depression, dysthymia, and/or cyclothymia, comprising a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with one or more pharmaceutically acceptable excipients, carriers, or diluents thereof.

 A further embodiment of this aspect of the invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound according to Formula I, or pharmaceutically
15 acceptable salt thereof, in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluents, and optionally other therapeutic ingredients. In a yet further embodiment of this aspect of the invention, the pharmaceutical composition further comprises a second therapeutic agent which is a drug useful in the treatment of depressive disorders, as for example a serotonin reuptake inhibitor, as for example
20 fluoxetine and/or citalopram.

 In yet another embodiment of this aspect of the invention there is provided a pharmaceutical composition adapted for the treatment of disorders of excessive sleepiness, as for example, excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including,
25 but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder, delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence and/or excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS), comprising a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with one or more pharmaceutically acceptable excipients,
30 carriers, or diluents thereof.

 The present invention also provides a method of treating depressive disorders, as for example major depressive disorder (MDD), unipolar depression, dysthymia, and/or

cyclothymia, in a mammal comprising administering to a mammal in need of such treatment an effective amount of a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In another embodiment of this aspect of the invention, the method further comprises administering in simultaneous, separate or sequential combination, a
5 second therapeutic agent which is a drug useful in the treatment of depressive disorders, as for example a serotonin reuptake inhibitor, as for example fluoxetine and/or citalopram.

Other embodiments of the invention provide methods of treating disorders of excessive sleepiness comprising administering to a mammal in need of such treatment an
10 effective amount of a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In other embodiments of this aspect of the invention, the excessive sleepiness is due to any one or more of the following: excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including, but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder,
15 delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence or excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS).

In one particular embodiment of these methods of treatment, the mammal is a human.

20 This invention also provides a compound of Formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof for use in therapy. Within this aspect, the invention provides a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in the treatment of depressive disorders. In further embodiments, the depressive disorder is any one of major depressive disorder (MDD), unipolar depression, dysthymia, and/or
25 cyclothymia. In another embodiment of this aspect of the invention, the invention provides a compound according to Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in simultaneous, separate or sequential combination with a serotonin reuptake inhibitor, as for example fluoxetine and/or citalopram, in the treatment of depressive disorders.

30 Further, this aspect of the invention includes a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in the treatment of disorders of excessive sleepiness. In particular embodiments of this aspect of the invention, the excessive

sleepiness is due to any one or more of the following: excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including, but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder, delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence or excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS).

One particular embodiment of this aspect of the inventions, the uses are in mammals, particular humans.

Another aspect of this invention provides the use of a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for the treatment of depressive disorders, as for example major depressive disorder (MDD), unipolar depression, dysthymia, and/or cyclothymia. Another embodiment of this aspect of the invention provides the use of a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a second therapeutic agent useful in the treatment of depressive disorders, as for example a serotonin reuptake inhibitor, as for example fluoxetine and/or citalopram, in the manufacture of a medicament for the treatment of depressive disorders. Another embodiment of the invention provides the use of a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for the treatment of disorders of excessive sleepiness. In particular embodiments of this aspect of the invention, the medicament is for the treatment of any one or more of the following: excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including, but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder, delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence or excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS).

Compounds of this invention have basic and acidic moieties, and accordingly react with a number of organic and inorganic acids and bases to form pharmaceutically acceptable salts. Pharmaceutically acceptable salts of each of the compounds of the present invention are contemplated within the scope of the present application. The term "pharmaceutically acceptable salt" as used herein, refers to any salt of a compound of the

invention that is substantially non-toxic to living organisms. Such salts include those listed in Journal of Pharmaceutical Science, **66**, 2-19 (1977), which are known to the skilled artisan.

- 5 Preferred classes of compounds of the present invention are compounds wherein:
- 1) R^1 and R^2 are both hydrogen;
 - 2) R^1 or R^2 or both are other than hydrogen;
 - 3) R^1 and R^2 are both other than hydrogen;
 - 4) R^1 and R^2 are the same and are other than hydrogen;
 - 10 5) R^1 and R^2 are each isopropoxycarbonyloxymethyl;
 - 6) n is 2;
 - 7) R^3 is independently at each occurrence fluoro or chloro;
 - 8) n is 2 and the R^3 groups are at the phenyl 3- and 4-positions.
 - 9) n is 2 and the R^3 groups each independently fluoro or chloro and are at the
 - 15 phenyl 3- and 4-positions.
 - 10) n is 2, both R^3 groups are fluoro, and the fluoro groups are at the phenyl 3- and 4-positions;
 - 11) n is 2, and the R^3 groups together with the phenyl moiety to which they are attached form 3-chloro-4-fluorophenyl;
 - 20 12) R^4 is hydroxyl.

It will be understood that further preferred compounds are those combining the above preferred selections for a given substituents with preferred selections of other substituents. Examples of such combinations include, but are not limited to the following preferred classes of compounds:

- 25 13) preferred compounds of any one of paragraphs 1-5 (preferred selections for R^1 and R^2) wherein n is 2, both R^3 groups are fluoro, and the fluoro groups are at the phenyl 3- and 4-positions (paragraph 10);
- 14) preferred compounds of any one of paragraphs 1-5 (preferred selections for R^1 and R^2) wherein n is 2, and the R^3 groups together with the phenyl moiety to which they
- 30 are attached form 3-chloro-4-fluorophenyl (paragraph 11);
- 15) preferred compounds of any one of paragraphs 1-5 (preferred selections for R^1 and R^2) wherein R^4 is hydroxyl (paragraph 12);

16) preferred compounds of any one of paragraphs 13-14 where R⁴ is hydroxyl (paragraph 12).

Specific preferred compounds are those described in the Examples including their
5 freebases and pharmaceutically acceptable salts thereof.

Certain preferred compounds are:

(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-
hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid or a pharmaceutically
acceptable salt thereof;
10 (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-
hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid, or a pharmaceutically
acceptable salt thereof;
bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy} methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-
{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-
15 dicarboxylate; or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy} methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-
{[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-
dicarboxylate, or a pharmaceutically acceptable salt thereof
(i.e. the compounds of Examples 1, 2, 12, 22 and 32, and alternative
20 pharmaceutically acceptable salts thereof).

Abbreviations used herein are defined as follows:

“BSA” means bovine serum albumin.
“DCG IV” means (2S,2’R,3’R)-2-(2’,3’-dicarboxycyclopropyl)glycine.
25 “DMEM means Dulbecco’s Minimum Eagle’s Medium.
“DMSO” means dimethyl sulfoxide.
“DPBS” means Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline.
“EDTA” means ethylene diamine tetraacetic acid.
“GTP” means guanosine triphosphate.
30 “HBSS” means Hank’s Buffered Salt Solution.
“HEPES” means 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid.
“HPLC” means high-pressure liquid chromatography.

"IBMX" means 3-isobutyl-1-methylxanthine

"IC₅₀" means the concentration at which 50% of the maximum inhibition is achieved.

"i.v." means intravenous or intravenously.

5 "i.p." means intraperitoneal.

"L-AP-4" means L-(+)-2-amino-4-phosphonobutyric acid.

"LC/MS" means liquid chromatography followed by mass spectroscopy.

"mFST" means mouse forced swim test; an animal model for antidepressant activity.

10 "MS" means mass spectroscopy.

"MS (ES+)" means mass spectroscopy using electrospray ionization.

"NMR" means nuclear magnetic resonance.

"p.o." means *per os*, by mouth.

"tBu" means a *tertiary*-butyl moiety.

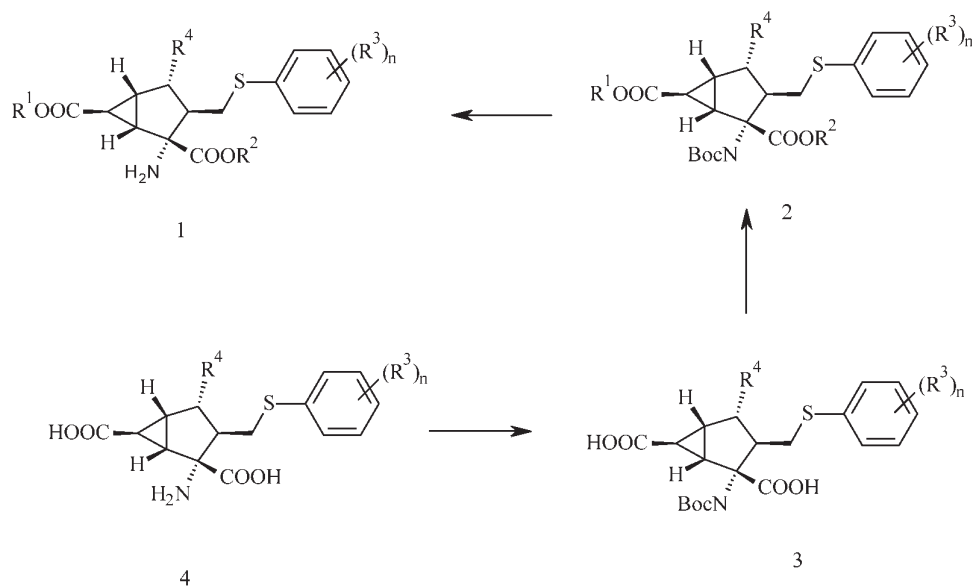
15

General Chemistry

The compounds of the present invention can be prepared according to the following synthetic schemes by methods well known and appreciated in the art. Suitable reaction conditions for the steps of these schemes are well known in the art and
20 appropriate substitutions of solvents and co-reagents are within the skill of the art. Likewise, it will be appreciated by those skilled in the art that synthetic intermediates may be isolated and/or purified by various well known techniques as needed or desired, and that frequently, it will be possible to use various intermediates directly in subsequent synthetic steps with little or no purification. Furthermore, the skilled artisan will
25 appreciate that in some circumstances, the order in which moieties are introduced is not critical. The particular order of steps required to produce the compounds of the present invention is dependent upon the particular compound being synthesized, the starting compound, and the relative liability of the substituted moieties, as is well appreciated by the skilled chemist. All substituents, unless otherwise indicated, are as previously
30 defined, and all reagents are well known and appreciated in the art.

Prodrug compound 1 may be prepared as illustrated in Scheme I where R¹, R², R³, R⁴, and n are as previously defined, and R¹ and R² are not both hydrogen.

Scheme I



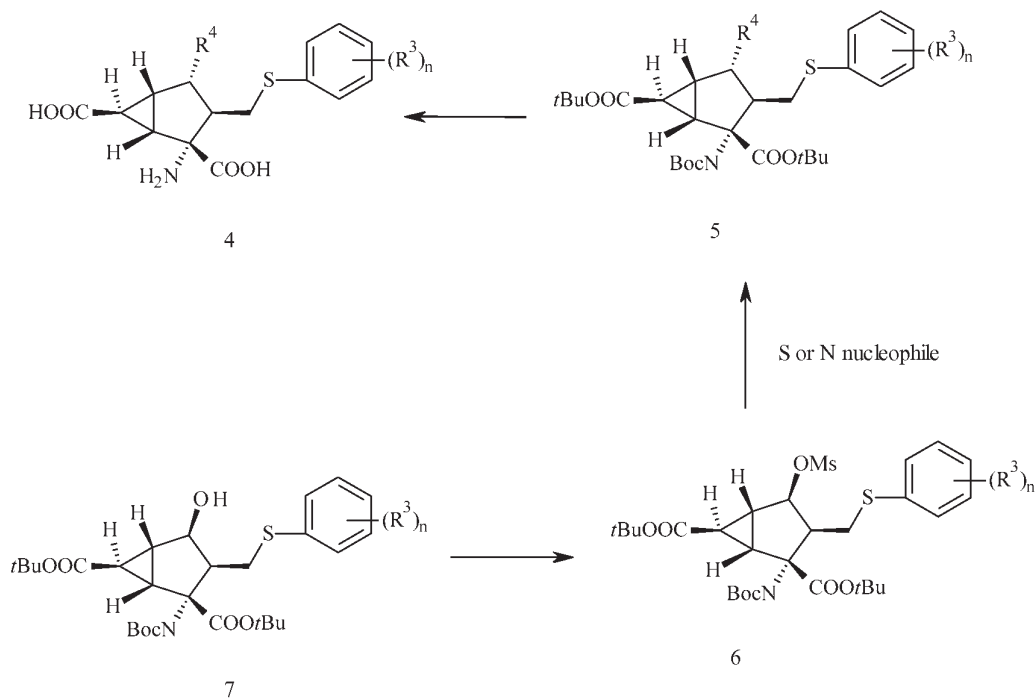
- 5 Compound **4** is reacted with an amino protecting reagent such as di-*tert*-butyldicarbonate under conditions well known to the skilled artisan to provide the compound **3**. When R^1 and R^2 group are identical in the compound **2**, the compound **3** is reacted with sufficient amount of proper chloromethyl alkyl carbonate and appropriate reagents such as sodium iodide and cesium carbonate in a suitable solvent such as
- 10 dimethylformamide to give the desired di-ester compound **2** with same R^1 and R^2 . When R^1 and R^2 are different in the compound **2**, by controlling the amount of first chloromethyl alkyl carbonate to about one equivalent, the carboxylic acid on the five-membered ring can be converted to a R^2 mono ester first. The R^2 mono ester compound can further react with one equivalent of different chloromethyl alkyl carbonate. The free
- 15 carboxylic acid group on the three-membered ring can then be converted to a R^1 ester to provide the desired di-ester with different R^1 and R^2 . To make a R^2 mono ester on the five membered ring of the compound **2**, the compound **3** is reacted with about one equivalent of proper chloromethyl alkyl carbonate and appropriate reagents such as sodium iodide and cesium carbonate in a suitable solvent such as dimethylformamide to
- 20 give the desired R^2 mono ester compound **2**, in which R^1 is hydrogen. To make a R^1

-10-

mono ester on the three-membered ring, the carboxylic acid group on the five-membered ring should be protected first since it is more reactive under basic conditions. More specifically, the carboxylic acid group on the five-membered ring in compound 3 can react with alpha-chloro-4-methoxytoluene, sodium iodide and sodium bicarbonate in a suitable solvent such as dimethylformamide to provide a 4-methoxybenzyl mono ester. The free carboxylic acid group on the three-membered ring of the protected 4-methoxybenzyl mono ester compound is then reacted with a proper chloromethyl alkyl carbonate to afford a desired R¹ ester on the three-membered ring. The di-ester is treated with a proper acid such as trifluoroacetic acid to de-protect the 4-methoxybenzyl and N-*tert*-butoxycarbonyl group to afford the desired R¹ mono ester compound 1, in which R² is hydrogen. The compound 2, including R² mono ester and di-ester with same or different R¹ and R², is then de-protected with a proper acid such as hydrochloric acid in dioxane to give the desired compound 1 or a pharmaceutically acceptable salt.

15

Scheme II



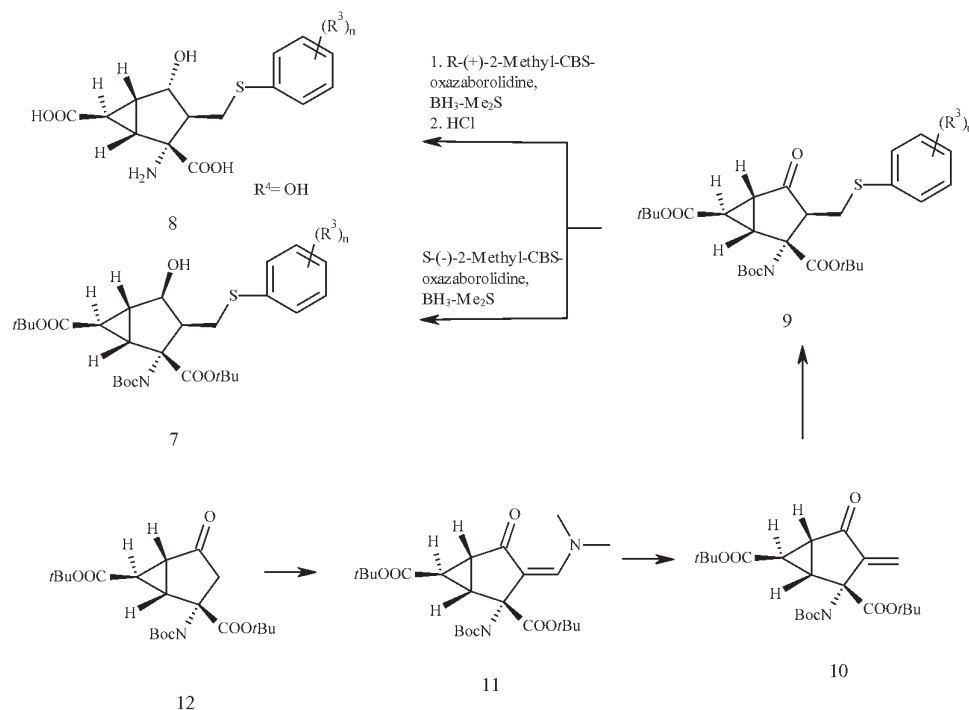
-11-

Active parent compound 4 in which R^4 is not a hydroxyl group may be prepared as illustrated in Scheme II.

The compound 7 is reacted with methanesulfonyl chloride and a proper base such as pyridine to give the mesylate compound 6. Compound 6 can react with thiol
 5 heterocycle such as 1H-1,2,4-triazole-3-thiol, and a suitable base such as cesium carbonate in a solvent such as dimethylformamide to give the desired compound 5, in which R^4 is a desired thio linked heterocycle. Compound 6 can also react with sodium azide to give an azide intermediate, which is then reduced with reducing reagent such as 1,3-propanedithiol in a suitable solvent such as methanol to provide compound 5 in which
 10 R^4 is an amino group. The resulted amine can further form an amide with methods well known to skilled artisans to give compound 5, in which R^4 is a desired amide. The compound 5 is then de-protected with proper acid such as hydrochloric acid or acetic acid to give the compound 4.

15

Scheme III

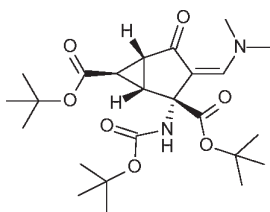


-12-

Active parent compound 8 in which R⁴ is hydroxyl group and the key intermediate compound 7 in which R⁴ is group other than hydroxyl group may be prepared as illustrated in Scheme III.

- 5 Compound 12 (See WO03/104217/A2 for synthesis details) is reacted with *tert*-butoxybis(dimethylamino)methane in toluene to provide compound 11. Compound 11 in a suitable solvent such as tetrahydrofuran is treated with a proper base such as triethylamine and a proper reducing reagent such as diisobutylaluminium hydride under lowered temperature to afford the compound 10. Compound 10 is then reacted with
- 10 triethylamine and a proper substituted benzenethiol such as 3,4-difluorobenzenethiol in a suitable solvent such as toluene to afford compound 9. The ketone group of compound 9 can be selectively reduced to desired (S) hydroxyl or (R) hydroxyl compound by using (R)-methyl oxazaborolidine or (S)-methyl oxazaborolidine, respectively. The (S) hydroxyl intermediate is de-protected with a proper acid such as hydrochloric acid in a
- 15 solvent such as dioxane to provide the desired active parent compound 8 in which R⁴ is a (S) hydroxyl group. The (R) hydroxyl intermediate 7 can be converted to the desired product with the method illustrated in Scheme II.

- Preparation 1: Di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-(dimethylaminomethylene)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate
- 20



- To a solution of di-*tert*-butyl (1S,2S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (15.15 g, 36.82 mmol, See WO03/104217/A2 for synthesis details) in toluene (90.90 mL) is added *tert*-
- 25 butoxybis(dimethylamino)methane (12.83 g , 73.63 mmol). This mixture is then heated to 80°C for 1 hour and then allowed to cool to ambient temperature. The solvent volume is reduced to about 35 ml. The mixture is stirred while diethyl ether and hexane are added to cause a precipitate to form. The solids are collected by filtration, washed with

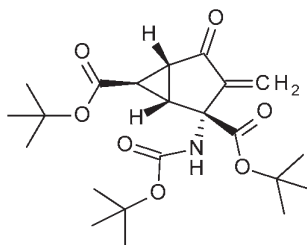
-13-

hexanes, and air dried to obtain the title compound (16.7 g, 35.79 mmol, 97.2% yield).

MS (m/z): 467.2 (M+H).

Preparation 2: Di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-

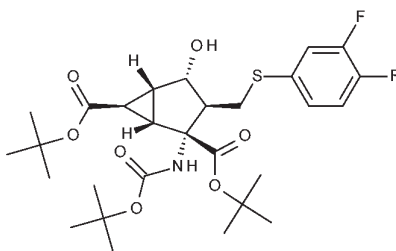
5 methylidene-4oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



To a solution of di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-(dimethylaminomethylene)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (15.7 g, 33.8 mmol) in tetrahydrofuran (340 ml) is added triethylamine (6.6 mL, 47.32 mmol). The mixture is cooled to -78 °C. Diisobutylaluminium hydride (1N in toluene, 50 mL, 50 mmol) is added over one hour. The mixture is stirred for two additional hours. Then add 30 mL of saturated aqueous ammonium chloride. The mixture is allowed to warm to ambient temperature. The mixture is transferred to a separatory funnel and washed with brine. The organic layer is dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a residue. The residue is purified by flash chromatography (0 to 50% ethyl acetate/hexanes) to give the title compound (12 g, 33.34 mmol, 83.8% yield). MS (m/z): 422 (M-H).

Preparation 3: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-

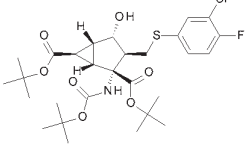
20 {[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl)methyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



-14-

Di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-methylenedene-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (1.03 g, 2.43 mmol) in diethyl ether (100 mL) is bubbled with nitrogen gas for 10 minutes. Add 3,4-difluorobenzenethiol (0.36 g, 2.43 mmol) and triethylamine (0.01 mL, 0.05 μ mol). The mixture is warmed to 40°C and stirred for 15 minutes. The mixture is then allowed to cool to ambient temperature, transferred to a separatory funnel, diluted with hexane (40 mL), washed with of 2N aqueous KOH (1 x 30 mL), dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure giving di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (1.35 g, 2.37 mmol): MS (m/z): 567.8 (M-H). This material is taken up in 120 mL of diethyl ether and added slowly over 2 hours to a 200 mL ether solution at -10°C which contains R-(+)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (981.72 mg, 3.54 mmol) and borane-methyl sulfide complex (2M in tetrahydrofuran, 5.02 mL, 10.04 mmol). The mixture is stirred for an additional hour after final addition of di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate. Silica gel (30g) is added over 30 minutes and the reaction mixture is gradually warmed to ambient temperature. The suspension is filtered, and washed with 300 mL of diethyl ether. The solvent is concentrated under reduced pressure giving a residue. The residue is purified by flash chromatography, eluting with (0 to 15% ethyl acetate /hexanes) to give the title compound (0.844 g, 1.48 mmol, 60.7% yield): MS (m/z): 569.8 (M-H).

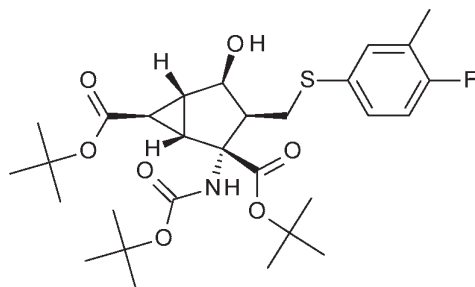
The following compounds are prepared essentially by the method of Preparation 3:

Prep. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
4	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino]-3-[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-		84.0	(M+H): 585.8

	dicarboxylate			
5	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		73.5	(M+Na): 590.0
6	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3,4-dichlorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		75.2	(M+Na): 625.8
7	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chlorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		82.6	(M-H): 567.8
8	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		50.3	(M+Na): 576.0
9	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-3-(p-tolylsulfanylmethyl)bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		77.0	(M+Na): 572.2

-16-

Preparation 10: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[[4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanyl]methyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



5 Di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-methylene-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (8 g, 18.9 mmol) in diethyl ether (80 mL) is bubbled with nitrogen gas for 10 minutes. 4-fluoro-3-methyl-benzenethiol (2.7 g, 18.9 mmol) and triethylamine (0.26 mL, 1.89 mmol) are added. The mixture is warmed to 40°C and stirred for 15 minutes. The mixture is then allowed to cool to ambient

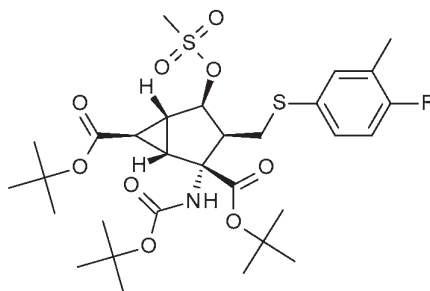
10 temperature, transferred to addition funnel and added slowly over 2 hours to a 200 ml ether solution at -10°C which contains S-(-)-2-methyl-CBS-oxazaborolidine (1M in tetrahydrofuran) (5.67 mL, 5.67 mmol) and borane-methyl sulfide complex (2M in tetrahydrofuran, 8.5 mL, 17 mmol). The mixture is stirred for an additional hour after final addition. Silica gel (40g) is added over 30 minutes and the reaction mixture is

15 gradually warmed to ambient temperature. The suspension is filtered, and washed with 300 ml of diethyl ether. The solvent is concentrated under reduced pressure giving a residue. The residue is purified by flash chromatography, eluting with (0 to 25% ethyl acetate /hexanes) to give the title compound (9.8 g, 17.3 mmol, 91.5% yield). MS (m/z): 565.8 (M-H).

20

Preparation 11: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-methylsulfonyloxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

-17-



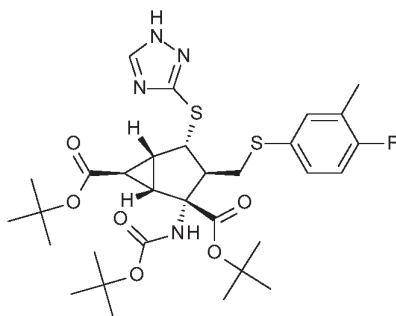
Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (4.6 g, 8.10 mmol) in pyridine (60 mL) is cooled to 0°C. To this mixture is added

5 methanesulfonyl chloride (1.88 mL, 24.31 mmol). The mixture is warmed to 40°C and stirred for 1 hour, and cooled to ambient temperature and allowed to stir for 18 hours. The mixture is concentrated under reduced pressure to give a residue. The residue is partitioned between ethyl acetate and 1N aqueous HCl (2 x 50 mL). The organic layer is separated, dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced

10 pressure to give the title compound (5.2 g, 8.05 mmol, 99.4% yield): MS (m/z): 643.6 (M-H).

Preparation 12: Di-*tert*-butyl (1R,2R,3R,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

15



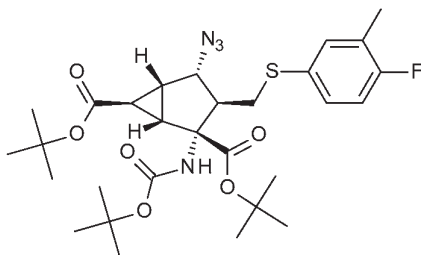
Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-methylsulfonyloxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (5.3 g, 8.21 mmol) is dissolved in dimethylformamide (100 mL). To this

20 mixture is added cesium carbonate (5.40 g, 16.41 mmol), 1H-1,2,4-triazole-3-thiol (3.42

-18-

g, 32.83 mmol), and sodium triacetoxyborohydride (906 mg, 4.10 mmol). The mixture is stirred at 40°C for 72 hours. The reaction is cooled and quenched with water and aqueous NH₄Cl. The mixture is transferred to a separatory funnel and extracted with diethyl ether, dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a residue. The residue is purified by flash chromatography (0 to 50% ethyl acetate/hexanes) to give the title compound (0.88 g, 1.35 mmol, 16.5% yield). MS (m/z): 651 (M+H).

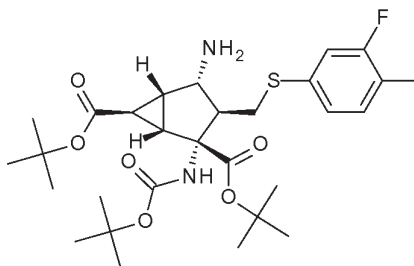
Preparation 13: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-azido-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanylmethyl]bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanylmethyl]-4-methylsulfonyloxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (5.9 g, 9.14 mmol) is dissolved in dimethyl sulfoxide (30 mL). To this mixture is added sodium azide (2.5 g, 38.37 mmol). The mixture is stirred at 100°C for 18 hours. The solvent was removed under reduced pressure to give a residue. The residue is suspended in diethyl ether (100 mL) and filtered. The organic layer is transferred to a separatory funnel and washed with water and brine, dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a residue. The residue is purified by flash chromatography (0 to 15% ethyl acetate/hexanes) to give the title compound (3.14 g, 5.30 mmol, 58% yield). MS (m/z): 591 (M-H).

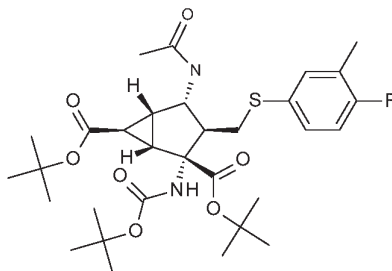
Preparation 14: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-amino-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanylmethyl]bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

-19-



Di-*tert*-butyl (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-amino-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (1.88 g, 3.17 mmol) is dissolved in methanol (15.86 mL). To this mixture is added triethylamine (1.77 mL, 12.7 mmol) and 1,3-propanedithiol (1.28 mL, 12.69 mmol). The mixture is stirred at ambient temperature for 18 hours. The mixture is poured into water and extracted with ethyl acetate, dried over sodium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a residue. The residue is purified by flash chromatography (50 to 100% ethyl acetate/hexanes) to give the title compound (1.2 g, 2.12 mmol, 66.76% yield). MS (m/z): 567.2 (M+1).

Preparation 15: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-acetamido-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



15

Di-*tert*-butyl (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-amino-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (0.15 g, 264.67 μ mol) is dissolved in dichloromethane (10 mL). To this mixture is added triethylamine (55.34 μ L, 397.01 μ mol) and acetyl chloride (28.25 μ L, 397.01 μ mol). The mixture is stirred at ambient temperature for 10 minutes. The solvent is removed under reduced pressure to give a residue. The residue is purified by flash chromatography (10%

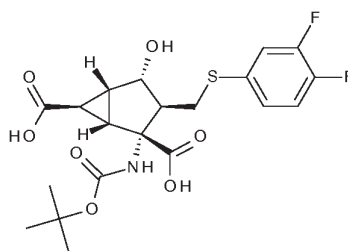
20

-20-

to 100% ethyl acetate/ hexanes) to give the title compound (100 mg, 164.27 μ mol, 62.06% yield); ^1H NMR (CD_3Cl) δ 1.44 (t, 27H), 1.95 (s, 3H), 2.16 (m, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.60 (dd, 1H), 2.78 (bs, 1H), 3.10 (dd, 1H), 4.59 (m, 1H), 5.50 (d, 1H), 6.92 (t, 1H), 7.06 (m, 1H), 7.11 (d, 1H).

5

Preparation 16: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid

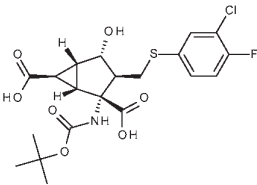
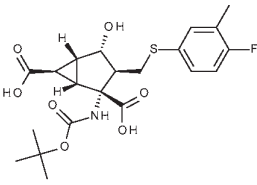
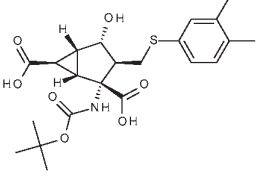
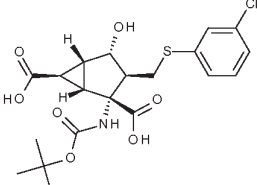


Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (4.11 g, 7.19 mmol) is weighed into a one liter round bottom with a stirring bar. Hydrogen chloride (4N in dioxane, 120 mL, 480.0 mmol) is added. The mixture is warmed to 70°C for 2 hours and then allowed to cool to ambient temperature. The solvent is removed under reduced pressure to give a residue. The residue is dissolve in dichloromethane (200 mL) and the solvent is removed under reduced pressure to give a residue. This is repeated two more times to give (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride. This material is taken up in tetrahydrofuran (100 mL) as a suspension. To this suspension is added triethylamine (40.08 mL, 287.57 mmol). The suspension is stirred for 10 minutes and then methanol (50 ml) is added. To the reaction is added di-*t*-butyldicarbonate (4.71 g, 21.57 mmol) and the mixture is heated to 80 °C for 2 hours. The mixture is allowed to come to ambient temperature and the solvent is removed under reduced pressure to give a residue. The residue is dissolved in acetonitrile (50 ml), transferred to a separatory funnel and washed with hexanes. The acetonitrile layer is separated and removed under reduced pressure to give a residue. The residue is suspended in diethyl ether, transferred to a separatory funnel, washed with 1 N aqueous

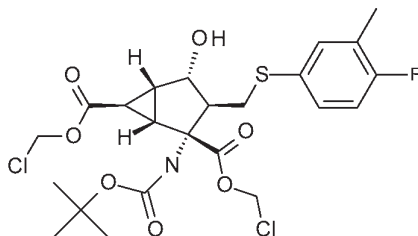
HCl, dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure giving the title compound (3 g, 6.53 mmol, 90.82% yield). MS (m/z): 457.8 (M-H).

The following compounds are prepared essentially by the method of Preparation 16:

5

Prep. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
17	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		76.2	(M+H): 476.0
18	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		94.6	(M-H): 453.8
19	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -Butoxycarbonylamino)-3-[(3,4-dimethylphenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		92.3	(M+H): 450.2
20	Di- <i>tert</i> -butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chlorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		95.6	(M-H): 440.0

Preparation 21: Bis(chloromethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



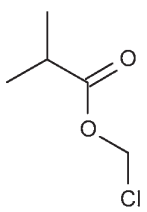
- 5 To a stirring mixture of (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (2.4 g, 5.27 mmol), tetra(n-butyl)ammonium bisulfate (178.90 mg, 526.89 μ moles), and sodium bicarbonate (3.54 g, 42.15 mmol) in dichloromethane (13.2 mL) and water (13.2 mL) is added chloromethyl chlorosulfate (1.20 mL, 11.59 mmol).
- 10 The mixture is stirred at ambient temperature for 18 hours. The reaction is poured over water and extracted with dichloromethane. The combined organics are dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated to give a residue. The residue is purified by flash chromatography (20-35% ethyl acetate/hexane) to give the title compound (1.37g, 2.48 mmol, 47% yield). MS (m/z): 574.0 (M+Na).

15

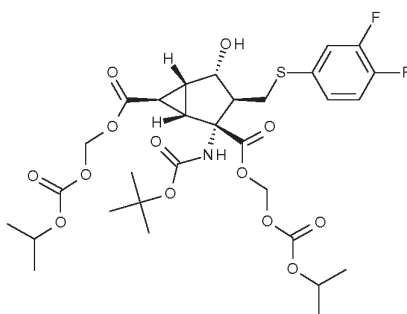
The following compound is prepared essentially by the method of Preparation 21:

Prep. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z) or NMR
22	(Bis(chloromethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluoro-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		31.2	(M+Na): 593.97

-23-

23	Chloromethyl 2-methylpropanoate		95.8	¹ H NMR (CD ₃ Cl) δ 1.17 (d, 6H), 2.58 (m, 1H), 2.48 (d, 1H), 5.67 (s, 2H)
----	---------------------------------	---	------	--

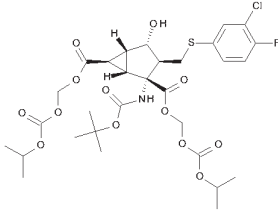
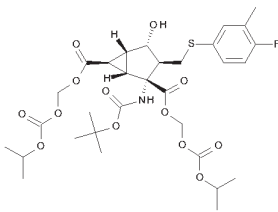
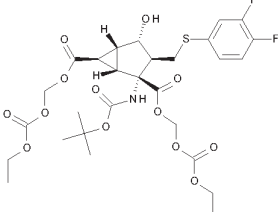
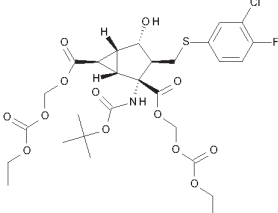
Preparation 24: Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

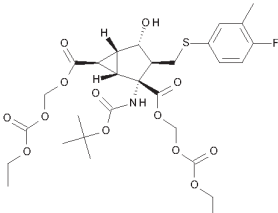
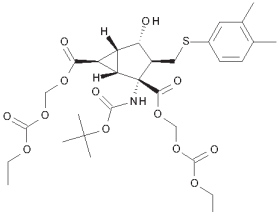
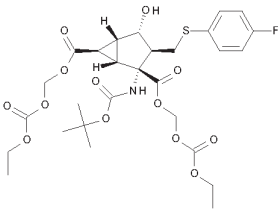
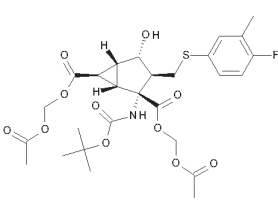
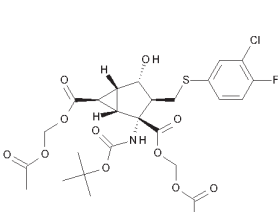


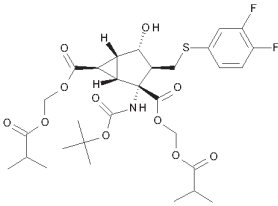
5

Add potassium carbonate (668.43 mg, 4.79 mmol), sodium iodide (75.03 mg, 500.58 μ mol) to (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (1g, 2.18 mmol) in dimethylformamide (13.06 mL). The mixture is stirred for 10 minutes at ambient temperature. Chloromethyl isopropyl carbonate (1 g, 6.53 mmol) is added. The mixture is stirred at ambient temperature for 18 hours. Acetic acid (4 mL) is added and the mixture is stirred for 10 minutes. The solvent volume is reduced by about 10 mL under reduced pressure to give a viscous residue. The residue is diluted with diethyl ether and stirred for 10 minutes. The solution is passed through a filter and the solvent is removed under reduced pressure to give a residue. The residue is left under high vacuum for 1 hour. The residue is purified by flash chromatography, eluted with (0 to 35% tetrahydrofuran /hexanes) to give the title compound (0.88 g, 1.27 mmol, 58.5% yield). MS (m/z): 714.2 (M+Na).

The following compounds are prepared essentially by the method of Preparation 24:

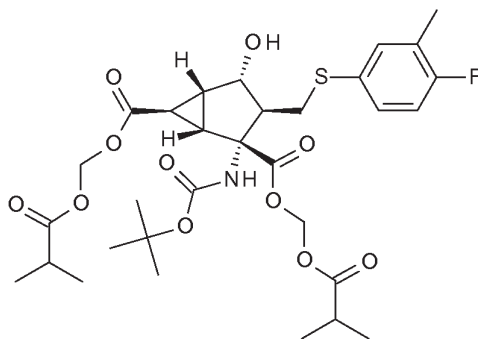
Prep. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
25	(Bis(isopropoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluoro-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		52.9	(M+Na): 730.2
26	Bis(isopropoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		35.8	(M+Na): 709.8
27	Bis(ethoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		62.7	(M+Na): 686.2
28	Bis(ethoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluoro-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		44.9	(M+Na): 702.2

29	Bis(ethoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		39.7	(M+Na): 682.0
30	Bis(ethoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3,4-dimethylphenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		31.4	(M+Na): 677.8
31	Bis(ethoxycarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		62.4	(M+Na): 668.2
32	Bis(acetoxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		60.3	(M+Na): 622.00
33	Bis(acetoxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluoro-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		51.2	(M+Na): 642.00

34	Bis(2-methylpropanoyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		29.5	(M+Na): 682.00
----	---	--	------	-------------------

Preparation 35: Bis {[(2-methylpropanoyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3- {[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-

5 hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylate



Isobutyric acid (0.21 g, 2.42 mmol) is dissolved in dimethylformamide (10 mL). To this solution is added the potassium carbonate (0.54 g, 3.87 mmol). The mixture is stirred at 50 °C for 3 hours and then cooled to room temperature. To the mixture is added

10 bis(chloromethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (535 mg, 0.97 mmol). The mixture is stirred at ambient temperature for 18 hours. The mixture is diluted with ethyl acetate, transferred to a separatory funnel, washed with brine, dried over magnesium sulfate, and concentrated under reduced pressure to give a residue. The

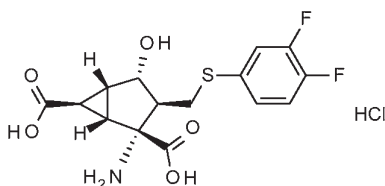
15 residue is purified by flash chromatography (10-40% ethyl acetate/hexanes) to give the title compound (230 mg, 0.36 mmol, 37%). MS (m/z): 678.2 (M+Na).

The following compounds are prepared essentially by the method of Preparation 35:

Prep. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
36	(Bis(2-methylpropanoyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluoro-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		37.0	(M+Na): 698.0
37	Bis[[(2S)-2-methylbutanoyl]oxymethyl] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		52.0	(M+Na): 706.2
38	Bis(2-ethylbutanoyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		30.2	(M+Na): 733.8
39	Bis(3-methylbutanoyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		29.1	(M+Na): 706.2

40	Bis(cyclopropanecarbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		40.6	(M+Na): 674.0
41	Bis(cyclopentane carbonyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		51.8	(M+Na): 730.2
42	Bis(propanoyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(4-fluoro-3-methyl-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		19.8	(M+Na): 650.0
43	Bis(propanoyloxymethyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxycarbonylamino)-3-[(3-chloro-4-fluoro-phenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxy-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate		28.0	(M+Na): 670.0

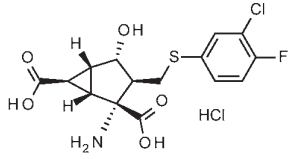
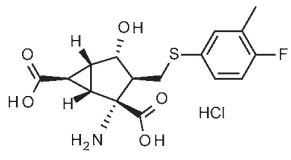
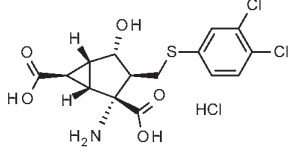
Example 1: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride



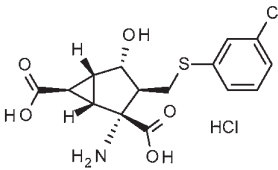
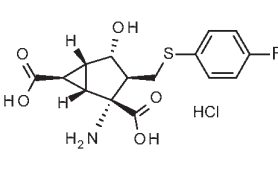
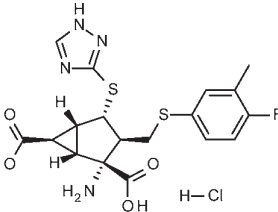
Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[[3,4-difluorophenyl)sulfanyl)methyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (0.58 g, 7.19 mmol) is weighed into a 100 mL round bottom with a stir bar. Hydrogen chloride (4N in dioxane, 33 mL, 132.0 mmol) is added. The mixture is warmed to 70°C for 2 hours and then allowed to cool to ambient temperature. The solvent is removed under reduced pressure to give a residue. The residue is dissolved in dichloromethane (50 mL) and the solvent is removed under reduced pressure to give a residue. This is done three more times to give the title compound (567 mg, 1.43 mmol, 97% yield). MS (m/z): 360.0 (M+1).

10

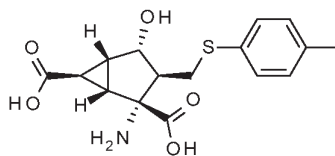
The following compounds are prepared essentially by the method of Example 1:

Ex. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
2	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[3-(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl)methyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride		57.1	(M+H): 376.0
3	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[4-(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl)methyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride		93.4	(M+H): 356.0
4	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[3,4-dichlorophenyl)sulfanyl)methyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		101.4	(M+H): 392.0

-30-

	hydrochloride			
5	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3-chlorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride		82.6	(M+H): 358.0
6	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride		110.4	(M+H): 341.8
7	(1R,2R,3R,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid hydrochloride		93.0	(M+H): 438.8

Example 8: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-4-hydroxy-3-{[(4-methylphenyl)sulfanyl]methyl}bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



- 5 Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-3-(*p*-tolylsulfanylmethyl)bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (300 mg, 545.73 μ mol) is placed in a microwave vial. To the vial is added water (2 mL, 110 mmol), and acetic acid (2 mL, 34.9 mmol). The mixture is heated in the microwave to 140°C for 20 minutes.

-31-

The solvent is removed under reduced pressure to give the title compound (165 mg, 489.04 μmol , 89.6%). MS (m/z): 338.0 (M+H).

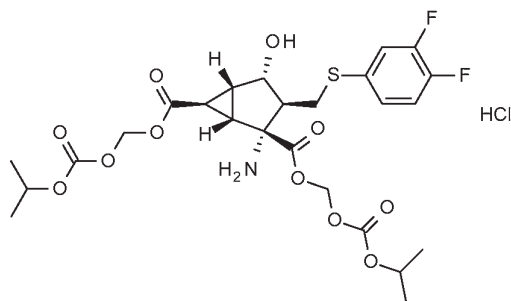
The following compounds are prepared essentially by the method of Example 8:

Ex. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
9	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3,4-dimethylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		96.3	(M+H): 352.0
10	(1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-(Acetylamino)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		93.2	(M+H): 397.0
11	(1S,2R,3R,4S,5R,6S)-2,4-Diamino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid		84.6	(M+H): 355.2

5

Example 12: Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride

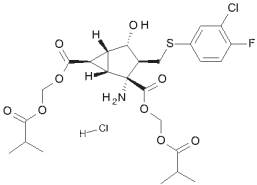
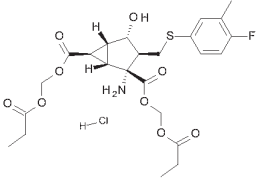
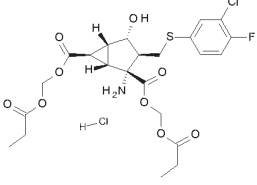
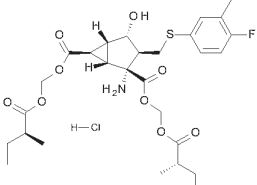
-32-



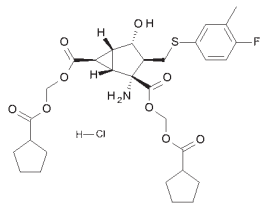
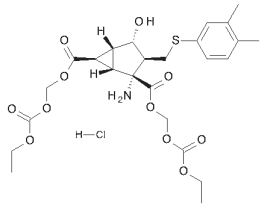
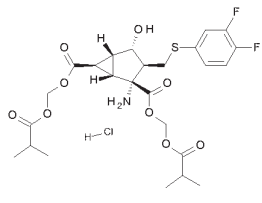
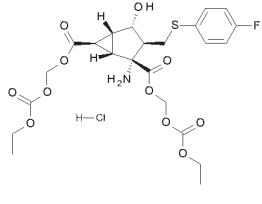
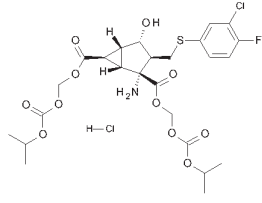
Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (0.88 g, 1.27 mmol) is dissolved in hydrogen chloride (4N in dioxane, 30 mL, 120.00 mmol) and stirred at ambient temperature for 1.5 hours. The solvent is removed under reduced pressure to give a residue. The residue is dissolved in dichloromethane and the solvent removed under reduced pressure. This process is repeated 8 times. The residue is left under high vacuum overnight to give the title compound (0.692 g, 1.10 mmol, 86.61% yield). MS (m/z): 591.8 (M+H).

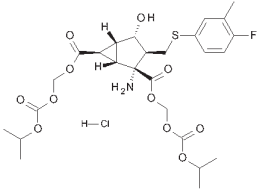
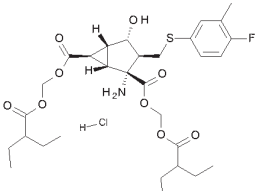
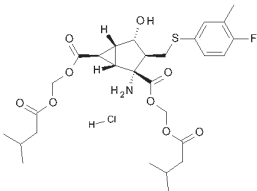
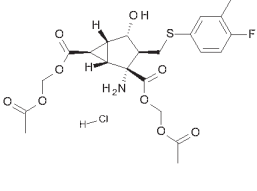
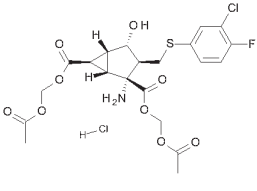
The following compounds are prepared essentially by the method of Example 12:

Ex. No.	Chemical Name	Structure	Yield (%)	Physical Data MS(m/z)
13	Bis {[(2-methylpropanoyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		90.8	(M+H): 555.8

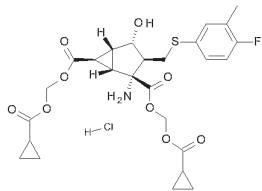
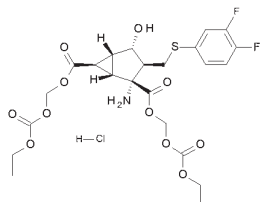
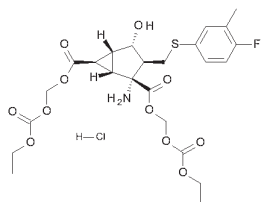
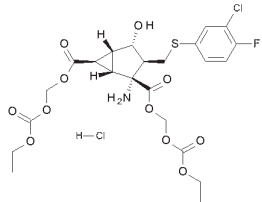
14	Bis {[(2-methylpropanoyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		95.5	(M+H): 575.8
15	Bis[(propanoyloxy)methyl] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		93.3	(M+H): 528.0
16	Bis[(propanoyloxy)methyl] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		55.5	(M+H): 548.0
17	6-([(2S)-2-Methylbutanoyl]oxy)methyl) 2-([(2S)-2-methylbutanoyl]oxy)methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		68.2	(M+H): 584.0

-34-

18	Bis {[[(cyclopentylcarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		71	(M+H): 608.2
19	Bis {[[(ethoxycarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[3,4-dimethylphenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		79.4	(M+H): 556.2
20	Bis {[[(2-methylpropanoyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		89.7	(M+H): 560.2
21	Bis {[[(ethoxycarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		89.5	(M+H): 546.2
22	Bis {[[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-		100	(M+H): 607.8

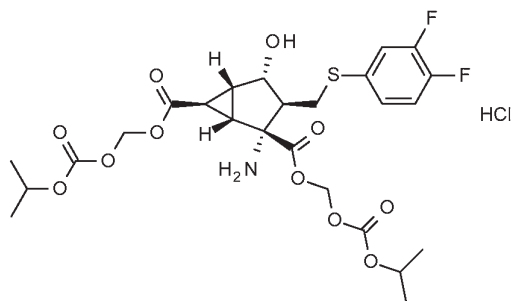
	dicarboxylate hydrochloride			
23	Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl)(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		101.5	(M+H): 587.8
24	Bis({[(2-ethylbutanoyl)oxy]methyl}(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		36.5	(M+H): 612.0
25	Bis({[(3-methylbutanoyl)oxy]methyl}(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		36.1	(M+H): 584.2
26	Bis[(acetyloxy)methyl](1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		84.6	(M+H): 500.0
27	Bis[(acetyloxy)methyl](1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		94.7	(M+H): 520.0

-36-

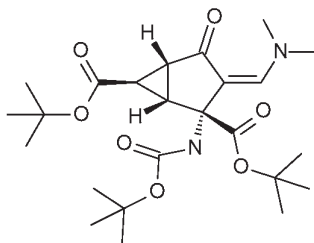
28	Bis {[(cyclopropylcarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		79.2	(M+H): 552.2
29	Bis {[(ethoxycarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		96.2	(M+H): 564.2
30	Bis {[(ethoxycarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(4-fluoro-3-methylphenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		96.2	(M+H): 560.2
31	Bis {[(ethoxycarbonyl)oxy]methyl} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride		95.1	(M+H): 580.0

Example 32: Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy} methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- {[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl} -4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate hydrochloride

-37-

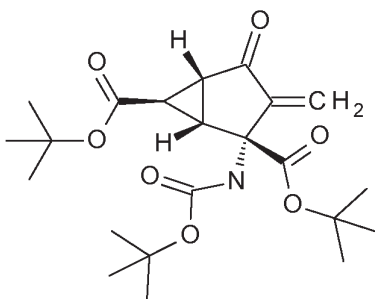


STEP 1: Ditert-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(dimethylaminomethylene)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



- 5 *Tert*-butoxybis(dimethylamino)methane (481.1ml, 2.33mol) is added to a suspension of di-*tert*-butyl(1S,2S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (600g, 1.46mol) in dry toluene (3.6L) at room temperature under nitrogen. The mixture is heated at 80°C for 3 hour and 45minutes, then cooled to room temperature and stirred overnight. The reaction volume is reduced in
- 10 vacuo, diluted with methyl *tert*-butyl ether (1.8L) and hexane (1.8L), and stirred for 3 hours at 15°C. After 3 hours, the resulting solid is collected by filtration, washed with cold hexane (2x1.8L), and dried under vacuum to obtain the title compound (620.4g, yield 91%). HPLC-MS: 98%.
- 15 STEP 2: Di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-methylidene-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

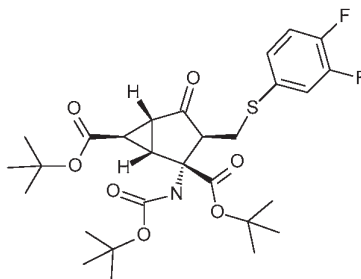
-38-



To a solution of di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-
 (dimethylaminomethylene)-4-oxo-bicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (620.4g,
 1.33mol) in dry tetrahydrofuran (12L), triethylamine (277.3ml, 1.99 mol) is added at
 5 room temperature under nitrogen. The mixture is cooled to -47°C and
 diisobutylaluminum hydride (1M in hexane, 2.06L, 2.06mol) is added dropwise over 2
 hours. The resulting mixture is stirred at -47°C . After 1 hour 15 minutes, acetic acid
 (118ml, 2.06mol) is dropwise added at -47°C , warmed to room temperature, and then
 stirred overnight. Add 20% H_3PO_4 in water until pH=2. Separate the organic phase and
 10 extract the aqueous phase with ethyl acetate (2x1.7L). The combined organic phases are
 washed successively with 10% aqueous HCl (1.5L), water (1.5L), and brine (1.5L), dried
 over anhydrous sodium sulfate, filtered, and concentrated to yield a solid. The resulting
 solid is triturated with water (3.2L), collected by filtration, and then dried to yield the title
 compound (558.2g, yield 99%). HPLC-MS: 97.4%.

15

STEP 3: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[(3,4-
 difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

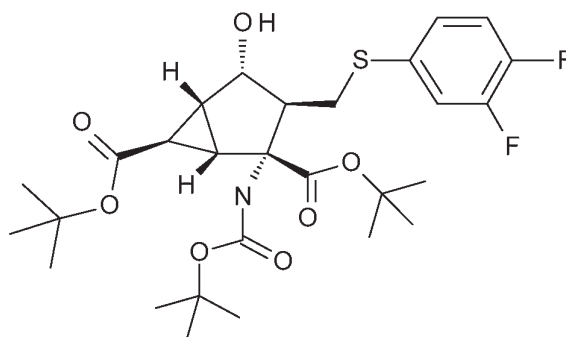


A suspension of di-*tert*-butyl (1S,2R,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-
 20 methyldiene-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (350.00 g, 826.43 mmol) in

-39-

toluene (2.95 L) is treated with 3,4-difluorobenzenethiol (172.49 g, 1.18 mol) and triethylamine (205.61 mL, 149.28 g, 1.48 mol) at 25°C. The mixture is stirred at 80°C. After twelve hours, the reaction was cooled to room temperature, washed sequentially with 2N aqueous NaOH (pH = 10) and aqueous. 1N HCl (pH=4), dried over MgSO₄, and concentrated in vacuo to yield a residue. Triturate the residue with hexane (1L) and remove the solvent to yield the title compound (664g, 100% yield).

STEP 4: Di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



10

A solution of 1N (R)-methyl oxazaborolidine in toluene (228.21mL) and borane-methyl sulfide complex (86.68g, 101.98 mL, 1.14 mol) in anhydrous methyl *t*-butyl ether (4.56 L) is cooled to -40°C. To this solution, di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-oxobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate

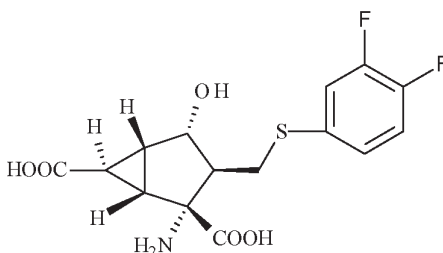
15

(650.00g, 1.14 mol) in methyl *t*-butyl ether (3.42 L) is added via addition funnel over 2 hours whereupon the reaction is warmed to 0°C. After 1 hour, methanol (461.80 mL, 11.41 mol) is added, and internal temperature is kept below 15°C. The reaction is washed with 2N aqueous. NaOH (2L), dried over MgSO₄, and concentrated in vacuo to yield a residue. The residue is purified by silica gel chromatography (8:1 to 1:1hexane/ethyl acetate) to yield the title compound (580g, 89% yield).

20

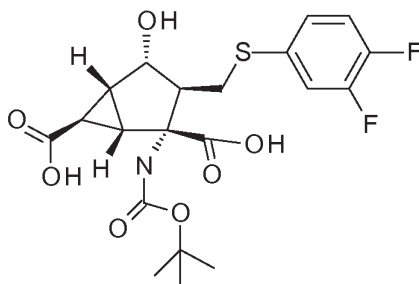
STEP 5: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid

-40-



Water (1.10L) and 12.18M hydrogen chloride in water (789.88mL, 9.62 mol) is added to a solution of di-*tert*-butyl (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (550.00 g, 962.07 mmol) in 1,4-dioxane (192.41mL). The resulting slurry is stirred at 100°C. After 12 hours, the reaction is then cooled to 25°C, stirred for 12 hours, and then basified with NaOH (50% wt/wt) to pH = 2.65. The resulting mixture is stirred at 10°C for 30 minutes whereupon the precipitate is collected by filtration, washed with water (1 L) and methyl *tert*-butyl ether (1 L), and dried for 2 hours at 25°C, and then at 60°C in a oven until constant weight to yield the title compound (300g, 87% yield). MS (m/z): 360 (M+1).

Step 6: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid



15

Triethylamine (407.27mL, 2.92 mol) and [2-(*tert*-butoxycarbonyloxyimino)-2-phenylacetone nitrile] (308.39g, 1.25 mol) are added to a suspension of (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[(3,4-difluorophenyl)sulfanylmethyl]-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (300.00 g, 834.84 mmol) in 1,4-dioxane (500.9mL) and water (500.9mL) at 25°C. The mixture is warmed to 50°C. After 12 hours, the reaction is cooled to 25°C, diluted with water (2.5 L), and washed with

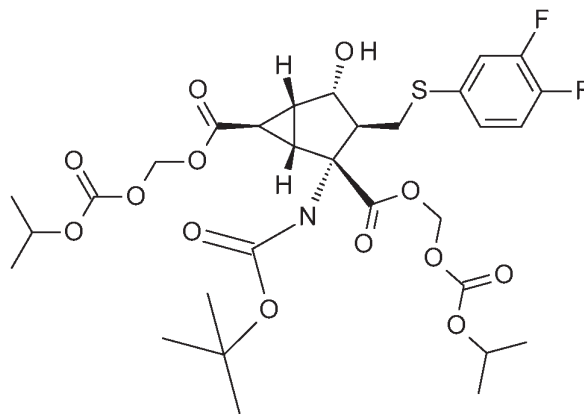
20

-41-

methyl *tert*-butyl ether (6 x 1 L). Basify the aqueous phase with a solution of aqueous. 1N HCl until pH = 2, and extract with ethyl acetate (3 x 2 L). The combined ethyl acetate extracts are washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated in vacuo to yield the title compound (250g, 65% yield). MS (m/z): 360 (M⁺-Boc).

5

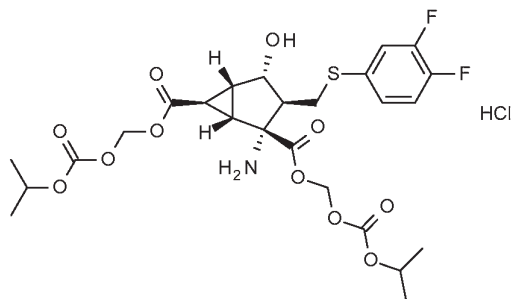
STEP 7: Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate



10 A solution of (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-{{[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (150.00 g, 326.46 mmol) in dimethylformamide (3.38 L) is successively treated with potassium carbonate (180.48g, 1.31mo), chloromethyl isopropyl carbonate (149.43g, 979.39 mmol), and sodium iodide (9.79g, 65.29 mmol), and the mixture is stirred under
15 nitrogen at 25°C. After 12 hours, water (1.5 L) is added to the mixture, solids are filtered off, and filtrate is extracted with methyl *tert*-butyl ether (3 x 1.5 L). The combined organics are washed with successively with water, brine, dried over MgSO₄, and concentrated in vacuo. The resulting residue is purified by silica gel chromatography (2:1 to 1:1 hexane/ ethyl acetate) to afford the title compound (225g, 70% yield). MS (m/z):
20 592 (M⁺-Boc).

-42-

STEP 8: Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-
 {[[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate
 hydrochloride



5 Bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl)(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-
 butoxycarbonyl)amino]-3- {[[(3,4-difluorophenyl)sulfanyl]methyl}-4-
 hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (124.9g, 180.57 mmol) is treated with 4N
 hydrogen chloride in 1,4-dioxane(1.12L, 4.50 mol) at 25°C. After 90 minutes, solvent
 was removed in vacuo, and the residue is slurried in methyl *tert*-butyl ether (1 L) for 30
 10 minutes. The resulting precipitate is collected by filtration, washed with methyl *tert*-butyl
 ether (500 mL), and dried in an oven at 45°C for 16 hours. The resulting salt is dissolved
 in dichloromethane and water then neutralized with triethylamine. The organic phase is
 separated, dried over MgSO₄, and concentrated in vacuo to yield a residue. The residue is
 purified by silica gel chromatography (3:1 to 1:1 hexane/ ethyl acetate), to yield the free
 15 base which is treated with 4N HCl in 1,4-dioxane (950 mL) at 25°C. After 15 minutes,
 the solvent is evaporated in vacuo, and residue is slurried in methyl *tert*-butyl ether (1 L)
 and hexanes (250 mL). The resulting solid is filtered, washed with methyl *tert*-butyl ether
 (500 mL), and dried in vacuo at 45°C until constant weight to provide the title compound
 (98.5g, 87% yield). MS (m/z): 592 (M+1).

20

Literature data (Witkin, Jeffrey M., and Eiler, William J.A. (2006), *Antagonism of
 Metabotropic Glutamate Group II Receptors in the Potential Treatment of Neurological
 and Neuropsychiatric Disorders*. Drug Development Research vol 67, pg. 757-769; and
 Yasuhara, Akito and Chaki, Shigeyuki, (2010) *Metabotropic Glutamate Receptors:
 25 Potential Drug Targets for Psychiatric Disorders*, The Open Medicinal Chemistry
 Journal, vol. 4, pg. 20-36.) and data generated in non-clinical animal studies support a

role for mGlu2/3 antagonists in the treatment of depressive disorders and disorders of excessive sleepiness. Specifically it is found that mGlu 2/3 receptor antagonists are effective in rodent models of depressive disorders and promote wakefulness using EEG monitored rodents without disproportionate or clinically relevant hyperactivity or overwhelming compensatory hypersomnolence. The increased alertness manifests in increased attention, improved cognitive performance, and a likelihood of reduced fatigue. As the previously described disorders represent common co-morbid clinical conditions, an mGlu2/3 receptor antagonist may be particularly effective in specific patient populations, such as patients with major depressive disorder, treatment refractory depression, unipolar depression, dysthymia, and/or cyclothimia, or any disorders of excessive sleepiness. Disorders of excessive sleepiness may include, but are not limited to excessive daytime sleepiness (EDS), hypersomnia associated with obstructive sleep apnea or narcolepsy, circadian rhythm sleep disorders (including, but not limited to shift work sleep disorder, jet lag disorder, delayed sleep phase disorder, advanced phase sleep disorder, and non-24 hour sleep-wake syndrome), idiopathic hypersomnolence and excessive sleepiness associated with non-restorative sleep (NRS)

To further demonstrate the characteristics of the present compounds, representative compounds may be run in the following in vitro and in vivo assays:

mGlu2 and mGlu3 Receptor cAMP Antagonist Assays

Antagonist activity is assayed in recombinant AV12 cells stably expressing human mGlu2 or mGlu3 receptors and the rat glutamate transporter EAAT1 (Excitatory Amino Acid Transporter 1). The cell lines are maintained by culturing in DMEM with high glucose and pyridoxine hydrochloride supplemented with 5 % dialyzed fetal bovine serum (FBS), 1 mM sodium pyruvate, 1 mM HEPES and 1 mM L-glutamine; geneticin and hygromycin B are used as selection antibiotics. Confluent cultures are grown at 37°C in an atmosphere containing 6.5% CO₂, and passaged biweekly. Cells are harvested using 0.25% trypsin, suspended in freeze media (FBS with 10% DMSO) at 10⁷ cells/ml, and aliquots are stored in liquid nitrogen. Twenty-four hours before the assay, cells are plated at a density of 8,000-10,000 cells per well in a tissue culture treated, 96-well, half-area black plates (Costar 3875) in 50 µl of DMEM with high glucose and pyridoxine

-44-

hydrochloride supplemented with 5 % dialyzed FBS, 1 mM sodium pyruvate, 1 mM HEPES, 100 µg/ml ampicillin, and 250 µM (mGlu2) or 125 µM (mGlu3) of L-glutamine.

Reversal of the inhibition of forskolin-stimulated cAMP production by test compounds is measured using homogeneous time resolved fluorescence technology (HTRF; Cisbio cat # 62AM4PEB). The medium is removed and the cells are incubated with 100 µl cAMP stimulation buffer (STIM) for 30 minutes at 37°C. (STIM buffer contains 500 ml HBSS, 1000 ml DPBS, 0.034 % BSA, 1.67 mM HEPES and 500 µM IBMX (Sigma I5879).) Compounds are tested in 10-point concentration response curves using 3X serial dilution followed by further 40-fold dilution into STIM buffer. DCG IV (Tocris 0975) serves as the reference agonist. The final reaction mixture contains 1 µM (for mGlu2) or 3 µM (for mGlu3) of forskolin (Sigma F6886), DCG IV at its EC₉₀, and up to 25 µM of test compound. Cells are incubated at 37°C for 20 minutes. To measure the cAMP levels, cAMP-d2 conjugate and anti cAMP-cryptate conjugate in lysis buffer are incubated with the treated cells at room temperature for 1 hour (mGlu2) or 1.5 hour (mGlu3). The HTRF signal is detected using an EnVision plate reader (Perkin-Elmer) to calculate the ratio of fluorescence at 665 to 620 nM. The raw data are converted to cAMP amount (pmole/well) using a cAMP standard curve generated for each experiment. Relative IC₅₀ values are calculated from the top-bottom range of the concentration response curve using a four-parameter logistic curve fitting program (ActivityBase v5.3.1.22).

FLIPR and cAMP Assays for mGlu Receptor Selectivity

The relative antagonist potencies of the compounds of the invention for the other human mGlu receptors can be assessed with either a cAMP assay or fluorometric calcium response assay (see for example Fell et al., JPET (in press)). Briefly, individual AV12 cell lines containing the rat EAAT1 glutamate transporter and stably expressing the human mGlu1, 2, 3, 4, 5, 6, & 8 receptors are used for these studies. The mGlu1 and 5 receptors are Gq-coupled, so they naturally signal through phospholipase C, producing a calcium flux response which can be used to measure receptor activation using a Fluorometric Imaging Plate Reader (FLIPR, Molecular Devices). The cell lines expressing the mGlu2, 3, 4, and 8 receptor are designed to express the Ga15 subunit so

that these Gi-coupled receptors will generate a calcium flux response similar to the mGlu1 and 5 receptor expressing cell lines. The mGlu6 receptor is tested in a cAMP format using methods analogous to those developed for mGlu2 and mGlu3 above. These cell lines are maintained as previously described except that amounts of L-glutamine and selection agents (geneticin, hygromycin B, zeocin, and blasticidin) may vary depending on the cell line. Confluent cultures are passaged biweekly.

Intracellular calcium levels are monitored using FLIPR before and after the addition of test compounds and Fluo-3 AM (Invitrogen) or Calcium 4 (Molecular Devices) dye, depending on the cell line. Cells are plated 24 hours prior to assay in a variable concentration of glutamine and a variable density of cells per well, depending on the cell line. The medium is removed and the cells are incubated with 8 μ M of dye (50 μ l per well) for 90 or 120 minutes (depending on cell line) at 25°C. A single-addition FLIPR assay generating an 11-point concentration response curve for the agonist glutamate is conducted prior to each experiment to confirm the appropriate sensitivity of the cells. The results are analyzed using GraphPad Prism v4.03 to calculate the concentrations of glutamate needed to induce the EC₉₀ (antagonist assay) and EC₁₀ (potentiator assay) responses.

Compounds are tested at each mGlu receptor in a two-addition FLIPR assay using a 10-point concentration response profile starting at a final concentration of 25 μ M for the agonist assay and 12.5 μ M for the potentiator and antagonist assays. The first addition detects any agonist activity, and the second addition consists of 100 μ l of select concentrations (depending on cell line) of glutamate in assay buffer generating an EC₁₀ or EC₉₀ glutamate response. Agonist effects are quantified as percent stimulation induced by compound alone relative to the maximal glutamate response. Antagonist effects are quantified by calculating the percent inhibition of the EC₉₀ glutamate response caused by the compound. Potentiation effects are quantified as percent increase in the presence of an EC₁₀ response in glutamate relative to the EC_{max} response. All data are calculated as relative IC₅₀ or EC₅₀ values using a four-parameter logistic curve fitting program (ActivityBase v5.3.1.22).

Antagonist activity in mGlu6 cells is measured using cAMP in a method analogous to that described above for mGlu2 and mGlu3 activity, except that the reference agonist was L-AP4 (Tocris). To measure mGlu6 agonist activity, the extent to which the compound inhibits the forskolin-stimulated cAMP production is calculated.

- 5 Relative IC₅₀ and EC₅₀ values are calculated from the top-bottom range of the concentration response curve using a four-parameter logistic curve fitting program (ActivityBase v5.3.1.22).

- Exemplified compounds wherein R¹ and R² are both hydrogen are tested essentially as described above and are found to have high antagonist potency for the mGlu2 and mGlu3 receptors. The exemplified compounds wherein R¹ and R² are both hydrogen are also found to be selective antagonists of the mGlu2 and mGlu3 receptors as against other mGlu receptor subtypes. IC₅₀'s for the mGlu2 and mGlu3 receptors for the exemplified compounds wherein R¹ and R² are both hydrogen are found to be less than 70 nM and 140 nM, respectively, while the IC₅₀'s for other mGlu receptors tested are found to be significantly greater. The compounds of examples 1 and 2 are tested essentially as described above and are found to have activity profiles as shown in Table 1.

Table 1. Selectivity data

Ex.	mGlu1 % inhib. @12.5μM	mGlu2 IC50 nM	mGlu3 IC50 nM	mGlu4 % inhib. @12.5μM	mGlu5 % inhib. @12.5μM	mGlu6 IC50 nM	mGlu8 % inhib. @12.5μM
1	6.3%	15.4±2.0	6.2±2.2	17.9%	-2.0%	1720	47.0% (IC ₅₀ 4970 nM)
2	7.9%	12.7±2.3	13.4±3.4	28.0%	21.4%	1395	68.7% (IC ₅₀ 7860 nM)

- 20 Further, certain compounds of the present invention show a lack of significant activity at other physiologically important receptors such as, but not limited to, the hERG channel, serotonin receptors (specifically 5-HT_{2A} and 5-HT_{2B}), muscarinic receptors (specifically M2), and iGluR receptors (specifically iGluR5). The compound of example

1 is tested using known assay methods and is found to have no appreciable activity at these receptors.

Therefore, physiologically relevant doses of the compounds of the invention are expected to provide substantial inhibition of mGlu2 and mGlu3 receptors in vivo, while not substantially interacting with other mGlu receptors, or other physiologically relevant receptors, and thus are expected to provide the desired pharmacology while avoiding undesired effects associated with off-target activity.

Forced-Swim Test in Mice (mFST)

mFST is an established in vivo assay for antidepressant activity (Li et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 319(1):254-9, 2006.). Mice treated with known clinically effective antidepressants (selective serotonin reuptake inhibitors and/or tricyclic antidepressants) exhibit the behavior of reduced time spent immobile after being placed in a water tank, a behavior associated with despair. The mFST was used to evaluate potential antidepressant-like activity of novel mGlu2/3 antagonists essentially as described in previously published methods (see for example, Li et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 319(1):254-9, 2006.). Briefly, male NIH-Swiss mice (Harlan Sprague-Dawley, Indianapolis, IN) weighing between 25-30 g are used. Group housed animals are removed from the vivarium to the testing area in their own cages and allowed to adapt to the new environment for at least 1 hour before testing. Compounds where R¹ and R² are both hydrogen are dissolved in water with minimal NaOH added for dissolution and are administered i.p. Compounds where R¹ and/or R² are other than hydrogen are prepared on the day of use in 2.0-2.5% N-methyl-pyrrolidinone and then suspended in 1% HEC, 0.25% Tween 80, and 0.05% Dow antifoam, and administered orally. Mice are placed in a cylinder (diameter: 10 cm; height: 25 cm) filled with 6 cm of water (22-25°C) for 6 min. The duration of immobility during the last 4 min. of the 6 min. period of the test was scored. A mouse is recorded as immobile when floating motionless or making only those movements necessary to keep its head above water.

Representative compounds are tested essentially as described above and are found to significantly reduce immobilization times in wild type mice. Exemplified compounds wherein R¹ and R² are both hydrogen are assayed essentially as described above and are found to have ED₆₀'s less than 30 mg/kg i.p., with maximal decreases in immobilization

times of at least 25%. The compounds of Examples 1, 2, 12/32 and 22 are assayed essentially as described above and are found to have activities as shown in Table 2. Therefore compounds of the present invention are expected to have antidepressant activity *in vivo*.

5 Table 2. Mouse Forced Swim Test (mFST)

Example	ED ₆₀ (mg/kg)	Maximal Decrease (1-compound/control)*100%
1	8.0 (i.p.)	36.1%
2	24.5 (i.p.)	33.5%
12/32	12.0 (p.o.)	58.4%
22	20.5 (p.o.)	50.1%

In other experiments, mice with receptor deletions (mGlu2 knock-out mice) are studied; these mice are bred by heterozygote x heterozygote breeding and used as littermates for -/- and +/+ mouse comparisons (Taconic Farms). The compounds of
10 examples 1 and 2 (10mg/kg, i.p., 30 min prior) are found to significantly decrease immobility time in mGlu2+/+ mice, but not in mGlu2-/- mice. Similarly, the compound of example 12/32 (30 mg/kg, po, 120 min prior) is found to decrease immobility time in mGlu2+/+ mice, but not in mGlu2-/- mice. These findings further demonstrate that the mGlu2 receptor contributes to the antidepressant-like effects of the compounds of the
15 invention.

The compounds of the invention may also be tested in combination with other compounds useful for the treatment of depressive disorders, as for example SSRI's, for their ability to enhance the antidepressant-like effects over that of either compound alone. The compound of example 12 (10 mg/kg p.o.) is tested in the mouse forced swim test
20 alone and in combination with either fluoxetine (10 mg/kg, i.p.) or citalopram (1 mg/kg, i.p.) and found to significantly increase the antidepressant-like effect over that of either compound alone as shown in Table 3, below. Further, testing of brain and plasma levels of the active di-acid moiety of the compound of example 12 (i.e. the same compound as the freebase of example 1), and plasma levels of fluoxetine and citalopram, show no
25 increase in exposure levels, supporting the finding that the increased antidepressant-like activity was not due merely to an increase in central exposure to the compounds.

Table 3. mFST with SSRI

Compound(s)	Immobilization Time (sec.)	Std error of mean	Maximal Decrease (1-compound/control)*100%
Vehicle	173	14	
Example 12	130	17	24.5%
Fluoxetine	118	16	31.5%
Ex. 12 + Fluoxetine	80	15	53.6%*
Vehicle	176	14	
Example 12	140	8	20.9%
Citalopram	102	18	42.1%
Ex. 12 + Citalopram	80	13	54.8%**

*Significantly different from either compound of Example 12 or fluoxetine alone, $p < 0.05$

**Significantly different from either compound of Example 12 or citalopram alone, $p < 0.05$

- 5 Wakefulness and behavioral monitoring in rats: Representative compounds of the present invention are tested in rats for their ability to increase the amount of time in a state of wakefulness without undesired effects such as inhibition of REM sleep, waking motor impairment (disproportionate hyper- or hypolocomotion), and/or rebound hypersomnia. Test animals are continuously monitored by electro-encephalograms (EEG),
- 10 electromyograms (EMG), and motion to measure cumulative time awake, rebound hypersomnia, and locomotor activity intensity during wakefulness. Methods for such studies are known in the art (see for example methods described in Edgar DM, Seidel WF. Modafinil induces wakefulness without intensifying motor activity or subsequent rebound hypersomnolence in the rat. *J Pharmacology & Experimental Therapeutics*
- 15 1997; **283**: 757-769; van Gelder RN, Edgar DM, Dement WC. Real-time automated sleep scoring: validation of a microcomputer-based system for mice. *Sleep* 1991, **14**: 48-55; and Gross BA, Walsh CM, Turakhia AA, Booth V, Mashour GA, Poe GR. Open-source logic-based automated sleep scoring software using electrophysiological recordings in rats. *J Neurosci Methods*. 2009; **184**(1):10-8.) Studies are conducted as
- 20 follows:

- Animal preparation.* Adult, male Wistar rats (approximately 270-300 g at time of surgery) are surgically fitted for chronic recording of EEG, EMG, body temperature, and motion as follows: Rats are surgically prepared with a cranial implant consisting of four stainless steel screws for EEG recording (two frontal [3.9 mm anterior from bregma, and
5 ± 2.0 mm mediolaterally] and two occipital [6.4 mm posterior from bregma, ± 5.5 mm mediolaterally]), and with two Teflon-coated stainless steel wires for EMG recording (positioned under the nuchal trapezoid muscles). All leads are soldered to a miniature connector (Microtech, Boothwyn, PA) prior to surgery. The implant assembly is affixed to the skull by the combination of the stainless steel EEG recording screws, cyanoacrylate
10 applied between the implant connector and skull, and dental acrylic. Body temperature and locomotor activity is monitored via a miniature transmitter (Minimitter PDT4000G, Philips Respironics, Bend, OR) surgically placed into the abdomen. At least 3 weeks are allowed for recovery.
- 15 *Recording environment.* Each rat is housed individually within a microisolator cage modified with an inserted polycarbonate filter-top riser to allow more vertical headroom. A flexible cable that minimally restricts movement is connected at one end to a commutator afixed to the cage top and at the other end to the animal's cranial implant. Each cage is located within separate, ventilated compartments of a stainless steel sleep-
20 wake recording chamber. Food and water are available *ad libitum* and the ambient temperature is maintained at about $23 \pm 1^\circ\text{C}$. A 24-hr light-dark cycle (LD 12:12) using fluorescent light is maintained throughout the study. Relative humidity averages approximately 50%. Animals are undisturbed for at least 30 hrs before and after each treatment.
- 25 *Study design and dosing.* Compounds where R^1 and R^2 are both hydrogen are dissolved in water with minimal NaOH added for dissolution and are administered i.p in a volume of 1.0 mL per kg body weight. Compounds where R^1 and/or R^2 are other than hydrogen are administer p.o. in a volume of 2 mL per kg body weight in one of two alternative
30 vehicles: i) 2.5% N-methyl-2-pyrrolidinone in hydroxyethylcellulose; or ii) 10% acacia with 0.05% Dow Corning® Antifoam in water. The vehicle or one of the compound dose levels is administered pseudo-randomly such that no rat receives the same treatment

twice, and no rat receives more than two of the 8 treatments in any one study. Each rat is removed from its cage for about a minute to be weighed and treated. At least 6 days “washout” period precede and follow each treatment.

- 5 *Data collection.* Sleep and wakefulness discrimination may be automated (*e.g.*, Van Gelder et al. 1991; Edgar et al. 1997, Winrow et al., 2010; Gross et al., 2009). EEG is amplified and filtered (X10,000, bandpass 1-30 Hz), EMG is amplified and integrated (bandpass 10-100 Hz, RMS integration), and non-specific locomotor activity (LMA) is monitored simultaneously. Arousal states are classified in 10 second epochs as non-REM
10 sleep, REM sleep, wakefulness, or theta-dominated wakefulness. Locomotor activity (LMA) is recorded as counts per minute and is detected by commercially available telemetry receivers (ER4000, Minimitter, Bend, OR).

- Statistical Analysis.* Ages and body weights are summarized by mean, minimum and
15 maximum over the treatment groups. All animals having at least one outcome are included in the summary results (for example, we include appropriate data from an animal treatment for which telemetry data are usable but EEG data are not). The post-treatment observation period is divided into 2 post-dosing intervals (the first 7 hours, and the first 19 hours) where the time of dosing is defined as the start of Hour = 0. The outcomes are
20 summarized in each period by computing either the mean hourly or the cumulative value across each period. Each outcome in each period is analyzed by analysis of covariance using treatment group and treatment date as factors and the corresponding pre-treatment interval, 24 hrs earlier, as the covariate. Adjusted means and the change from vehicle means and their corresponding standard errors are summarized for each treatment group.
25 Adjusted Dunnett’s multiple-comparison P-values are shown for each outcome in each period. Not all outcomes are analyzed in all periods, as shown in Table 1, which thus affect the experiment-wise type I error rate. As such, no further adjustments are made for multiple testing.

- 30 *Determining efficacy.* The threshold efficacious dose is estimated as the lowest dose for which cumulative time awake exceeds 50 minutes relative to vehicle controls across the

first 7 hours post-treatment. A finer determination may be made by conducting subsequent studies of more closely spaced doses around the efficacious dose.

Determining undesired effects. Two potentially undesired effects in particular are

5 evaluated: rebound hypersomnolence and intensified motor activity (Edgar DM, Seidel WF, 1997).

(i) Rebound hypersomnolence may be measured as decreased levels of wakefulness during the period 8-19 hours after efficacious treatment doses. A biologically significant decrease is defined as a greater than 50 percent of the cumulative increase during the first
10 7 hours. Thus, if wakefulness increased by 100 minutes during the first 7 hours, then a decrease in cumulative wakefulness of 50 minutes or more, relative to vehicle controls, during the period 8-19 hours after treatment would be deemed biologically significant. Group mean changes, shown in Table 2, show a lack of rebound hypersomnolence.

(ii) Intensified motor activity is defined as an average increase relative to vehicle controls
15 that exceeds 5 LMA counts per minute of EEG-defined wakefulness at the efficacy threshold dose, *and* for which the effect is dose related. Group mean increases in Table 2 were all under 5 counts per minute of wakefulness and are not dose dependent.

Exemplified compounds are tested essentially as described and are found to promote wakefulness without significant rebound hypersomnia or intensified motor
20 activity. Exemplified compounds where R¹ and R² are both hydrogen (administered i.p.) are tested essentially as described and are found to be efficacious at doses of 10 mg/kg or lower. The compound of Example 12 is tested essentially as described and is found to have the cumulative time awake profile and locomotor activity intensity as shown in Table 4.

25

Table 4.

Cumulative Time Awake first 7 hours

Dose (mg/kg PO)	N	Mean	SE	P
60	12	118.9	14.3	<0.0001
30	12	109.3	14.1	<0.0001
10	9	40.2	15.6	0.0368

Cumulative Time Awake 8-19 hours

Dose (mg/kg PO)	N	Mean	SE	P
60	12	2.7	14.4	0.8535
30	12	-4.1	14.5	0.7760
10	9	12.1	16.0	0.4546

Locomotor Activity Intensity (note 1)

Dose (mg/kg PO)	N	Mean	SE	P
60	7	4.9	2.0	0.0191
30	12	3.0	1.8	0.0939
10	6	4.5	2.0	0.0349

Outcome statistics: Mean values represent the difference from vehicle controls. SE = standard error of the mean; P = *P*-value adjusted for multiple contrasts for the efficacy variable. Unadjusted *P* values are shown for 'undesired effect' measures (Cumulative Time Awake 8-19 hours, and Locomotor Activity Intensity).

5 Cumulative time awake given in minutes. *Note 1.* Locomotor activity (LMA) *intensity* = counts of LMA per minute of EEG-defined wakefulness, averaged over the first 7 hr post-treatment.

Additionally, in three separate experiments, mice with single mGlu2(-/-), single mGlu3(-/-), or double mGlu2(-/-) mGlu3(-/-) receptor deletions are studied. These mice are bred by heterozygote x heterozygote breeding and used as littermates for -/- and +/- mouse comparisons (Taconic Farms). The compound of example 1 (10mg/kg, i.p.) is found to significantly increase wakefulness in wild type mice, single knockout mGlu3(-/-) mice, and single knockout mGlu2(-/-) mice, though at a reduced level. In contrast, the compound of example 1 is found to not significantly increase wakefulness in the double knockout mGlu2(-/-) mGlu3(-/-) mice. These findings demonstrate that both the mGlu2 and mGlu3 receptors contribute to the wake-promoting effect of the compounds of the invention.

While it is possible to administer compounds employed in the methods of this invention directly without any formulation, the compounds are usually administered in the form of pharmaceutical compositions comprising at least one compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as an active ingredient and at least one

pharmaceutically acceptable carrier, diluent and/or excipient. These compositions can be administered by a variety of routes including oral, sublingual, nasal, subcutaneous, intravenous, and intramuscular. Such pharmaceutical compositions and processes for preparing them are well known in the art. *See, e.g.*, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (University of the Sciences in Philadelphia, ed., 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins Co., 2005). Compounds of Formula I where R¹ or R² or both are other than hydrogen are preferred for oral administration to improve bioavailability, whereas Compounds of Formula I where R¹ and R² are both hydrogen are preferred for i.v., i.p., or intramuscular administration.

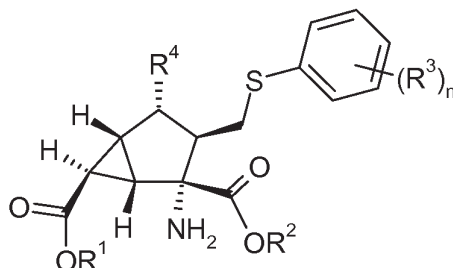
The compositions are preferably formulated in a unit dosage form, each dosage containing from about 1 to about 600 mg, more usually about 30 to about 300 mg, as for example between about 50 and about 250 mg of the active ingredient. The term "unit dosage form" refers to physically discrete units suitable 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 at least one suitable pharmaceutically acceptable carrier, diluent and/or excipient.

The compounds of Formula I are generally effective over a wide dosage range. For example, dosages per day normally fall within the range of about 0.01 to about 10 mg/kg, more usually from about 0.3 to 5.0 mg/kg, and as for example between 0.5 and 3.0 mg/kg of body weight. In some instances dosage levels below the lower limit of the aforesaid range may be more than adequate, while in other cases still larger doses may be employed without causing any harmful side effect, and therefore the above dosage range is not intended to limit the scope of the invention in any way. It will be understood that the amount of the compound actually administered will be determined by a physician, in the light of the relevant circumstances, including the condition to be treated, the chosen route of administration, the actual compound or compounds administered, the age, weight, and response of the individual patient, and the severity of the patient's symptoms.

-55-

We claim:

1. A compound of the formula



where R^1 and R^2 are each independently hydrogen, C_1 - C_3 alkoxy carbonyloxymethyl, C_1 -

- 5 C_5 alkyl carbonyloxymethyl, or C_{3-6} cycloalkyl carbonyloxymethyl;

R^3 is independently at each occurrence methyl, fluoro, or chloro;

R^4 is hydroxyl, amino, methyl carbonylamino, or 1,2,4-triazolylthio; and

n is 1 or 2;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10

2. The compound according to Claim 1 where R^1 and R^2 are each hydrogen, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

3. The compound according to Claim 1 where R^1 and R^2 are both other than hydrogen, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15

4. The compound according to Claim 1 where R^1 and R^2 are the same and are other than hydrogen, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

5. The compound according to Claim 4 where R^1 and R^2 are each isopropyl oxycarbonyloxymethyl.

20

6. The compound according to any one of Claims 1 through 5 where n is 2 and the R^3 groups are at the phenyl 3- and 4-positions.

25

7. The compound according to any one of Claims 1 through 6 where R^3 is independently at each occurrence chloro or fluoro.

8. The compound according to Claim 1 which is (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{{(3,4-difluorophenyl)sulfanyl}methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 5 9. The compound according to Claim 1 which is bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{{(3,4-difluorophenyl)sulfanyl}methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 10 10. The compound according to Claim 1 which is (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{{(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl}methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0] hexane-2,6-dicarboxylic acid, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 15 11. The compound according to Claim 1 which is bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{{(3-chloro-4-fluorophenyl)sulfanyl}methyl}-4-hydroxybicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 20 12. A pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of Claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluent.
- 25 13. A compound according to any one of Claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in therapy.
14. A compound according to any one of Claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in the treatment of depressive disorders.
- 30 15. A compound according to any one of Claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in the treatment of disorders of excessive sleepiness.
16. The compound for use according to Claim 14 or 15 in a human.

-57-

17. A compound according to any one of Claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in simultaneous, separate or sequential combination with a serotonin reuptake inhibitor in the treatment of depressive disorders.

5

18. The compound for use according to Claim 17 where the serotonin reuptake inhibitor is fluoxetine or citalopram.

19. The compound for use according to Claim 17 or 18 in a human.

10

20. A method for treating depressive disorders in a mammal comprising administering to a mammal in need of such treatment an effective amount of a compound according to Claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15

21. The method of Claim 20 where the mammal is a human.

22. A method for treating disorders of excessive sleepiness in a mammal comprising administering to a mammal in need of such treatment an effective amount of a compound according to Claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20

23. The method of Claim 22 where the mammal is a human.

24. A method for treating depressive disorders in a mammal comprising administering to a mammal in need of such treatment an effective amount of a compound according to Claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in simultaneous, separate or sequential combination with a serotonin reuptake inhibitor.

25

25. The method of Claim 24 wherein the serotonin reuptake inhibitor is fluoxetine or citalopram.

30

26. The method of Claim 24 wherein the mammal is a human.

-58-

27. The method of Claim 25 wherein the mammal is a human.

28. A pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of
claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with at least
5 one pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluent, and optionally other
therapeutic ingredients.

29. A pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of
Claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a serotonin reuptake
10 inhibitor in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier, excipient
or diluent.

30. The pharmaceutical composition of Claim 29 wherein the serotonin reuptake
inhibitor is fluoxetine or citalopram.

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/060730

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07C323/58 A61K31/10
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07C

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, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006/142388 A1 (YASUHARA AKITO [JP] ET AL) 29 June 2006 (2006-06-29)	1-11, 13-19
Y	Table 1, entry 8;; paragraphs [0176], [0217] -----	12,20-30
Y	WO 99/47490 A1 (PFIZER PROD INC [US]; CHENARD BERTRAND LEO [US]) 23 September 1999 (1999-09-23) claims 15-18 -----	12,20-30



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 March 2012

Date of mailing of the international search report

10/04/2012

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Kleidernigg, Oliver

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/060730

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006142388 A1	29-06-2006	US 2006142388 A1	29-06-2006
		WO 2005000790 A1	06-01-2005

WO 9947490 A1	23-09-1999	AP 1116 A	21-10-2002
		AR 017236 A1	22-08-2001
		AT 272608 T	15-08-2004
		AU 753422 B2	17-10-2002
		AU 2540999 A	11-10-1999
		BG 104837 A	31-07-2001
		BR 9908850 A	21-11-2000
		CA 2321639 A1	23-09-1999
		CN 1293655 A	02-05-2001
		CO 5090835 A1	30-10-2001
		CZ 20003355 A3	15-05-2002
		DE 69919142 D1	09-09-2004
		DE 69919142 T2	20-01-2005
		DZ 2745 A1	08-09-2003
		EP 1064256 A1	03-01-2001
		ES 2224604 T3	01-03-2005
		GT 199900040 A	06-09-2000
		HR 20000611 A2	30-04-2001
		HU 0101031 A2	28-08-2001
		ID 25651 A	19-10-2000
		IS 5592 A	18-08-2000
		JP 3665567 B2	29-06-2005
		JP 2002506847 A	05-03-2002
		MA 26614 A1	20-12-2004
		NO 20004626 A	13-11-2000
		NZ 506227 A	30-06-2003
		OA 11488 A	07-05-2004
		PL 343278 A1	13-08-2001
		PT 1064256 E	29-10-2004
		SK 13532000 A3	02-07-2002
		TR 200002671 T2	21-12-2000
		TW 509667 B	11-11-2002
		WO 9947490 A1	23-09-1999
		ZA 9902094 A	28-11-2000

**COMPUESTOS 3-FENILSULFANILMETIL-BICICLO[3.1.0]HEXANO 4-
SUSTITUIDOS COMO ANTAGONISTAS DE mGluR 2/3**

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a glutamato como
el mejor neurotransmisor excitatorio en el cerebro y está
involucrado en una amplia variedad de procesos fisiológicos
mediados a través de al menos 11 distintos receptores, cada
uno con su propia farmacología.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El Receptor de Glutamato Metabotrópico subtipos 2 y
3 (conocidos como mGlu2 y mGlu3) son a menudo agrupados como
receptores mGlu Grupo II en base a su homología de secuencia,
15 acoplamiento de segundo mensajero similar y características
farmacológicas similares. Los antagonismos de receptores
mGlu2/3 han exhibido efectos farmacológicos significantes en
modelos animales para trastornos depresivos y trastornos de
somnolencia excesiva. Como tal, los antagonistas de mGlu2/3
20 se consideran por ser útiles en el tratamiento de trastornos
de depresión tales como trastorno depresivo principal (MDD),
depresión unipolar, distimia y/o ciclotimia, y/o útiles en el
tratamiento de trastornos de somnolencia excesiva, tal como
somnolencia excesiva durante el día (EDS), hipersomnia
25 asociada con apnea del sueño obstructiva y narcolepsia,

trastorno del sueño por ritmo cicardiano (que incluye, pero no se limita a trastorno del sueño por turno de trabajo, trastorno jet lag o descompensación horaria, trastorno del sueño de fase retrasada, trastorno del sueño de fase avanzada y síndrome del sueño-vigilia no de 24 horas, hipersomnolencia idiopática y/o somnolencia excesiva asociada con sueño no restaurativo (NRS)).

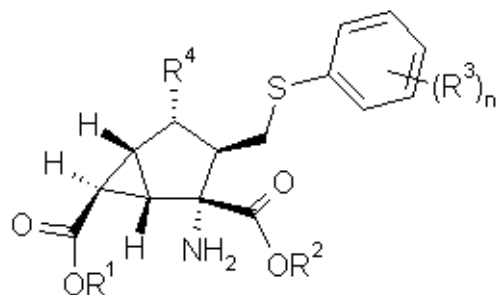
El documento US 5,916,920 describe ciertos compuestos de biciclo[3.1.0]hexano 3-monosustituido como moduladores del receptor de glutamato metabotrópico útil para tratar una variedad de trastornos que incluyen agentes antidepresivos. El documento 7,157,594 describe varios compuestos biciclo[3.1.0]hexano 3-monosustituido como antagonistas del receptor mGlu del Grupo II para uso en el tratamiento de varios trastornos que incluyen síntomas depresivos. El documento US 2007/0021394 A1 describe varios compuestos biciclo[3.1.0]hexano 3-monosustituido como antagonistas del receptor mGlu del Grupo II y profármacos del mismo para uso en el tratamiento de varios trastornos que incluye depresión.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una familia de compuestos 4-sustituido-3-fenilsulfanilmetil-biciclo[3.1.0]hexano con alta potencia antagonista para los

receptores mGlu2 y mGlu3. Los compuestos de la presente invención también son selectivos para receptores mGlu2 y mGlu3, particulares como agonistas de otros receptores. Ciertos compuestos también han demostrado a través de modelos animales que los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento de trastornos de depresión (los cuales pueden incluir trastorno depresivo principal (MDD), depresión unipolar, distimia y/o ciclotimia) y trastornos de somnolencia excesiva (los cuales pueden incluir somnolencia excesiva durante el día (EDS), hipersomnia asociada con apnea del sueño obstructiva y narcolepsia, trastorno del sueño por ritmo circadiano (que incluye, pero no se limita a trastorno del sueño por turno de trabajo, trastorno jet lag o descompensación horaria, trastorno del sueño de fase retrasada, trastorno del sueño de fase avanzada y síndrome del sueño-vigilia no de 24 horas), hipersomnolencia idiopática y/o somnolencia excesiva asociada con sueño no restaurativo (NRS)). Los efectos similares a antidepresivo y promoción de despertar de este mecanismo también predicen el impacto en síntomas de trastornos depresivos tal como fatiga que de otra forma dificulta el tratamiento con antidepresivos existentes.

La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I:



(I)

en donde R^1 y R^2 son cada uno independientemente hidrógeno, alcoxycarboniloximetilo C_1-C_3 , alquilcarboniloximetilo C_1-C_5 , o cicloalquilcarboniloximetilo C_3-6 ;

R^3 es independientemente en cada caso metilo, fluoro, o cloro;

R^4 es hidroxili, amino, metilcarbonilamino, o 1,2,4-triazoliltio; y

n es 1 o 2;

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Es una característica de la presente invención que compuestos de Fórmula I en donde R^1 y R^2 ambos son hidrógeno (los compuestos di-ácido) son los compuestos terapéuticamente activos in vivo, mientras que compuestos en donde R^1 o R^2 o ambos son diferente a hidrógeno son profármacos de sus análogos di-ácido terapéuticamente activos. Los compuestos en donde R^1 o R^2 o ambos son diferentes a hidrógeno son hidrolizados in vivo para proporcionar el análogo di-ácido terapéuticamente activo. Los compuestos del profármaco cuando se administran oralmente, particularmente profármacos de

diéster, proporcionan biodisponibilidad mejorada del metabolito di-ácido comparados a la administración oral de los compuestos di-ácido (R^1 y R^2 ambos siendo hidrógeno), pero los compuestos di-ácido proporcionan mejores actividades cuando se administran intravenosamente, intramuscularmente o subcutáneamente.

En otro aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Además, este aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica adaptada para el tratamiento de trastornos depresivos, como por ejemplo trastorno depresivo principal, depresión unipolar, distimia, y/o ciclotimia, que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con uno o más excipientes, portadores o diluyentes del mismo farmacéuticamente aceptable.

Una modalidad adicional de este aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de conformidad con la Fórmula I, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. En aún una modalidad adicional de este aspecto de la

invención, la composición farmacéutica además comprende un segundo agente terapéutico el cual es un fármaco útil en el tratamiento de trastornos depresivos, como por ejemplo un inhibidor de reabsorción de serotonina, como por ejemplo
5 fluoxetina y/o citalopram.

En aún otra modalidad de este aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica adaptada para el tratamiento de trastornos de somnolencia excesiva, como por ejemplo, somnolencia excesiva durante el
10 día (EDS), hipersomnia asociada con apnea del sueño obstructiva o narcolepsia, trastorno del sueño de ritmo circadiano (que incluye, pero no se limita a trastorno del sueño por turno de trabajo, trastorno jet lag o descompensación horaria, trastorno del sueño de fase
15 retrasada, trastorno del sueño de fase avanzada, y síndrome del sueño-vigilia no de 24 horas), hipersomnolencia idiopática y/o somnolencia excesiva asociada con sueño no restaurativo (NRS), que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación
20 con uno o más excipientes, portadores o diluyentes del mismo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método para tratar trastornos depresivos, como por ejemplo trastorno depresivo principal (MDD), depresión unipolar, distimia, y/o
25 ciclotimia, en un mamífero, que comprende administrar a un

mamífero en necesidad del tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. En otra modalidad de este aspecto de la invención, el método además comprende
5 administrar en combinación simultánea, separada o secuencial, un segundo agente terapéutico el cual es un fármaco útil en el tratamiento de trastornos depresivos, como por ejemplo un inhibidor de reabsorción de serotonina, como por ejemplo fluoxetina y/o citalopram.

10 Otras modalidades de la invención proporcionan métodos para tratar trastornos de somnolencia excesiva que comprende administrar a un mamífero en necesidad del tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. En otras
15 modalidades de este aspecto de la invención, la somnolencia excesiva es debido a cualquiera de uno o más de lo siguiente: somnolencia excesiva durante el día (EDS), hipersomnia asociada con apnea del sueño obstructiva o narcolepsia, trastorno del sueño de ritmo circadiano (que incluye, pero no
20 se limita a trastorno del sueño por turno de trabajo, trastorno jet lag o descompensación horaria, trastorno del sueño de fase retrasada, trastorno del sueño de fase avanzada, y síndrome del sueño-vigilia no de 24 horas), hipersomnolencia idiopática o somnolencia excesiva asociada
25 con sueño no restaurativo (NRS).

En una modalidad particular de estos métodos de tratamiento, el mamífero es un humano.

Esta invención también proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable para uso en terapia. Dentro de este aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de trastornos depresivos. En modalidades adicionales, el trastorno depresivo es cualquiera de alguno de trastorno depresivo principal (MDD), depresión unipolar, distimia, y/o ciclotimia. En otra modalidad de este aspecto de la invención, la invención proporciona un compuesto de conformidad con la Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un inhibidor de reabsorción de serotonina, como por ejemplo fluoxetina y/o citalopram, en el tratamiento de trastornos depresivos.

Además, este aspecto de la invención incluye un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de trastornos de somnolencia excesiva. En modalidades particulares de este aspecto de la invención, la somnolencia excesiva es debido a cualquiera de uno o más de lo siguiente: somnolencia excesiva durante el día (EDS), hipersomnia asociada con apnea del sueño obstructiva o narcolepsia, trastorno del sueño de ritmo

circadiano (que incluye, pero no se limita a trastorno del
sueño por turno de trabajo, trastorno jet lag o
descompensación horaria, trastorno del sueño de fase
retrasada, trastorno del sueño de fase avanzada, y síndrome
5 del sueño-vigilia no de 24 horas), hipersomnolencia
idiopática o somnolencia excesiva asociada con sueño no
restaurativo (NRS).

Una modalidad particular de este aspecto de las
invenciones, los usos son en mamíferos, en particular
10 humanos.

Otro aspecto de esta invención proporciona el uso
de un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo
farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un
medicamento para el tratamiento de trastornos depresivos,
15 como por ejemplo trastorno depresivo principal (MDD),
depresión unipolar, distimia, y/o ciclotimia. Otra modalidad
de este aspecto de la invención proporciona el uso de un
compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente
aceptable, y un segundo agente terapéutico útil en el
20 tratamiento de trastornos depresivos, como por ejemplo un
inhibidor de reabsorción de serotonina, como por ejemplo
fluoxetina y/o citalopram, en la manufactura de un
medicamento para el tratamiento de trastornos depresivos.
Otra modalidad de la invención proporciona el uso de un
25 compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente

aceptable, en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de trastornos de somnolencia excesiva. En modalidades particulares de este aspecto de la invención, el medicamento es para el tratamiento de cualquiera de uno o más de lo siguiente: somnolencia excesiva durante el día (EDS), hipersomnia asociada con apnea del sueño obstructiva o narcolepsia, trastorno del sueño de ritmo circadiano (que incluye, pero no se limita a trastorno del sueño por turno de trabajo, trastorno jet lag o descompensación horaria, trastorno del sueño de fase retrasada, trastorno del sueño de fase avanzada, y síndrome del sueño-vigilia no de 24 horas), hipersomnolencia idiopática o somnolencia excesiva asociada con sueño no restaurativo (NRS).

Compuestos de esta invención tienen porciones básicas y acídicas, y por lo tanto reaccionan con un número de ácidos orgánicos e inorgánicos y bases para formar sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables de cada uno de los compuestos de la presente invención están contempladas dentro del alcance de la presente solicitud. El término "sal farmacéuticamente aceptable" como se usa en la presente, se refiere a cualquier sal de un compuesto de la invención que es sustancialmente no tóxico para organismos vivientes. Estas sales incluyen aquellas listadas en Journal de Pharmaceutical Science, **66**, 2-19 (1977), las cuales se conocen por aquellos expertos en

la técnica.

Clases preferidas de compuestos de la presente invención son compuestos en donde:

- 1) R^1 y R^2 ambos son hidrógeno;
- 5 2) R^1 o R^2 o ambos son diferentes a hidrógeno;
- 3) R^1 y R^2 ambos son diferentes a hidrógeno;
- 4) R^1 y R^2 son el mismo y son diferente a hidrógeno;
- 5) R^1 y R^2 son cada uno isopropoxycarboniloximetilo;
- 10 6) n es 2;
- 7) R^3 es independientemente en cada caso fluoro o cloro;
- 8) n es 2 y los grupos R^3 están en las posiciones 3 y 4 fenilo.
- 15 9) n es 2 y los grupos R^3 cada uno independientemente fluoro o cloro y están en las posiciones 3 y 4 fenilo.
- 10) n es 2, ambos grupos R^3 son fluoro, y los grupos fluoro están en las posiciones 3 y 4 fenilo;
- 20 11) n es 2, y los grupos R^3 junto con la porción fenilo a la cual están unidas forman 3-cloro-4-fluorofenilo;
- 12) R^4 es hidroxilo.

Se entenderá que además compuestos preferidos son aquellos que combinan las anteriores selecciones preferidas

25

para un sustituyente dado con selecciones preferidas de otros sustituyentes. Ejemplos de estas combinaciones incluyen, pero no se limitan a las siguientes clases preferidas de compuestos:

5 13) compuestos preferidos de cualquiera de uno de los párrafos 1-5 (selecciones preferidas para R^1 y R^2) en donde n es 2, ambos grupos R^3 son fluoro, y los grupos fluoro están en las posiciones 3 y 4 fenilo (párrafo 10);

10 14) compuestos preferidos de cualquiera de uno de los párrafos 1-5 (selecciones preferidas para R^1 y R^2) en donde n es 2, y los grupos R^3 junto con la porción fenilo a la cual están unidas forman 3-cloro-4-fluorofenilo (párrafo 11);

15 15) compuestos preferidos de cualquiera de uno de los párrafos 1-5 (selecciones preferidas para R^1 y R^2) en donde R^4 es hidroxilo (párrafo 12);

16) compuestos preferidos de cualquiera de uno de los párrafos 13-14 en donde R^4 es hidroxilo (párrafo 12).

20 Compuestos preferidos específicos son aquellos descritos en los Ejemplos que incluyen sus bases libres y sales del mismo farmacéuticamente aceptables.

Ciertos compuestos preferidos son:

25 Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable;

Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable;

5 bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil)
(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato; o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable; y

10 bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil)
(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable (es decir, los compuestos de los Ejemplos 1, 2, 12,
15 22 y 32 y sales de los mismos farmacéuticamente aceptables alternas).

Las abreviaturas usadas en la presente son definidas como siguen:

"BSA" significa albúmina suero de bovino.

20 "DCG IV" significa (2S,2'R,3'R)-2-(2',3'-dicarboxiciclopropil)glicina.

"DMEM significa Medio de Eagle Mínimo de Dulbecco.

"DMSO" significa sulfóxido de dimetilo.

"DPBS" significa Salina Amortiguada de Fosfato de
25 Dulbecco.

"EDTA" significa ácido etilen diamina tetraacético.

"GTP" significa trifosfato de guanosina.

"HBSS" significa Solución Salina Amortiguada de Hank.

5 "HEPES" significa ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazin etansulfónico.

"HPLC" significa cromatografía líquida de alta presión.

"IBMX" significa 3-isobutil-1-metilxantina

10 "IC₅₀" significa la concentración a la cual se logra el 50% de la inhibición máxima.

"i.v." significa intravenosa o intravenosamente.

"i.p." significa intraperitoneal.

15 "L-AP-4" significa ácido L-(+)-2-amino-4-fosfonobutírico.

"LC/MS" significa cromatografía líquida seguida por espectroscopia de masa.

"mFST" significa prueba de nado forzado en ratón, un modelo animal para actividad antidepresiva.

20 MS" significa espectroscopia de masa.

"MS (ES+)" significa espectroscopia de masa usando ionización de electrorrocío.

"NMR" significa resonancia magnética nuclear.

"p.o." significa per os, por vía oral.

25 "tBu" significa una porción de butilo terciaria.

QUÍMICA GENERAL

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de conformidad con los siguientes esquemas de reacción sintéticos por métodos bien conocidos y apreciados en la técnica. Las condiciones de reacción adecuadas para las etapas de estos esquemas de reacción son bien conocidas en la técnica y las sustituciones apropiadas de solventes y co-reactivos están dentro de la experiencia de la técnica. Igualmente, se apreciará por aquellos de experiencia en la técnica los intermediarios sintéticos se puede aislar y/o purificar por varias técnicas bien conocidas como se necesite o desee, y tan frecuentemente, será posible usar varios intermediarios directamente en la subsecuente etapa sintética con poca o sin purificación. Además, el experto en la técnica apreciará que en algunas circunstancias, el orden en el cual se introducen las porciones no es crítico. El orden particular de las etapas requeridas para producir los compuestos de la presente invención es dependiente del compuesto particular a ser sintetizado, el compuesto de partida y el riesgo relativo de las porciones sustituidas, como es bien apreciado por el químico experto. Todos los sustituyentes, a menos que se declare de otra forma, son como previamente se definen, y todos los reactivos son bien conocidos y apreciados en la técnica.

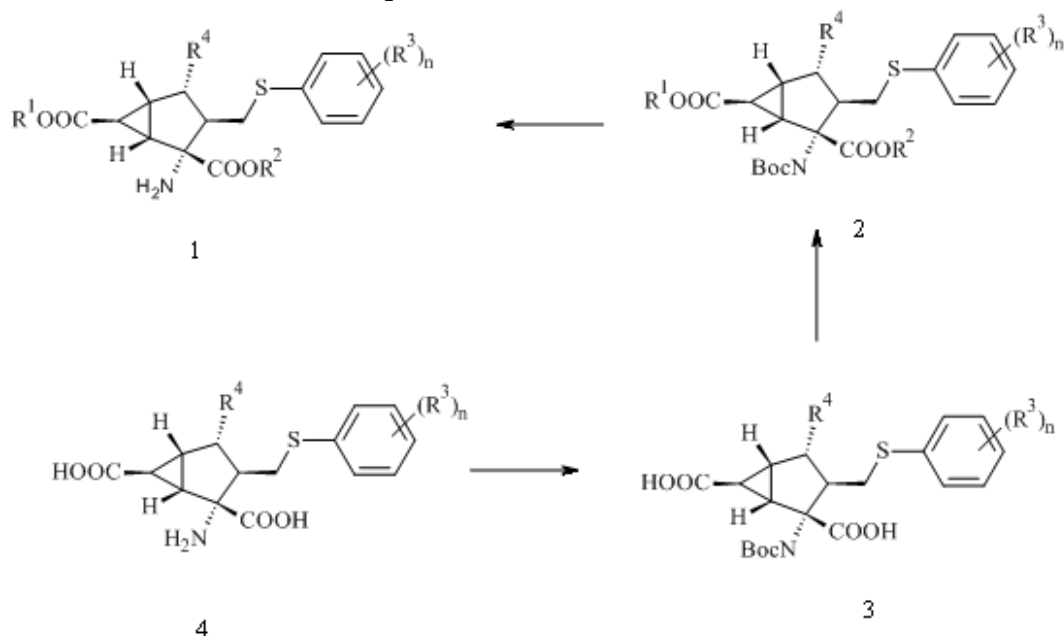
Se puede preparar el compuesto del profármaco 1

como se ilustra en el Esquema de Reacción I en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y n son como previamente se definen, y R^1 y R^2 ambos son hidrógeno.

5

Esquema de Reacción I

10



15

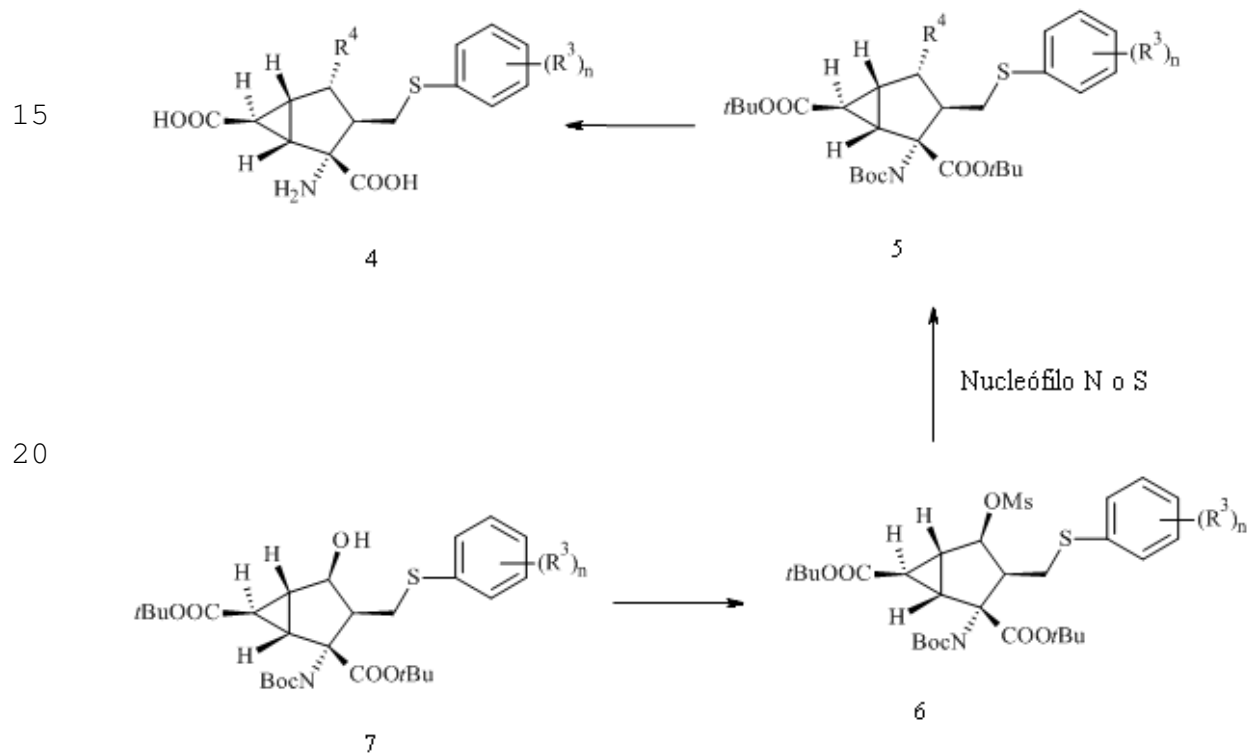
El compuesto 4 se hace reaccionar con un reactivo amino protector tal como di-terc-butildicarbonato bajo condiciones bien conocidas por un experto en la técnica para proporcionar el compuesto 3. Cuando los grupos R^1 y R^2 son idénticos en el compuesto 2, el compuesto 3 se hace reaccionar con cantidad suficiente de clorometil alquil carbonato apropiado y reactivos apropiados tal como yoduro de sodio y carbonato de cesio en un solvente adecuado tal como dimetilformamida para dar el compuesto di-éster 2 deseado con los mismos R^1 y R^2 . Cuando R^1 y R^2 son diferentes en el

25

compuesto 2, controlando la cantidad del primer clorometil alquil carbonato a aproximadamente un equivalente, el ácido carboxílico en el anillo de cinco elementos se puede convertir a un primer mono éster R^2 . El compuesto mono éster R^2 puede además reaccionar con un equivalente de diferente clorometil alquil carbonato. El grupo de ácido carboxílico libre en el anillo de tres elementos puede entonces ser convertido a un éster R^1 para proporcionar el di-éster deseado con diferente R^1 y R^2 . Para elaborar un mono éster R^2 en el anillo de cinco elementos del compuesto 2, el compuesto 3 se hace reaccionar con aproximadamente un equivalente de clorometil alquil carbonato apropiado y reactivos apropiados tales como yoduro de sodio y carbonato de cesio en un solvente adecuado tal como dimetilformamida para dar el compuesto de mono éster R^2 2, en el cual R^1 es hidrógeno. Para hacer un mono éster R^1 en el anillo de tres elementos, el grupo de ácido carboxílico en el anillo de cinco elementos debe ser primero protegido ya que es más reactivo bajo condiciones básicas. Más específicamente, el grupo de ácido carboxílico en el anillo de cinco elementos en el compuesto 3 puede reaccionar con alfa-cloro-4-metoxitolueno, yoduro de sodio y bicarbonato de sodio en un solvente adecuado tal como dimetilformamida para proporcionar un mono éster de 4-metoxilbencilo. El grupo de ácido carboxílico libre en el anillo de tres elementos del compuesto mono éster 4-

metoxilbencilo protegido después se hace reaccionar con un
 clorometil alquil carbonato apropiado para proporcionar un
 éster R^1 deseado en el anillo de tres elementos. El di-éster
 se hace reaccionar con un ácido apropiado tal como ácido
 5 trifluoroacético para desproteger el grupo 4-metoxilbencilo y
 N-terc-butoxicarbonilo para proporcionar el compuesto mono
 éster R^1 deseado 1, en el cual R^2 es hidrógeno. El compuesto
 2, que incluye mono éster R^2 y di-éster con el mismo o
 diferente R^1 y R^2 , es entonces desprotegido con un ácido
 10 apropiado tal como ácido clorhídrico en dioxano para dar el
 compuesto deseado 1 o una sal farmacéuticamente aceptable.

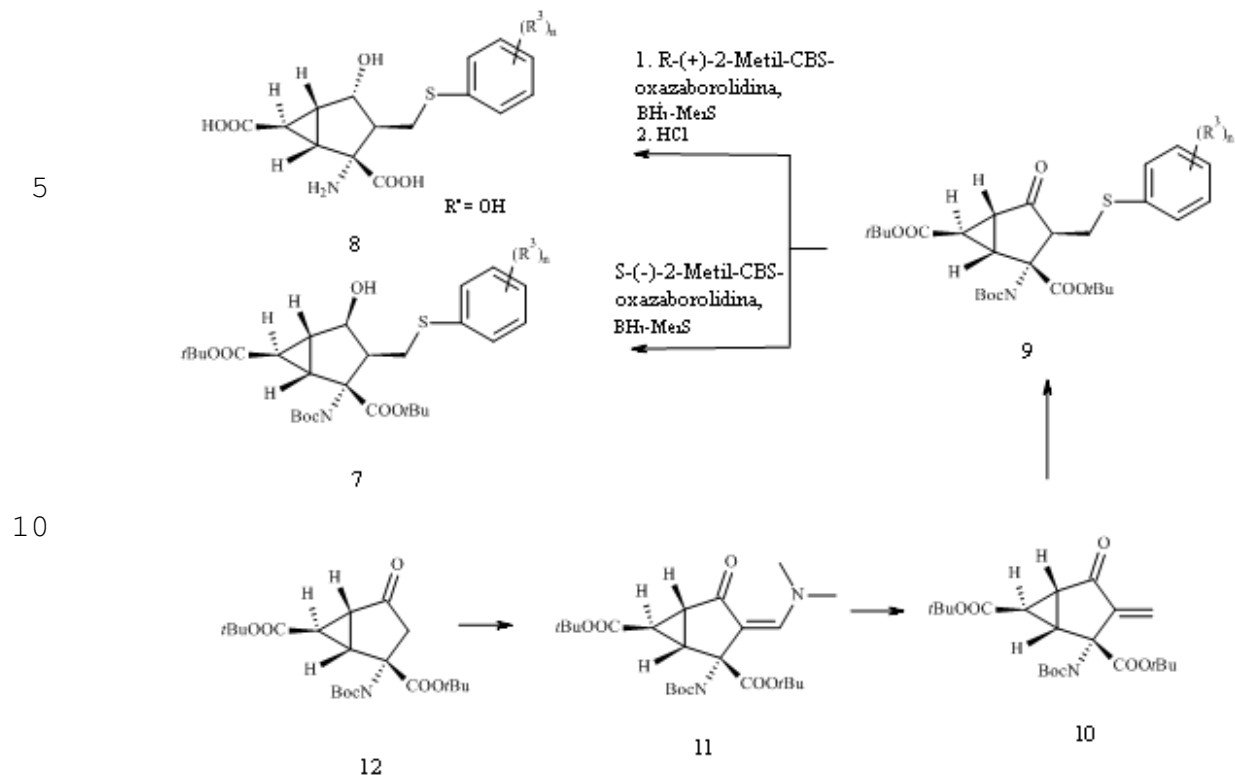
Esquema de Reacción II



Se puede preparar el compuesto precursor activo 4 en el cual R^4 no es un grupo hidroxilo como se ilustra en el Esquema de Reacción II.

El compuesto 7 se hace reaccionar con cloruro de metansulfonilo y una base apropiada tal como piridina para dar el compuesto de mesilato 6. El compuesto 6 se puede hacer reaccionar con tiol heterociclo tal como 1H-1,2,4-triazol-3-tiol, y una base adecuada tal como carbonato de cesio en un solvente tal como dimetilformamida para dar el compuesto 5 deseado, en el cual R^4 es un tiol deseado enlazado a heterociclo. El compuesto 6 puede también reaccionar con azida de sodio para dar un intermediario de azida, el cual es entonces reducido con un agente reductor tal como 1,3-propanditiol en un solvente adecuado tal como metanol para proporcionar el compuesto 5 en el cual R^4 es un grupo amino. La amina resultada puede además formar una amina con métodos bien conocidos por un experto en la técnica para dar el compuesto 5, en el cual R^4 es una amida deseada. El compuesto 5 es entonces desprotegido con un ácido apropiado como ácido clorhídrico o ácido acético para dar el compuesto 4.

Esquema de Reacción III



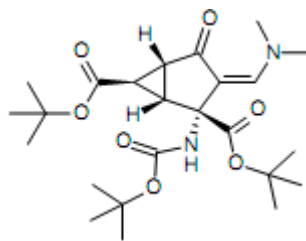
15 Se puede preparar el compuesto precursor activo 8 en el cual R⁴ es el grupo hidroxilo y el compuesto intermediario clave 7 en el cual R⁴ es un grupo diferente del grupo hidroxilo como se ilustra en el Esquema de Reacción III.

20 El compuesto 12 (Véase, WO03/104217/A2 para detalles de síntesis) se hace reaccionar con terc-butoxibis(dimetilamino)metano en tolueno para proporcionar el compuesto 11. El compuesto 11 en un solvente adecuado tal como tetrahidrofurano con una base apropiada tal como trietilamina y un agente reductor apropiado tal como hidruro

25

de diisobutilaluminio bajo temperatura disminuida para proporcionar el compuesto 10. El compuesto 10 entonces se hace reaccionar con trietilamina y un bencentiol sustituido apropiado tal como 3,4-difluorobencentiol en un solvente adecuado tal como tolueno para proporcionar el compuesto 9. El grupo cetona del compuesto 9 puede ser selectivamente reducido a compuesto (S)hidroxilo o (R)hidroxilo deseado usando (R)-metil oxazaborolidina o (S)-metil oxazaborolidina, respectivamente. El intermediario (S)hidroxilo es desprotegido con un ácido apropiado tal como ácido clorhídrico en un solvente tal como dioxano para proporcionar el compuesto precursor activo 8 deseado en el cual R⁴ es un grupo (S)hidroxilo. El intermediario (R)hidroxilo 7 se puede convertir al producto deseado con el método ilustrado en el Esquema de Reacción II.

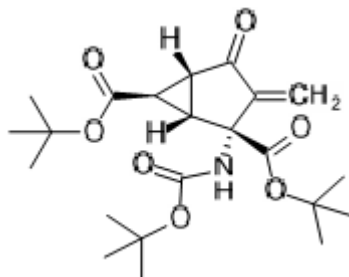
Preparación 1: (1S,2R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-(dimetilaminometilen)-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo



A una solución de (1S,2S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-

dicarboxilato de di-*terc*-butilo (15.15 g, 36.82 mmol, Véase W003/104217/A2 para detalle de síntesis) en tolueno (90.90 mL) se agregó *terc*-butoxibis(dimetilamino)metano (12.83 g, 73.63 mmol). Esta mezcla después se calentó a 80°C por 1 hora y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. El volumen del solvente se redujo a aproximadamente 35 ml. La mezcla se agitó mientras éter dietílico y hexano se agregaron para provocar que se forme un precipitado. Los sólidos se recolectaron por filtración, se lavaron con hexano y se secaron con aire para obtener el compuesto del título (16.7 g, 35.79 mmol, 97.2% de rendimiento). MS (m/z): 467.2 (M+H).

Preparación 2: (1*S*,2*R*,5*R*,6*R*)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-metiliden-4oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo



20

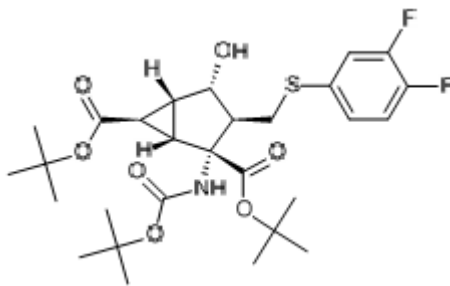
A una solución de (1*S*,2*R*,5*R*,6*R*)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-(dimetilaminometilen)-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (15.7 g, 33.8 mmol) en tetrahidrofurano (340 ml) se agregó trietilamina (6.6 mL, 47.32 mmol). La mezcla se enfrió a

25

-78°C. Se agregó hidruro de diisobutilaluminio (1N en tolueno, 50 mL, 50 mmol) durante una hora. La mezcla se agitó por dos horas adicionales. Después se agregó 30 mL de cloruro de amonio acuoso saturado. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se transfirió a un embudo
 5 separador y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (0 a 50% de acetato de etilo/hexanos) para dar el
 10 compuesto del título (12 g, 33.34 mmol, 83.8% de rendimiento). MS (m/z): 422 (M-H).

Preparación 3: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-[[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil]-
 15 4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-*butilo*

20

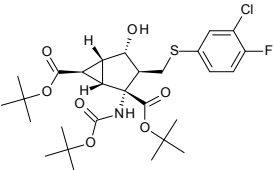
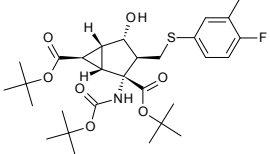
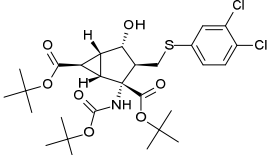


Se hizo burbujear (1S,2R,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-metiliden-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-
 2,6-dicarboxilato de di-*terc*-*butilo* (1.03 g, 2.43 mmol) en
 25 éter dietílico (100 mL) con gas nitrógeno por 10 minutos. Se

agregó 3,4-difluorobencentiol (0.36 g, 2.43 mmol) y trietilamina (0.01 mL, 0.05 μ mol). La mezcla se calentó a 40°C y se agitó por 15 minutos. La mezcla después se dejó enfriar a temperatura ambiente, se transfirió a un embudo
5 separador, se diluyó con hexano (40 mL), se lavó con KOH acuoso 2N (1 x 30 mL), se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró bajo presión reducida dando (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-
10 dicarboxilato de di-*terc*-butilo (1.35 g, 2.37 mmol): MS (m/z): 567.8 (M-H). Este material se recuperó en 120 mL de éter dietílico y se agregó lentamente durante 2 horas a 200 mL de una solución de éter a -10°C la cual contiene R-(+)-2-metil-CBS-oxazaborolidin (981.72 mg, 3.54 mmol) y complejo
15 borano-sulfuro de metilo (2M en tetrahidrofurano, 5.02 mL, 10.04 mmol). La mezcla se agitó por una hora adicional después de la adición final de (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo.
20 Se agregó gel de sílice (30g) durante 30 minutos y la mezcla de reacción gradualmente se calentó a temperatura ambiente. La suspensión se filtró, y se lavó con 300 mL de éter dietílico. El solvente se concentró bajo presión reducida dando un residuo. El residuo se purificó por cromatografía
25 instantánea, eluyendo con (0 a 15% de acetato de

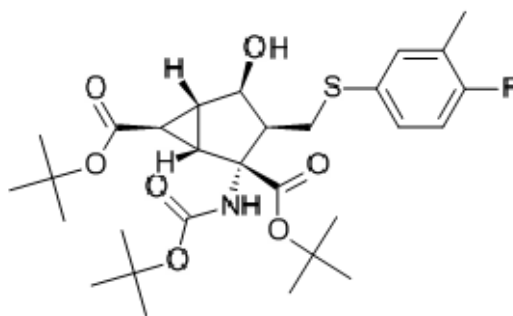
etilo/hexanos) para dar el compuesto del título (0.844 g, 1.48 mmol, 60.7% de rendimiento): MS (m/z): 569.8 (M-H).

Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el método de la Preparación 3:

Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)
10 4	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]-3-[[(3-cloro-4-fluoro-fenil)sulfanil]metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di- <i>tert</i> -butilo		84.0	(M+H) : 585.8
15 5	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di- <i>tert</i> -butilo		73.5	(M+Na) : 590.0
20 6	Di- <i>tert</i> -butilo (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>tert</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(3,4-diclorofenil)sulfanil metil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		75.2	(M+Na) : 625.8

5	7	Di- <i>terc-butilo</i> (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)- 2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(3- clorofenil)sulfanilme til]-4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		82.6	(M-H) : 567.8
10	8	Di- <i>terc-butilo</i> (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)- 2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(4- fluorofenil)sulfanilm etil]-4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		50.3	(M+Na) : 576.0
15	9	Di- <i>terc-butilo</i> (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)- 2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 4-hidroxi-3-(p- tolylsulfanilmetil)bi ciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		77.0	(M+Na) : 572.2

Preparación 10: (1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*R*)-2-[(*terc*-
 20 butoxycarbonil)amino]-3-{[(4-fluoro-3-metil-
 fenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-
 dicarboxilato de di-*terc-butilo*



5

Se hizo burbujear (1S,2R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-metilen-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (8 g, 18.9 mmol) en éter dietílico (80 mL) con gas nitrógeno por 10 minutos. Se

10 agregaron 4-fluoro-3-metil-bencentiol (2.7 g, 18.9 mmol) y trietilamina (0.26 mL, 1.89 mmol). La mezcla se calentó a 40°C y se agitó por 15 minutos. La mezcla después se dejó enfriar a temperatura ambiente, se transfirió a un embudo de adición y se agregó lentamente durante 2 horas a 200 ml de

15 una solución de éter a -10°C la cual contiene S-(-)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (1M en tetrahidrofurano) (5.67 mL, 5.67 mmol) y complejo borano-sulfuro de metilo (2M en tetrahidrofurano, 8.5 mL, 17 mmol). La mezcla se agitó por una hora adicional después de la adición final. Se agregó gel

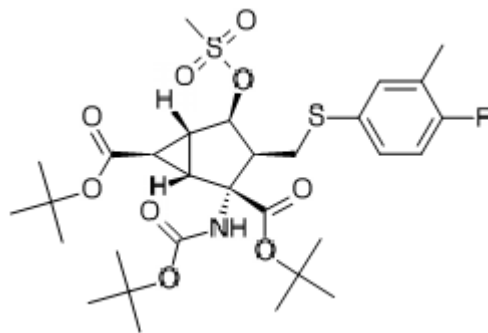
20 de sílice (40g) durante 30 minutos y la mezcla de reacción gradualmente se calentó a temperatura ambiente. La suspensión se filtró, y se lavó con 300 ml de éter dietílico. El solvente se concentró bajo presión reducida dando un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea,

25 eluyendo con (0 a 25% de acetato de etilo/hexanos) para dar

el compuesto del título (9.8 g, 17.3 mmol, 91.5% de rendimiento). MS (m/z): 565.8 (M-H).

Preparación 11: (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-metilsulfoniloxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo

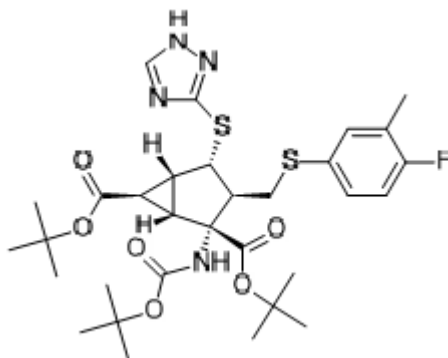
10



Se enfrió (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (4.6 g, 8.10 mmol) en piridina (60 mL) a 0°C. A esta mezcla se agregó cloruro de metansulfonilo (1.88 mL, 24.31 mmol). La mezcla se calentó a 40°C y se agitó por 1 hora, y se enfrió a temperatura ambiente y se dejó agitar por 18 horas. La mezcla se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se dividió entre acetato de etilo y HCl acuoso 1N (2 x 50 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró bajo presión reducida

para dar el compuesto del título (5.2 g, 8.05 mmol, 99.4% de rendimiento): MS (m/z): 643.6 (M-H).

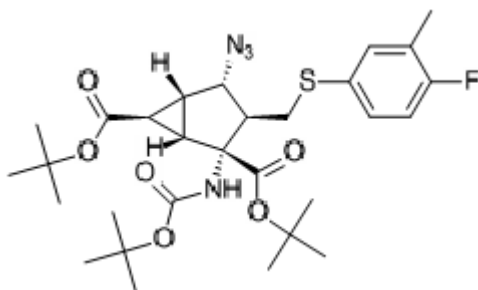
Preparación 12: (1R,2R,3R,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilsulfanil)biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo



Se disolvió (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-metilsulfoniloxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (5.3 g, 8.21 mmol) en dimetilformamida (100 mL). A esta mezcla se agregó carbonato de cesio (5.40 g, 16.41 mmol), 1H-1,2,4-triazol-3-tiol (3.42 g, 32.83 mmol), y triacetoxiborohidruro de sodio (906 mg, 4.10 mmol). La mezcla se agitó a 40°C por 72 horas. La reacción se enfrió y apagó con agua y NH₄Cl acuoso. La mezcla se transfirió a un embudo separador y se extrajo con éter dietílico, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, y se

concentró bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (0 a 50% de acetato de etilo/hexanos) para dar el compuesto del título (0.88 g, 1.35 mmol, 16.5% de rendimiento). MS (m/z): 651 (M+H).

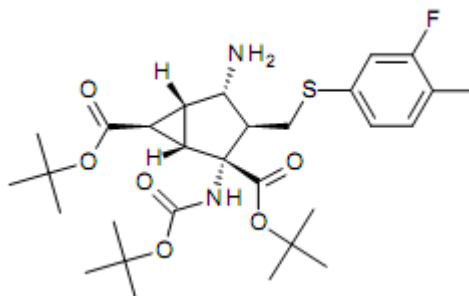
Preparación 13: (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-azido-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo



Se disolvió (1S,2R,3S,4R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-metilsulfoniloxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (5.9 g, 9.14 mmol) en sulfóxido de dimetilo (30 mL). A esta mezcla se agregó azida de sodio (2.5 g, 38.37 mmol). La mezcla se agitó a 100°C por 18 horas. El solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se suspendió en éter dietílico (100 ml) y se filtró. La capa orgánica se transfirió a un embudo separador y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre

sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (0 a 15% de acetato de etilo/hexanos) para dar el compuesto del título (3.14 g, 5.30 mmol, 58% de rendimiento). MS (m/z): 591 (M-H).

Preparación 14: (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-amino-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo

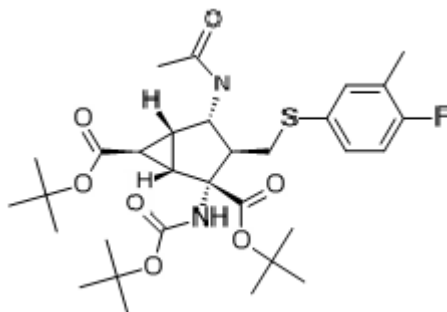


Se disolvió (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-azido-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (1.88 g, 3.17 mmol) en metanol (15.86 mL). A esta mezcla se agregó trietilamina (1.77 mL, 12.7 mmol) y 1,3-propanditiol (1.28 mL, 12.69 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 18 horas. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, y se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía

instantánea (50 a 100% de acetato de etilo/hexanos) para dar el compuesto del título (1.2 g, 2.12 mmol, 66.76% de rendimiento). MS (m/z): 567.2 (M+1).

5 Preparación 15: (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-acetamido-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo

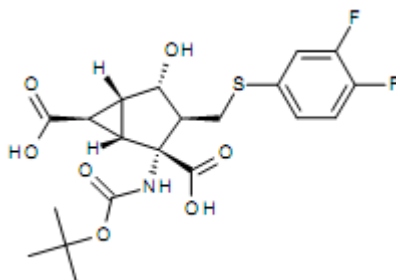
10



Se disolvió (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-amino-2-(*terc*-
15 butoxycarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (0.15 g, 264.67 μ mol) en diclorometano (10 mL). A esta mezcla se agregó trietilamina (55.34 μ L, 397.01 μ mol) y cloruro de acetilo (28.25 μ L, 397.01 μ mol). La mezcla
20 se agitó a temperatura ambiente por 10 minutos. El solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (10% a 100% de acetato de etilo/hexanos) para dar el compuesto del título (100 mg, 164.27 μ mol, 62.06% de rendimiento); ^1H NMR
25 (CD₃Cl) δ 1.44 (t, 27H), 1.95 (s, 3H), 2.16 (m, 1H), 2.22 (s,

3H), 2.60 (dd, 1H), 2.78 (bs, 1H), 3.10 (dd, 1H), 4.59 (m, 1H), 5.50 (d, 1H), 6.92 (t, 1H), 7.06 (m, 1H), 7.11 (d, 1H).

Preparación 16: Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico



10

Se pesó (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-terc-butilo (4.11 g, 7.19 mmol) en uno de fondo redondo de un litro con una barra agitadora. Se agregó cloruro de hidrógeno (4N en dioxano, 120 mL, 480.0 mmol). La mezcla se calentó a 70°C por 2 horas y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. El solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se disolvió en diclorometano (200 mL) y el solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. Esto se repitió dos veces más para dar clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[(3,4-difluorofenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico. Este material se recuperó en

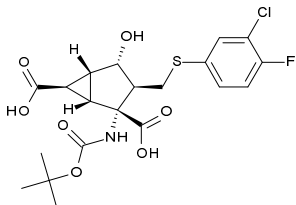
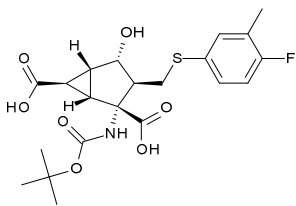
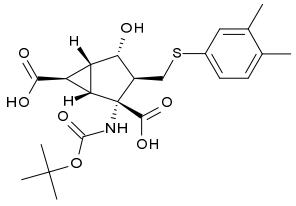
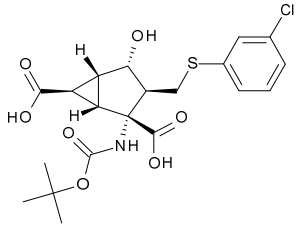
25

tetrahidrofurano (100 mL) como una suspensión. A esta suspensión se agregó trietilamina (40.08 mL, 287.57 mmol). La suspensión se agitó por 10 minutos y después se agregó metanol (50 ml). A la reacción se agregó di-*t*-butildicarbonato (4.71 g, 21.57 mmol) y la mezcla se calentó a 80°C por 2 horas. La mezcla se dejó llegar a temperatura ambiente y el solvente se removi6 bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se disolvi6 en acetonitrilo (50 ml), se transfiri6 a un embudo separador y se lav6 con hexanos. La capa de acetonitrilo se separ6 y removi6 bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se suspendi6 en 6ter diet6lico, se transfiri6 a un embudo separador, se lav6 con HCl acuoso 1N, se sec6 sobre sulfato de magnesio, se filtr6, y se concentr6 bajo presión reducida dando el compuesto del t6tulo (3 g, 6.53 mmol, 90.82% de rendimiento). MS (m/z): 457.8 (M-H).

Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el m6todo de la Preparaci6n 16:

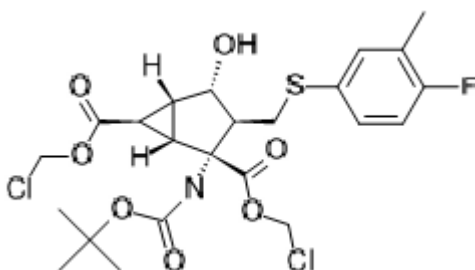
20

25

	Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)
5	17	Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -Butoxicarbonilamino)-3-[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		76.2	(M+H) : 476.0
10	18	Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -Butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		94.6	(M-H) : 453.8
15	19	Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -Butoxicarbonilamino)-3-[(3,4-dimetilfenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		92.3	(M+H) : 450.2
20	20	(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(3-clorofenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di- <i>terc</i> -butilo		95.6	(M-H) : 440.0

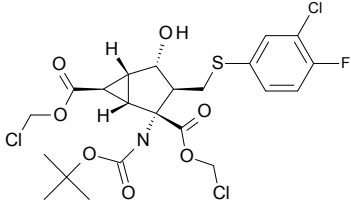
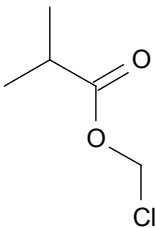
Preparación 21: Bis(clorometil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato

5



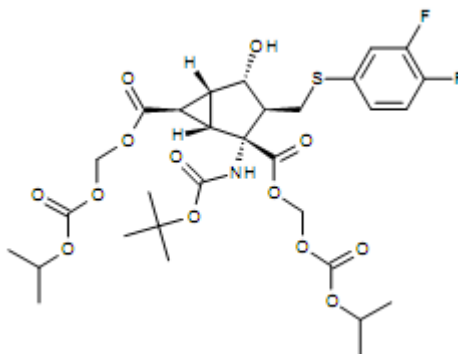
A una mezcla agitada de ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico (2.4 g, 5.27 mmol), bisulfato de tetra(n-butyl)amonio (178.90 mg, 526.89 μ moles), y bicarbonato de sodio (3.54 g, 42.15 mmol) en diclorometano (13.2 mL) y agua (13.2 mL) se agregó clorosulfato de clorometilo (1.20 mL, 11.59 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 18 horas. La reacción se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. Los orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y concentraron para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (20-35% de acetato de etilo/hexano) para dar el compuesto del título (1.37g, 2.48 mmol, 47% de rendimiento). MS (m/z): 574.0 (M+Na).

El siguiente compuesto se preparó esencialmente por el método de la Preparación 21:

Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z) o NMR
22	(Bis(clorometil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanilmetil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		31.2	(M+Na): 593.97
23	2-metilpropanoato de clorometilo		95.8	¹ H NMR (CD ₃ Cl) δ 1.17 (d, 6H), 2.58 (m, 1H), 2.48 (d, 1H), 5.67 (s, 2H)

15 Preparación 24: Bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato

20

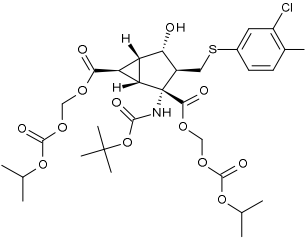
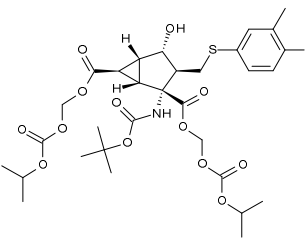
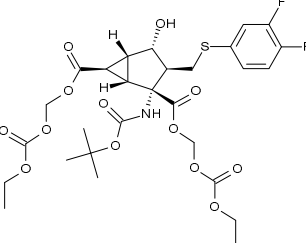
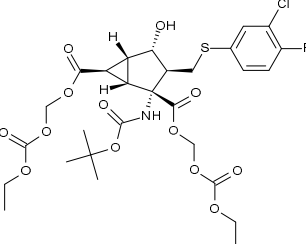


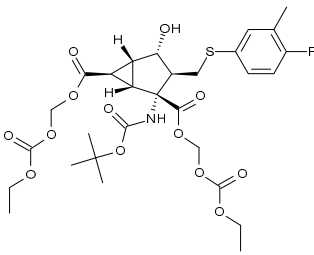
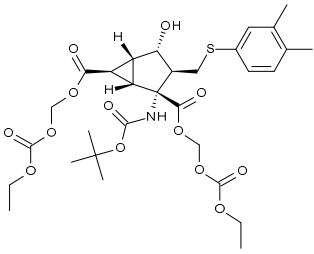
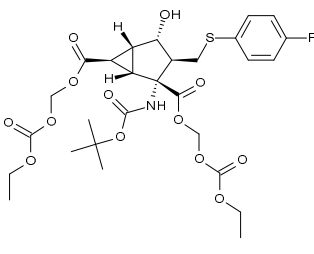
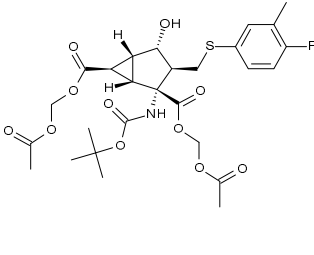
25

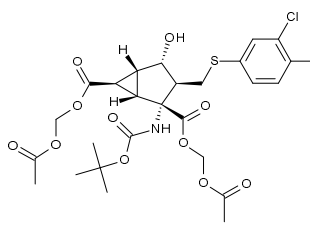
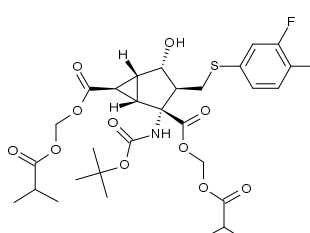
Se agregó carbonato de potasio (668.43 mg, 4.79

mmol), yoduro de sodio (75.03 mg, 500.58 μ mol) a ácido
(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(3,4-
difluorofenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-
2,6-dicarboxílico (1g, 2.18 mmol) en dimetilformamida (13.06
5 mL). La mezcla se agitó por 10 minutos a temperatura
ambiente. Se agregó carbonato de clorometil isopropilo (1 g,
6.53 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 18
horas. Se agregó ácido acético (4 ml) y la mezcla se agitó
por 10 minutos. El volumen del solvente se redujo por
10 aproximadamente 10 ml bajo presión reducida para dar un
residuo viscoso. El residuo se diluyó con éter dietílico y se
agitó por 10 minutos. La solución se pasó a través de un
filtro y el solvente se removió bajo presión reducida para
dar un residuo. El residuo se dejó bajo alto vacío por 1
15 hora. El residuo se purificó por cromatografía instantánea,
eluyendo con (0 a 35% de tetrahidrofurano/hexanos) para dar
el compuesto del título (0.88 g, 1.27 mmol, 58.5% de
rendimiento). MS (m/z): 714.2 (M+Na).

20 Los siguientes compuestos se prepararon
esencialmente por el método de la Preparación 24:

Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)
5 25	(Bis(isopropoxycarboniloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanilmetil]- 4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		52.9	(M+Na) : 730.2
10 26	Bis(isopropoxycarboniloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanilmetil]- 4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		35.8	(M+Na) : 709.8
15 27	Bis(etoxycarboniloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(3,4-difluorofenil)sulfanilmetil]- 4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		62.7	(M+Na) : 686.2
20 28	Bis(etoxycarboniloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanilmetil]- 4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		44.9	(M+Na) : 702.2

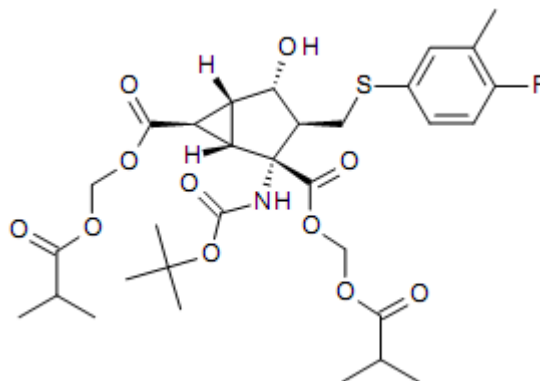
5	29	Bis(etoxycarbonil-oximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(4-fluoro-3-metil- fenil)sulfanilmetil]-4- hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		39.7	(M+Na) : 682.0
10	30	Bis(etoxycarbonil-oximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(3,4- dimetilfenil)sulfanil- metil]-4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		31.4	(M+Na) : 677.8
15	31	Bis(etoxycarboniloxi- metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(4- fluorofenil)sulfanil- metil]-4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		62.4	(M+Na) : 668.2
20	32	Bis(acetoximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(4-fluoro-3-metil- fenil)sulfanilmetil]-4- hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		60.3	(M+Na) : 622.00

5	33 Bis(acetoximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)- 2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(3-cloro-4-fluoro- fenil)sulfanilmetil]- 4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		51.2	(M+Na) : 642.00
10	34 Bis(2- metilpropanoiloximetri- l) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)- 2-(<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)- 3-[(3,4- difluorofenil)sulfani- l-metil]-4-hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan- 2,6-dicarboxilato		29.5	(M+Na) : 682.00

Preparación 35: Bis{[(2-metilpropanoil)oxi]metil}

15 (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(4-
fluoro-3-metilfenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]
hexan-2,6-dicarboxilato

20

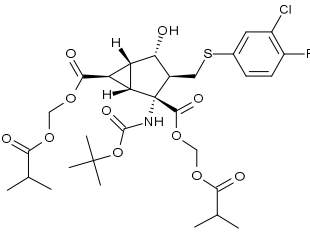


Se disolvió ácido isobutírico (0.21 g, 2.42 mmol)
25 en dimetilformamida (10 mL). A esta solución se agregó

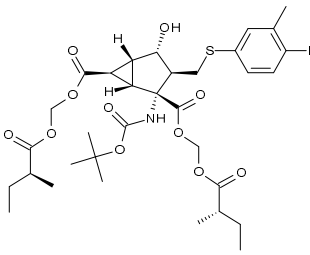
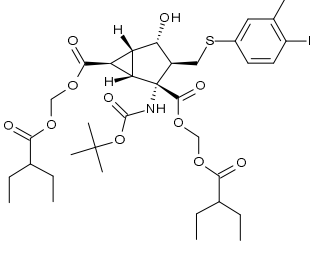
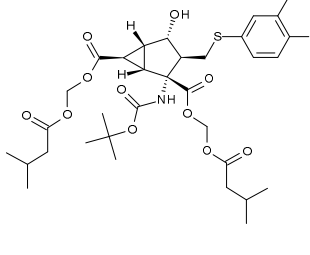
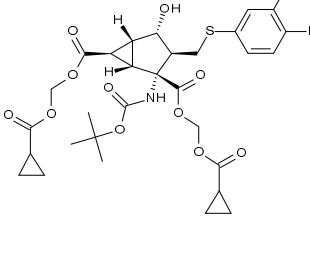
carbonato de potasio (0.54 g, 3.87 mmol). La mezcla se agitó a 50°C por 3 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. A la mezcla se agregó bis(clorometil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato (535 mg, 0.97 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 18 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se transfirió a un embudo separador, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, y se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (10-40% de acetato de etilo/hexanos) para dar el compuesto del título (230 mg, 0.36 mmol, 37%). MS (m/z): 678.2 (M+Na).

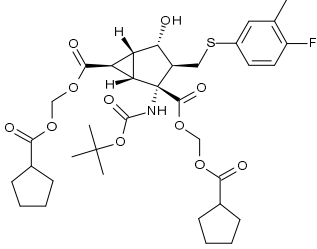
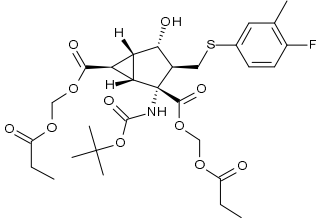
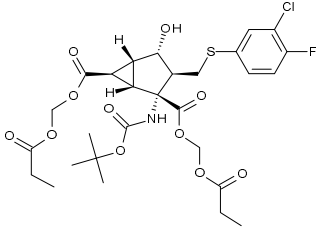
Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el método de la Preparación 35:

20

Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)
36	(Bis(2-metilpropanoiloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(3-cloro-4-fluoro-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		37.0	(M+Na) : 698.0

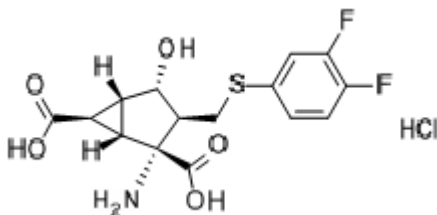
25

5	37	Bis[[(2S)-2-metilbutanoil]oximetil] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		52.0	(M+Na) : 706.2
10	38	Bis(2-etilbutanoiloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		30.2	(M+Na) : 733.8
15	39	Bis(3-metilbutanoiloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		29.1	(M+Na) : 706.2
20	40	Bis(ciclopropancarbo-niloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(<i>terc</i> -butoxicarbonilamino)-3-[(4-fluoro-3-metil-fenil)sulfanilmetil]-4-hidroxi-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		40.6	(M+Na) : 674.0

5	41	Bis(ciclopentancarbo- niloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2- (<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(4-fluoro-3-metil- fenil)sulfanilmetil]-4- hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan-2,6- dicarboxilato		51.8	(M+Na) : 730.2
10	42	Bis(propanoiloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2- (<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(4-fluoro-3-metil- fenil)sulfanilmetil]-4- hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan-2,6- dicarboxilato		19.8	(M+Na) : 650.0
15	43	Bis(propanoiloximetil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2- (<i>terc</i> - butoxicarbonilamino)-3- [(3-cloro-4-fluoro- fenil)sulfanilmetil]-4- hidroxi- biciclo[3.1.0]hexan-2,6- dicarboxilato		28.0	(M+Na) : 670.0

Ejemplo 1: Clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-
3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-
hidroxibiciclo[3.1.0] hexan-2,6-dicarboxílico

20



Se pesó (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-

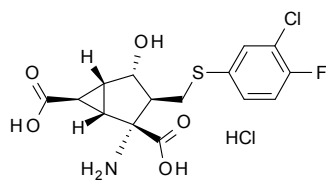
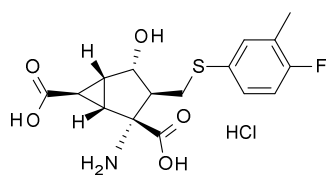
butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-

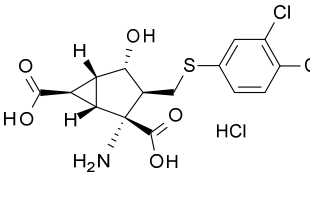
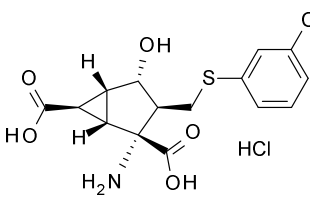
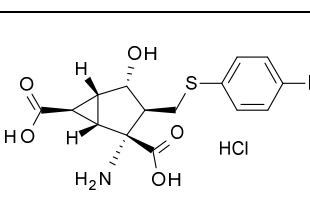
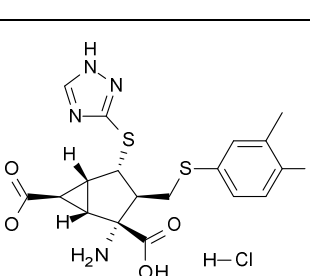
25 4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-

butilo (0.58 g, 7.19 mmol) en uno de fondo redondo de 100 mL con una barra agitadora. Se agregó cloruro de hidrógeno (4N en dioxano, 33 mL, 132.0 mmol). La mezcla se calentó a 70°C por 2 horas y después se dejó enfriar a temperatura ambiente.

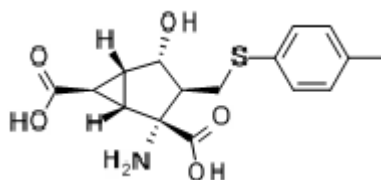
5 El solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se disolvió en diclorometano (50 mL) y el solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. Esto se realizó tres veces más para dar el compuesto del título (567 mg, 1.43 mmol, 97% de rendimiento). MS (m/z):
10 360.0 (M+1).

Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el método del Ejemplo 1:

15	Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)
2		Clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		57.1	(M+H) : 376.0
20	3	Clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		93.4	(M+H) : 356.0

4	Clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[(3,4-diclorofenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxílico		101.4	(M+H) : 392.0
5	Clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[(3-clorofenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxílico		82.6	(M+H) : 358.0
10	Clorhidrato del ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[(4-fluorofenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		110.4	(M+H) : 341.8
15	Clorhidrato del ácido (1R,2R,3R,4S,5R,6R)-2-Amino-3-[[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil]-4-(1H-1,2,4-triazol-3-ilsulfanil)biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico		93.0	(M+H) : 438.8

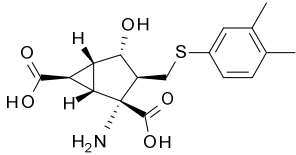
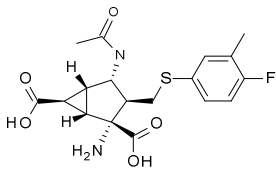
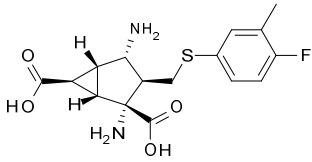
Ejemplo 8: Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-4-hidroxi-3-
 20 [[(4-metilfenil)sulfanil]metil]biciclo[3.1.0]hexan-2,6-
 dicarboxílico



25 Se colocó (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-(terc-

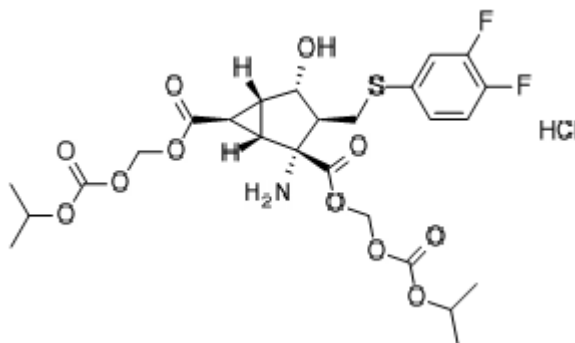
butoxicarbonilamino)-4-hidroxi-3-(p-tolilsulfanilmetil)biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc-butilo* (300 mg, 545.73 μmol) en un vial de microondas. Al vial se agregó agua (2 mL, 110 mmol), y ácido acético (2 mL, 34.9 mmol). La mezcla se calentó en el microondas a 140°C por 20 minutos. El solvente se removió bajo presión reducida para dar el compuesto del título (165 mg, 489.04 μmol , 89.6%). MS (m/z): 338.0 (M+H).

Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el método del Ejemplo 8:

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)
9	Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3,4-dimetilfenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxílico		96.3	(M+H): 352.0
10	Ácido (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-4-(Acetilamino)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]metil}biciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxílico		93.2	(M+H): 397.0
11	Ácido (1S,2R,3R,4S,5R,6S)-2,4-Diamino-3-{[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]metil}biciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxílico		84.6	(M+H): 355.2

Ejemplo 12: Clorhidrato de Bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato

5

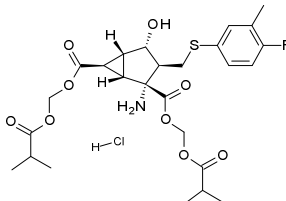
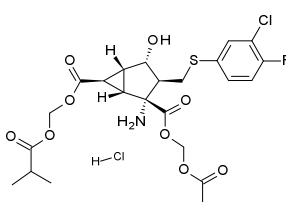
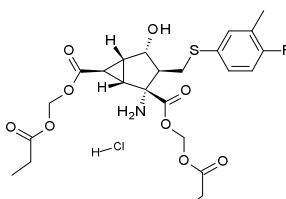
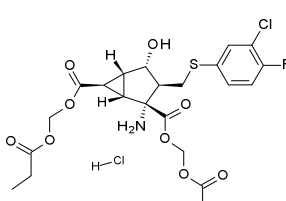
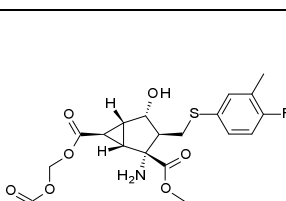


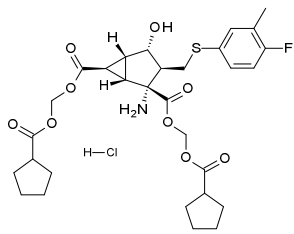
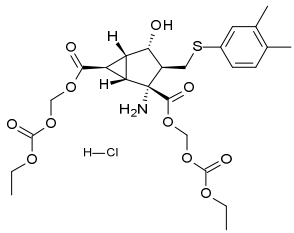
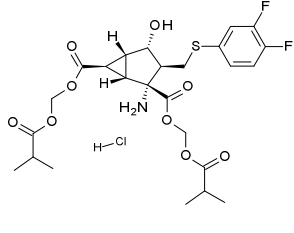
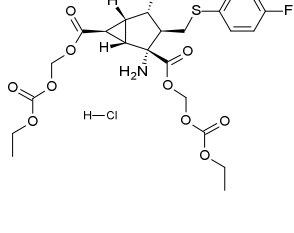
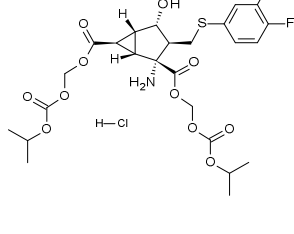
10

Se disolvió Bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato (0.88 g, 1.27 mmol) en cloruro de hidrógeno (4N en dioxano, 30 mL, 120.00 mmol) y se agitó a temperatura ambiente por 1.5 horas. El solvente se removió bajo presión reducida para dar un residuo. El residuo se disolvió en diclorometano y el solvente removió bajo presión reducida. Este proceso se repitió 8 veces. El residuo se dejó bajo alto vacío durante la noche para dar el compuesto del título (0.692 g, 1.10 mmol, 86.61% de rendimiento). MS (m/z): 591.8 (M+H).

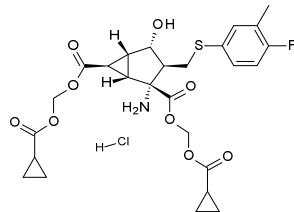
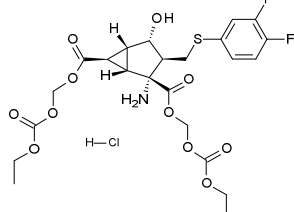
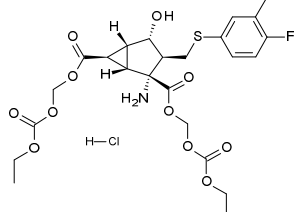
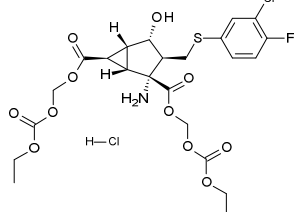
Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el método del Ejemplo 12:

25

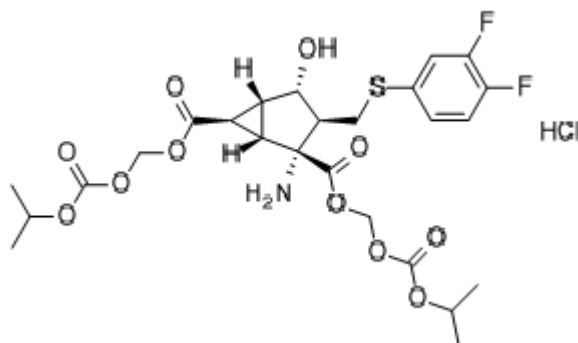
Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	Rendimiento (%)	Datos Físicos MS (m/z)	
5	13	Clorhidrato de Bis{[(2-metilpropanoil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		90.8	(M+H) : 555.8
10	14	Clorhidrato de Bis{[(2-metilpropanoil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]-metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		95.5	(M+H) : 575.8
15	15	Clorhidrato de Bis[(propanoiloxi)metil] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		93.3	(M+H) : 528.0
	16	Clorhidrato de Bis[(propanoiloxi)metil] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]-metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		55.5	(M+H) : 548.0
20	17	Clorhidrato de 6-({[(2S)-2-Metilbutanoil]oxi}metil) 2-({[(2S)-2-metilbutanoil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		68.2	(M+H) : 584.0
25					

5	18	Clorhidrato de Bis{ [(ciclopentilcarbonil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{ [(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]metil}-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		71	(M+H) : 608.2
	19	Clorhidrato de Bis{ [(etoxicarbonil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{ [(3,4-dimetilfenil)sulfanil]metil}-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		79.4	(M+H) : 556.2
	20	Clorhidrato de Bis{ [(2-metilpropanoil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{ [(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		89.7	(M+H) : 560.2
	21	clorhidrato de Bis{ [(etoxicarbonil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{ [(4-fluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		89.5	(M+H) : 546.2
	22	Clorhidrato de Bis{ [(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{ [(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato		100	(M+H) : 607.8

5	23	Clorhidrato de Bis{[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}-metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		101.5	(M+H) : 587.8
10	24	Clorhidrato de Bis{[(2-etilbutanoil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		36.5	(M+H) : 612.0
15	25	Clorhidrato de Bis{[(3-metilbutanoil)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		36.1	(M+H) : 584.2
15	26	Clorhidrato de Bis[(acetiloxi)metil] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[[(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		84.6	(M+H) : 500.0
20	27	Clorhidrato de Bis[(acetiloxi)metil] (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]-metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]-hexan-2,6-dicarboxilato		94.7	(M+H) : 520.0

5	28	Clorhidrato de Bis{ [(ciclopropilcarbonyl)oxi]metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- { [(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]- metil}-4- hidroxibiciclo[3.1.0]- hexan-2,6-dicarboxilato		79.2	(M+H) : 552.2
10	29	Clorhidrato de Bis{ [(etoxycarbonyl)oxi]- metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- { [(3,4-difluorofenil)sulfanil]- metil}-4- hidroxibiciclo[3.1.0]- hexan-2,6-dicarboxilato		96.2	(M+H) : 564.2
15	30	Clorhidrato de Bis{ [(etoxycarbonyl)oxi]- metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- { [(4-fluoro-3-metilfenil)sulfanil]- metil}-4- hidroxibiciclo[3.1.0]- hexan-2,6-dicarboxilato		96.2	(M+H) : 560.2
20	31	Clorhidrato de Bis{ [(etoxycarbonyl)oxi]- metil} (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3- { [(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil] metil}-4- hidroxibiciclo[3.1.0] hexan-2,6-dicarboxilato		95.1	(M+H) : 580.0

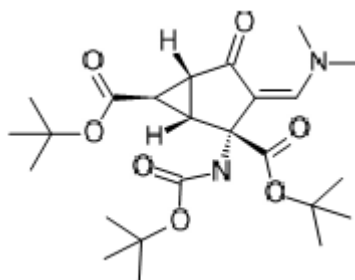
Ejemplo 32: Clorhidrato de Bis{ [(1-metiletoksi)carbonil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-
 { [(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-
 hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato



5

ETAPA 1: (1S,2R,5R,6R)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-(dimetilaminometilen)-4-oxo-biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di*tert*-butilo

10

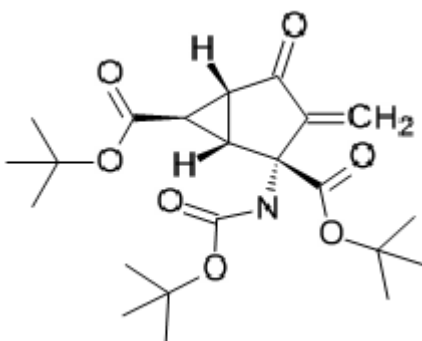


Se agregó *Terc*-butoxibis(dimetilamino)metano (481.1ml, 2.33mol) a una suspensión de di-*tert*-butil(1S,2S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato (600g, 1.46mol) en tolueno seco (3.6L) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mezcla se calentó a 80°C por 3 horas y 45 minutos, después se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El volumen de reacción se redujo in vacuo, se diluyó con metil *tert*-butil éter (1.8L) y hexano (1.8L), y se agitó por 3 horas a 15°C. Después de 3 horas, lo sólido resultante se recolectó por filtración, se lavó con hexano frío (2x1.8L), y se secó bajo vacío para obtener el compuesto del título

25

(620.4g, rendimiento 91%). HPLC-MS: 98%.

ETAPA 2: (1S,2R,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-metiliden-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-
5 *terc*-butilo

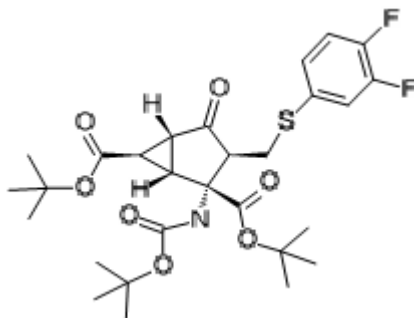


10

A una solución de (1S,2R,5R,6R)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-(dimetilaminometilen)-4-oxo-
biciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo
15 (620.4g, 1.33mol) en tetrahidrofurano seco (12L), se agregó trietilamina (277.3ml, 1.99 mol) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mezcla se enfrió a -47°C y se agregó hidruro de diisobutilaluminio (1M en hexano, 2.06L, 2.06mol) por goteo durante 2 horas. La mezcla resultante se agitó a -47°C.
20 Después de 1 hora 15 minutos, se agregó ácido acético (118ml, 2.06mol) por goteo a -47°C, se calentó a temperatura ambiente, y después se agitó durante la noche. Se agregó H₃PO₄ al 20% en agua hasta pH=2. La fase orgánica se separó y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2x1.7L). Las
25 fases orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con HCl

acuoso al 10% (1.5L), agua (1.5L), y salmuera (1.5L), se
 secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, y se
 concentraron para proporcionar un sólido. Lo sólido
 resultante se trituro con agua (3.2L), se recolectó por
 5 filtración, y después se secó para proporcionar el compuesto
 del título (558.2g, rendimiento 99%). HPLC-MS: 97.4%.

ETAPA 3: (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-
 {[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-
 10 oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo

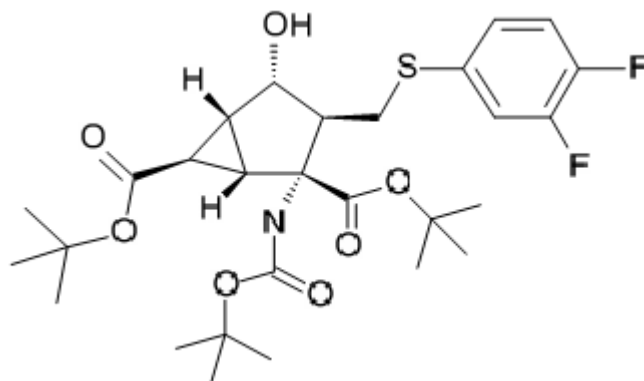


15 Una suspensión de (1S,2R,5R,6R)-2-[(*terc*-
 butoxycarbonil)amino]-3-metiliden-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-
 2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo (350.00 g, 826.43 mmol)
 en tolueno (2.95 L) se trató con 3,4-difluorobencentiol
 20 (172.49 g, 1.18 mol) y trietilamina (205.61 mL, 149.28 g,
 1.48 mol) a 25°C. La mezcla se agitó a 80°C. Después de doce
 horas, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó
 secuencialmente con NaOH acuoso 2N (pH = 10) y HCl acuoso 1N
 (pH=4), se secó sobre MgSO₄, y se concentró in vacuo para
 25 proporcionar un residuo. El residuo se trituro con hexano

(1L) y el solvente se removió para proporcionar el compuesto del título (664g, 100% de rendimiento).

ETAPA 4: (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*terc*-butilo

10



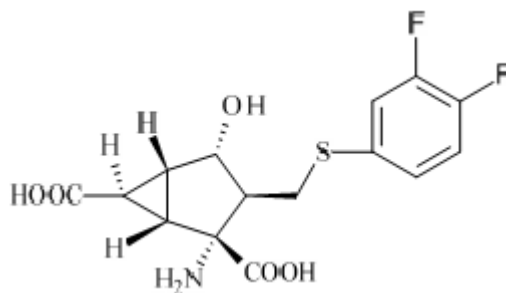
Una solución de (R)-metiloxazaborolidina 1N en
 15 tolueno (228.21mL) y complejo borano-sulfuro de metilo (86.68g, 101.98 mL, 1.14 mol) en metil t-butil éter (4.56 L) anhidro se enfrió a -40°C °C. A esta solución, se agregó (1S,2R,3S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-oxobiciclo[3.1.0]hexan-2,6-
 20 dicarboxilato de di-*terc*-butilo (650.00g, 1.14 mol) en metil t-butil éter (3.42 L) por medio de un embudo de adición durante 2 horas después de lo cual la reacción se calentó a 0°C. Después de 1 hora, se agregó metanol (461.80 mL, 11.41 mol), y la temperatura interna se mantuvo por debajo de 15°C.
 25 La reacción se lavó con NaOH acuoso 2N (2L), se secó sobre

MgSO₄, y se concentró in vacuo para proporcionar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía de gel de sílice (8:1 a 1:1 hexano/acetato de etilo) para proporcionar el compuesto del título (580g, 89% de rendimiento).

5

ETAPA 5: Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-Amino-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico

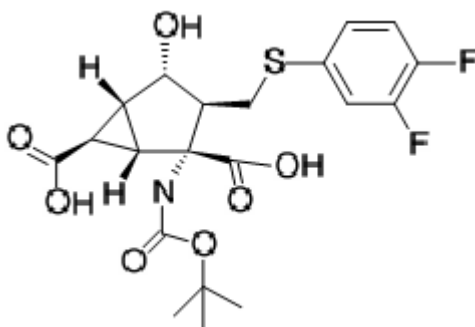
10



Se agregó agua (1.10L) y cloruro de hidrógeno 12.18M en agua (789.88mL, 9.62 mol) a una solución de (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato de di-*tert*-butilo (550.00 g, 962.07 mmol) en 1,4-dioxano (192.41mL). La suspensión resultante se agitó a 100°C. Después de 12 horas, la reacción después se enfrió a 25°C, se agitó por 12 horas, y después se basificó con NaOH (50% p/p) a pH = 2.65. La mezcla resultante se agitó a 10°C por 30 minutos después de lo cual lo precipitado se recolectó por filtración, se lavó con agua (1 L) y metil *tert*-butil éter (1 L), y se secó por 2 horas a 25°C, y después a 60°C en

un horno hasta peso constante para proporcionar el compuesto del título (300g, 87% de rendimiento). MS (m/z): 360 (M+1).

Etapa 6: Ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-3-[[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico



10

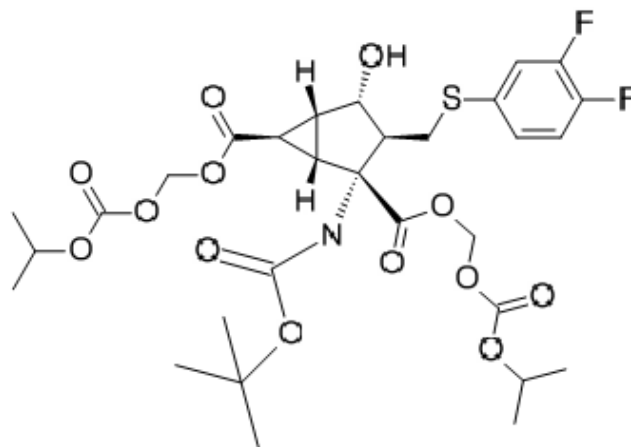
Se agregaron trietilamina (407.27mL, 2.92 mol) y [2-(terc-butoxicarboniloxiimino)-2-fenilacetoneitrilo] (308.39g, 1.25 mol) a una suspensión de ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-[[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil]-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico (300.00 g, 834.84 mmol) en 1,4-dioxano (500.9mL) y agua (500.9mL) a 25°C. La mezcla se calentó a 50°C. Después de 12 horas, la reacción se enfrió a 25°C, se diluyó con agua (2.5 L), y se lavó con metil terc-butil éter (6 x 1 L). La fase acuosa se basificó con una solución de HCl acuoso 1N hasta pH = 2, y se extrajo con acetato de etilo (3 x 2 L). Los extractos de acetato de etilo combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, y se concentraron in vacuo para proporcionar el compuesto del

25

título (250g, 65% de rendimiento). MS (m/z): 360 (M+-Boc).

ETAPA 7: Bis([[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil)
(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-
5 difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-
2,6-dicarboxilato

10



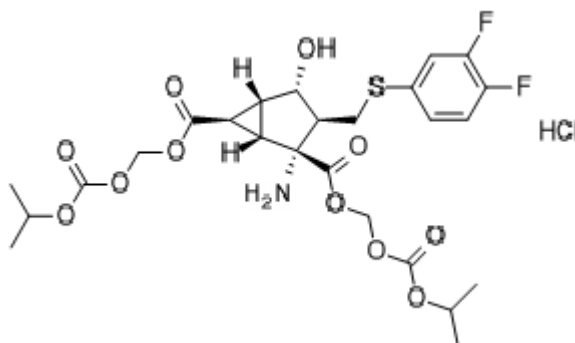
Una solución de ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*terc*-
15 butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-
4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico (150.00 g,
326.46 mmol) en dimetilformamida (3.38 L) se trató
sucesivamente con carbonato de potasio (1180.48g, 1.31mo),
carbonato de clorometil isopropilo (149.43g, 979.39 mmol), y
20 yoduro de sodio (9.79g, 65.29 mmol), y la mezcla se agitó
bajo nitrógeno a 25°C. Después de 12 horas, se agregó agua
(1.5 L) a la mezcla, los sólidos se filtraron, y lo filtrado
se extrajo con metil *terc*-butil éter (3 x 1.5 L). Los
orgánicos combinados se lavaron sucesivamente con agua,
25 salmuera, se secaron sobre MgSO₄, y se concentraron in vacuo.

El residuo resultante se purificó por cromatografía de gel de sílice (2:1 a 1:1 hexano/acetato de etilo) para proporcionar el compuesto del título (225g, 70% de rendimiento). MS (m/z): 592 (M+-Boc).

5

ETAPA 8: Clorhidrato de Bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato

10



15

Se trató Bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil) (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato (124.9g, 180.57 mmol) con cloruro de hidrógeno 4N en 1,4-dioxano(1.12L, 4.50 mol) a 25°C. Después de 90 minutos, el solvente se removió in vacuo, y el residuo se sometió a suspensión en metil *tert*-butil éter (1 L) por 30 minutos. Lo precipitado resultante se recolectó por filtración, se lavó con metil *tert*-butil éter (500 mL), y se secó en un horno a

25

45°C por 16 horas. La sal resultante se disolvió en diclorometano y agua después se neutralizó con trietilamina. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, y se concentró in vacuo para proporcionar un residuo. El residuo
5 se purificó por cromatografía de gel de sílice (3:1 a 1:1 hexano/acetato de etilo), para proporcionar la base libre la cual se trató con HCl 4N en 1,4-dioxano (950 mL) a 25°C. Después de 15 minutos, el solvente se evaporó in vacuo, y el residuo se sometió a suspensión en metil terc-butil éter (1
10 L) y hexanos (250 mL). Lo sólido resultante se filtró, se lavó con metil terc-butil éter (500 mL), y se secó in vacuo a 45°C hasta peso constante para proporcionar el compuesto del título (98.5g, 87% de rendimiento). MS (m/z): 592 (M+1).

15 Datos de literatura (Witkin, Jeffrey M., and Eiler, William J.A. (2006), *Antagonism of Metabotropic Glutamate Group II Receptors in the Potential Treatment of Neurological and Neuropsychiatric Disorders*. Drug Development Research vol 67, pg. 757-769; y Yasuhara, Akito and Chaki, Shigeyuki,
20 (2010) *Metabotropic Glutamate Receptors: Potential Drug Targets for Psychiatric Disorders*, The Open Medicinal Chemistry Journal, vol. 4, pg. 20-36.) y datos generados en estudios no clínicos de animales apoyan un papel para los antagonistas mGlu2/3 en el tratamiento de trastornos
25 depresivos y trastornos de somnolencia excesiva.

Específicamente, se encontró que antagonistas del receptor mGlu 2/3 son efectivos en modelos de roedores de trastornos depresivos y promueven el insomnio usando roedores monitoreados por EEG sin hiperactividad desproporcionada o clínicamente relevante o hipersomnolencia compensatoria abrumadora. El estado de alerta aumentado se manifiesta en atención incrementada, desempeño cognitivo mejorado, y una probabilidad de fatiga reducida. Como los trastornos descritos previamente representan condiciones clínicas comórbidas comunes, un antagonista del receptor mGlu2/3 puede ser particularmente efectivo en poblaciones de pacientes específicos, tales como pacientes con trastorno depresivo principal, tratamiento de depresión refractaria, depresión unipolar, distimia y/o ciclotimia, o cualquiera de los trastornos de somnolencia excesiva. Los trastornos de somnolencia excesiva pueden incluir, pero no se limitan a somnolencia diurna excesiva (EDS), hipersomnia asociada con apnea de sueño obstructiva o narcolepsia, trastornos del sueño por ritmo cicardiano (que incluyen pero no se limitan a trastorno del sueño por trabajos por turnos, trastorno por descompensación horaria o jet lag, trastorno de fase de sueño retardadas, trastorno de fase de sueño avanzada, y síndrome de vigilia-sueño diferente a 24 hora), hipersomnolencia idiopática y somnolencia excesiva asociada con sueño no restaurativo (NRS).

Para demostrar además las características de los presentes compuestos, los compuestos representativos se pueden correr en los siguientes ensayos *in vitro* e *in vivo*:

5 **Ensayos de Antagonista cAMP del Receptor mGlu2 y mGlu3**

La actividad antagonista se ensayó en células AV12 recombinantes que expresan establemente receptores humanos mGlu2 o mGlu3 y el transportador EAAT1 de glutamato de rata (Transportador de Aminoácido Excitador 1). Las líneas
10 celulares se mantuvieron por cultivo en DMEM con alta glucosa y clorhidrato de piridoxina complementado con 5% de suero bovino fetal dializado (FBS), 1 mM de piruvato de sodio, 1 mM HEPES y 1 mM de L-glutamina; se usaron geneticina e higromicina B como antibióticos de selección. Los cultivos
15 confluentes se hicieron crecer a 37°C en una atmósfera que contiene 6.5% de CO₂, y se pasaron por dos semanas. Las células se recolectaron usando 0.25% de tripsina, suspendida en medio de congelamiento (FBS con 10% de DMSO) a 10⁷ células/ml, y las alícuotas se almacenaron en nitrógeno
20 líquido. Veinticuatro horas antes del ensayo, las células se plaquearon a una densidad de 8,000–10,000 células por cavidad en placas negras de media área, de 96 cavidades, tratadas con cultivo de tejidos (Costar 3875) en 50 µl de DMEM con alta glucosa y clorhidrato de piridoxina complementado con 5% de
25 FBS dializado, 1 mM de piruvato de sodio, 1 mM de HEPES, 100

µg/ml de ampicilina, y 250 µM (mGlu2) o 125 µM (mGlu3) de L-glutamina.

La inversión de la inhibición de producción de cAMP estimulada con forskolina por los compuestos de prueba se mide usando tecnología de fluorescencia homogénea resuelta por tiempo (HTRF; Cisbio cat # 62AM4PEB). El medio se removió y las células se incubaron con 100 µl de amortiguador de estimulación cAMP (STIM) por 30 minutos a 37°C. (amortiguador STIM que contiene 500 ml de HBSS, 1000 ml de DPBS, 0.034 % de BSA, 1.67 mM de HEPES y 500 µM de IBMX (Sigma I5879)). Los compuestos se probaron en curvas de respuesta de concentración de 10 puntos usando dilución serial 3X seguida por dilución 40-veces adicional en amortiguador STIM. DCG IV (Tocris 0975) sirve como el agonista de referencia. La mezcla de reacción final contiene 1 µM (para mGlu2) o 3 µM (para mGlu3) de forskolina (Sigma F6886), DCG IV en su EC₉₀, y hasta 25 µM del compuesto de prueba. Las células se incubaron a 37°C por 20 minutos. Para medir los niveles de cAMP, conjugado de cAMP-d2 y conjugado anti cAMP-criptato en amortiguador de lisis se incubaron con las células tratadas a temperatura ambiente por 1 hora (mGlu2) o 1.5 hora (mGlu3). La señal HTRF se detectó usando un lector de placa EnVision (Perkin-Elmer) para calcular la relación de fluorescencia a 665 hasta 620 nm. Los datos sin procesar son convertidos a cantidad de cAMP (pmole/cavidad)

usando una curva estándar de cAMP generada para cada experimento. Los valores IC_{50} relativos son calculados del intervalo superior-inferior de la curva de respuesta de concentración usando un programa de ajuste de curva logística de cuatro parámetros (ActivityBase v5.3.1.22).

Ensayos de FLIPR y cAMP para Selectividad del Receptor mGlu

Las potencias antagonistas de los compuestos de la invención para los otros receptores mGlu humanos pueden ser valoradas con ya sea un ensayo cAMP o ensayo de respuesta fluorométrica al calcio (véase por ejemplo Fell et al., JPET (en la prensa)). Brevemente, líneas de células individuales AV12 que contienen el transportador de glutamato de rata EAAT1 y que expresan establemente los receptores humanos mGlu 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 8, se usaron para estos estudios. Los receptores mGlu1 y 5 son acoplados a Gq, de manera que su señal naturalmente a través de fosfolipasa C, produce una respuesta al flujo de calcio la cual puede ser usada para medir la activación del receptor usando un Lector de Placa de Imagen Fluorométrica (FLIPR, Molecular Devices). Las líneas de células que expresan el receptor mGlu2, 3, 4, y 8 son diseñadas para expresar la subunidad $G\alpha_{15}$ de manera que estos receptores acoplados a Gi generarán una respuesta al flujo de calcio similar a las líneas de células que expresan el

receptor mGlu1 y 5. El receptor mGlu6 es probado en un formato de cAMP usando métodos análogos a aquellos desarrollados para mGlu2 y mGlu3 anterior. Estas líneas de células son mantenidas como se describe previamente, excepto
5 que cantidades de L-glutamina y agentes de selección (geneticina, higromicina B, zeocina, y blasticidina) pueden variar dependiendo de la línea de célula. Los cultivos confluentes se pasaron dos veces por semana.

Los niveles de calcio intracelular son monitoreados
10 usando FLIPR antes y después de la adición de compuestos de prueba y tinte Fluo-3 AM (Invitrogen) o Calcio 4 (Molecular Devices), dependiendo de la línea de célula. Las células son plaqueadas 24 horas previas al ensayo en una concentración variable de glutamina y una densidad variable de células por
15 cavidad, dependiendo de la línea de células. El medio se removió y las células se incubaron con 8 μ M de tinte (50 μ l por cavidad) por 90 o 120 minutos (dependiendo de la línea de células) a 25°C. Se conduce un ensayo FLIPR de adición única generando una curva de respuesta de concentración de 11
20 puntos para el agonista glutamato previo a cada experimento para confirmar la sensibilidad apropiada de las células. Los resultados son analizados usando GraphPad Prism v4.03 para calcular las concentraciones de glutamato necesario para inducir las respuestas EC₉₀ (ensayo antagonista) y EC₁₀
25 (ensayo potenciador).

Los compuesto son probados en cada receptor mGlu en un ensayo FLIPR de doble adición usando un perfil de respuesta de concentración de 10 puntos partiendo a una concentración final de 25 μ M para el ensayo agonista y 12.5 μ M para los ensayos potenciadores y antagonistas. La primera adición detecta cualquier actividad agonista, y la segunda adición consiste de 100 μ l de concentraciones seleccionadas (dependiendo de la línea de célula) de glutamato en el amortiguador de ensayo generando una respuesta a glutamato EC₁₀ o EC₉₀. Los efectos agonistas son cuantificados como porcentaje de estimulación inducida por el compuesto solo con relación a la máxima respuesta de glutamato. Los efectos antagonistas son cuantificados calculando el porcentaje de inhibición de la respuesta de glutamato EC₉₀ causada por el compuesto. Los efectos de potenciación son cuantificados como porcentaje de incremento en la presencia de una respuesta EC₁₀ en glutamato con relación a la respuesta EC_{max}. Todos los datos son calculados como valores relativos IC₅₀ o EC₅₀ usando un programa de ajuste de curva logística de cuatro parámetros (ActivityBase v5.3.1.22).

La actividad antagonista en células mGlu6 se mide usando cAMP en un método análogo a aquel descrito anteriormente para actividad mGlu2 y mGlu3, excepto que el agonista de referencia fue L-AP4 (Tocris). Para medir la actividad agonista de mGlu6, se calcula la extensión en la

cual el compuesto inhibe la producción de cAMP estimulada por forscolina. Los valores relativos IC_{50} y EC_{50} se calculan desde el intervalo superior-inferior de la curva de respuesta de concentración usando un programa de ajuste de curva
5 logística de cuatro parámetros (ActivityBase v5.3.1.22).

Los compuestos ejemplificados en donde R^1 y R^2 son ambos hidrógeno, se probaron esencialmente como se describe anteriormente y se encontró que tienen alta potencia antagonista para los receptores mGlu2 y mGlu3. Los compuestos
10 ejemplificados en donde R^1 y R^2 son ambos hidrógeno también se encuentran por ser antagonistas selectivos de los receptores mGlu2 y mGlu3 como contra otros subtipos del receptor mGlu. Los IC_{50} para los receptores mGlu2 y mGlu3 para los compuestos ejemplificados en donde R^1 y R^2 son ambos hidrógeno, se
15 encontraron por ser menos de 70 nM y 140 nM, respectivamente, mientras los IC_{50} para otros receptores de mGlu probados se encontraron por ser significativamente mayores. Los compuestos de los ejemplos 1 y 2 son probados esencialmente como se describe anteriormente y se encontró que tienen perfiles de
20 actividad como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Datos de Selectividad

Ej.	mGlu1 % inhib. @12.5µM	mGlu2 IC50 nM	mGlu3 IC50 nM	mGlu4 % inhib. @12.5µM	mGlu5 % inhib. @12.5µM	mGlu6 IC50 nM	mGlu8 % inhib. @12.5µM
1	6.3%	15.4 _{+2.0}	6.2 _{+2.2}	17.9%	-2.0%	1720	47.0% (IC ₅₀ 4970 nM)
2	7.9%	12.7 _{+2.3}	13.4 _{+3.4}	28.0%	21.4%	1395	68.7% (IC ₅₀ 7860 nM)

5

Además, ciertos compuestos de la presente invención muestran una carencia de actividad significativa con otros receptores fisiológicamente importantes tales como, pero no limitados a, el canal hERG, receptores de serotonina (específicamente 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B}), receptores muscarínicos (específicamente M2), y receptores iGluR (específicamente iGluR5). El compuesto del ejemplo 1 se probó usando métodos de ensayo conocidos y se encontró que no tiene actividad apreciable en estos receptores.

15

Por lo tanto, dosis fisiológicamente relevantes de los compuestos de la invención se espera proporcionen inhibición sustancial de receptores mGlu2 y mGlu3 *in vivo*, mientras no interactúan sustancialmente con otros receptores mGlu, u otros receptores fisiológicamente relevantes, y de este modo se espera proporcionen la farmacología deseada mientras evitan efectos indeseados asociados con la actividad de objetivo.

20

25

Prueba de Nado Forzado en Ratones (mFST)

El mFST es un ensayo *in vivo* establecido para actividad antidepresiva (Li et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 319(1):254-9, 2006.). Ratones tratados con antidepresivos clínicamente efectivos conocidos (inhibidores selectivos de la reabsorción de serotonina y/o antidepresivos tricíclicos), exhiben el comportamiento de consumo de tiempo reducido inmóvil después de ser colocado en un tanque de agua, un comportamiento asociado con la desesperación. La mFST se usó para evaluar la actividad como antidepresiva potencial de nuevos antagonistas de mGlu2/3 esencialmente como se describe en los métodos previamente publicados (véase por ejemplo, Li et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 319(1):254-9, 2006.). Brevemente, se usaron ratas NIH-Suizas (Harlan Sprague-Dawley, Indianápolis, IN) que pesan entre 25-30 g. Los animales alojados en grupo se removieron del vivario al área de prueba en sus propias jaulas y se dejaron adaptar al nuevo ambiente por al menos 1 hora antes de la prueba. Los compuestos donde R¹ y R² son ambos hidrógeno se disolvieron en agua con NaOH mínimo agregado para disolución y se administraron i.p. Los compuestos donde R¹ y/o R² son distintos de hidrógeno se prepararon al día de uso en 2.0-2.5% de N-metil-pirrolidinona y después suspendieron en 1% de HEC, 0.25% de Tween 80, y 0.05% de anti-espuma Dow, y administraron oralmente. Los ratones se colocaron en un

cilindro (diámetro: 10 cm; altura: 25 cm) rellenos con 6 cm de agua (22-25°C) por 6 min. Se registró la duración de inmovilidad durante los últimos 4 minutos del periodo de 6 minutos de la prueba. Se registró un ratón como inmóvil cuando flotó inmóvil o hizo solamente aquellos movimientos necesarios para mantener su cabeza arriba del agua.

Compuestos representativos son probados esencialmente como se describe anteriormente y se encuentran por reducir significativamente los tiempos de inmovilización en ratones de tipo nativo. Compuestos ejemplificados en donde R^1 y R^2 son ambos hidrógeno se ensayaron esencialmente como se describe anteriormente y se encontró que tienen ED_{60} menores de 30 mg/kg i.p., con reducciones máximas en tiempos de inmovilización de al menos 25%. Los compuestos de los Ejemplos 1, 2, 12/32 y 22 son ensayados esencialmente como se describe anteriormente y se encuentra que tienen actividades como se muestra en la Tabla 2. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención se espera que tengan actividad antidepresiva *in vivo*.

20

25

Tabla 2. Prueba de Nado Forzado en Ratón (mFST)

Ejemplo	ED ₆₀ (mg/kg)	Decremento máximo (1- compuesto/control)*100%
1	8.0 (i.p.)	36.1%
2	24.5 (i.p.)	33.5%
12/32	12.0 (p.o.)	58.4%
22	20.5 (p.o.)	50.1%

En otros experimentos, se estudiaron ratones con supresiones del receptor (ratones agénicos mGlu2); estos ratones se reprodujeron por cruzas heterocigoto x heterocigoto y se usaron como camadas para comparaciones de ratones -/- y +/- (Taconic Farms). Los compuestos de los ejemplos 1 y 2 (10mg/kg, i.p., 30 min previo) se encontraron por reducir significativamente el tiempo de inmovilidad en ratones mGlu2+/, pero no en ratones mGlu2-/. De manera similar, el compuesto del ejemplo 12/32 (30 mg/kg, po, 120 min previo) se encontró por reducir el tiempo de inmovilidad en ratones mGlu2+/, pero no en ratones mGlu2-/. Estos hallazgos demostraron además que el receptor mGlu2 contribuye a los efectos similares a antidepresivos de los compuestos de la invención.

Los compuestos de la invención también pueden ser probados en combinación con otros compuestos útiles para el tratamiento de trastornos depresivos, como por ejemplo SSRI, por su capacidad para mejorar los efectos similares

antidepresivos sobre aquellos de ya sea el compuesto solo. El compuesto del ejemplo 12 (10 mg/kg p.o.) se probó en la prueba de nado forzado de ratón solo y en combinación con ya sea fluoxetina (10 mg/kg, i.p.) o citalopram (1 mg/kg, i.p.) y encontró que incrementa significativamente el efecto similar antidepresivo sobre aquel de ya sea el compuesto solo como se muestra en la Tabla 3, abajo. Además, pruebas de niveles de plasma y cerebrales de la porción de diácido activo del compuesto del ejemplo 12 (es decir, el mismo compuesto como la base libre del ejemplo 1), y niveles de plasma de fluoxetina y citalopram, no muestran incremento en niveles de exposición, soportando el hallazgo de que la actividad similar antidepresiva incrementada no fue debido solamente a un incremento en la exposición central a los compuestos.

15

20

25

Tabla 3. mFST con SSRI

5	Compuesto(s)	Tiempo de Inmovilización (seg.)	Error Estándar de la media	Decremento Máximo (1-compuesto/control)*100%
	Vehículo	173	14	
	Ejemplo 12	130	17	24.5%
	Fluoxetina	118	16	31.5%
	Ej. 12 + Fluoxetina	80	15	53.6%*
10	Vehículo	176	14	
	Ejemplo 12	140	8	20.9%
	Citalopram	102	18	42.1%
	Ej. 12 + Citalopram	80	13	54.8%**

*Significantemente diferente de ya sea el compuesto del Ejemplo 2 o fluoxetina sola, $p < 0.05$

** Significantemente diferente de ya sea el compuesto del Ejemplo 2 o citalopram solo, $p < 0.05$

Monitoreo de comportamiento e insomnio en ratas:

Compuestos representativos de la presente invención se probaron en ratas por su capacidad para incrementar la cantidad de tiempo en un estado de insomnio sin efectos indeseados tales como inhibición del sueño REM, discapacidad motriz al despertar (hiper o hipolocomoción desproporcionada), y/o hipersomnia de rebote. Los animales se

prueba son continuamente monitoreados por electroencefalogramas (EEG), electrocardiogramas (EMG), y movimiento para medir el tiempo acumulado despierto, hipersomnia de rebote e intensidad de actividad locomotora durante el

5 insomnio. Los métodos para tales estudios se conocen en la técnica (véase por ejemplo métodos descritos en Edgar DM, Seidel WF. Modafinil induces wakefulness without intensifying motor activity or subsequent rebound hypersomnolence in the rat. *J Pharmacology & Experimental Therapeutics* 1997; **283**:

10 757-769; van Gelder RN, Edgar DM, Dement WC. Real-time automated sleep scoring: validation of a microcomputer-based system for mice. *Sleep* 1991, **14**: 48-55; y Gross BA, Walsh CM, Turakhia AA, Booth V, Mashora GA, Poe GR. Open-source logic-based automated sleep scoring software using

15 electrophysiological recordings in rats. *J Neurosci Methods*. 2009; **184(1)**:10-8). Los estudios se condujeron como sigue:

Preparación del Animal. Ratas Wistar macho, adultas (aproximadamente 270-300 g al tiempo de la cirugía) son

20 quirúrgicamente ajustadas para registro crónico de EEG, EMG, temperatura corporal, y movimiento como sigue: Las ratas son quirúrgicamente preparadas con un implante craneal que consiste de cuatro tornillos de acero inoxidable para registro de EEG (dos frontales [3.9 mM del anterior del bregma, y ± 2.0 mM de mediolateral] y dos occipitales [6.4 mM

25

de posterior del bregma, ± 5.5 mM de mediolateral]], y con dos alambres de acero inoxidable revestidos de Teflón para registro EMG (posicionados bajo los músculos trapezoidales de la nuca). Todas los cables se sueldan a un conector miniatura (Microtech, Boothwyn, PA) previo a la cirugía. El montaje de implante se ajusta al cráneo por la combinación de los tornillos de registro EEG de acero inoxidable, aplicados con cianoacrilato entre el conector de implante y el cráneo y acrílico dental. La temperatura corporal y actividad locomotora se monitorearon vía un transmisor miniatura (Minimitter PDT4000G, Philips Respironics, Bend, OR) quirúrgicamente colocado en el abdomen. Al menos 3 semanas se dejan recuperar.

Ambiente de registro. Cada rata es alojada individualmente dentro de una jaula microaisladora modificada con un elevador superior de filtro de policarbonato insertado para permitir más espacio vertical para la cabeza. Un cable flexible que mínimamente restringe el movimiento se conecta en un extremo a un conmutador fijado en la parte superior de la jaula y en el otro extremo al implante craneal del animal. Cada jaula está localizada dentro de compartimientos ventilados, separados de una cámara de registro de sueño-vigilia de acero inoxidable. Alimento y agua están disponibles a albedrío y se mantiene la temperatura ambiente

a aproximadamente $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Un ciclo de luz-oscuridad de 24 hrs (LD 12:12) usando luz fluorescente se mantiene a través del estudio. La humedad relativa promedia aproximadamente 50%. Los animales no son alterados por al menos 30 hrs antes y
5 después de cada tratamiento.

Diseño de estudio y dosificación. Compuestos donde R^1 y R^2 son ambos hidrógeno se disolvieron en agua con NaOH mínimo agregado para disolución y se administraron i.p en un
10 volumen de 1.0 mL por kg de peso corporal. Compuestos donde R^1 y/o R^2 son distintos de hidrógeno se administran p.o. en un volumen de 2 mL por kg de peso corporal en uno de los dos vehículos alternativos: i) 2.5% de N-metil-2-pirrolidinona en hidroxietilcelulosa; o ii) 10% acacia con 0.05% de Antiespuma
15 Dow Corning® en agua. El vehículo o uno de los niveles de dosis del compuesto se administran pseudo-aleatoriamente de manera que la rata no recibe el mismo tratamiento dos veces, y la rata no recibe más de dos de los 8 tratamientos en cualquier estudio. Cada rata se remueve de su jaula por
20 aproximadamente un minuto para ser pesada y tratada. Al menos un periodo de 6 días de "lavado" precede y siguen a cada tratamiento.

Recolección de datos. La discriminación de sueño e
25 insomnio puede ser automatizada (por ejemplo, Van Gelder et

al. 1991; Edgar et al. 1997, Winrow et al., 2010; Gross et al., 2009). El EEG es amplificado y filtrado (X10,000, paso de banda 1-30 Hz), el EMG es amplificado e integrado (paso de banda 10-100 Hz, integración RMS), y se monitorea
5 simultáneamente la actividad locomotora no específica (LMA). Los estados de excitación son clasificados en partes de 10 segundos como sueño sin REM, sueño REM, insomnio o insomnio dominado teta. La actividad locomotora (LMA) es registrada como conteos por minuto y se detecta por receptores de
10 telemetría comercialmente disponibles (ER4000, Minimitter, Bend, OR).

Análisis Estadísticos. Edades y pesos corporales son resumidos por media, mínimo y máximo sobre los grupos de
15 tratamiento. Todos los animales que tienen al menos un resultado están incluidos en el sumario de resultados (por ejemplo, se incluyeron datos apropiados a partir de un tratamiento de animal para el cual los datos de telemetría son utilizables pero los datos de EEG no). El periodo de
20 observación post-tratamiento se divide en 2 intervalos de post-dosificación (las primeras 7 horas, y las primeras 19 horas), en donde el tiempo de dosificación es definido como el inicio de Hora = 0. Los resultados son resumidos en cada periodo computando ya sea la media cada hora o el valor
25 acumulado a través de cada periodo. Cada resultado en cada

periodo es analizado por análisis de covarianza usando un grupo de tratamiento y datos de tratamiento como factores y el intervalo de pre-tratamiento correspondiente, 24 hrs anterior, como el covariado. Las medias ajustadas y el cambio
5 de medias de vehículo y sus correspondientes errores estándares son resumidos para cada grupo de tratamiento. Los valores P de comparación múltiple de Dunnett ajustados se muestran para cada resultado en cada periodo. No todos los resultados son analizados en todos los periodos, como se
10 muestra en la Tabla 1, lo cual de este modo afecta la tasa de error por experimento tipo I. Como tal, no se hicieron ajustes adicionales para pruebas múltiples.

Determinación de eficacia. El umbral de dosis
15 eficaz se estimó como la dosis más baja para la cual el tiempo acumulado despierto excede 50 minutos con relación a los controles de vehículo a través de las primeras 7 horas post-tratamiento. Una determinación más fina se puede hacer conduciendo estudios subsecuentes de dosis más estrechamente
20 espaciadas alrededor de la dosis eficaz.

Determinación de efectos indeseados. Se evaluaron dos efectos potencialmente indeseables en particular: hipersomnolencia de rebote y actividad motriz intensificada
25 (Edgar DM, Seidel WF, 1997).

(i) La hipersomnolencia de rebote puede ser medida como niveles reducidos de insomnio durante el periodo de 8-19 horas después de las dosis de tratamiento eficaz. Una reducción biológicamente significativa se define como un porcentaje mayor de 50 del incremento acumulado durante las primeras 7 horas. De este modo, si el insomnio incrementa por 100 minutos durante las primeras 7 horas, entonces una reducción en el insomnio acumulado de 50 minutos o más, con relación a controles de vehículo, durante el periodo de 8-19 horas posteriores al tratamiento podrían ser considerados biológicamente significantes. Los cambios de media de Grupo, mostrados en la Tabla 2, muestran una carencia de hipersomnolencia de rebote.

(ii) Actividad motriz intensificada es definida como un incremento promedio con relación a los controles de vehículo que exceden 5 conteos LMA por minuto de insomnio definido por EEG en la dosis de umbral de eficacia, y para lo cual el efecto está relacionado con la dosis. Los incrementos medios del Grupo en la Tabla 2 fueron todos por debajo de 5 conteos por minuto de insomnio y no son dependientes de la dosis.

Los compuestos ejemplificados son probados esencialmente como se describe y se encuentra que promueven el insomnio sin hipersomnia de rebote o actividad motriz intensificada significantes. Compuestos ejemplificados donde

R¹ y R² son ambos hidrógeno (administrado i.p.) se probaron esencialmente como se describe y se encontró que son eficaces a dosis de 10 mg/kg o inferiores. El compuesto del ejemplo 12 se probó esencialmente como se describe y se encontró tiene el perfil de tiempo acumulado despierto e intensidad de actividad locomotora como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4.

Tiempo acumulado despierto primeras 7 horas

Dosis (mg/kg PO)	N	Media	SE	P
60	12	118.9	14.3	<0.0001
30	12	109.3	14.1	<0.0001
10	9	40.2	15.6	0.0368

Tiempo acumulado despierto 8-19 horas

Dosis (mg/kg PO)	N	Media	SE	P
60	12	2.7	14.4	0.8535
30	12	-4.1	14.5	0.7760
10	9	12.1	16.0	0.4546

Intensidad de Actividad Locomotora (nota 1)

Dosis (mg/kg PO)	N	Media	SE	P
60	7	4.9	2.0	0.0191
30	12	3.0	1.8	0.0939
10	6	4.5	2.0	0.0349

Resultados Estadísticos: Los valores medios representan la diferencia de controles de vehículo. SE = error estándar de la media; P = valor-*P* ajustado para contraste múltiple para la variable de eficacia. Los valores
5 *P* no ajustados se muestran para medidas de "efecto indeseado" (Tiempo acumulado despierto 8-19 horas, e Intensidad de Actividad Locomotora). El tiempo acumulado despierto se da en minutos. Nota 1. Intensidad de Actividad Locomotora (LMA) = conteos de LMA por minuto de desvelo definido por EEG,
10 promediado después de las primeras 7 hrs post-tratamiento.

Adicionalmente, en tres experimentos separados, se estudiaron ratones con depleciones del receptor mGlu2(-/-) único, mGlu3(-/-) único, o mGlu2(-/-) mGlu3(-/-) doble. Estos ratones son reproducidos por reproducción heterocigoto x
15 heterocigoto y se usan como camadas para comparaciones de ratón -/- y +/+ (Taconic Farms). El compuesto del ejemplo 1 (10mg/kg, i.p.) se encuentra por incrementar significativamente la somnolencia en ratones tipo nativo, ratones agénicos únicos mGlu3(-/-), y ratones agénicos únicos
20 mGlu2(-/-), a pesar de un nivel reducido. Por el contrario, el compuesto del ejemplo 1 se encontró por no incrementar significativamente la somnolencia en ratones agénicos dobles mGlu2(-/-) mGlu3(-/-). Estos hallazgos demuestran que tanto los receptores mGlu2 como mGlu3 contribuyen a promover el
25 efecto de despertar de los compuestos de la invención.

Mientras es posible administrar compuestos empleados en los métodos de esta invención directamente sin alguna formulación, los compuestos son usualmente administrados en la forma de composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, como un ingrediente activo y al menos un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones pueden ser administradas por una variedad de rutas que incluyen oral, sublingual, nasal, subcutánea, intravenosa, e intramuscular. Tales composiciones farmacéuticas y procesos para repararlas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (University of the Sciences in Philadelphia, ed., 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins Co., 2005). Los compuestos de Fórmula I en donde R^1 o R^2 son ambos distintos de hidrógeno son preferidos para administración oral para mejorar la biodisponibilidad, mientras los Compuestos de Fórmula I en donde R^1 y R^2 son ambos hidrógeno son preferidos para administración i.v., i.p., o intramuscular.

Las composiciones son preferiblemente formuladas en una forma de dosificación unitaria, cada dosificación contiene desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 600 mg, más usualmente aproximadamente 30 hasta aproximadamente 300 mg, como por ejemplo entre aproximadamente 50 y

aproximadamente 250 mg del ingrediente activo. El término “forma de dosificación unitaria” se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, cada unidad contiene
5 una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con al menos un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente adecuado.

Los compuestos de Fórmula I son en general
10 efectivos sobre un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, dosificaciones por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 10 mg/kg, más usualmente desde aproximadamente 0.3 hasta 5.0 mg/kg, y como por ejemplo entre 0.5 y 3.0 mg/kg de peso
15 corporal. En algunos casos los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado antes pueden ser más que adecuados, mientras en otros casos todavía dosis más grandes pueden ser empleadas sin provocar algún efecto secundario dañino, y por lo tanto el intervalo de
20 dosificación anterior no está propuesto para limitar el alcance de la invención en cualquier forma. Se entenderá que la cantidad del compuesto actualmente administrado será determinada por un especialista, en vista de las circunstancias relevantes, incluyendo la condición a ser
25 tratada, la ruta elegida de administración, el compuesto

actual o compuestos administrados, la edad, peso y la respuesta del paciente individual, y la severidad de los síntomas del paciente.

5

10

15

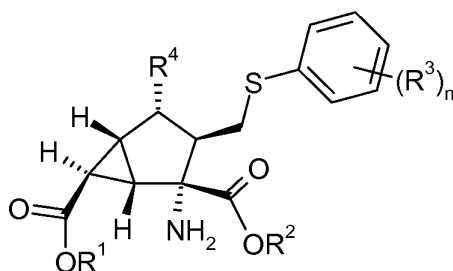
20

25

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes.

5 1. Un compuesto de la fórmula



10

caracterizado porque R^1 y R^2 son cada uno independientemente hidrógeno, alcoxycarboniloximetilo C_1-C_3 , alquylcarboniloximetilo C_1-C_5 , o cicloalquylcarboniloximetilo C_3-6 ;

15 R^3 es independientemente en cada caso metilo, fluoro, o cloro;

R^4 es hidroxilo, amino, metilcarbonilamino, o 1,2,4-triazoliltio; y

n es 1 o 2;

20 o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

2. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque R^1 y R^2 son cada uno hidrógeno, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

3. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque R^1 y R^2 son ambos

25

distintos de hidrógeno, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

4. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque R^1 y R^2 son el mismo y
5 son distintos de hidrógeno, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

5. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 4, caracterizado porque R^1 y R^2 son cada uno isopropiloxicarboniloximetilo.

10 6. El compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 hasta 5, caracterizado porque n es 2 y los grupos R^3 están en las posiciones fenilo 3 y 4.

7. El compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 hasta 6, caracterizado porque R^3 es
15 independientemente en cada caso cloro o fluoro.

8. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque es ácido (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-
20 2,6-dicarboxílico, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

9. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque es bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil)(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-
25 {[(3,4-difluorofenil)sulfanil]metil}-4-

hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

10. El compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque es ácido
5 (1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxílico, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

11. El compuesto de conformidad con la
10 Reivindicación 1, caracterizado porque es bis({[(1-metiletoxi)carbonil]oxi}metil)(1S,2R,3S,4S,5R,6R)-2-amino-3-{[(3-cloro-4-fluorofenil)sulfanil]metil}-4-hidroxibiciclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxilato, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

15 12. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 13. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en terapia.

14. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo
25 farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de

trastornos depresivos.

15. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de
5 trastornos de somnolencia excesiva.

16. El compuesto para uso de conformidad con la Reivindicación 14 o 15 en un humano.

17. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en combinación
10 simultánea, separada o secuencial con un inhibidor de reabsorción de serotonina en el tratamiento de trastornos depresivos.

18. El compuesto para uso de conformidad con la Reivindicación 17, en donde el inhibidor de reabsorción de serotonina es fluoxetina o citalopram.
15

19. El compuesto para uso de conformidad con la Reivindicación 17 o 18, en un humano.

20. Un método para tratar trastornos depresivos en un mamífero caracterizado porque comprende administrar a un
20 mamífero en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

21. El método de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque el mamífero es un humano.
25

22. Un método para tratar trastornos de somnolencia excesiva en un mamífero caracterizado porque comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

23. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el mamífero es un humano.

24. Un método para tratar trastornos depresivos en un mamífero caracterizado porque comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la Reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación simultánea, separada o secuencial con un inhibidor de reabsorción de serotonina.

25. El método de conformidad con la reivindicación 24, caracterizado porque el inhibidor de reabsorción de serotonina es fluoxetina o citalopram.

26. El método de conformidad con la reivindicación 24, caracterizado porque el mamífero es un humano.

27. El método de conformidad con la reivindicación 25, caracterizado porque el mamífero es un humano.

28. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo

farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos.

29. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un inhibidor de reabsorción de serotonina en combinación con al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

30. La composición farmacéutica de conformidad con la Reivindicación 29, caracterizada porque el inhibidor de reabsorción de serotonina es fluoxetina o citalopram.

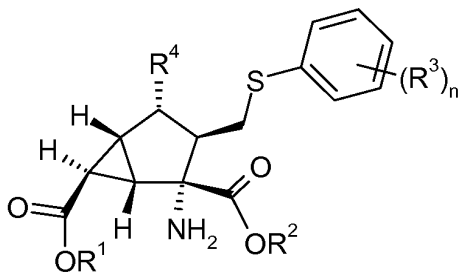
15

20

25

10

```
preparación.
```



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44bis)

Applicant's or agent's file reference X19133	FOR FURTHER ACTION	See item 4 below
International application No. PCT/US2011/060730	International filing date (<i>day/month/year</i>) 15 November 2011 (15.11.2011)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 18 November 2010 (18.11.2010)
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237		
Applicant ELI LILLY AND COMPANY		

1. This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 bis.1(a).

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.

3. This report contains indications relating to the following items:

- | | | |
|-------------------------------------|--------------|---|
| ☒ | Box No. I | Basis of the report |
| ☐ | Box No. II | Priority |
| ☐ | Box No. III | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| ☐ | Box No. IV | Lack of unity of invention |
| ☒ | Box No. V | Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| ☐ | Box No. VI | Certain documents cited |
| ☐ | Box No. VII | Certain defects in the international application |
| ☒ | Box No. VIII | Certain observations on the international application |

4. The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44bis.3(c) and 93bis.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44bis .2).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70	Date of issuance of this report 21 May 2013 (21.05.2013) Authorized officer Yolaine Cussac e-mail: pt05.pct@wipo.int
---	---

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing
(*day/month/year*) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2011/060730

International filing date (*day/month/year*)
15.11.2011

Priority date (*day/month/year*)
18.11.2010

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07C323/58 A61K31/10

Applicant
ELI LILLY AND COMPANY

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Kleidernigg, Oliver

Telephone No. +49 89 2399-2143



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2011/060730

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1 (a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-30</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-30</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-30</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2011/060730

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

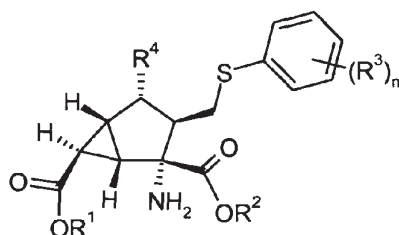
ad Section V

Reference is made to the following documents:

- D1 US 2006/142388 A1 (YASUHARA AKITO [JP] ET AL) 29 June 2006
 (2006-06-29)
- D2 WO 99/47490 A1 (PFIZER PROD INC [US]; CHENARD BERTRAND LEO
 [US]) 23 September 1999 (1999-09-23)

Novelty and inventive step

The present application is directed to compounds of the formula



-where R¹ and R² are each independently hydrogen, C₁-C₃ alkoxy-carbonyloxymethyl, C₁-C₅ alkyl-carbonyloxymethyl, or C₃-₆ cycloalkyl-carbonyloxymethyl;

R³ is independently at each occurrence methyl, fluoro, or chloro; R⁴ is hydroxyl, amino, methylcarbonylamino, or 1,2,4-triazolylthio; and n is 1 or 2; or a pharmaceutically acceptable salt thereof; a pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluent as well as a method for treating depressive disorders in a mammal comprising administering to a mammal in need of such treatment an effective amount of a compound according to claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

D1 (cf. passages indicated in the SR) represents the closest prior art and differs from the subject matter of claim 1 insofar that sequence of the sulfur and methylene group attached to phenyl ring is inverted. The present application the sulfur is directly bonded to the phenyl followed by the methylene group directly attached to the sulfur.

In D1 the methylene group is directly bonded to the phenyl and sulfur is directly attached to the sulfur. Thus, the subject matter of claim 1 is novel. Since all other claims directly or indirectly refer to the compound of claim 1, claims 2-30 are novel by analogy.

Starting from the closest prior art of D1 and the distinguishing feature outlined above, the objective technical problem may be regarded as the provision of alternative anti-depressives. The solution is given in claim 1 and concerns the inverted sequence of the sulfur and methylene group attached to phenyl ring. The proposed solution is, however, not regarded as involving an inventive step, because the inversion of methylene and sulfur group does not change the overall physico chemical properties of the compounds. Moreover, the compounds disclosed in D1 are applied in the same technical field of treatment and prevention of depressive disorders. Consequently, such an inversion is an appropriate measure for achieving alternative antidepressants without exercising inventive activity. Thus, the subject matter of claim 1 is not inventive. claims 2-11 and 13-19 do not add any features which can establish inventive step over D1.

The pharmaceutical compositions and methods for treating are not inventive in the light of the D1/D2 combination. Moreover, the combination of a known anti depressant with compounds showing also anti depressive properties is an obvious measure. Thus, the subject matter of claims 12, 20-30 does not involve an inventive step.

Method for treatment

Claims 20-27 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT.

The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

ad Section VIII

Although claims 12 and 28 have been drafted as separate independent claims, they appear to relate effectively to the same subject-matter and to differ from each other only with regard to the definition of the subject-matter for which protection is sought

and/or in respect of the terminology used for the features of that subject-matter. The aforementioned claims therefore lack conciseness and as such do not meet the requirements of Article 6 PCT.

The same applies to claims 20, 22, 24, all formulated as independent claims, which, thus lack conciseness (Article 6 PCT).

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2011/060730

International filing date (day/month/year)
15.11.2011

Priority date (day/month/year)
18.11.2010

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07C323/58 A61K31/10

Applicant
ELI LILLY AND COMPANY

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Kleidernigg, Oliver

Telephone No. +49 89 2399-2143



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2011/060730

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1 (a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-30</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-30</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-30</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2011/060730

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

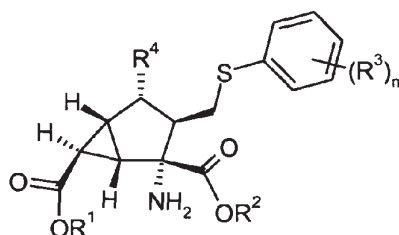
ad Section V

Reference is made to the following documents:

- D1 US 2006/142388 A1 (YASUHARA AKITO [JP] ET AL) 29 June 2006
 (2006-06-29)
- D2 WO 99/47490 A1 (PFIZER PROD INC [US]; CHENARD BERTRAND LEO
 [US]) 23 September 1999 (1999-09-23)

Novelty and inventive step

The present application is directed to compounds of the formula



-where R¹ and R² are each independently hydrogen, C₁-C₃ alkoxy carbonyloxymethyl, C₁-C₅ alkyl carbonyloxymethyl, or C₃-₆ cycloalkyl carbonyloxymethyl;

R³ is independently at each occurrence methyl, fluoro, or chloro; R⁴ is hydroxyl, amino, methyl carbonylamino, or 1,2,4-triazolylthio; and n is 1 or 2; or a pharmaceutically acceptable salt thereof; a pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of claims 1 to 11, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier, excipient or diluent as well as a method for treating depressive disorders in a mammal comprising administering to a mammal in need of such treatment an effective amount of a compound according to claim 1, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

D1 (cf. passages indicated in the SR) represents the closest prior art and differs from the subject matter of claim 1 insofar that sequence of the sulfur and methylene group attached to phenyl ring is inverted. The present application the sulfur is directly bonded to the phenyl followed by the methylene group directly attached to the sulfur.

In D1 the methylene group is directly bonded to the phenyl and sulfur is directly attached to the sulfur. Thus, the subject matter of claim 1 is novel. Since all other claims directly or indirectly refer to the compound of claim 1, claims 2-30 are novel by analogy.

Starting from the closest prior art of D1 and the distinguishing feature outlined above, the objective technical problem may be regarded as the provision of alternative anti-depressives. The solution is given in claim 1 and concerns the inverted sequence of the sulfur and methylene group attached to phenyl ring. The proposed solution is, however, not regarded as involving an inventive step, because the inversion of methylene and sulfur group does not change the overall physico chemical properties of the compounds. Moreover, the compounds disclosed in D1 are applied in the same technical field of treatment and prevention of depressive disorders. Consequently, such an inversion is an appropriate measure for achieving alternative antidepressants without exercising inventive activity. Thus, the subject matter of claim 1 is not inventive. claims 2-11 and 13-19 do not add any features which can establish inventive step over D1.

The pharmaceutical compositions and methods for treating are not inventive in the light of the D1/D2 combination. Moreover, the combination of a known anti depressant with compounds showing also anti depressive properties is an obvious measure. Thus, the subject matter of claims 12, 20-30 does not involve an inventive step.

Method for treatment

Claims 20-27 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT.

The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

ad Section VIII

Although claims 12 and 28 have been drafted as separate independent claims, they appear to relate effectively to the same subject-matter and to differ from each other only with regard to the definition of the subject-matter for which protection is sought

and/or in respect of the terminology used for the features of that subject-matter. The aforementioned claims therefore lack conciseness and as such do not meet the requirements of Article 6 PCT.

The same applies to claims 20, 22, 24, all formulated as independent claims, which, thus lack conciseness (Article 6 PCT).

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De la
AUTORIDAD DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Para:

Véase forma PCT/ISA/220

PCT

OPINIÓN ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE
BÚSQUEDA INTERNACIONAL
(Regla 43bis.1 del PCT)

Referencia de archivo del solicitante o mandatario Véase forma PCT/ISA/220		Fecha de envío véase forma PCT/ISA/210 (segunda (día/mes/año) hoja)
PARA ACCIÓN ADICIONAL (véase párrafo 2 abajo)		
No. de solicitud internacional: PCT/US2011/060730	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 15.11.2011	Fecha de Prioridad (día/mes/año) 18.11.2010
Clasificación de Patente Internacional (IPC) o Clasificación nacional e IPC INV. C07C323/58 A61K31/10		
Solicitante ELI LILLY AND COMPANY		
1. Esta opinión contiene las indicaciones que están relacionadas con los siguientes puntos: ☒ Cuadro No. I Base de la opinión ☐ Cuadro No. II Prioridad ☐ Cuadro No. III Ningún establecimiento del reporte con respecto a la novedad, paso de la invención, o aplicabilidad industrial ☐ Cuadro No. IV Carencia de unidad de la invención ☒ Cuadro No. V Establecimiento razonado bajo la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a la novedad, paso de la invención o aplicabilidad industrial; las citas y explicaciones que soportan tal establecimiento o fundamento. ☐ Cuadro No. VI Ciertos documentos citados ☐ Cuadro No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional ☒ Cuadro No. VIII Ciertas observaciones en la solicitud internacional. 2. CONTINUACIÓN DE LA TRAMITACIÓN Si se hace una petición de examen preliminar internacional, esta opinión se considerará como una opinión escrita de la administración encargada del examen preliminar internacional ("IPEA") salvo en aquellos casos en los que el solicitante elija una Administración distinta a ésta y, la IPEA elegida haya notificado a la Oficina Internacional según lo previsto en la Regla 66.1bis(b) que las opiniones escritas de esta Administración encargada de la búsqueda internacional no serán consideradas como tales. Si esta opinión es, como se indica más arriba, considerada como una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a que presente ante la IPEA una respuesta por escrito junto con modificaciones, en su caso, antes de la expiración del plazo de 3 meses a contar desde la fecha de envío del formulario PCT/ISA/220 o antes de la expiración del plazo de 22 meses a contar desde la fecha de prioridad, aplicándose el plazo que expire más tarde. Para otras opciones, consultar el formulario PCT/ISA/220. 3. Para más detalles, ver las notas del formulario PCT/ISA/220.		
Nombre y dirección de envío de la IPEA/US Oficina Europea de Patentes D-80298 Munich Tel +49 89 2399-0 Fax +49 89 2399 - 4465	Fecha de terminación de esta opinión Véase forma Forma PCT/ISA/210	Oficial autorizado/Examinador Kleidernigg, Oliver Teléfono No. +49 89 2399-2143

Cuadro No. I Bases de esta opinión

1. Por lo que respecta al **idioma** esta opinión se ha establecido sobre la base de
 - ☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó, salvo indicación en contra señalada a continuación.
 - ☐ Esta opinión se ha establecido sobre la base de una traducción del idioma original al siguiente idioma _____, que es el idioma de una traducción proporcionada a los fines de la búsqueda internacional (según las Reglas 12.3 y 23.1 b)).
2. ☐ Esta opinión se ha establecido tomando en cuenta la rectificación de un error obvio autorizado por o notificado a esta Autoridad bajo la Regla 91 (Regla 43bis.1(a))
3. En lo que se refiere a **las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos** divulgadas en la solicitud internacional y necesarias para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido sobre la base de:
 - a. (medios)
 - ☐ por escrito
 - ☐ en forma electrónica
 - c. (tiempo)
 - ☐ contenido en la solicitud internacional tal y como se presentó
 - ☐ presentado junto con la solicitud internacional en formato legible por ordenador
 - ☐ presentado posteriormente a esta Administración a los fines de la búsqueda
4. ☐ Además, en caso de que se haya presentado más de una versión o copia de una lista de secuencias y/o tabla relacionada con ella, se ha entregado la declaración requerida de que la información contenida en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a la de la solicitud tal y como se presentó o no va más allá de lo presentado inicialmente.
5. Comentarios adicionales:

Recuadro V. Declaración motivada según la Regla 43bis.1(a)(i) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. Declaración

Novedad	Sí: Reivindicaciones <u>1-30</u> No: Reivindicaciones
Actividad inventiva	Sí: Reivindicaciones No: Reivindicaciones <u>1-30</u>
Aplicación industrial	Sí: Reivindicaciones <u>1-30</u> No: Reivindicaciones

2. Citas y explicaciones

Ver hojas por separado

Cuadro No. VIII Ciertas observaciones en la solicitud internacional

Se hacen las siguientes observaciones en la claridad de las reivindicaciones, descripción y dibujos o en la cuestión de si las reivindicaciones son completamente soportadas por la descripción:

Véase forma 210

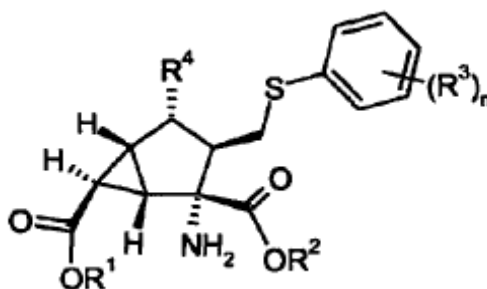
Respecto a la Sección V

Se hace referencia a los siguientes documentos:

- D1 US 2006/142388 A1 (YASUHARA AKITO [JP] ET AL) 29 Junio 2006
(2006-06-29)
- D2 WO 99/47490 A1 (PFIZER PROD INC [US]; CHENARD BERTRAND LEO
[US]) 23 Septiembre 1999 (1999-09-23)

Novedad y etapa inventiva

La presente solicitud se dirige a compuestos de la fórmula



donde R^1 y R^2 son cada uno independientemente hidrógeno, alcoxicarboniloximetilo C_1-C_3 , alquilcarboniloximetilo C_1-C_5 , o cicloalquilcarboniloximetilo C_3-6 ;

R^3 es independientemente en cada caso metilo, fluoro o cloro; R^4 es hidroxilo, amino, metilcarbonilamino, o 1,2,4-triazoltio; y n es 1 o 2; o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable; una composición farmacéutica que comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable así como también un método para tratar trastornos depresivos en un mamífero que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

El documento D1 (cotéjese pasajes indicados en el SR) representa la técnica anterior más cercana y difiere del tema de la reivindicación 1 en cuanto a que la secuencia del azufre y grupo metileno unida al anillo fenilo está invertida. En la presente solicitud el azufre está directamente

unido al fenilo seguido por el grupo metileno directamente unido al azufre.

En el documento D1 el grupo metileno está directamente unido al fenilo y el azufre está directamente unido al azufre. De este modo, el tema de la reivindicación 1 es nuevo. Puesto que todas las otras reivindicaciones directamente o indirectamente se refieren al compuesto de la reivindicación 1, las reivindicaciones 2-30 son nuevas por analogía.

Partiendo de la técnica anterior más cercana del documento D1 y la característica distinguida resumida anteriormente, el problema técnico objetivo puede ser considerado como la provisión de anti-depresivos alternativos. La solución se da en la reivindicación 1 y se refiere a la secuencia invertida del azufre y el grupo metileno unido al anillo fenilo. La solución propuesta sin embargo, no está considerada como involucrante de una etapa inventiva, debido a que la inversión del grupo azufre y metileno no cambia las propiedades fisicoquímicas totales de los compuestos. Sin embargo, los compuestos descritos en el documento D1 son aplicados en el mismo campo técnico de tratamiento y prevención de trastornos depresivos. Consecuentemente, tal inversión es una medida apropiada para lograr antidepresivos alternativos sin ejercer actividad inventiva. De este modo, el tema de la reivindicación 1 no es inventivo, las reivindicaciones 2-11 y 13-19 no agregan cualquier característica la cual pueda establecer una etapa inventiva sobre el documento D1.

Las composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento no son inventivas en vista de la combinación de los documentos D1/D2. Sin embargo, la combinación de un antidepresivo conocido con compuestos que también muestran propiedades anti-depresivas es una medida obvia. De este modo, el tema de las reivindicaciones 12, 20-30 no involucra una etapa inventiva.

Método de tratamiento

Las reivindicaciones 20-27 se refieren el tema considerado por esta Autoridad para ser cubierto por las provisiones de la Regla 39.1 (iv)/67.1 (iv) del PCT.

La patentabilidad puede ser dependiente de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como patentable reivindicaciones al uso de un compuesto en tratamiento médico, pero puede permitir reivindicaciones a un producto, en particular sustancias o composiciones para uso en un primero o adicional tratamiento médico.

Respecto a la Sección VIII

Aunque las reivindicaciones 12 y 28 han sido redactadas como reivindicaciones independientes separadas, parecen referirse efectivamente al mismo tema y difieren de entre sí solamente con respecto a la definición del tema para el cual se busca la protección y/o con respecto de la terminología usada para las características de tal tema. Las reivindicaciones mencionadas anteriormente por lo tanto carecen de claridad y como tal no cubren los requerimientos del Artículo 6 del PCT.

Lo mismo aplica a las reivindicaciones 20, 22, 24, todas formuladas como reivindicaciones independientes, las cuales, de este modo carecen de claridad (Artículo 6 del PCT).

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference X19133	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2011/060730	International filing date (<i>day/month/year</i>) 15/11/2011	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 18/11/2010
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 3 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
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/060730

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07C323/58 A61K31/10
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07C

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, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006/142388 A1 (YASUHARA AKITO [JP] ET AL) 29 June 2006 (2006-06-29)	1-11, 13-19
Y	Table 1, entry 8;; paragraphs [0176], [0217] -----	12,20-30
Y	WO 99/47490 A1 (PFIZER PROD INC [US]; CHENARD BERTRAND LEO [US]) 23 September 1999 (1999-09-23) claims 15-18 -----	12,20-30



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 March 2012

Date of mailing of the international search report

10/04/2012

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Kleidernigg, Oliver

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/060730

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006142388 A1	29-06-2006	US 2006142388 A1	29-06-2006
		WO 2005000790 A1	06-01-2005

WO 9947490 A1	23-09-1999	AP 1116 A	21-10-2002
		AR 017236 A1	22-08-2001
		AT 272608 T	15-08-2004
		AU 753422 B2	17-10-2002
		AU 2540999 A	11-10-1999
		BG 104837 A	31-07-2001
		BR 9908850 A	21-11-2000
		CA 2321639 A1	23-09-1999
		CN 1293655 A	02-05-2001
		CO 5090835 A1	30-10-2001
		CZ 20003355 A3	15-05-2002
		DE 69919142 D1	09-09-2004
		DE 69919142 T2	20-01-2005
		DZ 2745 A1	08-09-2003
		EP 1064256 A1	03-01-2001
		ES 2224604 T3	01-03-2005
		GT 199900040 A	06-09-2000
		HR 20000611 A2	30-04-2001
		HU 0101031 A2	28-08-2001
		ID 25651 A	19-10-2000
		IS 5592 A	18-08-2000
		JP 3665567 B2	29-06-2005
		JP 2002506847 A	05-03-2002
		MA 26614 A1	20-12-2004
		NO 20004626 A	13-11-2000
		NZ 506227 A	30-06-2003
		OA 11488 A	07-05-2004
		PL 343278 A1	13-08-2001
		PT 1064256 E	29-10-2004
		SK 13532000 A3	02-07-2002
		TR 200002671 T2	21-12-2000
		TW 509667 B	11-11-2002
		WO 9947490 A1	23-09-1999
		ZA 9902094 A	28-11-2000

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
(Artículo 18 y Reglas 43 y 44 del PCT)

Referencia al expediente del solicitante o del mandatario X19133	PARA ACCIÓN ADICIONAL Véase Forma PCT/ISA/220) así como, en donde aplique el inciso 5 posterior	
No. de solicitud internacional PCT/US2011/060730	Fecha de presentación internacional (<i>día/mes/año</i>) 15/11/2011	(Fecha de Prioridad) (La más cercana) (<i>día/mes/año</i>) 18/11/2010
Solicitante ELI LILLY AND COMPANY		

Este reporte de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de la Búsqueda Internacional y se transmite al solicitante de conformidad con el Artículo 18. Se transmite una copia a la Oficina Internacional.

Este reporte de búsqueda internacional consiste de un total de 3 hojas

☒ También está acompañado de una copia de cada documento de la técnica anterior citado en este reporte.

1. Bases del Reporte

- a. Con respecto al **lenguaje**, la búsqueda internacional se realizó en las bases de
☒ la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó.
☐ una traducción de la solicitud internacional en _____, la cual está en el idioma de una traducción proporcionada para el propósito de búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b))
- b. ☐ Este reporte internacional se ha establecido tomando en cuenta la rectificación de un error obvio autorizado por o notificado a esta Autoridad bajo la Regla 91 (Regla 43.6bis(a)).
- c. ☐ Con respecto a cualquier **secuencia de nucleótido y/o aminoácido** descrita en la solicitud internacional, véase, Cuadro No. I

2. ☐ Se encontró que ciertas reivindicaciones no son localizables (ver el Cuadro II).

3. ☐ La unidad de la invención es deficiente (ver el Cuadro III).

4. Con respecto al **título**,

- ☒ el texto se aprueba tal como lo presentó el solicitante,
☐ esta Autoridad ha establecido que el texto sea como sigue:

5. Con respecto al **resumen**,

- ☒ el texto se aprueba tal como lo presentó el solicitante.
☐ Esta Autoridad ha establecido el texto, de acuerdo con la Regla 38.2(b), tal como aparece en el Cuadro IV. El solicitante puede, dentro de un mes a partir de la fecha de envío por correo de este reporte de búsqueda internacional, proporcionar comentarios a esta autoridad.

6. Con respecto a los dibujos

a. La figura de los **dibujos** que se va a publicar con el resumen es la Figura No. _____.

- ☐ como lo sugirió el solicitante.
☐ porque al solicitante le faltó sugerir una figura.
☐ porque esta figura caracteriza mejor la invención.

b. ☐ ninguna de las figuras es para ser publicada con el resumen.

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. de Solicitud Internacional

PCT/US2011/060730

A. CLASIFICACIÓN DEL ASUNTO RELACIONADO

INV. C07C323/58 A61K31/10

ADD.

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o tanto la clasificación nacional como la IPC.

B. CAMPOS BUSCADOS

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

A61K C07C

Documentación buscada diferente de la documentación mínima, al grado que estos documentos se incluyen en los campos buscados.

Base de datos, electrónica, consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos, donde se puede practicar, términos de búsqueda usados).

EPO-Interno, Datos CHEM ABS

C. DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES

Categoría*	Citación del documento, con indicación, donde es apropiado, de los pasajes pertinentes	Pertinente para la reivindicación No.
X	US 2006/142388 A1 (YASUHARA AKITO [JP] ET AL) 29 Junio 2006 (2006-06-29)	1-11, 13-19, 12, 20-30
Y	Tabla 1, entrada 8;; párrafos [0176], [0217]	
Y	WO 99/47490 A1 (PFIZER PROD INC [US]; CHENARD BERTRAND LEO [US] 23 Septiembre 1999 (1999-09-23) reivindicaciones 15-18	12, 20-30



Documentos adicionales se listan en la continuación del cuadro C.



Los miembros de la familia de patentes se listan en el anexo

* Categoría especial de los documentos citados:

“A” Documento que define el estado general de la técnica, que no se considera que es de pertinencia particular

“T” Documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o la fecha de prioridad, y que no provoca conflicto con la solicitud, pero se cita para entender el principio o teoría que trata la invención

“E” Documento anterior, pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional

“X” Documento de pertinencia particular: la invención reivindicada no se puede considerar nueva o no se puede considerar que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo

“L” Documento que puede crear dudas de la reivindicación(es) de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra situación u otra razón especial (como se especifique)

“Y” Documento de pertinencia particular: la invención reivindicada no se puede considerar que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más de estos documentos, estas combinaciones son obvias para una persona experta en la técnica

“O” Documento que se refiere a una descripción oral, uso, exhibición u otro medio

“&” Documento miembro de la familia de patentes

“P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional, pero después de la fecha de prioridad reivindicada

Fecha de la actual terminación de la búsqueda internacional

28 Marzo 2012

Fecha de envío del reporte de búsqueda internacional

10/04/2012

Nombre y dirección de envío ISA/

Oficina Europea de Patentes, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

Kleidernigg, Oliver

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información sobre los miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.:

PCT/US2011/060730

Documento de la patente citado en el reporte de búsqueda	Fecha de publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de publicación
US 2006142388 A1	29-06-2006	US 2006142388 A1	29-06-2006
		WO 2005000790 A1	06-01-2005

WO 9947490 A1	23-09-1999	AP 1116 A	21-10-2002
		AR 017236 A1	22-08-2001
		AT 272608 T	15-08-2004
		AU 753422 B2	17-10-2002
		AU 2540999 A	11-10-1999
		BG 104837 A	31-07-2001
		BR 9908850 A	21-11-2000
		CA 2321639 A1	23-09-1999
		CN 1293655 A	02-05-2001
		CO 5090835 A1	30-10-2001
		CZ 20003355 A3	15-05-2002
		DE 69919142 D1	09-09-2004
		DE 69919142 T2	20-01-2005
		DZ 2745 A1	08-09-2003
		EP 1064256 A1	03-01-2001
		ES 2224604 T3	01-03-2005
		GT 199900040 A	06-09-2000
		HR 20000611 A2	30-04-2001
		HU 0101031 A2	28-08-2001
		ID 25651 A	19-10-2000
		IS 5592 A	18-08-2000
		JP 3665567 B2	29-06-2005
		JP 2002506847 A	05-03-2002
		MA 26614 A1	20-12-2004
		NO 20004626 A	13-11-2000
		NZ 506227 A	30-06-2003
		OA 11488 A	07-05-2004
		PL 343278 A1	13-08-2001
		PT 1064256 E	29-10-2004
		SK 13532000 A3	02-07-2002
		TR 200002671 T2	21-12-2000
		TW 509667 B	11-11-2002
		WO 9947490 A1	23-09-1999
		ZA 9902094 A	28-11-2000
